

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR & DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABOU-- BEKR BELKAID-TLEMCEM
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



THESE EN VU DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE DOCTORAT Es-SCIENCES
Option : SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS
Présentée par Mme : SMAHI eps TOUAZI KHAYRA

**Étude de l'efficacité d'épuration des eaux usées
domestiques de l'oued de Bechar par l'utilisation du
sable et les graines de *Moringa oleifera* Lam**

Mr. Laazouni H A	Professeur à l'université Abou Bekr Belkaiid Tlemcen	Président
Mr. Makhloufi A	Professeur à l'université Tahri Mohamed Bechar	Directeur
Mr. Harek Y	Professeur à l'université Abou Bekr Belkaiid Tlemcen	Co-directeur
Mr. Baghdad M C	Professeur à l'université Abou Bekr Belkaiid Tlemcen	Examineur
Mr. Mebarki L	MCA à l'université Tahri Mohamed Bechar	Examineur

Année universitaire : 2020/2021

Dédicace

Je suis spécialement reconnaissante envers mes parents, vous avez su guider mes pas, m'aider à devenir ce que je suis. Ma joie de vivre, ma force et mes réussites c'est à vous que je les dois, merci d'être présent dans les moments de doute. Merci de me supporter et quoique je puisse vous dédier ça ne sera jamais assez.

À mon mari, de m'avoir aidée, mais surtout pour tout ce que vous m'avez apporté et m'apportez encore.

À mes chers fils Adam et Mohamed tant aimés,

À mes sœurs et belles-sœurs, à mon frère et mes beaux frères qui m'ont supporté dans tous les sens du terme.

À toutes les personnes que je porte dans le cœur et qui se reconnaîtront, car elles en font autant.

Je vous dédie cette thèse en guise de reconnaissance pour vos encouragements et votre soutien. Merci de croire si fort en moi, vous m'avez permis d'aller au bout de ce travail.

Remerciement

Nous commençons par remercier ALLAH, le tout puissant qui m'a donné la force, la volonté et surtout le courage pour accomplir ce modeste travail.

Ce manuscrit est le fruit de six ans de recherche a été effectué en grande partie au laboratoire pédagogique de Kadi Hamid, faculté de biologie, université Tahri Mohamed de Bechar. Je me dois donc de remercier un certain nombre de personnes avec qui je tiens à partager le mérite de ce travail.

*Évidemment, en tout premier lieu, je souhaite remercier Monsieur **Makhloufi Ahmed** professeur à l'université Tahri Mohammed, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses conseils très précieux et ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'il m'a constamment témoignée.*

*Je remercie aussi Monsieur **Harek Yahia** professeur à l'Université Abou-bakr Belkaïd de Tlemcen, pour ses conseils avisés et ses encouragements. Je lui exprime, ici, ma profonde gratitude*

J'exprime mes respectueux dévouements à tous les membres de jury, pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de jurer la commission d'examen de ce travail

*J'adresse mes remerciements à monsieur **Lazouni Hamadi Abderrahmane** professeur à l'université Abou-bakr Belkaïd de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider ce travail.*

*Merci également à Mr **Baghdad Mohamed Choukri**, professeur à l'Université Abou-bakr Belkaïd de Tlemcen qui a accepté d'examiner ce travail.*

*J'exprime mes remerciements également à Monsieur **Mebarki Lakhdar**, maitre de conférences classe A à l'université Tahri Mohammed de Bechar pour avoir aimablement accepté de juger ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi, à Mme **Mokri Fatima** et au professeur **Chakchou Braham Nouredine** responsable de laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique à l'université Abou bekr Belkaid de Tlemcen qui nous ont permet de réaliser les analyses des métaux lourds.*

*Je tiens à remercier toutes les personnes que j'ai côtoyées au laboratoire, qui m'ont accompagné pour l'ambiance amicale qu'ils ont su créer pour leur aide et leurs encouragements, je cite particulièrement ma chère soeur **Dalile Halima** et mes chères étudiantes : **Ouguerti, Yahi, Ouazani, Snini, Benyoucef et Bendjilali.***

ملخص

الهدف من هذا العمل هو وصف الملوثات الكيميائية والميكروبيولوجية في مياه الصرف الصحي لمدينة بشار، جنوب غرب الجزائر، واقتراح طريقة فعالة للتنقية من خلال دمج بذور المورينجا أوليفيرا. تم إخضاع مياه الصرف الصحي والمياه المرشحة لتحاليل البحث عن الجراثيم الهوائية المعتدلة الكلية، القولونيات البرازية، القولونيات الكلية، المكورات العقدية المجموعة D، السالمونيلا، كلوستريديوم المختزلة للكبريت، الكوليرا الشولية والمكورات العنقودية. بالنسبة للجودة الفيزيوكيميائية فقد أجريت بعض التحاليل ونذكر على وجه التحديد: الرقم الهيدروجيني pH، الناقلية الكهربائية، العكارة، النترات، النتريت، الفوسفات، الأمونيوم، الكربون العضوي الكلي COT وبعض المعادن الثقيلة. أظهرت نتائج العزل والتحديد عن وجود العديد من السلالات الممرضة التي تنتمي إلى عائلة *Enterobacteriaceae* مثل: *E.coli*، *Salmonella spp*، *Klebsiella spp*، *Enterobacter spp*، *Citrobacter spp*؛ أو أجناس عائلات أخرى: *Streptococci D*، *Pseudomonas spp*، *Vibrio spp*. بالنسبة للمعايير الميكروبيولوجية، فإن النتائج المتحصل عليها من مرشح البذور منزوعة الدسم تظهر تأثيرًا مثاليًا على القضاء على ASR بنسبة 96% واستئصال 81% من المكورات العقدية المجموعة D. وكما تم تسجيل انخفاض المكورات العقدية في المياه المنقاة بواسطة مرشحة البذور غير منزوعة الدسم بنسبة 97%، في حين تسجل اللاهوائية المختزلة للكبريت انخفاض بنسبة 84% بنفس المرشحة مقارنة بمرشحة الرمل. بالنسبة للخصائص الفيزيوكيميائية، تسبب دمج بذور المورينجا أوليفيرا في زيادة التعكر (NTU 202)، والناقلية التي تتجاوز متوسط قدره 2771 ميكروسيمنس/سم والكربون العضوي الكلي بقيمة قصوى تقدر بـ 270 مغ/مل. ومع ذلك، توجد كفاءة عالية في التخلص من الكاديوم بواسطة مرشحة البذور منزوعة الدسم.

الكلمات المفتاحية: مورينجا أوليفيرا، تنقية، مياه الصرف الصحي، تحاليل ميكروبيولوجية، معادن ثقيلة، معايير فيزيوكيميائية.

Abstract

The present study aims to characterize the chemical and microbiological contaminants in wastewater of Bechar region, Southwestern Algeria; and to evaluate a purification method based on *Moringa oleifera* seeds. The wastewater and filtered water were analyzed for total aerobic mesophilic flora, fecal coliforms, group D Streptococci, *Salmonella*, *Clostridium* sulfite-reductants, *Vibrio cholerae*, Staphylococci. In addition, some analyses of the physicochemical quality were carried out, namely: pH, electrical conductivity, turbidity, nitrate, nitrite, phosphate, ammonium, TOC and some heavy metals. The results of the isolated and identified microorganisms showed the presence of various pathogenic strains belonging to the *Enterobacteriaceae* family such as: *E. coli*, *Salmonella* spp, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp; and genera from other families: *Streptococcus* D, *Pseudomonas* spp, *Vibrio* spp. The microbiological parameters results obtained from the filter with defatted seeds exhibited a high influence on the elimination of S.R.A with 96% and the eradication of 81% of the streptococci D; where as water purified with not defatted seeds filter revealed an elimination level of 97% and 84% of streptococci and sulfite-reducing anaerobic respectively compared with the sand filter. However, for the physicochemical characteristics, *Moringa oleifera* seeds increased turbidity (202 NTU), conductivity (exceeded an average of 2771 S/cm), and TOC (reached a limit of 270 mg/ml). The eradication of Cadmium with defatted seeds filter was clearly visible and gave a high efficiency.

Key words: *Moringa oleifera*, wastewater treatment, microbiological analysis, heavy metals, physicochemical parameters.

Résumé

L'objectif de ce travail consiste à caractériser les polluants chimiques et microbiologiques des eaux usées de la ville de Bechar, sud-ouest de l'Algérie et à proposer une méthode d'épuration efficace par l'incorporation des graines de *Moringa oleifera*. L'eau usée et l'eau filtrée ont subi des analyses pour la recherche de la flore aérobie mésophile totale, coliformes fécaux, coliformes totaux, Streptocoques de groupe D, *Salmonella*, *Clostridium* sulfite réductrice, *Vibrio cholerae*, Staphylocoques. Pour la qualité physicochimique quelques analyses ont été effectuées à savoir : le pH, conductivité électrique, turbidité, nitrate, nitrite, phosphate, ammonium, COT et quelques métaux lourds. Les résultats d'isolement et d'identification ont exhibé la présence de diverses souches pathogènes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* tels que : *E.coli*, *Salmonella spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp* ; ou des genres d'autres familles : *Streptocoques D*, *Pseudomonas spp*, *Vibrio spp*. Pour les paramètres microbiologiques, les résultats obtenus à partir de filtre à base des graines dégraissées montrent une influence parfaite quant à l'élimination d'A.S. R avec 96 % et une éradication de 81 % des streptocoques de groupes D, ainsi qu'un abattement des streptocoques a été enregistré dans les eaux épurées par le filtre à base des graines non dégraissées avec 97 %, pour les anaérobies sulfite réducteurs une réduction de 84 % par le même filtre par rapport au filtre à sable. Pour les caractéristiques physicochimiques, l'incorporation des graines de *Moringa oleifera* a provoqué l'augmentation de la turbidité (202 NTU), la conductivité qui dépasse une moyenne d'ordre de 2771 $\mu\text{S/cm}$ et le COT avec une valeur maximale de 270 mg/ml. Cependant une forte efficacité est trouvée dans l'éradication de Cadmium par le filtre à base des graines dégraissées.

Mots clés : *Moringa oleifera*, épuration, les eaux usées, analyses microbiologiques, Métaux lourds, paramètres physicochimiques.

Liste des abréviations

+	Présence
-	Absence
µS	Micro Siemens
A.S.R	Anaérobie Sulfito Reductrice
ATB	Antibiotique
BCPL	Bouillon lactosé au pourpre de Bromocrésol
BET	Bromure d’Ethidium
CASFM	Comité de l’antibiogramme de la société française de microbiologie
CF	Coliformes Fécaux
CNS	Comité de Normes standards
CT	Coliformes totaux
CTT	Coliformes ThermoTolerants
D	Dégraissées
D/C	Double concentré
DC	Double Concentré
DMSO	Diméthyl sulfoxyde
dNTP	Mélange de Deoxynucleotide
ES	Équivalent de Sable
FAMT	Flore aérobie mésophile Total
FAO	Food and Agriculture Organasition
IND	Indénombrable
Mpp	Partie par Million
MT	Marqueur de taille
ND	Non Dégraissées
NPP	Nombre le Plus probable
NTU	Unité de Turbidité Néphelométrique
OMS	Organisation mondiale de santé
Pb	Paire de base
PCR	Réaction de Polymérisation en chaine
pH	Potentielle D’Hydrogène
Pt	Poids total
S	Souche
S/C	Simple Concentrée
SAEN	Standardisation des antibiotiques à l’échelle nationale
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la miticilline
SC	Simple Concentré
SF	Streptocoques fécaux
SS	<i>Salmonella-Shigella</i>
TCBS	Thiosulfate Citrate Bile Saccharose
TEA	Tampon tris-Acétate-EDTA
TGEA	Tryptone Glucose Extract Agar
UV	Ultra-violet
VF	Viande Foie
WHO	World Health Organisation

Liste des figures

Figure I-1 : Plante <i>Moringa oleifera</i> (a : pieds de <i>Moringa</i> à côté d'une habitation, b : feuilles composées tripennées ; c : Inflorescence; d : quelques siliques).....	21
Figure I-2: Gousses des fruits et graines de <i>M.oleifera</i>	21
Figure II-1 : <i>Moringa oleifera</i> et ses graines.....	30
Figure II-2: Site de prélèvement de graines de <i>M.oleifera</i>	30
Figure II-3: Site de prélèvement de sable	31
Figure II-4 : Cartes géographiques de site de prélèvement des eaux usées	32
Figure II-5 : Détermination d'équivalent de sable.....	36
Figure II-6 : Dispositif de filtration.	38
Figure II-7 : Schéma descriptif de l'unité de filtration.	38
Figure II-8: Montage de dispositif (différents matériaux consécutifs).....	38
Figure II-9: Schémas des tests phytochimiques de l'extrait aqueux.....	59
Figure II-10: Tests phytochimiques de l'extrait éthérique.....	61
Figure II-11: Schémas des tests phytochimiques sur l'extrait méthanoliques.	63
Figure III-1 : Résultats des analyses granulométriques du sable.....	67
Figure III-2: Analyse microbiologique de sable.	69
Figure III-3: Analyses microbiologiques des graines de <i>Moringa oleifera</i>	69
Figure III-4: Évolution de pH dans les différents lits filtrants.....	70
Figure III-5: Valeurs de pH des différents échantillons traités.....	71
Figure III-6: Évolution de la conductivité dans les différents filtrants.....	72
Figure III-7 : Résultats de conductivité mesurée des différents échantillons traités.....	73
Figure III-8: Évolution de la turbidité dans les différents filtrants.	75
Figure III-9: Résultats de turbidité des différents échantillons traités.....	75
Figure III-10: Résultats de dosage du Nitrate des différents échantillons traités.	76
Figure III-11: Résultats de dosage du Nitrite des différents échantillons traités.	77

Figure III-12: Résultats de dosage de l'Ammonium des différents échantillons traités.....	78
Figure III-13: Résultats de dosage du phosphate des différents échantillons traités.	79
Figure III-14: Résultats de dosage du COT des différents échantillons traités.	80
Figure III-15: Résultats de dosage du Cadmium des différents échantillons traités.....	81
Figure III-16: Résultats de dosage du Chrome des différents échantillons traités.....	82
Figure III-17: Résultats de dosage du Cobalt des différents échantillons traités.....	83
Figure III-18: Résultats de dosage du Palladium des différents échantillons traités.	84
Figure III-19: Résultats de dosage du Fer des différents échantillons traités.	85
Figure III-20: Résultats de dosage du Cuivre des différents échantillons traités.....	86
Figure III-21: Dénombrement de FAMT dans les eaux avant et après filtration après 24 h d'incubation.....	88
Figure III-22: Résultats de dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.	90
Figure III-23: Taux des coliformes totaux avant et après filtration.....	91
Figure III-24: Taux des coliformes fécaux avant et après filtration.....	92
Figure III-25: Résultats de dénombrement des coliformes totaux.....	93
Figure III-26 : Résultats de dénombrement des coliformes fécaux.	95
Figure III-27: Résultats de dénombrement des streptocoques D avant et après filtration.	97
Figure III-28: Résultats de dénombrement des Streptocoques groupe D.	98
Figure III-29 : Résultats de dénombrement des staphylocoques avant et après filtration.	101
Figure III-30: Résultats de dénombrement des Salmonelles avant et après filtration.	102
Figure III-31: Proportions des rendements d'extraction des graines de <i>M.oleifera</i>	113
Figure III-32 : Résultats des zones d'inhibition de quelques souches testée.....	120
Figure III-33: Résultats de l'activité antibactérienne de quelques souches testées.	126

Liste des tableaux

Tableau I-1: Virus pathogènes des eaux usées.	7
Tableau I-2: Parasites pathogènes des eaux usées	8
Tableau I-3: Bactéries pathogènes des eaux usées	10
Tableau I-4: Différentes utilisations de la plante <i>M. oleifera</i> en fonction de ses parties.....	26
Tableau II-1 : Germes recherchés dans les milieux poreux.....	37
Tableau II-2: Liste des antibiogrammes utilisés	65
Tableau III-1: Résultats de masse volumique absolue et apparente.	68
Tableau III-2: Taux des <i>Clostridium</i> SR avant et après filtration.....	99
Tableau III-3: Résultats de dénombrement des CSR après 48 h	100
Tableau III-4: Résultats des germes pathogènes dans les eaux traitées par sable.....	104
Tableau III-5: Résultats des germes pathogènes présents dans les filtres à base des graines..	104
Tableau III-6: Caractères morphologiques et des tests biochimiques des souches isolées.....	106
Tableau III-7: Résultats d'identification par Galerie (API 20E).	108
Tableau III-8 : Caractères morphologiques et tests d'identification des Streptocoques D.....	110
Tableau III-9 : Résultats des tests d'identification de <i>Pseudomonas</i> spp	111
Tableau III-10 : Résultats du criblage phytochimique des trois extraits	115
Tableau III-11: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les entérobactéries.....	116
Tableau III-12: Résultats d'antibiogrammes des <i>Pseudomonas</i> spp	117
Tableau III-13: Résultats de sensibilité des streptocoques D aux antibiotiques.....	117
Tableau III-14 : Résultats d'antibiogramme de <i>Staphylococcus</i>	118
Tableau III-15 : Résultats de l'antibiogramme des <i>Vibrio</i>	119
Tableau III-16 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) d'huile de <i>M.oleifera</i>	121
Tableau III-17: Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extraits non dégraissés.....	122
Tableau III-18 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'extraits dégraissés.....	123

Table des matières

Dédicace	II
Remerciement.....	III
ملخص.....	IV
Abstract	V
Résumé	VI
Liste des abréviations.....	VII
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux	X
Table des matières	XI

INTRODUCTION GÉNÉRALE		1
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE		4
I.1	Eaux usées.....	4
I.1.1	Généralité sur les eaux usées	4
I.1.2	Définition des eaux usées	4
I.1.3	Origine des eaux usées.....	4
I.1.4	Composition des eaux usées	6
I.1.5	Survie des microorganismes en milieu aquatique.....	11
I.1.6	Risques environnementaux et incidences sur la santé humaine	11
I.1.7	Traitement des eaux usées	12
I.2	Moringa oleifera Lam	19
I.2.1	Origine et historique	19
I.2.2	Systématique et nomenclature	19
I.2.3	Description botanique :.....	20
I.2.4	Écologie	21
I.2.5	Composition chimique.....	22
I.2.6	Types d'usages et propriétés.....	23
II.MATÉRIELS ET MÉTHODES		29
II.1	Introduction.....	29
II.2	Echantillonnage et méthode d'étude.....	29
II.2.1	Echantillonnage	29

II.2.2	Méthodes d'études	31
II.2.3	Contrôle du milieu poreux	33
II.2.4	Traitement chimique par une solution de 10 % HCl	36
II.2.5	Analyse microbiologique des milieux poreux	37
II.3	Traitement des eaux usées par les filtres élaborés :	37
II.3.1	Présentation de dispositif de filtration	37
II.3.2	Analyse microbiologiques des eaux usées traitées	39
II.3.3	Tests d'identifications microbiens	44
II.3.4	Analyse physico-chimiques des eaux usées traitées	50
II.4	Étude phytochimique de la plante.....	52
II.4.1	Extraction d'huile par soxhlet.....	52
II.4.2	Extraction par macération.....	53
II.4.3	Screening phytochimique	54
II.5	Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des graines.....	64
II.5.1	Préparation des disques.....	64
II.5.2	Préparation des concentrations des extraits	64
II.5.3	Préparation de l'inoculum.....	64
II.5.4	Sensibilité aux antibiotiques	65
III. RESULTATS ET DISCUSSION		70
III.1	Caractéristiques physiques des milieux poreux.....	67
III.1.1	Analyse granulométrique.....	67
III.1.2	Analyses microbiologiques des milieux poreux	68
III.2	Analyse des eaux usées avant et après filtration	70
III.2.1	Paramètres physico-chimiques	70
III.2.2	Résultats des analyses bactériologiques	87
III.3	Résultats d'isolement et d'identification des souches isolées	105
III.4	Résultats d'extraction et rendement des extraits	113
III.5	Résultats de Criblage phytochimique	114
III.6	Résultats d'antibiogramme	115
III.7	Résultats de l'activité antibactérienne	121
CONCLUSION GENERALE		132
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE		136

ANNEXES

Introduction Générale

L'Algérie est un pays au climat essentiellement aride à semi-aride, où les précipitations sont faibles et irrégulières, et les ressources en eau sont très limitées (MRE, 2001). Elle a connu ces dernières décennies une forte croissance démographique, une urbanisation massive et un développement des activités industrielles qui ont généré une production importante des eaux usées, surtout dans les centres urbains. Le volume des eaux usées évacuées à travers les réseaux d'assainissement est estimé à près de 660 millions de m³ par an, dont à peine 18 % subissent un processus d'épuration partiel (Bouziani, 2000).

Le rejet des eaux usées et leur réutilisation sans traitement préalable engendrent de sérieux problèmes d'ordre sanitaire.

Nombreuses maladies qui affectent la population de la planète sont liées à la partie de l'insuffisance d'évacuation des eaux usées domestiques et industrielles. Ces dernières sont devenues de plus en plus énormes devant le développement industriel, l'essor économique, l'expansion démographique et la grande densité des zones urbaines. Ces eaux usées constituent en absence d'un traitement un danger croissant pour la santé humaine et le milieu naturel à cause de leurs charges en matières chimiques toxiques et de microorganismes pathogènes (bactéries, virus, parasites...). Elles constituent donc des menaces permanentes pour la santé aussi bien humaine qu'animale (Melloul *et al.*, 2002). Selon l'OMS, 80 % des maladies qui affectent la population de la planète sont liées à la pollution des eaux (OMS, 2004).

Les différents polluants véhiculés par les eaux usées peuvent contaminer les eaux de surfaces et souterraines, et mêmes les terrains agricoles ce qui pose un danger potentiel pour la santé publique, mais également sur le milieu écologique.

En effet, la filtration sur sable constitue une technique assez largement répandue pour épurer les effluents des petites collectivités en raison de la faible dépense énergétique qu'elle entraîne, du peu de technicité demandée pour son entretien et de sa facilité d'intégration au site. Les performances épuratoires des filtres à sable sur le carbone (organique), l'azote (nitrification), les matières en suspension (MES) et la charge bactérienne sont reconnues (Boutin *et al.*, 2000).

L'intégration des procédés biologiques dans le traitement de ces eaux pourrait être une alternative durable via l'utilisation des plantes épuratrices pour minimiser la pollution et avoir la possibilité de réutilisation des eaux usées.

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette étude est de tester la possibilité d'utiliser le mélange graines de *Moringa oleifera* / sable des dunes de l'Erg occidental comme un support filtrant pour l'épuration des eaux usées de la ville de Béchar ; et d'effectuer un ratissage microbiologique et physicochimique des eaux usées brutes et traitées par ce mélange.

Pour atteindre cet objectif, notre manuscrit est divisé en deux grandes parties : la première est une synthèse bibliographique comportant trois volets. Le premier présente une généralité sur les eaux usées. Le second présente quelques modes et étapes d'épuration, ou de traitement des eaux usées qui peuvent exister et la réutilisation des eaux traitées. Enfin le troisième définit les matériaux locaux utilisés. La deuxième partie expérimentale est divisée en deux la première intitulé matériel et méthodes, comporte les démarches de traitement réalisées au laboratoire ainsi que les analyses d'eau avant et après la filtration sur les supports. La présentation et la discussion des résultats obtenus ont fait l'objet de la dernière partie de ce manuscrit. Enfin, nous tirons une conclusion et nous proposons quelques perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 Eaux usées

I.1.1 Généralité sur les eaux usées

L'eau est un élément essentiel dans la vie et l'activité humaine. C'est une composante majeure du monde minéral et organique. Elle participe à toutes les activités quotidiennes notamment, domestiques, industrielles et agricoles ce qui la rend un élément récepteur exposé à tous les genres de pollution. Elle est considérée comme un transporteur potentiel de maladies (**Prescott et al., 1999**).

L'eau usée, appelée encore eau résiduaire ou effluent, est une eau qui a subi une détérioration après usage. La pollution des eaux dans son sens le plus large est définie comme « Tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines » (**Attab, 2011**).

Les eaux usées correspondent aux eaux ayant été utilisées par les individus ou d'autres secteurs (industrie ou agriculture). Elles résultent de la pollution tant physico-chimique que bactériologique des eaux de consommation de bonne qualité, du fait des activités humaines. La plupart des eaux usées sont offensives, d'autres sont pathogènes, elles peuvent être l'origine de graves problèmes de santé publique.

I.1.2 Définition des eaux usées

La pollution de l'eau s'entend comme une modification défavorable ou nocive des propriétés physico-chimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, le rend impropre à l'utilisation normale établie. Les eaux usées sont toutes les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissements ; elles englobent également les eaux de pluie et leurs charges polluantes (**Metahri, 2012**).

I.1.3 Origine des eaux usées

Suivant l'origine et la qualité des substances polluantes, on distingue quatre catégories des eaux usées :

➤ **Origine domestique**

Elles proviennent de différents usages domestiques de l'eau. Elles sont essentiellement porteuses de pollution organique. Elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine : les salles de bains et les cuisines, et elles sont généralement chargées de détergents, de graisses, de solvants, de débris organiques et en eaux de « vannes » ; il s'agit des rejets des toilettes, chargés de diverses matières organiques azotées et de germes fécaux (**Rodier et al., 2009**).

➤ **Origine industrielle**

Les eaux usées d'origine industrielles proviennent des différentes usines de fabrication ou de transformation. Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. La qualité de ces eaux varie suivant le type d'industrie, elles peuvent être chargées en matières toxiques difficilement biodégradables qui nécessitent un traitement spécifique (**Rodier et al., 2009**) (par exemple : métaux lourds, hydrocarbures... etc.). En raison de leur spécificité, certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industriels avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte (**Belhamadi, 2011**).

➤ **Origine agricole**

L'agriculture est une source de pollution des eaux non négligeable, car elle apporte les engrais artificiels et les pesticides. Les paramètres qui doivent être pris en considération sont l'azote nitrique, le phosphate et les substances organiques (**Mimeche, 2014**). Les eaux agricoles issues de terres cultivées chargées d'engrais nitrates et phosphatées, sous une forme ionique ou en quantité telle qu'il ne serait pas finalement retenu par le sol et assimilé par les plantes, conduisent par ruissellement à un enrichissement en matière azotée ou phosphatée des nappes les plus superficielles et des eaux de cours d'eau ou de retenues (**Metahri, 2012**).

➤ **Origine pluviale**

Les eaux de pluie ruissellent dans les rues où sont accumulés des polluants atmosphériques, poussières, débris, suies de combustion des hydrocarbures rejetés par les véhicules (**Metahri, 2012**). Les eaux de ruissellement des zones urbaines sont généralement transportées par des réseaux d'égouts pluviaux distincts ou par des réseaux d'égouts unitaires (**Mimeche, 2014**).

I.1.4 Composition des eaux usées

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine (industrielle, domestique... etc.). Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes **(Baumont *et al.*, 2004)**.

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes, par ordre croissant de taille : les virus, les bactéries, les protozoaires et les helminthes **(Djeddi, 2007)**.

Concernant les virus, ce sont des parasites intracellulaires obligatoires de très petite taille (10 à 350 nm). La plupart des virus pathogènes transmis par l'eau usée **(tableau I.1)** ne sont pas naturellement présents dans l'intestin, contrairement aux bactéries. Ils sont présents soit intentionnellement (après une vaccination contre la poliomyélite par exemple), soit chez un individu infecté accidentellement. L'infection se produit par l'ingestion dans la majorité des cas, sauf pour Coronavirus où elle peut aussi avoir lieu par inhalation **(Baumont *et al.*, 2004)**.

Leur concentration dans les eaux usées urbaines est comprise entre 10^3 et 10^4 particules/l. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées restent difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Il semble que les virus soient plus résistants dans l'environnement que les bactéries, du fait qu'au cours de processus de traitement des eaux usées les virus sont plus difficiles à éliminer que les bactéries classiques couramment utilisées comme indicateurs de la qualité bactériologique des eaux **(Belhamadi, 2011)**.

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

Tableau I-1: Virus pathogènes des eaux usées (Asano, 1998).

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Nombre/1L d'eau usée	Voies de contamination
Virus de l'hépatite A	Hépatite A		Ingestion
Virus de l'hépatite E	Hépatite E		Ingestion
Rotavirus	Vomissement, diarrhée	400 à 85 000	Ingestion
Virus de Norwalk	Vomissement, diarrhée		Ingestion
Adenovirus	Maladie respiratoire, conjonctivite, vomissement, Diarrhée		Ingestion
Coronavirus	Vomissement, diarrhée		Ingestion /inhalation
Reovirus	Affection respiratoire bénigne et diarrhée		
Enterovirus :			
Poliovirus	Paralyse, méningite, Fièvre	182 à 492 000	Ingestion
Echovirus	Méningite, encéphalite		Ingestion
Enterovirus 68-71	Méningite, encéphalite		Ingestion

Au cours de leur cycle vital, certains protozoaires passent par une forme de résistance, les kystes qui peuvent être véhiculés par les eaux résiduaires (Belhamadi, 2011).

La plupart des protozoaires pathogènes sont des parasites c'est-à-dire qu'ils se développent aux dépens de leur hôte (Baumont et al., 2004). Ces parasites sont très persistants. Ainsi que selon les conditions de milieu, ils peuvent survivre plusieurs semaines voire même plusieurs années, plusieurs protozoaires pathogènes ont été identifiés dans les eaux usées, parmi les plus importants du point de vue sanitaire, il faut citer *Entamoeba histolytica* responsable de la dysenterie amibienne : *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium* (Tableau I.2). Il est considéré que seulement 10 à 30 kystes forment une dose suffisante pour causer des troubles sanitaires (Belhamadi, 2011).

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

Les helminthes sont des vers multicellulaires, tout comme les protozoaires, ce sont majoritairement des organismes parasites. La concentration en œufs d'helminthes dans les eaux usées est de l'ordre de 10 à 10³œufs/l. Il faut citer, notamment, *Ascaris lumbricoides*, *Oxyuris vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Tænia saginata* (**Tableau I.2**) (CSHPF, 1995). Beaucoup de ces helminthes ont des cycles de vie complexes comprenant un passage obligé par un hôte intermédiaire. Le stade infectieux de certains helminthes est l'organisme adulte ou larve, alors que pour d'autres, ce sont les œufs (**Faby et Brissaud, 1997**).

Tableau I-2: Parasites pathogènes des eaux usées (Asano, 1998).

Protozoaires	Symptômes, maladie	Nombre /L	Voies de contamination
<i>Entamoeba histolytica</i>	Dysenterie amibienne	4	Ingestion
<i>Giardia lamblia</i>	Diarrhée, malabsorption	125 à 100 000	Ingestion
<i>Balantidium coli</i>	Diarrhée bénigne, ulcère du colon	28 à 52	Ingestion
<i>Cryptosporidium</i>	Diarrhée	0,3 à 122	Ingestion
<i>Toxoplasma</i>	Toxoplasmose: ganglions, faible		Inhalation
<i>Gondii</i>	fièvre		Ingestion
<i>Cyclospora</i>	Diarrhée, légère fièvre, perte de poids		Ingestion
<i>Microsporidium</i>	Diarrhée		Ingestion
Helminthes			
<i>Ascaris</i>	Ascariase : diarrhée, troubles nerveux	5 à 111	Ingestion
<i>Ancylostoma</i>	Anémie	6 à 188	Ingestion / Cutanée
<i>Necator</i>	Anémie		Cutanée
<i>Tænia</i>	Diarrhée, douleurs musculaires		Ingestion
<i>Trichuris</i>	Diarrhée, douleur abdominale	10 à 41	Ingestion
<i>Toxocora</i>	Fièvre, douleur abdominale		Ingestion
<i>Strongyloïdes</i>	Diarrhée, douleur abdominale, nausée		Cutanée
<i>Hymenolepis</i>	Nervosité, troubles digestifs, anorexie		Ingestion

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Les œufs et les larves sont très résistants dans l'environnement et le risque lié à leur présence est à considérer pour le traitement et la réutilisation des eaux résiduaires. En effet la présence de ces organismes aux différentes conditions environnementales ainsi que leur résistance à la désinfection permettent leur reproduction, ce qui constitue leur risque potentiel (**Belhamadi, 2011**).

Les bactéries sont les microorganismes les plus communément rencontrés dans les eaux usées. La quantité moyenne des bactéries dans les fèces est d'environ 10^{12} Bactéries/g (**Asano, 1998**). Les eaux usées urbaines contiennent environ 10^6 à 10^7 bactéries/100ml dont la plupart sont des *Proteus* et des entérobactéries, 10^3 à 10^4 UFC/ml de Streptocoques et de 10^2 à 10^3 UFC/ml de *Clostridium*.

Les bactéries entériques sont adaptées aux conditions de vie dans l'intestin, c'est-à-dire une grande quantité de matière carbonée et de nutriments, et une température relativement élevée (37 °C). Leur temps de survie dans le milieu extérieur, où les conditions sont totalement différentes, est donc limité. Par ailleurs, les bactéries pathogènes vont se trouver en compétition avec les bactéries indigènes, ce qui limitera leur développement (**Baumont et al., 2004**). Parmi les bactéries pathogènes les plus détectées, les salmonelles, dont on connaît plusieurs centaines de sérotypes différents, responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux ; *Vibrio cholerae* provoque des toxi-infections intestinales aiguës strictement adaptée à l'espèce humaine, après une incubation de 1 à 5 jours, la maladie se manifeste par des vomissements spontanés des diarrhées profuses avec des selles aqueuses et incolores (**OMS, 1978**). En plus de ces germes les eaux usées d'une station d'épuration contiennent des espèces autochtones considérées comme acteurs de biodégradation telle que : *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium* (**Belhamadi, 2011**). Le tableau I-3 résume les bactéries les plus rencontrées dans les eaux usées.

En ce qui concerne les matières en suspension (MES), se sont, en majeure partie, de nature biodégradable, elles donnent à l'eau une apparence trouble, un mauvais goût et une mauvaise odeur (**Baumont et al., 2004**) exprimée en mg/l, elle comporte à la fois des éléments minéraux et organiques (**Lagarette, 2004**). La grande quantité de MES entraîne des difficultés de transport et de distribution des effluents ainsi que le bouchage de système d'irrigation, l'analyse de celle-ci par deux grands paramètres qui sont les DBO₅ et DCO (**Belhamadi, 2011**).

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

Tableau I-3: Bactéries pathogènes des eaux usées (Asano 1998).

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Nombre/Litre	Voies de contamination
<i>Salmonella</i>	Typhoïde, paratyphoïde, Salmonellose.	23 à 80000	Ingestion
<i>Shigella</i>	Dysenterie bacillaire	10 à 10000	Ingestion
<i>E.coli</i>	Gastro-enterite		Ingestion
<i>Yersinia</i>	Gastro-enterite		Ingestion
<i>Campilobacter</i>	Gastro-enterite	37 000	Ingestion
<i>Vibrio</i>	<i>Cholera</i>	100 à 100000	Ingestion
<i>Leptospira</i>	Leptospirose		Cutané/Inhalation/ Ingestion
<i>Legionella</i>	Legionellose		Inhalation
<i>Mycobacterium</i>	Tuberculose		Inhalation

Le terme micropolluant désigne un ensemble de substance qui en raison de leur toxicité, de leur persistance et de leur bioaccumulation. Ils sont de nature à engendrer des nuisances, même lorsqu'elles sont rejetées en faibles quantités. Le cas des métaux lourds que l'on trouve dans les eaux urbaines sont extrêmement nombreux, les plus abondants « de l'ordre de quelque $\mu\text{g/l}$ » sont le fer, le zinc, le cuivre et le plomb. Leurs origines sont multiples, ils proviennent des produits consommés au sens large par la population, de la corrosion des matériaux des réseaux de distributions d'eau et d'assainissement, des eaux pluviales dans le cas de réseau unitaire, des activités de services (santé, automobile) et éventuellement de rejets industriels (Cauchi *et al.*, 1996). Les plus dangereux sont le plomb (Pb), l'arsenic (As), le mercure (Hg), le cadmium (Cd), et le nickel (Ni) (Vilagines, 2003). Néanmoins, l'ensemble de ces métaux est retenu dans les boues des stations d'épuration lors d'un traitement des eaux usées (Faby et Brissaud, 1997). Les éléments les plus fréquents rencontrés dans l'eau usée épurée ou brute comme l'azote, le phosphore, potassium, le zinc, le bore et le soufre sont en quantité appréciable et en proportion très variables (Belaid, 2010). Ils constituent un paramètre de qualité pour la valorisation des eaux usées en agriculture et en gestion de paysage (Hamouda, 2004), ils peuvent aussi présenter un impact négatif sur la santé humaine et la qualité des eaux superficielles (Boumont *et al.*, 2004).

I.1.5 Survie des microorganismes en milieu aquatique

La survie des microorganismes varie selon qu'il s'agit d'une bactérie, d'un virus ou d'un protozoaire. Il n'est pas toujours simple de faire la part de ce qui revient aux propriétés de résistance propres aux microorganismes ou aux facteurs environnementaux. En ce qui concerne les bactéries, on admet par exemple que les salmonelles sont particulièrement résistantes (**Cherif et al., 2001**).

De toutes les bactéries pathogènes, *Yersinia enterocolitica* aurait la plus grande aptitude à survivre, cette espèce a la particularité remarquable d'être pathogène pour l'homme et de se multiplier pourtant à des températures basses à + 4 °C, ce qui pourrait expliquer sa grande stabilité dans les milieux hydriques. Les *E.coli* entéropathogènes ont un faible taux de survie (environ 10 jours) très inférieur à celui des *E.coli* non pathogènes (environ 60 jours) (**Haslay & Leclerc., 1993**). D'une manière générale, les bactéries du système intestinal ne survivent généralement pas dans le milieu aquatique. Elles sont soumises à un stress physiologique et perdent graduellement la capacité de se multiplier sur des milieux différentiels et sélectifs. Ces coliformes stressés peuvent être revivifiés avant qu'ils ne soient identifiés (**Prescott et al., 1999**).

Dans les milieux hydriques, les virus sont évidemment incapables de se multiplier ; ils vont donc tendre à disparaître sous l'effet des facteurs physico-chimiques et biologiques. La température aurait un rôle déterminant ; les basses températures favorisent la survie, les températures élevées inactivent les virus. Le pH alcalin, dû aux composés ammoniacaux favorise également l'inactivation. Plus l'eau est pure et exempte de matière organique, plus la survie serait longue ; c'est dans l'eau distillée ou désionisée que la persistance serait la plus durable (**Debabza, 2004**).

Pour les protozoaires, sous leurs formes kystiques, sont doués d'une résistance exceptionnelle, plus élevée que celle des virus et des bactéries. Les kystes de *Giardia* ne peuvent être détruits par la chloration usuelle et leur élimination ne peut être obtenue qu'après des traitements de coagulation, de sédimentation et de filtration (**Haslay & Leclerc., 1993**).

I.1.6 Risques environnementaux et incidences sur la santé humaine

En Algérie, les eaux usées sont généralement déversées à l'état brut soit directement à la mer soit vers les oueds, ce qui engendrera des problèmes de pollution biologique et chimique. Les oueds véhiculent de fortes charges polluantes et leur capacité de dilution et d'autoépuration ne suffit plus à résorber la charge polluante (**Metiche, 2004**).

Quand les eaux rejets ont une grande charge de DBO₅, ils peuvent provoquer une réduction immédiate de l'oxygène dissous, le manque d'oxygène dissous menace souvent les poissons et d'autres organismes en été, car la solubilité de l'oxygène dans l'eau diminue avec l'augmentation de la température (**Payment et al., 2002**).

Du même, dans le cas où les eaux résiduaires contiennent des graisses ou des huiles, la possibilité de la formation de films qui ont un effet d'intoxication sur les organismes vivants, d'une manière générale plusieurs contenants toxiques présents dans les eaux usées surtout industrielles peuvent détruire la faune des rivières (**Vincent, 2003**), comme l'approvisionnement de la diversité biologique et la perte des espèces (**Mimeche, 2014**).

La mauvaise gestion des déchets et l'absence d'infrastructure d'hygiène et d'assainissement de base présentent l'origine du problème de la santé publique, d'autant plus qu'il constitue le facteur dominant de création de nids de production des vecteurs de menace de la santé comme les moustiques, mouches, cafards, souris et le développement de germes pathogènes (virus, bactéries, parasites) responsable de nombreuses maladies (**Vilagines, 2003**). Ceux la, présentent un risque hydrique directe ou indirecte par un contact avec l'eau contaminée ou par l'intermédiaire d'aliment végétal consommés crus ou d'air contaminé par inhalation des aérosols (**Festy et al., 2003**).

I.1.7 Traitement des eaux usées

La mission de l'assainisseur ne se limite pas uniquement à la mise en place d'un réseau de collecteurs qui déplace les eaux polluées avec leurs nuisances vers l'extérieur de l'agglomération, mais il a également la noble tâche de protéger le milieu récepteur et de préserver la qualité de l'environnement. La station d'épuration (STEP) permet de traiter les eaux polluées de manière à réduire considérablement leur degré d'altération pour qu'elles puissent être réutilisées ou rejetées dans le milieu récepteur sans impacts (**Rabeh, 2012**).

Une station d'épuration comprend en général les étapes de traitement suivantes :

Un **prétraitement** qui a comme objectif principal de séparer de la phase liquide les matières solides grossières, susceptibles de gêner les traitements ultérieurs ou d'endommager les organes mécaniques. Le prétraitement peut comprendre les opérations suivantes : Le dégrillage, le dessablage, déshuilage et le dégraissage (**Rabeh, 2012**).

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Le **dégrillage** a pour objectif de protéger la station de traitement ; consiste à retenir tous les gros déchets susceptibles de provoquer des bouchages dans les différentes unités de l'installation (**Aoubed, 2007**). Au cours du dégrillage ; les eaux usées passent à travers une grille, dont les barreaux, plus ou moins espacés ; retiennent les matières les plus volumineuses et flottantes charriées par l'eau brute (**Metahri, 2012**).

Le **dessablage** a pour but d'extraire les graviers, les sables et les particules minérales de l'effluent à traiter ; de façon à réduire le risque d'abrasion des équipements, mais aussi de diminuer les dépôts et le colmatage dans les conduites. C'est une opération de décantation des particules grenues, les sables sont également évacués dans les centres d'enfouissement technique (**Benalia, 2013**).

Le **déshuilage** est une opération de séparation liquide-liquide alors que le dégraissage est une opération de séparation solide-liquide (à condition que la température de l'eau soit suffisamment basse pour permettre le figeage des graisses) (**Mimeche, 2014**). Ces deux procédés visent à éliminer les graisses qui perturbent les traitements biologiques en limitant la diffusion de l'oxygène dans l'eau et gênant la décantation des boues, comme elles peuvent être source d'odeur nauséabonde et de colmatage des canalisations (**Benalia, 2013**).

Pour le déshuilage on peut citer :

Déshuilage longitudinal : L'ouvrage à une forme rectangulaire à circulation longitudinale, le déshuilage s'effectue dans l'ouvrage par flottation naturelle des gouttelettes d'huile.

Déshuilage flotteurs : Ce sont des appareils utilisés en traitement d'eaux résiduaire contenant des pigments des graisses ou des hydrocarbures ; les techniques de flottation habituelle par pressurisation (mis sous pression en petites bulles) (**Metahri, 2012**).

Concernant l'étape de dégraissage, on distingue deux étapes à savoir :

Dégraissage avant rejet au réseau : Actuellement, avant l'admission des eaux dans le réseau de collecte l'administration sanitaire impose la mise en place de séparateurs à graisses préfabriqués ou construction sur place. Ces appareils sont dimensionnés pour un temps de séjours de 3 à 8 min avec une vitesse ascensionnelle de sédimentation d'environ 15 m/h. Les rendements de rétention des graisses par ces appareils peuvent atteindre 80-90 % en fonction de la température qui doit être inférieure à 30 °C (**Metahri, 2012**).

Dégraissage en prétraitement de station d'épuration : Un dégraissage grossier peut être obtenu soit dans une chambre où des eaux sont tranquillisées dans un bac à cloisons siphonées ; soit le décanteur primaire circulaire muni d'une insufflation d'air favorisant la remontée des particules de graisses et leur agglomération en surface (**Metahri, 2012**).

Le processus principal du **traitement primaire** est la **décantation**, son objectif est d'éliminer les particules dont la densité est supérieure à celle de l'eau par gravité, et permet d'alléger les traitements biologiques et physico-chimiques ; en éliminant les matières en suspension de diamètre inférieur à 0.2 mm (**Faby et Brissand, 1997**).

L'opération consiste à séparer les particules, qui sont en suspension dans la phase aqueuse, en les laissant sédimenter vers le fond d'un bassin sous l'action de la gravitation (**Abouzlam, 2014**). Cette étape permet d'éliminer 70 % environ des matières minérales et organiques en suspension qui se déposent au fond du bassin où elles constituent les boues dites "primaires" (**Rabeh, 2012**). Dans le cas où les particules sont très fines, un ajout de réactifs chimiques spécifiques permet la coagulation-floculation de ces matières par l'augmentation de leur diamètre et donc la décantation effective ; c'est le traitement physico-chimique (**Abouzlam, 2014**).

La **décantation primaire** permet d'éliminer, pour une vitesse ascensionnelle de 1,2 m³/h ; 40 % à 60 % des MES ; soit 10-30 % des virus ; 50-90 % des helminthes et moins de 50 % des kystes de protozoaire (**Faby et Brissand, 1997**).

On parle de **traitement physico-chimique**, la turbidité et la couleur d'une eau sont principalement causées par des particules très petites, dites particules colloïdales, ces particules qui peuvent rester en suspension dans l'eau durant de très longue période, peuvent même traverser un filtre très fin. Par ailleurs, puisque leur concentration est très stable, ces derniers n'ont pas tendance à s'accrocher les unes aux autres. Pour les éliminer, on a recours aux procédés de coagulation et de floculation (**Metahri, 2012**).

La **coagulation** est effectuée par l'ajout d'un coagulant, un produit qui aura pour effet de neutraliser la charge des particules colloïdales (responsables entre autres de la couleur et turbidité) de façon à ce qu'elles ne se repoussent plus les unes des autres (**Lauzin, 2009**).

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Tandis que la **floculation** est le procédé d'agglomération de petites particules entre elles en utilisant un lien physique constitué de longues chaînes de polymères de grand poids moléculaire, les agglomérats forment alors des flocons ou flocs qui peuvent décanter rapidement s'ils sont assez lourds pour vaincre les contraintes d'écoulement qui entravent leur déplacement (**Treguer et al., 2005**), ce phénomène est partiellement réversible, c'est-à-dire qu'il est possible de casser ces flocs en agitant fortement le liquide.

La floculation est suivie par la filtration qui est un procédé physique destinée à clarifier un liquide qui contient des matières solides en suspension en le passant à travers un milieu poreux. L'eau est passée à travers un filtre qui intercepte les petites particules (**Jolliet et al., 2010**). La filtration permet d'obtenir une bonne élimination des bactéries, de la couleur, de la turbidité et indirectement de certains goûts et odeurs (**Metahri, 2012**).

Le **traitement secondaire** également appelé **traitement biologique** a pour objectif d'éliminer les matières organiques ; basé sur la croissance des microorganismes aux dépens des matières organiques « biodégradables » qui constituent pour eux des nutriments. La méthode naturelle la plus efficace de réduction des teneurs en matières organiques des eaux usées est leur dégradation biologique (**Gomella et Guerrée, 1978**). Le principe de ce traitement est de mettre en contact la matière organique contenue dans les eaux usées avec une population bactérienne (**Bassompierre, 2007**). Ce traitement biologique est le procédé qui permet la dégradation des polluants grâce à l'action de microorganismes (**Rejsek, 2002**). Ils vont permettre ainsi d'éliminer les polluants solubles biodégradables et une partie de MES (**Grosclaude, 1999**). Ce processus existe spontanément dans les milieux naturels tels que les eaux superficielles suffisamment aérées. Une multitude d'organismes est associée à cette dégradation selon différents cycles de transformation. Parmi ces organismes, on trouve généralement des bactéries, des algues, des champignons et des protozoaires. Cette microflore, extrêmement riche, peut s'adapter à divers types de polluants qu'elle consomme sous forme de nourriture. Il est ainsi possible d'utiliser systématiquement cette microflore dans un processus contrôlé pour réaliser l'épuration des eaux résiduaires (**Ouali, 2001**). L'épuration biologique peut s'effectuer par voie aérobie ou anaérobie.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Selon les travaux de **Mimeche** en **2014**, les techniques les plus développées au niveau des stations d'épuration urbaines sont des procédés biologiques intensifs. Le principe de ces procédés est de localiser sur des surfaces réduites et d'intensifier les phénomènes de transformation et de destruction des matières organiques que l'on peut observer dans le milieu naturel. Trois grands types de procédés sont utilisés :

Le **lit bactérien** est le premier procédé qui consiste à faire ruisseler les eaux usées, préalablement décantées sur une masse de matériaux poreux ou caverneux qui sert de support aux micro-organismes (bactéries) épurateurs qui forment un feutrage ou un film plus moins épais, sous lequel une couche anaérobie peut se développer la couche aérobie, si son épaisseur est importante.

Les eaux à traiter ruissellent à la surface de la pellicule biologique qui prolifère sur le support, celles-ci renferment une forte concentration de bactéries et de champignons (**Salghi, 2010**).

Le **procédé à bio-disque** qui fait partie des procédés biologiques intensifs, où le support est constitué par des disques parallèles régulièrement espacés sur un axe horizontal, tournant à faible vitesse et immergés sur la moitié de leur hauteur. Ce mouvement cause une oxygénation de la culture pendant la période d'immersion. La température qui doit être comprise entre 15 et 29 °C (**Gommella et Guerree, 1978**). Les micro-organismes se développent et forment un film biologique épurateur à la surface des disques. Les disques étant semi-immergés, leur rotation permet l'oxygénation de la biomasse fixée (**Mimeche, 2014**).

Enfin, le **procédé à boues activées** qui constitue un système en continu dans lequel des microorganismes sont mis en contact avec des eaux usées renfermant des matières biodégradables pendant un temps suffisant. Ces amas biologiques sont maintenus en agitation au sein de l'eau de façon à assurer un contact avec toute la partie de l'effluent. L'oxygénation est fournie en quantités suffisantes par des aérateurs (**Gomella et Guerree, 1978**). Dans le bassin d'aération, en présence d'oxygène, les micro-organismes vont se développer et se reproduire aux dépens des matières biodégradables formant ainsi des flocons décantables, orientés par la suite vers un clarificateur. À la sortie une eau traitée et des boues seront produites, une partie de ces boues sera expédiée vers les organes de traitement de boues et l'autre partie réintroduite dans l'aérateur (**Urios, 2005**).

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Le **lagunage** est un système biologique d'épuration extensive ; qui consiste à déverser les eaux usées dans plusieurs bassins successifs (bassin anaérobie, bassin facultatif, bassin aérobie de faible profondeur ; ou des phénomènes naturels de dégradation font intervenir la biomasse qui transforme la matière organique (**Mimeche, 2014**). La matière polluante ; soustraite aux eaux usées, se retrouve en grande partie dans la végétation et les sédiments accumulés ; et en faible partie dans l'atmosphère sous forme de méthane et d'azote gazeux (**Metahri, 2012**).

Concernant le **traitement tertiaire**, appelé aussi **traitement complémentaire** qui vise l'élimination de la pollution azotée et phosphatée ainsi que la pollution biologique des eaux usées domestique, ayant déjà subi au préalable des traitements primaire et secondaire qui s'avèrent insuffisants pour arriver au bout de ces polluants pour cela les traitements tertiaires s'imposent et deviennent plus que nécessaires ; afin de garantir une meilleure protection des milieux naturels récepteurs. Les traitements tertiaires souvent considérés comme facultatifs ou complémentaires permettent d'affiner ou d'améliorer le traitement secondaire de telles opérations est nécessaire pour assurer une protection complémentaire de l'environnement récepteur ou une réutilisation de l'effluent en agriculture ou en industrie (**Metahri, 2012**). Parmi les étapes qu'on peut trouver dans un traitement tertiaire : la déphosphatation, la dénitrification et la désinfection.

L'élimination du phosphore concerne le **traitement de déphosphatation**, soit physico-chimique soit biologique. La déphosphatation biologique de développement récent est basée sur la succession de phases anaérobies et aérobies au cours du traitement biologique, mais son rendement est en général moins bon que celui de la déphosphatation physico-chimique (**Rejsek, 2002**). Elle consiste à provoquer l'accumulation de phosphore dans les cultures bactériennes des boues. Leur mécanisme est relativement complexe et leur rendement est variable, ce procédé est souvent couplé à une déphosphatation physicochimique pour atteindre les niveaux de rejets requis (**Metahri, 2012**). La déphosphatation physico-chimique en présence de sels minéraux comme le sulfate d'ammonium ou le chlorure ferrique et s'effectuer soit simultanément aux réactions biologiques dans le bassin de boues activées, soit en traitement final (**Urios, 2005**).

Parmi les étapes de traitement tertiaire, on distingue la dénitrification. Une réaction qui nécessite l'oxydation concomitante d'une molécule organique ou minérale et fournira l'énergie nécessaire à la réduction des nitrates en azote N₂ (**Grosclaude, 1999**).

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

Le traitement tertiaire est achevé par une désinfection qui est nécessaire lorsque les eaux usées traitées sont rejetées dans un milieu aquatique à usage balnéaire (plages, zones d'activités nautiques ou touristiques) ou pour diminuer le risque de contamination humaine (**Benalia, 2013**). Le désinfectant choisi doit être efficace pour la plupart des micro-organismes pathogènes, et n'engendre pas la formation de sous-produits indésirables. Il doit être aussi non dangereux pour les humains et pour la vie aquatique (**Rabeh, 2012**). La désinfection des eaux usées peut être souhaitée. Elle est alors obtenue en utilisant une grande variété de méthodes : **chimiques** : par chloration ou ozonation et **Physiques** : par rayonnement ultraviolet ou filtration membranaire. La désinfection au chlore se produit principalement par l'oxydation des parois cellulaires qui conduit à la lyse des cellules bactériennes ou à l'inactivation des sites fonctionnels sur la surface de ces cellules (**EPA Victoria, 2002**). Pour limiter les effets nocifs du chlore sur la vie aquatique, une déchloration peut être appliquée après la désinfection des eaux par le chlore.

Cette technique permet d'éliminer les effets indésirables du chlore résiduel et de certains composés toxiques associés à la chloration. Le dioxyde de soufre (SO₂) est couramment utilisé. D'autres produits chimiques peuvent être utilisés comme le sulfite de sodium (Na₂SO₃), bisulfite de sodium (NaHSO₃), méta bisulfite de sodium (Na₂S₂O₅) et thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃). Le charbon actif peut également être utilisé pour la déchloration (**Asano et al., 2007**). L'ozone est un oxydant. L'efficacité et la rapidité de l'action de ce gaz en solution sur les bactéries et les virus, couplées avec une faible production de produits secondaires indésirables (**Abouzlam, 2014**). Le test de toxicité effectué sur des poissons, des crustacés et des algues n'ont pas permis de mettre en évidence une quelconque toxicité (**Cauchi et al., 1996**). Le traitement par UV utilise des lampes à mesure disposées parallèlement ou perpendiculairement aux flux d'eau, leur rayonnement s'attaque directement aux microorganismes (**Metahri, 2012**). Cette technologie de désinfection présente plusieurs avantages intéressants. Au niveau du traitement, elle est plus efficace que la chloration et la chloration-déchloration pour détruire les virus. De plus, aucun produit secondaire n'est formé (**Abouzlam, 2014**). Concernant la microfiltration est la technologie la plus intéressante commercialement pour la désinfection. Les eaux usées passent à travers les fibres de la membrane, cylindres creux imprégnés de millions de pores microscopiques. Cette technologie élimine efficacement les particules, les algues, les protozoaires et les bactéries (**Abouzlam, 2014**).

I.2 *Moringa oleifera* Lam

I.2.1 Origine et historique

Moringa oleifera Lam est une espèce originaire des régions d'Agra et d'Oudh au nord de l'Inde, et du Pakistan au bord de l'Himalaya. Son utilisation remonte à 2000 ans av. J.-C. au nord de l'Inde, où elle fut d'abord décrite comme un arbre médicinal (**Rajangam et al., 2002**). Son introduction en Afrique de l'Est a eu lieu au début du 20^e siècle par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période. Elle est cultivée aujourd'hui dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde ; on peut rencontrer cette espèce sur trois continents et dans plus de 50 pays tropicaux et subtropicaux (Afrique, Arabie, Sud-Est asiatique, Iles du pacifique, Amérique du Sud). Dans ces pays, elle est utilisée comme plante médicinale et alimentaire (**Theophile, 2014**).

I.2.2 Systématique et nomenclature

Règne : <i>Plantae</i>
Sous Règne : <i>Tracheobionta</i>
Embranchement : <i>Magnoliophyta</i>
Classe : <i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe : <i>Dilleniidae</i>
Ordre : <i>Capparales</i>
Famille : <i>Moringaceae</i>
Genre : <i>Moringa</i>
Espèce : <i>Moringa oleifera lamarck</i> .

Moringa oleifera Lam (synonyme : *Moringa pterygosperma*) appartient à la famille monogénérique des arbustes et arbres de *Moringaceae* qui comprend 13 espèces. 9 d'entre elles sont africaines, les espèces les plus courantes sont : *M.oleifera*, *M.concanensis* et *M.peregrina* (**Laleye et al., 2015**).

« *Moringa* » vient de *muringa* en Malayalam une langue indienne, elle est aussi connue sous diverses appellations en Afrique francophone, le nom le plus général est *nébédày*, nom vraisemblablement dérivé de l'anglais « *Never die* », immortel en référence à sa capacité de résister à la sécheresse, à son aptitude à propager rapidement à partir de semis ou de bouture et à se régénérer même après des coupes très sévères (**Theophile, 2014**).

Dans certains pays du monde elle est référée à « Drumsticktree » à cause de la forme de ses fruits qui ressemblent à une baguette de tambour ou « horse radishtree » à cause du goût de ces feuilles ; « Ben oiltree » ou Ben ailé. Son nom arabe est « Shagarat al rauwaq » qui signifié arbre purificateur, en Pakistan connu sous le nom « sohanjna », arbre magnifique, arbre miracle, benzolive (Anwar *et al.*, 2007).

I.2.3 Description botanique :

M.oleifera est une plante qui a l'aspect d'un arbuste ou petit arbre caduque à croissance rapide (Grubben, 2004), qui peut atteindre 7 à 12 mètres d'hauteur, et dont le tronc est généralement droit (20 à 40 cm de diamètre) atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, bien qu'il puisse parfois atteindre les trois mètres (Laleye *et al.*, 2015).

La **tige** à une écorce de couleur blanchâtre ou brun pâle et lisse, parfois tachetée de marron et son bois tendre et mou ne lui permet pas de résister aux vents agressifs. Les branches poussent de manière désorganisée et la canopée est en forme du parasol.

Les **feuilles** sont caduques alternes et bipennées ou tripennées, elles se développent principalement dans la partie terminale des branches, de 60 cm de long, et elles sont recouvertes d'un duvet gris lorsqu'elles sont jeunes, de plus elles ont un long pétiole avec 8 à 10 paires de pennes composées chacune de deux paires de folioles opposées, plus un à l'apex ; les folioles sont ovales ou en forme d'ellipse, et vert clair (Theophile, 2014).

Les **fleurs** de *Moringa* sont de 2,5 cm de large, bisexués, zygomorphes (Grubben, 2004). Elles sont généralement abondantes et dégagent une odeur agréable. Elles sont blanches ou de couleur crème, avec des points jaunes à la base (figure I.1). Les sépales, au nombre de cinq, sont symétriques et lancéolés. Les cinq pétales sont minces et spatulés, symétriques à l'exception du pétale inférieur, et entourent cinq étamines (Laleye *et al.*, 2015).

Les **fruits** forment des gousses à 3 lobes, déhiscentes et mesurant de 20 à 60 cm de long, qui pendent des branches en forme de baguette de tambour (figure I.2). Chaque gousse contient entre 12 et 35 graines ; à maturité sa couleur est beige à grisâtre. Les graines sont rondes, ailées, avec une coque marron semi-perméable, la coque présente 3 ailes blanches qui s'étendent de la base au sommet.

Le poids moyen d'une graine est de 0,3 g dont 25 % sont représentés par la coque. La production annuelle par arbre est de 15 000 à 25 000 graines (Roy, 2013).

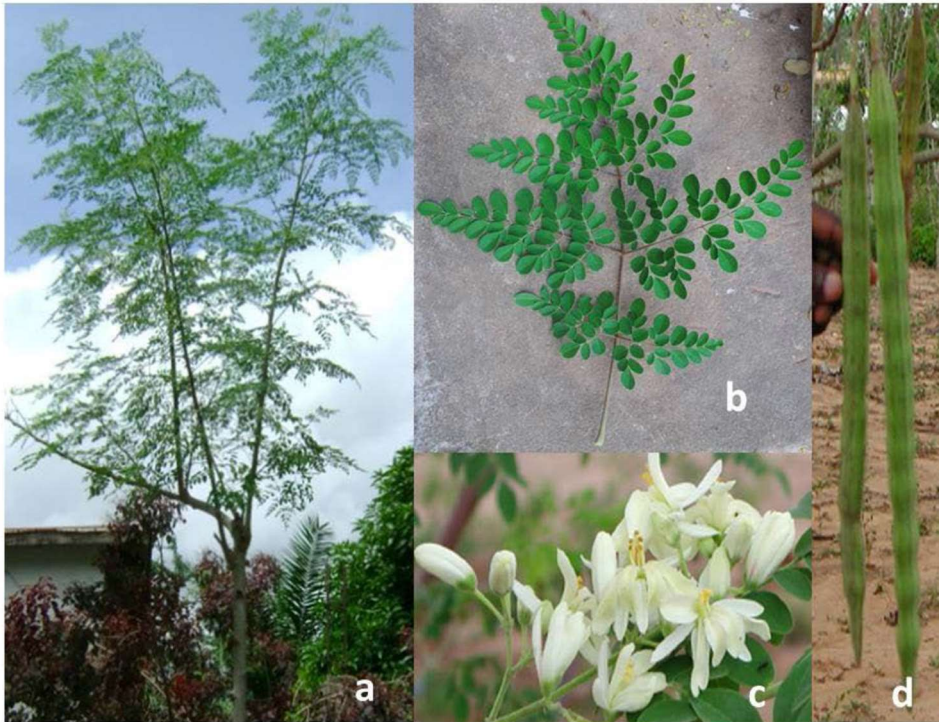


Figure I-1 : Plante *Moringa oleifera* (a : pieds de *Moringa* à côté d'une habitation, b : feuilles composées tripennées ; c : Inflorescence; d : quelques siliques) (Ghebremichael, 2004).



Figure I-2: Gousses des fruits et graines de *M.oleifera* (Ghebremichael, 2004).

I.2.4 Écologie

Moringa oleifera est une plante qui s'adapte aux différents milieux. En Afrique de l'Est, on la trouve jusqu'à 1350 m d'altitude, mais au Zimbabwe un peuplement naturalisé à 2000 m témoigne de son adaptabilité (Grubben, 2004).

Elle est résistante aux conditions arides grâce à ces racines tubéreuses comme le désert. On la trouve à des endroits où la pluviométrie annuelle ne dépasse pas 500 mm (Roy, 2013).

I.2.5 Composition chimique

M.oleifera est riche en composés contenant des sucres simples : rhamnose et un groupe particulier de composés appelés glucosinolates et les isothiocyanates (Amaglo *et al.*, 2010). L'écorce de la tige contient deux alcaloïdes, à savoir la moringine et la moringinine (Kerharo, 1969). Des composés comme la Vanilline, β -sitosterol, le β -sitostenone, l'acide octacosanoïque, hydroxymelline ont été isolés de la tige de *M.oleifera* (Faizi *et al.*, 1994).

Les fleurs contiennent neuf acides aminés, le saccharose, le D-glucose, des traces d'alcaloïdes, de cire, de quercétine et de kaempferat ; la cendre est riche en potassium et en calcium. Les composés antihypertenseurs tels que le thiocarbamate, l'isothiocyanate et les glycosides ont été isolés de la phase acétate de l'extrait éthanolique des gousses de *Moringa* (Anwar *et al.*, 2007). Les feuilles contiennent également certains pigments flavonoïdiques tels que le kaempferol, le rhamnetine, l'isoquercitrine et le kaempferitrin (Laleye *et al.*, 2015), ainsi que les stérols et les terpénoïdes fibres. Les acides phénoliques sont les composés phénoliques prédominants dans l'extrait de feuilles de *M.oleifera*. On y retrouve l'acide caféique, l'acide p -coumarique et l'acide férulique (Roy, 2013). Les feuilles de *M.oleifera* sont une source d'antioxydants naturels. Elles sont riches en caroténoïdes, en vitamines A, B et C, α -tocophérol, Riboflavine, acide nicotinique, acide folique, pyridoxine, β -carotène... etc. (Anwar *et al.*, 2007).

Les graines de *Moringa* contiennent un fort taux d'acide oléique (C18 :1= 67.9 % à 76 %), et une quantité plus faible d'acide linoléique et d'acide α -linoléique. L'acide arachidonique est également présent en quantité assez élevée. L'huile obtenue à partir des graines se caractérise par sa faible teneur en acide gras saturée et sa forte teneur en acide gras mono-insaturée ; il contient également 76 % acide oléique, 1.4 % acide palmitoleique, 7.7 % d'acide Béhénique, 6.2 % acide palmitique et 5.7 % acide stéarique.

L'huile de *Moringa* est donc équivalente sous tous ses aspects à une huile de qualité supérieure telle que l'huile d'olive et présente les mêmes avantages que celle-ci pour la santé (Roy, 2013).

I.2.6 Types d'usages et propriétés

M.oleifera est plus utilisé en pharmacopée que sur le plan alimentaire. Il est aussi utilisé comme fourrage et dans la purification de l'eau (**Atakpama et al., 2014**).

➤ **Usages alimentaires**

Les feuilles, les fruits, les jeunes tiges, les racines et les fleurs sont consommables et se consomment partout dans le monde. Les feuilles peuvent se consommer fraîches ou en poudre (**Broin, 2005**) et même associées aux épices comme le piment. Elles peuvent également être préparées en soupe ou en salade (**Foidl et al., 2001**). Les feuilles auraient une valeur nutritive extrêmement importante pour les personnes de tout âge. La sauce ou la poudre des feuilles serait conseillée chez la femme enceinte, la femme allaitante, les enfants de plus de 6 mois, les personnes âgées, et les personnes vivant avec le VIH. Les jeunes gousses vertes peuvent être consommées bouillies comme des haricots. Les graines sèches peuvent être réduites en poudre et utilisées pour assaisonner les sauces (**Atakpama et al., 2014**). L'écorce excède une gomme blanche à rougeâtre qui a les propriétés d'huile tragacathe employée en tannerie ou en pression de calicots (**Grubben, 2004**).

➤ **Usages industriels**

Les graines de *M.oleifera* contiennent 42 % d'huile, grâce à ces propriétés, cette huile peut être utilisée comme lubrifiant dans la machinerie fine comme l'horlogerie pour sa faible tendance à se détériorer et devenir rance et collante. Elle est aussi utilisée comme huile végétale comestible et huile de cuisson, comme huile de qualité dans l'industrie cosmétique et de parfums (**Theophile, 2014**).

➤ **Usages thérapeutiques et donnée pharmacologique**

En médecine ayurvédique, *M.oleifera* est une plante qui renferme les molécules et les nutriments essentiels pour prévenir, atténuer ou traiter de nombreuses maladies (**Roy, 2013**). Les activités pharmacologiques et les propriétés médicinales convenables à chaque partie de *Moringa* sont les suivants :

I.2.6.1 Activités anti-hypertensives, diurétiques et hypolipidémique

L'existence d'une combinaison des constituants diurétique, hypolipidémique, et hypotensive permet à cette plante d'être à forte utilisation dans le traitement des perturbations cardiovasculaires. La consommation de jus des feuilles de *Moringa* est connue par son effet stabilisant de la pression artérielle, la consommation de deux graines par jour régulerait également l'hypertension artérielle (**Laleye et al., 2015**).

Les racines de *Moringa*, les feuilles, les fleurs, la gomme et la partie infuser des graines possèdent une activité diurétique, qui joue un rôle complémentaire dans la diminution de la pression artérielle (Anwar *et al.*, 2007). L'extrait brut des feuilles à une importance action sur la baisse du taux de cholestérol dans le sérum des rats soumis à un régime riche en graisse, cette action pourrait être attribuée à la présence d'un phytoconstituant bioactif, c'est la β -sitostérol (Laleye *et al.*, 2015).

I.2.6..2 Activités antispasmodique, antiulcéreuse et hépto-protectrice

L'extrait éthanolique des feuilles et ses constituants induit un effet antispasmodique, possiblement via le blocage du canal du calcium, cette activité est due à la présence de 4-[α -(L-rhamnosyloxy) benzyle] -o-méthylethiocarbamate, qui forme la base dans son utilisation traditionnel dans le traitement de diarrhée (Anwar *et al.*, 2007). La fraction méthanolique de l'extrait des feuilles montre une activité antiulcéreuse et un effet hépto-protecteur. Les racines de *Moringa* possèdent aussi une activité hépto-protectrice (Ruckmani *et al.*, 1998).

I.2.6..3 Activité antibactérienne et antifongique

Les racines de *M.oleifera* contiennent un principe actif : la pterygospermine, c'est un agent antibactérien et antifongique puissant (Ruckmani *et al.*, 1998). Cette activité est aussi attribuée à la présence de 4- α -L-rhamnosyloxy benzyle isothiocyanate, ainsi que l'aglycone de désoxy-niazimicine (N-benzyle, thioformate S-éthyle) isolé de la fraction chloroformique de l'extrait de l'écorce de la racine. Des études récentes montrent que le jus frais de feuilles de *M.oleifera* inhibe la croissance des microorganismes tel que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Caceres *et al.*, 1991).

Les feuilles fraîches préparées sous forme de tisane seraient utilisées dans le traitement du paludisme et de la dysenterie amibienne, la consommation des graines préviendrait plusieurs maladies parasitaires et bactériennes, entrainerait l'élimination des vers intestinaux, calmeraient les maux de vente, et les amygdalites (Atakpama *et al.*, 2014).

I.2.6..4 Propriétés anti-inflammatoires

Certains glycosides phénoliques isolés des fruits et des graines de *M.oleifera* agissent sur l'oxyde nitrique (NO), médiateur impliqué dans le processus inflammatoire. Selon les travaux de Sashindhara *et al.*, l'acétate d'aurantiamide et le 1,3 -dibenzyle urée qui sont deux glycosides phénoliques, inhibent de façon significative la production des cytokines inflammatoire (TNF α et IL2) (Roy, 2013).

I.2.6..5 Activité anticancéreuse et antitumorale

Selon les travaux de **Makonnen *et al.***, en **1997**, les feuilles de *M.oleifera* présentent une activité antitumorale. Le *O*-Ethyl-4 -(α -L-rhamnosyloxy) benzyle carbamate ensemble avec 4 (α -L rhamnosyloxy)- benzyle isothiocyanate], niazimicine et le 3-*O*-(6'-*O*-oleoyl- β glucopyranosyl) - β -sitostérol ont été identifiés pour leurs potentialités antitumorales qui a prouvé un effet inhibiteur des antigènes précoces de l'EBV. La niazimicine a été proposée pour être un puissant agent chimiopréventif dans la cancérogenèse chimique (**Anwar *et al.***, 2007).

I.2.6..6 Propriétés antioxydantes

Dans l'organisme, des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont continuellement produites. Elles peuvent être le résultat du métabolisme interne, mais elles sont également produites lors de l'exposition à des particules présentes dans l'environnement. La fumée de cigarette, l'ozone, les radiations, les pesticides, les solvants sont des exemples de cette pollution environnementale. In vivo, les espèces réactives de l'oxygène ont un rôle positif dans la production d'énergie, la phagocytose et la régulation cellulaire.

Cependant, elles sont aussi capables de léser l'ADN, l'ARN, d'affecter le système immunitaire contribuant ainsi au développement de nouvelles pathologies. Les polyphénols contenus dans les feuilles, les fruits, les racines et graines du *M.oleifera* protègent l'organisme de ce stress oxydatif. L'extrait des feuilles présentes différentes variétés d'antioxydants comme l'acide ascorbique, les composés phénoliques et les caroténoïdes (**Roy, 2013**). Le Tableau suivant représente les différents usages thérapeutiques de *M.oleifera*.

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

Tableau I-4: Différentes utilisations de la plante *M. oleifera* en fonction de ses parties

Partie	Usage médical	Auteurs
Racines	<p>Propriétés anticonceptionnelles et anti-inflammatoires.</p> <p>Fortifiant cardiaque, traitent le rhumatisme, les douleurs articulaires, douleurs de reins et la constipation.</p> <p>Propriétés antivirales, bactéricides et analgésiques.</p> <p>Problèmes de la peau : plaies, furoncles, dermatose coryza...</p> <p>Le jus de la racine détruit des tumeurs et guérir des ulcères.</p>	Ruckmani et al., 1998
Fleurs	<p>Les fleurs sont utilisées comme un stimulant, un aphrodisiaque, un abortif, un cholagogue et servent à guérir des inflammations, des maladies musculaires, l'hystérie, des tumeurs et l'agrandissement de la rate.</p> <p>Baissent le cholestérol du sérum, phospholipide, Triglycéride, VLDL, LDL cholestérol à proportion phospholipidique et l'indice thermogénique.</p> <p>Diminuent le profil lipidique du foie, du cœur et de l'aorte chez des lapins hyper cholestérolémiques et accroissent l'excrétion de cholestérol fécal</p>	Mehta et al., 2003
Graines	<p>L'extrait de graine exerce son effet protecteur en diminuant le foie, les peroxydes de lipide, l'anti hypertensive, les composants thiocarbamate et isothiocyanate glycosides ont été isolés de la graine.</p> <p>L'extrait éthanoïque de gousses de <i>Moringa</i> associé aux graines constitue un astringent et sert à traiter la diarrhée et la dysenterie.</p>	Lalas et Tsaknis, 2002

➤ **Utilisation cosmétique**

L'huile extraite à partir des graines de *M. oleifera* était déjà utilisée en Égypte ancienne. Cette huile également nommée « huile de Ben » est un produit cosmétique à part entière. Elle est prisée pour ses qualités émoullientes et sa grande stabilité (Kleiman *et al.*, 2008). Les graines de cette plante renferment une fraction protéique aux propriétés spécifiques pour la peau et les cheveux (Roy, 2013).

➤ **Traitement et purification de l'eau par les graines de *M. oleifera***

L'utilisation d'un coagulant naturel dans la purification d'eau est connue dans les pays d'Asie et d'Afrique, ces polymères organiques ont été utilisés pendant des décennies dans la réduction de la turbidité d'eau (Hegazy *et al.*, 2011).

En Soudan l'extrait de la poudre des graines a été utilisé à la place d'aluminium par les femmes villageoises pour le traitement d'eau de la rivière Nil, en raison des craintes traditionnelles concernant les effets de sulfate d'aluminium qui provoque des troubles gastro-intestinaux, et la maladie d'Alzheimer (Anwar *et al.*, 2007).

Selon Foidl *et al.*, (2001), la poudre des graines de *M. oleifera* constitue un flocculant naturel qui peut clarifier les eaux troubles, dissipant de ce fait 99 % des matières colloïdales. Il a démontré également que ce mélange de graines constitue un coagulant du premier ordre pour le traitement de l'eau des rivières possédant un haut niveau de matériel solide en suspension. Il est connu que la graine est constituée des polymères organiques naturels. Les ingrédients actifs sont des protéines dimériques avec un poids moléculaire d'environ 1300 Da, et un point isoélectrique entre 10 et 11. La poudre de protéine est stable et totalement soluble dans l'eau (Anwar *et al.*, 2007).

Le mécanisme de la coagulation de la protéine de *M.oleifera* est expliqué par différentes méthodes parmi eux : l'adsorption et la neutralisation des charges et les ponts interparticulaires à cause de l'abondance des charges positives de cette protéine (poly-électrolytes cationiques). Les graines possèdent aussi une activité antimicrobienne Broin *et al.*, (2002) ont reportés qu'une protéine recombinante est capable de flocculer les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Ghebremichael, 2004).

Chapitre II

Matériaux et Méthodes

II.1 Introduction

Le but de notre travail est d'évaluer par approche sur colonne les performances épuratoires des matériaux filtrants locaux (mélange sable et graine de *M.oleifera L*) vis-à-vis de l'élimination de quelques polluants microbiologiques et physicochimiques contenus dans les eaux usées domestiques de l'Oued de Bechar. Le système d'épuration adopté est l'infiltration-percolation sur des colonnes en PVC de 1 mètre de longueur et de 11 centimètres de diamètre, remplies de sables de la région d'Igli et les graines de *M.oleifera* de la wilaya d'Adrar. L'épuration est assurée par le passage des eaux usées, à travers le massif filtrant. La filtration a été suivie par une étude confirmative et comparative, afin d'affirmer ou confirmer l'action des graines de *M.oleifera*, par l'isolement des germes pathogènes isolés à partir des eaux usées ainsi que l'étude de l'activité antibactérienne de différents extraits issus des graines de *M.oleifera*, enfin le rôle d'utilisation de ces graines dans la réduction, voire l'élimination des bactéries pathogènes des eaux usées, et d'ouvrir une porte aux futures réutilisations de ces eaux surtout dans le domaine de l'agriculture.

II.2 Échantillonnage et méthode d'étude

II.2.1 Échantillonnage

II.2.1.1 Site de prélèvement des graines de *Moringa oleifera L*

Cet arbre spectaculaire *M.oleifera* (**figure II-1**) pousse principalement dans le sud-ouest Algérie dans la wilaya de Bechar (Beni Abbés, à Tebelbala) et dans la wilaya d'Adrar.

Moringa est un arbre pérenne, à croissance rapide, qui peut atteindre 7 à 12 mètres de hauteur et dont le tronc mesure 20 à 40 cm de diamètre. Le tronc est généralement droit, mais il est parfois très peu développé. En général, il atteint 1,5 à 2 mètres de haut avant de se ramifier, bien qu'il puisse parfois atteindre les 3 mètres.

Les graines utilisées dans notre étude sont choisies et prévenues à partir D'istislah Moulay El Nadjam à 120 km au sud de la ville d'Adrar et à une altitude de 390 m, dans la Daïra et la commune de Zaouiet Kounta (**Reggani, 2010**). L'échantillonnage a été fait entre 2016 et 2018.

Elles ont été stockées et séchées à la température ambiante de la chambre et à l'abri de la lumière. Ensuite, et comme il est recommandé par les travaux de **Lo Monaco et al., (2004)**, elles sont broyées par un broyeur électrique pour obtenir une poudre utilisée dans le dispositif de filtration.

Chapitre II
Matériels et Méthodes



Figure II-1 : *Moringa oleifera* et ses graines (Original, 2020)

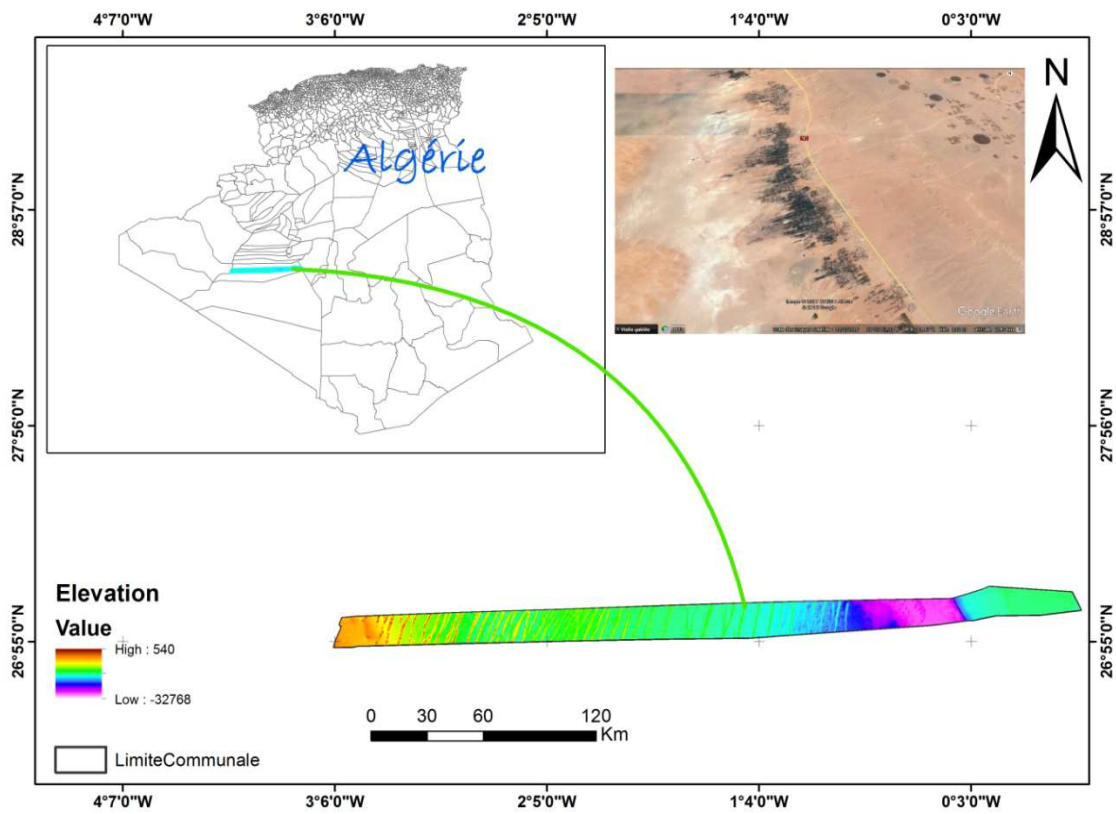


Figure II-2: Site de prélèvement de graines de *M.oleifera* (Original, 2020).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Une partie des graines broyées a subi un traitement chimique pour obtenir de la poudre dégraissée en utilisant le Soxhlet. C'est la technique qui permet d'avoir les meilleurs rendements des huiles parmi les techniques classiques (De Castro & Garcia-Ayuso, 1998). La poudre dégraissée est récupérée et sera utilisée dans le système de filtration. Le dégraissage a pour but de valoriser l'huile des graines et de minimiser la turbidité de l'eau traitée.

II.2.2 Méthodes d'études

II.2.2.1 Site de prélèvement de sable

La zone sur laquelle porte cette étude correspond aux dunes de sable d'Igli, le territoire de la commune d'Igli (Figure II-2) est situé au centre de la wilaya de Béchar, dans le Sud-ouest algérien. Son chef-lieu ($30^{\circ}26' 44.22 \gg N$ $02^{\circ}16' 36.76 \gg O$) avec une altitude de 498 m est situé à 153 km au sud de Béchar. Wilaya située à 1200 Km de la capitale Alger au Sud-ouest algérien.

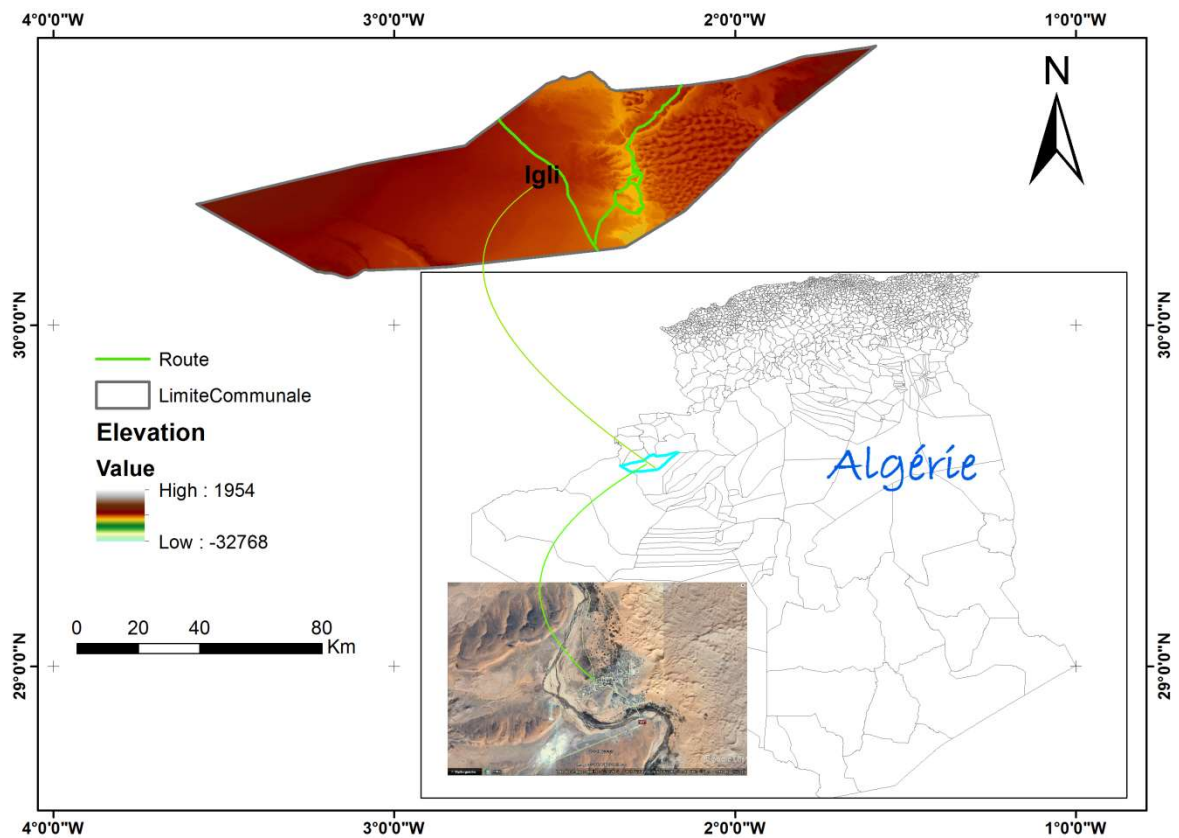


Figure II-3: Site de prélèvement de sable (Original, 2020).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II.2.2..2 Site de prélèvement des eaux usées

Les échantillons sont prélevés le 15/03/2016 au 26/04/2018 au niveau du collecteur principal des eaux usées d'Oued de Béchar. C'est le point de rencontre des eaux usées urbain de toute la ville (à côté du pont sud de Béchar Djedid, sortie sud de ville de Béchar). Comme il est indiqué dans la **figure II-4**, qui rassemble la totalité des effluents bruts de la ville de Bechar. Ces échantillons ont subi un traitement de filtration sur les différents filtres élaborés avec des concentrations de 1, 2 et 3 % en *M.oleifera*.

En vue du changement de climat de la wilaya dans les derniers mois hivernaux (augmentation de pluie qui change à son rôle la composition des eaux usées surtout après la crue de l'OUED), des échantillons ont été prélevés du 11/02/2017 jusqu'au 15/04/2018 d'une façon hebdomadaire, afin d'augmenter la fiabilité de l'échantillonnage.

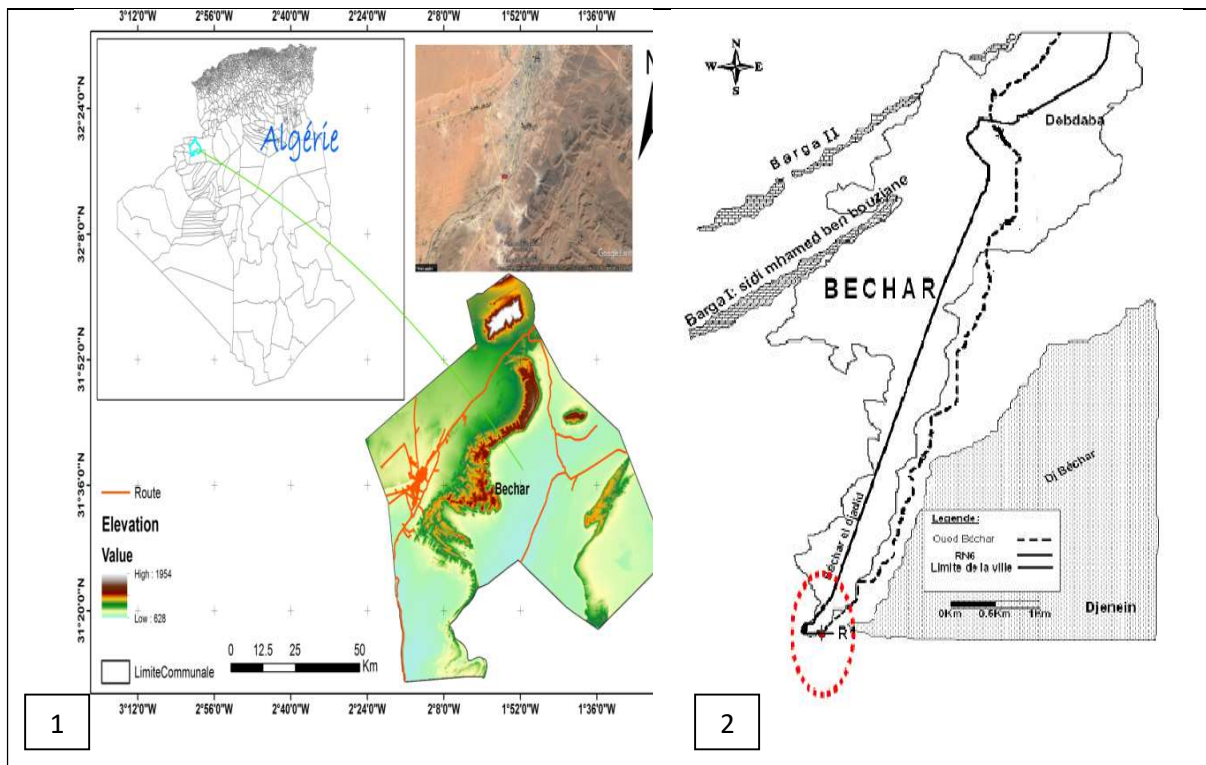


Figure II-4 : Cartes géographiques de site de prélèvement des eaux usées (1) : carte originale ; (2) : (Maazouzi *et al.*, 2011)

II.2.3 Contrôle du milieu poreux

II.2.3.1 Analyse granulométrique (NF P94-056)

Une série de tamis est montée dans l'ordre décroissant de l'ouverture des mailles du haut vers le bas selon les dimensions suivantes en μm : **400- 315 -250-160-125 et 100**, de telle sorte que les tamis sont emboîtés les uns dans les autres, le fond est ensuite ajouté. Une masse de 500 g de sable est versée sur la colonne qui est agitée mécaniquement.

Les tamis sont repris un à un en commençant par celui qui a eu la plus grande ouverture, en adaptant un fond et un couvercle, chaque tamis est agité manuellement jusqu'à ce que le refus du tamis ne soit pas varié.

Le refus cumulé pour le tamis considéré était égal à la quantité des grains recueillie sur celui-ci, plus le refus recueilli, les tamis de dimension supérieure, pour cela dans un récipient, le refus du premier tamis est versé et pesé, le refus du tamis suivant est rajouté dans le récipient est pesé, et ainsi de suite.

Tamisât : Le tamisât (passant) désigne la quantité totale des grains qui traverse un tamis.

Refus : est la quantité des graines retenues par un tamis donné
Calcul de refus en pourcentage R % :

$$\begin{aligned} \text{R \%} : \text{Pt} & \longrightarrow 100 \% \\ \text{Refus: R} & \longrightarrow \text{R \%} \end{aligned}$$

$$\boxed{\text{R \%} = (\text{refus R} * 100) / \text{pt}}$$

Calcul de tamisât en pourcentage T % :

$$\begin{aligned} \text{T \%} : \text{Pt} & \longrightarrow 100 \% \\ \text{Tamisât} & \longrightarrow \text{T \%} \end{aligned}$$

$$\boxed{\text{T \%} = (\text{tamisât} * 100) / \text{Pt}}$$

Avec Pt : poids total.

II.2.3..2 Détermination de la masse volumique de sable

• **Masse volumique absolue (NF P 18-555)**

C'est la masse de l'unité de volume absolu d'un corps, c'est-à-dire de la matière qui constitue ce corps, sans tenir compte du volume des vides pouvant exister dans ou entre les grains. Pour notre étude nous avons utilisé la méthode de l'éprouvette graduée. Cette méthode est très simple et rapide, elle utilise du matériel très courant du laboratoire suivant ce protocole.

- Remplir une éprouvette graduée avec un volume V_1 d'eau distillée.
- Peser un échantillon sec m de sable 500 g et l'introduire à l'éprouvette en prenant à éliminer toutes les bulles d'air ; le liquide monte dans l'éprouvette.

Après sédimentation, lire le nouveau volume V_2 .

• **Masse volumique apparente (NF P 18-555)**

C'est la masse de l'unité de volume apparent d'un corps, cette fois on tient compte du volume des vides qui pouvant exister dans ou entre les grains. C'est la masse de l'unité de volume apparent d'un corps. Le processus de l'essai a été effectué selon les étapes suivantes :

On remplit un récipient dont on connaît le volume, en prenant de grandes précautions pour éviter les phénomènes parasites provoqués par le tassement. On pèse ensuite l'échantillon, en prenant soin de déduire la masse du récipient. La masse de l'échantillon est divisée par le volume du récipient pour donner la masse volumique apparente du matériau.

$$M_{\text{vap}} = M/V$$

M_{vap} = masse volumique apparente en g/cm^3

M = masse du matériau étudié en g

V = volume du récipient en cm^3 .

II.2.3..3 L'équivalent de sable (NF 18-598)

L'équivalent de sable (ES) permettant de mesurer le degré de propreté d'un sable ; l'essai est effectué sur la fraction d'un granulat passant au tamis à maille carrée de 5 mm.

Pour déceler la présence des éléments fins dans le sable, et d'en caractériser l'importance par une valeur numérique, un essai est couramment pratiqué : la mesure de l'équivalent de sable. Cet essai consiste à faire flocculer, dans des conditions normalisées de temps et d'agitation, les impuretés du sable.

Une masse sèche de $120 \text{ g} \pm 1 \text{ g}$ de sable (dont les éléments sont inférieurs à 5 mm) est versé soigneusement à l'aide de l'entonnoir dans une éprouvette cylindrique contenant la solution de lavage (eau distillée).

La base de l'éprouvette contenant le sable et la solution de lavage est frappée fortement à plusieurs reprises sur la paume de la main, le mélange est ensuite laissé reposer dix minutes. À la fin de cette période l'éprouvette est bouchée à l'aide du bouchon en caoutchouc, fixée sur un agitateur électrique et subi $90 \text{ cycles} \pm 1 \text{ cycle}$ en $30 \text{ s} \pm 1 \text{ s}$.

L'éprouvette est remise en position verticale, le bouchon de caoutchouc est ôté et rincé au-dessus de l'éprouvette avec la solution de lavage. Les parois de l'éprouvette sont aussi rincées (**Figure II-5**). Lorsque le niveau du liquide atteint le trait repéré supérieur, l'écoulement s'est arrêté. L'équivalent est donné par la formule :

$$ES = 100 \times (h_2/h_1)$$

h₁: niveau supérieur du flocculat par rapport au fond de l'éprouvette.

h₂: 43 (hauteur l'éprouvette) - $h \gg 2$

h'₂ : hauteur jusqu'au sable sédimenté.

Si :

ES < 60 sables argileux inutilisés.

60 < ES < 70 sables légèrement argileux : admissible

70 < ES < 80 sables propres

ES > 80 sable très propres : absence presque totale de fines argileuses.

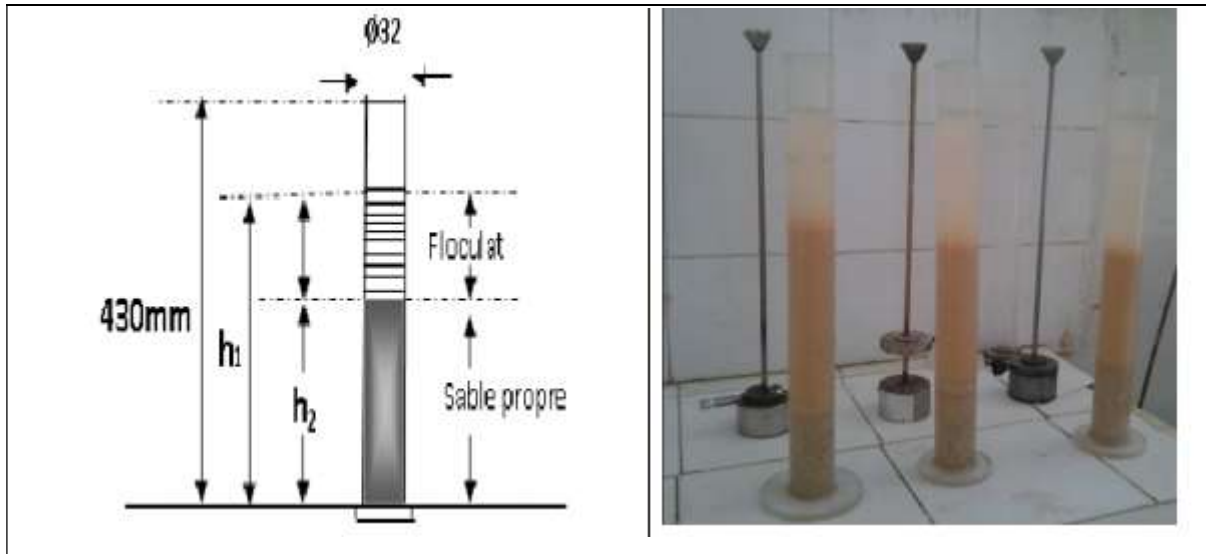


Figure II-5 : Détermination d'équivalent de sable

II.2.4 Traitement chimique par une solution de 10 % HCl

La réhabilitation de sable consiste simplement à traiter le sable usé ou souillé et à réutiliser pour la filtration. Il existe différentes méthodes de réhabilitation du sable. Certaines méthodes sont in situ et certaines sont ex-situ. Les méthodes ex-situ sont principalement physiques ou mécaniques. Ces méthodes nécessitent beaucoup de temps et sont coûteuses, tandis que les méthodes in situ sont des méthodes chimiques. Les plus simples et les plus rentables qui impliquent le nettoyage chimique de supports filtrants.

Dans le traitement chimique, différents biocides disponibles sont le chlore, l'ozone, le peroxyde d'hydrogène et le formaldéhyde. Le chlore est le moins coûteux et le plus efficace de tous les biocides chimiques (**Bhosale et al., 2013**).

Une quantité suffisante de sable pour le montage des filtres est versée dans un bac plus au moins grand, la solution de HCl à 10 % est utilisée pour laver ce milieu poreux environ 10 à 15 min. Plusieurs rinçages par l'eau distillée doivent être effectués pour permettre l'élimination du HCl de manière définitive. Le sable sera ensuite séché soit à l'air libre ou dans une étuve à une température convenable au séchage.

II.2.5 Analyse microbiologique des milieux poreux

Afin d'estimer la qualité microbiologique de sable et les graines, 5 grammes de chaque support ont été dilués dans 45 mL d'eau physiologique stérile dans des flacons stériles correspondant à la dilution au 1/10. Les germes recherchés dans les milieux poreux sont représentés dans le **Tableau II-1**.

Tableau II-1 : Germes recherchés dans les milieux poreux

	Température d'incubation	Milieu de culture	Technique
FAMT	30 C °	PCA	En masse
Coliformes	37 C °	Macconky	En masse
Streptocoques	37 C °	Slanetz	En masse
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteur	44 C °	VF	Ensemencement en tube
Moisissures	27 C °	PDA acidifié	En surface

II.3 Traitement des eaux usées par les filtres élaborés

II.3.1 Présentation de dispositif de filtration

Le dispositif de filtration a été construit par des tuyaux en PVC à 11 cm de diamètre et 100 cm de longueur, ils sont fermés en bas et mener d'un robinet qui facilite la récupération de l'eau analysée (**figures II-6 et II-7**). Chaque filtre est rempli dans l'ordre par 1 Kg de gravier grossier (8/15) suivi d'un Kg de gravier moins grossier (3/8).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Dans un premier lieu, nous avons préparé quatre filtres. Un avec du sable à 100 % et les autres avec des mélanges sable/poudre de graines de *M.oleifera* à différentes proportions de 1 %, 2 % et 3 %. Chaque mélange est bien homogénéisé à l'aide d'un malaxeur à vitesse normale pendant 10 min. Dans un second lieu, nous avons choisi le filtre à 1 % de graines de *M.oleifera* dégraissées et non dégraissés (**Figure II-8**).

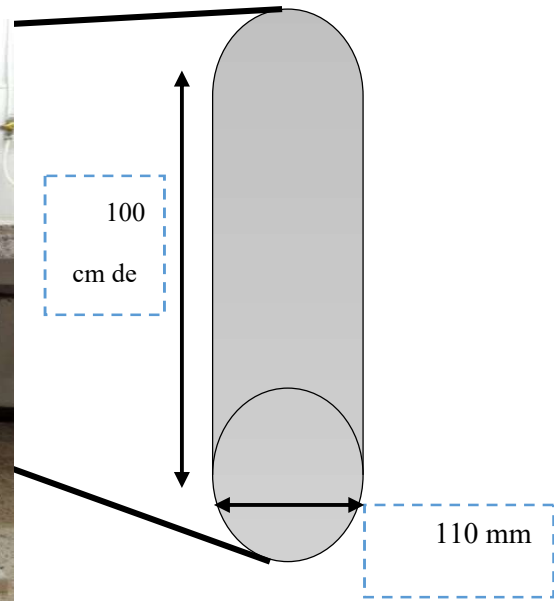


Figure II-6 : Dispositif de filtration.

Figure II-7 : Schéma descriptif de l'unité de filtration.

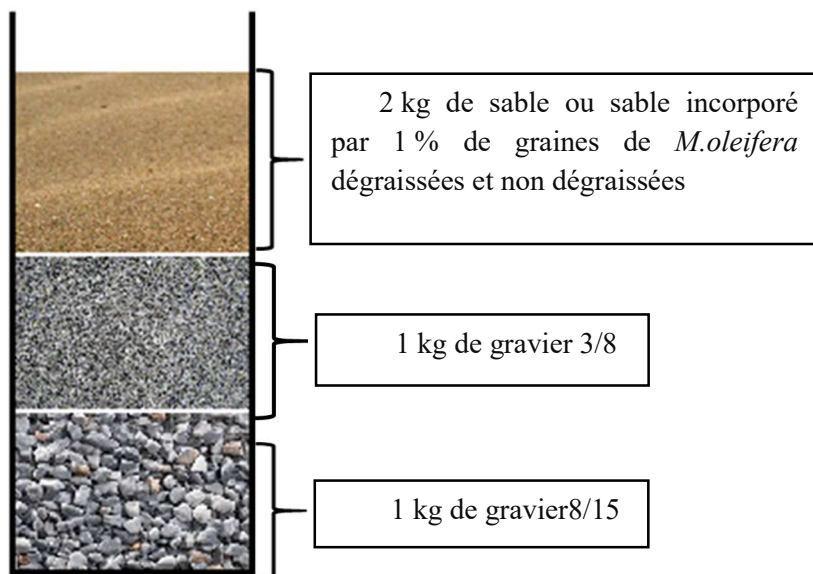


Figure II-8: Montage de dispositif (différents matériaux consécutifs).

II.3.2 Analyse microbiologique des eaux usées avant et après traitement

Un examen microbiologique ne peut être valablement interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé (**Rodier et al., 2009**). Pour ceci, on a veillé à prélever en respectant les conditions de stérilité, où des flacons de prélèvement en verre ont été nettoyés, stérilisés à l'étuve ; ils n'étaient ouverts qu'au moment de récupération des eaux traitées à partir des filtres.

II.3.2..1 Recherche et dénombrement de la FAMT (ISO 6222 - 1999)

La recherche et le dénombrement de FAMT ont été réalisés selon la norme ISO 6222 - 1999. La réalisation des dilutions décimales est plus que nécessaire pour diminuer la charge microbienne et facilite le comptage sur milieu allant de 10^{-1} jusqu' à 10^{-8} pour l'eau brute et celle traitée par le sable et de 10^{-1} jusqu'à 10^{-5} pour les autres types des eaux filtrées.

À partir de ces différentes dilutions, 1 ml d'inoculum est introduit dans une boîte de pétri vide afin de faire un ensemencement en masse, ensuite ce dernier est complété par environ 20 ml de milieu TGEA, des mouvements circulaires en forme « 8 » pour permettre l'homogénéisation de l'inoculum avec la gélose en surfusion sachant que chaque dilution passe par deux essais.

L'incubation a été effectuée à deux températures différentes afin de cibler à la fois les microorganismes à tendance psychrophile à 22 °C, et les mésophiles à 30°C.

Le comptage des colonies se fait sur les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies, et la lecture a été effectuée après 24 h, 48 h et 72 h. FAMT se présente sous forme de colonies lenticulaires poussent en masse, le résultat a été exprimé par millilitre d'eau à analyser 22 °C et 30 °C.

II.3.2..2 Dénombrement et recherche des coliformes totaux, thermo tolérants (NF ISO 21528-1) et *Escherichia coli* (NF EN ISO 9308-2)

Selon la norme NF ISO 21528-1 : la détection et le dénombrement d'enterobactériaceae se font par l'utilisation de la technique NPP à trois tubes par série (**Delarras , 2014**). Suite à la NF EN ISO 9308-2 pour le dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes, l'examen bactériologie de l'eau en milieu de culture liquide commence par une épreuve de présomption. Elle consiste à ensemercer avec l'échantillon d'eau à analyser un milieu de culture liquide convenable ; des tubes qui sont ensuite mis à incuber et examiner après un délai approprié.

L'épreuve est dite de « présomption » parce que la réaction observée est parfois due à la présence d'un autre germe ou ensemble de germes. La réaction ne donne donc qu'une présomption de la présence de coliformes (**Coulibaly, 2005**).

Le test présentif est généralement consacré pour la recherche des coliformes totaux. La technique consiste à inoculer neuf tubes de bouillon BCPL, dont trois tubes contiennent 10 ml de ce bouillon double concentré suivi par six autres tubes contenant dix ml de bouillon BCPL simple concentré.

Respectivement l'inoculum doit être 10 ml pour les tubes doubles concentrés et 1 ml pour les trois premiers simples concentrés puis 0.1 ml dans les derniers tubes de BCPL.

Les tubes seront incubés à 37 ° C pendant 24 h. Les résultats positifs présentent un virage de couleur vers le jaune avec un dégagement de gaz dans la cloche de Durham.

Les tubes présentant à la fois un virage de couleur et un dégagement de gaz seront l'objet d'une confirmation sur milieu Schubert muni des cloches de durahm à l'aide d'une anse de platine, puis incubés ses tubes à une température spécifique pour la recherche des coliformes thermotolerants, à 44 ° C pendant 24 h.

- **Recherche d'*Escherichia coli***

À partir des tubes confirmés des coliformes thermotolerants, un ensemencement par l'anse de platine est effectué dans l'eau péptonée exempte d'indole, l'incubation de ce dernier a été effectuée à 44 °C / 24 h.

La présence de l'indole, après ces heures a été mise en évidence par l'addition de quelques gouttes de réactif de Kovacs, l'apparition d'une couleur rouge vif sous forme d'un anneau, indique que l'indole est positif, ce qui sépare les bactéries entériques comme *E.coli* et *Enterobacter* (**Prescott et al., 1999**).

II.3.2..3 Recherche des streptocoques groupe D (NF EN ISO 7899-1)

Les streptocoques D sont utilisés depuis longtemps comme indicateurs de pollution fécale dans les eaux. Leurs recherche et dénombrement peut se faire de la même manière que pour les coliformes en milieu liquide, il fait appel à deux tests consécutifs : présentif en milieu de Rothe, dont l'agent sélectif est l'azide de sodium, et un test confirmatif en milieu Litsky, dont l'agent sélectif est la forte concentration en azide de sodium et présence d'éthyl violet (**Rodier et al., 2009**).

De même de la colimétrie, la détermination de streptocoques fécaux comprend une première étape d'analyse présumée et une seconde étape de confirmation comme il est décrit dans la **NF EN ISO 7899-1**.

Le test présomptif a été réalisé dans le milieu Roth (bouillon à l'azide de sodium), répartie en trois séries de 3 tubes, les premiers contenant le milieu Roth double concentré ont étéensemencés par 10 ml d'eau à analyser, tandis que le milieu Roth simple concentré a été inoculé par 1 ml d'eau à analyser pour une seule série et par 0.1 ml pour la dernière série.

L'incubation des neuf tubes a été effectuée à 37 °C pendant 24h, les résultats positifs de ce test doivent contenir un trouble au niveau des tubes résultants du développement bactérien.

Après 24 h d'incubation, le test confirmatif a été effectué sur milieu Eva litsky à partir des tubes contenant du trouble, le volume inoculé, doit être 1 ml, et l'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 24 h. Les résultats positifs de cette confirmation doivent présenter une pastille violette au fond des tubes accompagnés d'un trouble.

Pour l'identification des souches isolées, un ensemencement du milieu Slanetz, à partir d'un tube Litsky positif doit être effectué. Les colonies isolées sont soumises à une identification préliminaire en réalisant les tests suivants :

- ✓ Réalisation de test catalase à partir d'une colonie de milieu Slanetz : les streptocoques sont catalase négative.
- ✓ Réalisation d'un examen à l'état frais pour examiner la morphologie et la mobilité : des cocci, immobiles. Ainsi la coloration de Gram : des cocci en chainettes à Gram positif.
- ✓ Test d'esculinase réalisé par ensemencement des tubes inclinés du milieu gélose Esculine : le résultat positif se révèle par noircissement de tube qui est dû à la dégradation de l'esculine, les streptocoques D sont esculinase positif.
- ✓ Étude de l'hémolyse s'effectue sur le milieu gélose au sang frais et à l'azide.

II.3.2.4 Recherche et dénombrement de CSR (NF T90-415 (1985))

La recherche est employée en tube par incorporation de gélose en tube profonde selon la norme NF T90-415 (1985) qui permet la recherche et le dénombrement des spores de bactérie anaérobie sulfitoréductrice et des *Clostridium* sulfite réducteur (Delarras, 2014).

La recherche et le dénombrement des spores de *Clostridium* sulfite-réducteurs se font selon les étapes suivantes :

- Porter dans deux tubes 10 ml de la dilution (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) de l'eau à analyser avec deux essais par dilution.
- Élaborer pour les deux tubes un chauffage à 80 °C, pendant 10 minutes, puis un refroidissement brutal sous l'eau de robinet (choc thermique qui a pour but d'éliminer la forme végétative et reste seulement la forme sporulée des bactéries Sulfito-Réducteurs).
- Compléter ensuite chacun des tubes quelque soit destiner au dénombrement de la forme végétative ou à la forme sporulée jusqu'au bout de gélose VF (VF+ alun de fer et sulfite de sodium) et mélanger avec précaution. Laisser solidifier, puis incubé à 37 °C pendant 48 heures avec une première lecture après 16 heures d'incubation.
- Après la période d'incubation sera considérée comme positif, les tubes contenant de grosses colonies noires, qui correspondent au *Clostridium* sulfito-réducteur. Le résultat est exprimé par le nombre des *Clostridium* sulfito-réducteurs par 1 ml de l'échantillon à analyser.

L'incubation des tubes a été effectuée à 37 °C pendant 24 à 48 heures. La présence des colonies entourées d'un halo noir provient de spores de bactéries anaérobies sulfitoréductrices qui se sont développées (Delarras, 2014).

II.3.2..5 Recherche de *Vibrio cholerea* (Rodier et al., 2009)

La culture des *Vibrio cholerea* est aisée dans les milieux nutritifs usuels, mais sa croissance à un pH alcalin et son halotolérance sont préférées pour isoler de milieux contaminés. La membrane externe supporte l'antigène O, dont on connaît de nombreux types sérologiques (Flandrois, 1997).

Cette méthode comporte les étapes suivantes :

- ✓ Un premier enrichissement dans l'eau peptonée tamponnée dix fois concentrée à 37 °C pendant 6h.
- ✓ Un deuxième enrichissement sélectif dans l'eau peptonée alcalin simple concentrée à 37 °C pendant 6h.
- ✓ Un isolement par ensemencement sur un milieu sélectif TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose) à partir du bouillon d'enrichissement à 37 °C pendant 24 à 48 h (Lalami et al., 2014). Sur ce dernier, les souches qui utilisent le saccharose forment des colonies jaunes alors que les autres sont de couleurs vertes (AfiAzandegbe, 2010). Les colonies obtenues sur la gélose ont un diamètre de 2 à 4 mm, elles sont convexes, lisses, circulaires, à contour régulier (Quilici et Robert-Pillot, 2011).

✓ L'aspect des colonies isolées sur le milieu sélectif peut nous orienter vers quelques espèces reconnues.

Pour l'identification, un examen microscopique à l'état frais ou coloration au bleu de méthylène doit être effectué pour examiner la morphologie des bactéries : forme incurvée, mobilité. Ceci est suivi par une coloration de Gram afin de montrer que les souches suspectes sont des bacilles à Gram négatif. Le test d'oxydase est nécessaire pour prouver que les souches sont oxydase positive. L'identification par microméthode est essentielle pour notre étude, nous avons utilisé la galerie API 20E.

II.3.2..6 Recherche de *Salmonella* et *Shigella* (NF ISO 6579)

Ces germes ont tendance à supplanter les germes pathogènes, qui disparaissent rapidement. La recherche de ces germes s'effectue en plusieurs étapes :

La recherche de *Salmonella* et *Shigella* a été réalisée selon la norme **NF ISO 6579**, et elle s'effectue en trois étapes.

- Dans un milieu non sélectif qui est l'eau peptonée tomponée « **NF ISO 6579 (2002)** et à son amendement **NF 6579/ AI (2007)** » (**Delarras, 2014**), ce dernier a étéensemencé par 1 ml d'eau traitée à analyser puis incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures pour une étape de pré-enrichissement.

- On prélève 1 ml de la culture de pré-enrichissement et on le met dans le bouillon d'enrichissement sélectif contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence aux germes recherchés, ce milieu est appelé « Sélénite-cystine », puis incubé pendant 24 heures à 37 °C, le bouillon présente une coloration rouge-orangé après la période d'incubation.

L'étape d'isolement a été réalisée sur deux milieux sélectifs : gélose Hektoen accompagnée du milieu « SS ». Ces milieux sont ensemencés en stries à l'aide d'une anse de plaine, à partir du même bouillon d'enrichissement. L'incubation des boîtes a été effectuée à 37 °C pendant 24 heures.

Tout type de colonies dont l'aspect est caractéristique ou douteux doit être soumis à une confirmation, puis identification en procédant aux différents tests cités précédemment. Ces aspects sont les suivants :

- Sur SS : des colonies incolores à centre noir : présence de *Salmonella* à H₂S⁺
- Sur Hektoen : des colonies bleus verts à centre noir : présence de *Salmonella*.

II.3.2..7 Recherche de *Staphylococcus aureus* (NF EN ISO 6888-3 (2003))

La Norme **NF EN ISO 6888-3 (2003)** décrit une méthode horizontale pour le dénombrement des *Staphylocoque* à coagulase positive (*S.aureus* et autre espèce), et plus précisément pour le dénombrement des faibles nombres (**Delarras, 2014**). Elle comporta les étapes suivantes :

✓ Un enrichissement est basé sur l'utilisation d'un milieu sélectif Giolliti et Cantoni, par inoculation de 1 ml d'eau brute, incubé à 37 °C pendant 24h.

✓ Un isolement a été effectué par ensemencement en strie à partir de milieu d'enrichissement, en milieu Chapman, un milieu sélectif des bactéries tolérant des fortes teneurs en NaCl, et la différenciation de *Staphylococcus aureus* par la mise en évidence de la dégradation du mannitol et l'élaboration fréquente d'un pigment (**Bourgeois et Leveau, 1996**).

✓ Un repiquage sur un bouillon pour éprouver à la staphylo-coagulase (bouillon cœur cervelle), l'incubation a été effectuée à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

✓ En mélangeant dans un tube à hémolyse stérile 0.5 ml de plasma dissout et 0.5 ml de la culture en bouillon de la souche à étudier, incubé à 37 °C de 30 mn à 3h (**Rodier et al., 2009**).

II.3.2..8 Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

Au but d'identification de *P.aeruginosa*, on doit procéder aux différents tests biochimiques d'identification communs, cités ci-dessous, et sur les deux milieux King A et King B qui favorisant la pigmentation des colonies dans les milieux de culture, permettant la différenciation du genre de *Pseudomonas*.

II.3.3 Tests d'identifications microbiens

II.3.3..1 Examen microscopique

a) État frais

La technique de l'état frais permet d'apprécier l'abondance des bactéries et d'observer leur mobilité. L'examen direct se réalise en déposant sur une lame porte-objet une goutte de suspension bactérienne. Cette lame est recouverte d'une lame-couvre-objet, la préparation est examinée au grossissement $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$ avec l'huile à émersion (**Singleton, 2005**).

b) Technique de coloration de Gram Hucker

Cette technique de coloration se repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries avec coloration de Gram positif et à coloration de Gram négatif.

II.3.3..2 Identification biochimique classique

La réalisation de ces épreuves représente le point de départ d'une identification correcte. Ceux-ci vont distinguer les différents genres et espèces bactériennes.

Quelques tests cités ci-dessous sont fréquemment effectués dans les laboratoires bactériologiques, parfois sous forme de microméthode (**Singleton, 2005**).

a) Étude des enzymes respiratoires**➤ Test catalase**

La catalase a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène sous forme de bulles gazeuses empêchant ainsi l'accumulation d' H_2O_2 toxique pour la bactérie. $2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightleftharpoons 2\text{H}_2\text{O}_2$.

Cette technique repose sur le dépôt d'une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre. À l'aide d'une pipette pasteur on prend une colonie à partir de la gélose, et on l'émerge dans l'eau oxygénée. Un résultat positif se traduit par un dégagement de bulles d'air.

➤ Test d'oxydase

Le test de l'oxydase est fondé sur la production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire. En présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C, cette enzyme oxyde le réactif pour former un composé coloré en violet, l'indophénol (**Dellarras, 2014**). Sur une lame propre, déposer un disque d'oxydase, une coloration violette-brune apparaît immédiatement ou en quelques secondes puis devient noire.

b) Type respiratoire

Pour mettre en évidence le type respiratoire, on utilise un milieu réducteur gélosé VF (Viande foie) réparti dans des tubes, et on ensemence par pique verticale jusqu'au fond du tube qui sera incubé 24h à 37 °C. Selon le tube où manifeste la culture, on distingue trois types respiratoires :

- ✓ Les aérobies stricts (croissance en surface).
- ✓ Les anaérobies stricts (croissance au fond).
- ✓ Les aéro-anaérobies facultatifs (croissance tout le long du tube) (**Branger, 2007**).

c) Milieu TSI (Triple-Sugar-Iron)

Ce milieu de culture, proposé par Hajna (1945), est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries.

C'est un milieu différentiel par la capacité à mettre en évidence les fermentations de : glucose, lactose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré (H₂S) et de gaz. Le rouge de phénol est l'indicateur coloré virant du rouge au jaune pour un résultat positif. Le noircissement du culot indique la présence de H₂S (**Meziani, 2012**).

- Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose (+) : culot jaune et pente jaune.
- Bactérie de type fermentatif du glucose et lactose (-) : culot jaune et pente rouge.

d) Test Mannitol mobilité

Le milieu mannitol mobilité permet la mise en évidence de la mobilité et la dégradation du mannitol.

Ensemencer par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur, charger de culture en milieu semi-solide puis incubé 24h à 37°C. Ce milieu n'est utilisable que par les bactéries fermentatives.

- ✓ La fermentation du mannitol entraîne le virage au jaune du milieu.
- ✓ Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble du milieu et les bactéries immobiles croissent uniquement le long de la piqure d'ensemencement (**Djelouat et Zoughileche, 1983**).

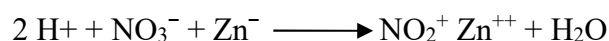
e) Recherche du nitrate réductase

Nitrate réductase est une enzyme qui catalyse la réaction de réduction des nitrates en nitrites dont leur mise en évidence est réalisée en utilisant le réactif de Griess.

Le réactif de Griess prend une teinte rouge-orangé en présence d'ions nitrites, ce qui indique que la bactérie possède une nitrate-réductase qui est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade nitrites et c'est le cas pour les entérobactéries. Ce test est réalisé sur milieu bouillon nitraté après inoculation et incubation 24h à 37 °C.

L'absence de coloration rouge ne signifie pas obligatoirement que la bactérie testée ne possède pas de nitrates-réductase, car elle peut posséder une nitrate-réductase très active qui est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade diazote N₂ et une bactérie possédant une telle enzyme consomme tous les nitrates du milieu.

Dans ce cas, le test est complété par l'épreuve de Zo-Bell en ajoutant la poudre de zinc qui est un composé capable de réduire les ions nitrates en ions nitrites :



- ✓ L'apparition d'une teinte rouge indique que la bactérie ne possède pas de nitrate réductase.
- ✓ L'absence de coloration rouge indique que la bactérie possède une nitrate-réductase très active qui a consommé tous les ions nitrates (**Meziani, 2012**).

f) Test IMVIC

- **Test d'indole**

La production d'indole par hydrolyse du tryptophane peut être effectuée à partir d'une culture de 24h à 44 °C, de la souche étudiée en eau peptonée exempte d'indole.

En présence de réactif Kovacs, l'apparition d'un anneau rouge à la surface : la bactérie est indole positif (**Branger, 2007**).

- **Test de Voges-Proskauer**

Les entérobactéries dégradent le glucose soit par la voie fermentaire butane-diol, soit par la voie fermentaire acides mixtes. La fermentation butane-diol conduit à la formation d'acides organiques et d'acétyl-méthyl-carbonyl ou acétoïne. La réaction VP consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butane-diol et l'acétoïne. En présence d'une base forte, l'acétoïne donne une coloration rouge :



Le bouillon Clark et Lubs estensemencé par la souche étudiée et incubé 18h à 37°C, à 1 ml de culture on ajoute quelques gouttes de réactif VP₁ puis de réactif VP₂, on agite soigneusement. La lecture de résultat s'effectue après 10 minutes.

- **Réaction au rouge de méthyle**

Ce test détermine si la bactérie suit la voie des acides mixtes quand la fermentation du glucose conduit à la production de nombreux acides organiques plus ou moins forts. Elle consiste à mettre en évidence l'acidification finale d'un milieu glucosé après fermentation du glucose, par un indicateur de pH (le rouge de méthyle). Cet indicateur est jaune à pH > 7 et il est rouge à pH < 4,5.

Ensemencer un tube de milieu Clark et Lubs avec la souche étudiée, incubé à 37 °C pendant 24h, ajouté après 1 à 2 gouttes de rouge de méthyle.

- Réaction RM⁺ : coloration du milieu au rouge, ce qui signifie une forte acidification. Donc la bactérie suit la voie des acides mixtes, elle est dite RM (+).

- Réaction RM- : coloration du milieu au jaune, ce qui indique une faible alcalinisation, due à la production d'acides organiques relativement faibles et plutôt du CO₂, par la voie butane-diolique (**Djelouat et Zoughilech, 1983**).

- **Citrate de Simmons**

Ce test détermine la capacité des bactéries d'utiliser le citrate comme seule source de carbone, et des sels d'ammoniums inorganiques comme source unique d'azote. Seules les bactéries qui possèdent un citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu.

L'utilisation du citrate par les bactéries peut se faire de façons très diverses. L'utilisation de citrate se traduit par une libération des ions « OH » qui alcalinisent le milieu.

À partir de la colonie isolée en milieu solide, le milieu citrate de Simmons est ensemencé sur la pente par stries, et incubé à 37 °C pendant 24h.

- ✓ Bactérie citrate positif : virage de couleur de milieu au bleu.
- ✓ Bactérie citrate négative : le milieu garde sa couleur initiale verte (**Hart et Shears, 2002**).

g) Recherche des pigments spécifiques

L'élaboration des pigments est influencée par la composition des deux milieux suivants :

- ✓ **King A** : favorise la synthèse de la pyocyanine qui colore le milieu en bleu vert, elle est due spécifiquement au *P.aeruginosa* (bacille pyocyanique), est favorisé par la présence d'ions inorganiques et de certains acides aminés qui composent le milieu King A.

La pyocyanine est très soluble dans le chloroforme, colore celui-ci en bleu (**Debabza, 2004**). D'autres pigments hydrosolubles peuvent être produits parfois de manière transitoire : la pyomélanine brune et la pyorubrine rouge (**Denis et al., 2011**).

- ✓ **King B** : favorise la synthèse du pigment jaune-vert fluorescent (pyoverdine) observé sous UV, ce pigment est fabriqué par *P.aeruginosa* et d'autres espèces de *Pseudomonas* fluorescent. La technique est effectuée par l'ensemencement de deux tubes inclinés du milieu King A et King B, en faisant une strie médiane à la surface de la gélose, l'incubation se fait à 37 °C pendant 5 jours.

h) Croissance à 4 °C et 41 °C

Ensemencer deux tubes de GN incliné, le premier est incubé à 4 °C et le deuxième à 41 °C pendant 24 à 48h. *P. aeruginosa* se développe à 41 °C, mais pas à 4 °C (**Rodier et al., 2009**).

II.3.3.3 Identification par galerie biochimique miniaturisée

Les entérobactéries et quelques bacilles à gram négatif ont été identifiés en utilisant le système API 20 E. Cette Galerie est une version miniaturisée de la galerie classique faisant appel de 20 tests biochimiques. Le schéma suivant illustre les principales étapes de l'utilisation de la galerie API 20

II.3.3.4 Identification moléculaire

L'identification moléculaire est basée sur l'amplification du gène **oprI**. L'amplification par PCR du gène **oprI**, codant pour la lipoprotéine de la membrane externe I est possible par une paire d'amorces spécifiques. Ce gène est bien conservé dans le genre *Pseudomonas*, ceci était mis en évidence dans une collection de plus de vingt types de souches de *Pseudomonas* (**De Vos et al., 2001**), ce qui suggère la possibilité de l'utiliser comme marqueur phylogénétique pour le genre *Pseudomonas* (**Matthijs et al., 2012**).

➤ Réaction de polymérisation en chaîne ou technique PCR

Le principe de la PCR consiste à la répétition d'un cycle triphasique : dénaturation de l'ADN à amplifier, hybridation de deux amorces de part et d'autre de la séquence cible et enfin l'élongation des amorces par l'activité d'une ADN polymérase en présence de dNTP (**Young et al., 1991**). Dans notre travail, la PCR a été réalisée dans un thermocycleur « Thermocycler scientifique Lfd de Cleover / Thermocycleur GT 968 ».

➤ Amplification du gène **oprI** par PCR

Le gène **oprI** a été amplifié avec l'amorce PS1 (5'ATGAACAACGTTCTGAAATTCTCTGCT3') et l'amorce PS2 (5'CTTGCGGCTGGCTTTTTCCAG 3') (**De Vos et al., 2001**). Le volume final du mélange biréactionnel de la PCR a été ajusté à 20µl contenant 10µl du Master mix Dream Taq Green DNA Polymeras de Thermo Scientific, 2µl de chacune des deux amorces, 6 µl de l'eau ultra pure stérile et une colonie jeune d'ADN bactérien. Le programme de PCR utilisé est le suivant : dénaturation initiale de 3 min à 95 ° C, suivie de 40 cycles (l'idéal est entre 35 à 40 cycles) de dénaturation à 95°C pendant 30 sec, hybridation à 60°C pendant 30 sec et élongation à 72 °C pendant 2 min et une finale extension à 72°C pendant 5 min.

➤ **Électrophorèse sur gel d'agarose**

Pour vérifier la réussite de l'amplification : les produits d'amplification ont été analysés sur gel d'agarose à 1 % (p/v) contenant du BET (10µl pour 100mL de gel) ou bien Syber Safe (5µl pour 100mL de gel) ; La migration a été réalisée dans un tampon TEA 0.5x (le même qui a servi pour la préparation du gel d'agarose) pendant 30 min à 100V.

Les puits situés à gauche et/ou à droite du gel ont servi pour déposer le marqueur de taille «Smart Ladder » (de 10000 à 200 paires de bases). Le marqueur contient un nombre défini de fragments d'ADN de taille connue, ce qui permet de déterminer plus facilement la taille des ADN présents dans les produits PCR (Sefrioui, 2015). Le gel est visualisé sous lumière UV et photographié avec un système de capture digital (Gel Doc, Bio-Rad).

II.3.4 Analyses physico-chimiques des eaux usées traitées

II.3.4.1 Détermination de quelques paramètres physique

➤ **Potentiel d'hydrogène pH**

Le pH d'une eau représente son acidité ou son alcalinité, sa détermination est généralement effectuée sur les lieux au moyen d'un instrument électrométrique (Rodier *et al.*, 1997).

➤ **Conductivité électrique**

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau entre deux électrodes métalliques de 1 cm² et distantes l'une de l'autre de 1 cm (Rodier *et al.*, 1996). La mesure de ces paramètres (pH et conductivité) est faite selon la méthode électrochimique. Un multi-paramètre est préalablement étalonné, en plongeant l'électrode de pH ou la cellule conductimétrique dans l'échantillon à analyser l'appareil affiche directement la valeur du pH ou la conductivité en (mS/cm) de la solution.

➤ **Turbidité**

On remplit une cuvette propre jusqu'au trait (30 ml) avec de l'eau à analyser en évitant la formation de bulle d'air, on l'essuyé avec mouchoir doux sans peluches pour retirer les gouttes d'eau et les traces de doigts, on la place dans le puits de mesure puis on ferme le capot, soigneusement, presser la touche UNITS pour sélectionner l'unité de mesure N.T.U après lire et noter le résultat affiché.

II.3.4..2 Dosage de quelques paramètres chimiques

➤ **Ammonium (DIN 38406-ES)**

Les ions ammonium réagissent avec le chlore pour donner la chloramine, lesquelles réagit en présence d'un catalyseur en milieu d'alcalin avec des phénols pour donner des colorants indophenoliques bleu. Longueur d'onde : 690 nm

➤ **Phosphate (Spectrophotométrie DIN EN ISO 6878-D11)**

Les ions phosphates réagissent avec le molybdate d'ammonium (R1) pour former de l'acide phosphomolybdique lequel sera réduit par l'ascorbate de sodium (R2) en bleu de molybdène. Longueur d'onde : 690 nm.

➤ **Nitrate (Spectrophotométrie DIN 38405-D9-2)**

Les ions nitrates seront réduits on nitrites dans un milieu acide, les ions nitrites réagissent avec l'acide sulfanilique (R1) et le 1- naphthylamine (R2) pour former un colorant azoïque rouge. Longueur d'onde : 365 nm.

➤ **Nitrite (Spectrophotométrie DIN EN 26777-D10)**

Les nitrites réagissent avec la sulfanimide et la N- (1-naphtyl) -éthylènediamine pour donner un colorant rouge violet. Longueur d'onde : 540 nm.

➤ **COT (DIN EN 1484)**

La procédure passe par deux étapes :

- 1- Élimination du carbone inorganique (CIT) par agitation.
- 2- Décomposition oxydative du carbone organique (COT) en dioxyde de carbone, la minéralisation se fait pendant 2H à 120°C. Longueur d'onde : 585 nm.

➤ **Métaux lourds et éléments indésirables**

Les teneurs des métaux lourds (Cu, Fe, Cd, Cr) ont été dosées par absorption atomique à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique avec flamme (**Rodier et al., 2009**) de laboratoire de catalyse et synthèse en chimie organique à l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen.

– **Établissement des courbes d'étalonnages :**

Préparer à partir de la solution étalon, quatre dilutions couvrant la gamme des concentrations souhaitées (Co) et (Cr) max:10 mg/l, (Fe) max :1 mg/l et (Cd) max : 2 mg/l.

– **Mode opératoire :**

Nébuliser l'eau à analyser dans une flamme air acétylène oxydante en intercalant l'eau permutée entre échantillons, effectuer les lectures aux longueurs d'onde suivantes

(Co) 240,7 nm, (Cr) 357.94 nm, (Fe) 248.3 nm, (Cd) 228.8 nm. Les résultats sont exprimés en milligrammes de métaux par litre.

II.4 Étude phytochimique des graines de *M.oleifera*

II.4.1 Extraction d'huile par soxhlet

L'extraction soxhlet est utilisée pendant des décennies, une technique standard qui sert de référence pour évaluer d'autres résultats d'extraction solide-liquide. C'est la technique qui permet d'avoir les meilleurs rendements parmi les techniques classiques (De Castro & Garcia-Ayuso, 1998), elle permet de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (Penchev, 2010).

L'extraction par soxhlet présente les avantages suivants :

- L'échantillon est en contact de manière répétée avec le solvant.
- L'extraction est effectuée avec du solvant chaud favorisant la dissolution des composés recherchés.
- Aucune filtration n'est nécessaire après extraction (Alessandro, 2013).

L'appareil de soxhlet, est composé d'un corps en verre de l'extracteur, qui contient une cartouche de cellulose remplie d'une masse des graines broyées, d'un tube siphon et d'un tube de distillation. L'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction (200 ml dans chaque ballon) et il est surmonté d'un réfrigérant.

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi que le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche (Penechev, 2010).

Afin d'éliminer l'hexane et récupérer l'extrait (l'huile), on procède à l'évaporation sous vide à l'aide d'un Rotavapor. Dans cet appareil, on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. L'évaporateur rotatif est une technique rapide et efficace de séparation, elle permet l'extraction d'un solvant dont la température d'ébullition est abaissée en travaillant sous pression réduite.

✓ **Calcule du rendement d'huile :**

$$R\% = \frac{P1}{P0} \times 100$$

Où :

R : est le rendement en pourcentage.

P0: est la masse sèche de la prise d'essai en g.

P1: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

II.4.2 Extraction par macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. C'est une opération chimique qui consiste à laisser séjourner dans un liquide, à la température de l'atmosphère, une substance dont on veut extraire les principes solubles (**Chavannes et al., 1991**).

Une quantité de 15 g de chacune des graines broyées dégraissées et non dégraissés sont mis dans une fiole jaugée, et additionnée d'un volume de 500 ml d'eau distillée dans chaque fiole. Après 24h de macération sous agitation continue, le mélange est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre ; le filtrat est évaporé à l'aide d'un rotavapor jusqu'à obtenir un petit volume puis soumis à une évaporation sous bain marie à 100 °C pour obtenir l'extrait sec (l'extrait dégraissé et l'autre non dégraissé). Les trois extraits obtenus sont pesés puis conservés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'au moment de leurs utilisations.

Le rendement de l'extrait est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait et la masse végétale traitée multiplié par 100 %.

$$C = \frac{Pcb - Pcv}{m} \times 100$$

Où :

C : teneur en extrait en pourcentage.

Pcb : poids constant du ballon avec le résidu après extraction et séchage.

Pcv : poids du ballon vide.

m : masse de la prise d'essai.

II.4.3 Screening phytochimique

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence les différents groupes de familles chimiques présentes dans notre plante. Cette étape consiste à l'épuisement de la matière végétale par des solvants à polarités croissantes, permettant une détection qualitative des composés chimiques présents dans la plante. Pour l'étude tri-phytochimique, trois extractions ont été réalisées selon le protocole mis au point par **Nemlin et Brunel (1995)**.

➤ Préparation des extraits

Les extraits bruts ont été obtenus par les extractions successives, avec des solvants à polarités croissantes. Dans cet ordre, l'éther diéthylique, le méthanol et l'eau distillée ont été utilisés. Pour l'extraction à l'éther diéthylique, 20 g de poudre obtenue de drogue ont été dissouts dans 120 ml d'éther diéthylique. L'ensemble a été homogénéisé par agitation pendant 30 min. Le mélange a ensuite été filtré. Le filtrat étheré 1 a été obtenu. Sur les marcs résiduels, 120 ml d'éther diéthylique ont été ajoutés ; après 30 min d'agitation puis filtration, le filtrat étheré 2 a été obtenu. La même opération a permis d'obtenir le filtrat étheré 3. Ces trois filtrats ont été regroupés et concentrés à 50 ml sur un rotavapor. Cette série d'opérations a conduit à une solution concentrée que nous avons appelée extrait étherique. Le marc résiduel issu après extraction avec l'éther diéthylique a été séché. La poudre obtenue a été épuisée avec 120 ml de méthanol. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, le mélange est filtré et a donné le filtrat méthanolique 1. La même opération a été reprise et elle a donné le filtrat méthanolique 2. Les deux filtrats méthanoliques réunis ont été filtrés et concentrés à 50 ml, au rotavapor, pour donner l'extrait méthanolique. Pour préparer l'extrait aqueux, 20 g de la poudre sèche de la drogue ont été infusés dans 120 ml d'eau distillée, pendant 15 minutes. L'infusé a été filtré pour produire l'extrait aqueux. Les différents tests qualitatifs ont été effectués sur les trois extraits : aqueux, étherique et méthanolique.

➤ Tests phytochimiques sur l'extrait aqueux

- **Alcaloïdes sels** : Pour déterminer la présence des alcaloïdes sels, 15 ml de l'extrait aqueux est traité avec du NH_4OH (pH=8-9). Extraire le mélange avec 3×10 ml d'éther diéthylique. La solution étherique est traitée avec 3×2 ml d'HCl (10 %).

La solution aqueuse acide a été divisée en trois tubes, le contenu du premier tube a été traité avec quelques gouttes du réactif de Mayer, le deuxième avec le réactif de Wagner et le troisième n'a subi aucun traitement étant considéré comme témoin. Le test est positif si des précipités blanc jaunâtre et brun sont formés respectivement (**Figure II-9**).

• **Composés réducteurs** : Ce test a été effectué sur l'extrait aqueux. À 2 ml de la solution aqueuse, ajouter 5 à 8 gouttes de liqueur de Fehling. Après chauffage de la solution, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des hydrates de carbone (**Figure II-12**) (**Okwu, 2005**).

• **Tanins** : La présence de tanins galliques et cathéchiques a été mise en évidence à l'aide de perchlorure ferrique. À 1 ml de la solution à tester, ajouter 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ à 2 %. Laisser reposer quelques minutes, un test positif est révélé par formation d'un précipité et l'apparition d'une coloration bleu-foncée (présence des tanins galliques) et un précipité et une coloration verte-foncée (présence des tanins cathéchiques) (**Figure II-12**) (**Trease & Evans, 2004**).

• **Saponosides** : Deux grammes de poudre dans 100 ml d'eau distillée ont été portés à reflux, on porte le mélange à ébullition modérée (décoction) pendant 30 minutes. Après filtration et refroidissement, le volume a été ajusté à 100 ml d'eau distillée. À partir de cette solution mère, 9 tubes à essai ont été préparés : Le premier tube avec un contenu de 1 ml de solution mère et complété jusqu'à 10 ml avec 9 ml d'eau distillée, le deuxième tube avec 2 ml de solution mère et 8 ml d'eau distillée. Répéter l'opération jusqu'au 9^{ème} tube. Chacun des tubes a été agité manuellement et horizontalement pendant 2 minutes. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1cm indique la présence de saponosides (**Figure II-12**) (**Igwe, 2004**).

• **Amidon** : Ce sucre complexe a été mis en évidence sur l'extrait aqueux traité avec le réactif d'amidon, l'apparition d'une couleur bleu-violacée en indique la présence d'amidon (**Figure II-9**).

➤ Tests phytochimiques sur l'extrait éthérique

• **Alcaloïdes bases** : Pour déterminer la présence des alcaloïdes bases, 10 ml de l'extrait éthérique ont été évaporés, le résidu a été dissolu dans 1.5 ml d'HCl à 2 % puis traité avec 1-3 gouttes du réactif Mayer. La présence d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases (**Figure II-10**).

• **Emodols** : Évaporer 3 ml de l'extrait éthérique. Ajouter 1 ml d' NH_4OH . L'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé rouge au violet pourpre, indique la présence des emodols (**Figure II-10**).

• **Coumarines** : Un test simple a été effectué, il consiste à partager en deux tubes 3 ml de l'extrait éthérique traité avec 1 ml d'eau chaude. La présence des coumarines est révélée après ajout dans l'un des tubes de 0.5 ml de NH_4OH à 10 % et observation de la fluorescence sous une lampe UV à 265 ou 365 nm. Une fluorescence intense dans le tube contenant l'ammoniac, indique la présence de coumarines (**Figure II-10**).

• **Stérols et triterpènes** : Après avoir évaporé à sec 5 ml de l'extrait, le résidu a été dissout dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Le mélange a été ensuite partagé dans deux tubes à essai, le premier servant de témoin, et le deuxième auquel 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentrés ont été ajoutés. À la zone de contact des deux liquides, s'il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte ou violette, la présence de stérols et triterpènes sera révélée (**Figure II-10**).

• **Terpénoïdes** : cinq millilitres de l'extrait éthérique ont été mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une coloration rouge-marron à la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques (**Figure II-13**).

• **Quinones libres** : À 10 ml de l'extrait étudié sont ajoutées quelques gouttes de NaOH 0,1 N. La présence des quinones libres est confirmée si la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Figure II-10**).

• **Acides gras** : 14 ml de l'extrait éthérique ont été évaporés, le résidu obtenu est ensuite dissout dans l'éthanol. La solution éthanoïque obtenue est ensuite concentrée à sec. Le résidu est saponifié en ajoutant 10 ml de KOH à 2N. Le mélange est ensuite extrait avec de l'éther diéthylique. Après évaporation à sec, l'obtention d'un résidu gras indique la présence des acides gras (**Figure II-10**).

➤ Tests phytochimiques sur l'extrait méthanolique

• **Flavonoïdes** : Dans un tube à essai, on ajoute à 5 ml de solution, puis on ajoute 1 ml HCl et 0.5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge ou violette se développe en l'espace de 3 min (**Figure II-11**) (**Debray et al., 1971**).

• **Composés réducteurs** : vingt gouttes de la liqueur de Fehling ont été ajoutées à 2 ml de la solution aqueuse. Après chauffage de la solution, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des hydrates de carbone (Okwu, 2005).

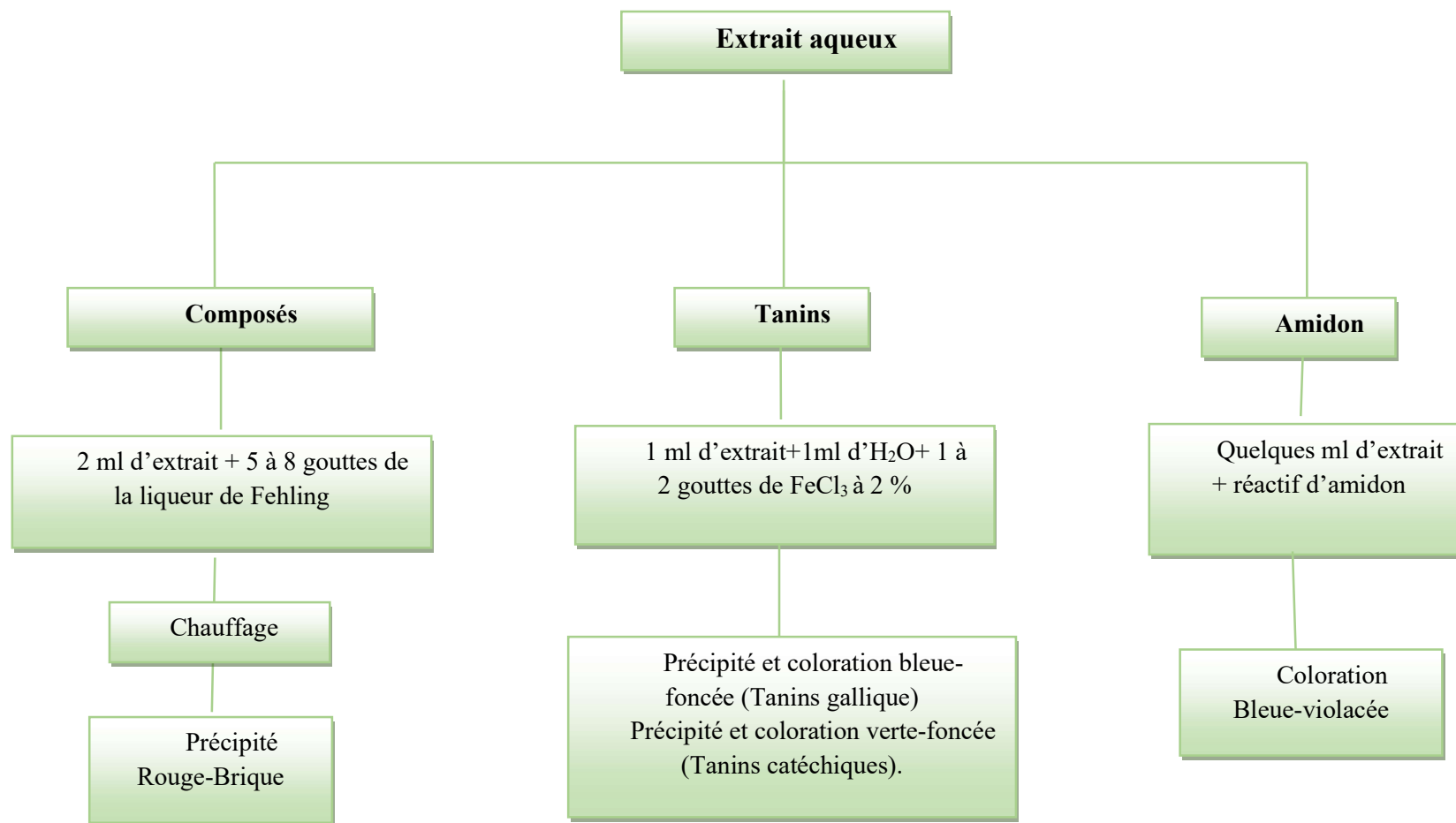
• **Tanins** : un millilitre de la solution à tester a été prélevé et mis dans un tube à essai auquel 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 à 2 % ont été ajoutées. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-foncée (présence des tanins galliques) ou coloration verte (présence des tanins cathéchiques) après un repos de quelques minutes (Figure II-11) (Karumi, 2004).

• **Anthracénosides** : Ce test est basé sur la réaction de Borntrager où 25 ml de l'extrait méthanolique additionnés à 15 ml d'HCl 10% ont été portés à reflux pendant 30 min. Après refroidissement, la solution a été extraire 3×15 ml avec l'éther diéthylique afin d'obtenir deux phases : aqueuse et étherique. 8 ml de la phase étherique ont été évaporés à sec, le résidu a été récupéré avec 2 ml d'eau chaude, le mélange a subi un traitement avec l'hydroxyle d'ammoniaque à 10 %. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une coloration rouge-orangée (Figure II-11).

• **Anthocyanosides** : Doser la phase aqueuse, obtenue du test des Anthracénosides avec du NaOH, le virage de couleur à pH différent effectué à l'aide du papier pH, indique la présence des Anthocyanosides (couleur rouge à $\text{pH} < 3$ et bleue à pH entre 4 et 6) (figure II-11).

• **Hétérosides stéroliques et triterpéniques** : Évaporer 10 ml de l'extrait méthanolique, le résidu obtenu a été traité avec 0,5 ml de chloroforme et 0,5 ml d'anhydride acétique. Le mélange est partagé dans deux tubes à essai. L'un servant de témoin, et dans le second, 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentrés sont rajoutés. À la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte (présence des hétérosides stéroliques) ou violette (présence des hétérosides triterpeniques) (Figure II-11).

Chapitre II
Matériels et Méthodes



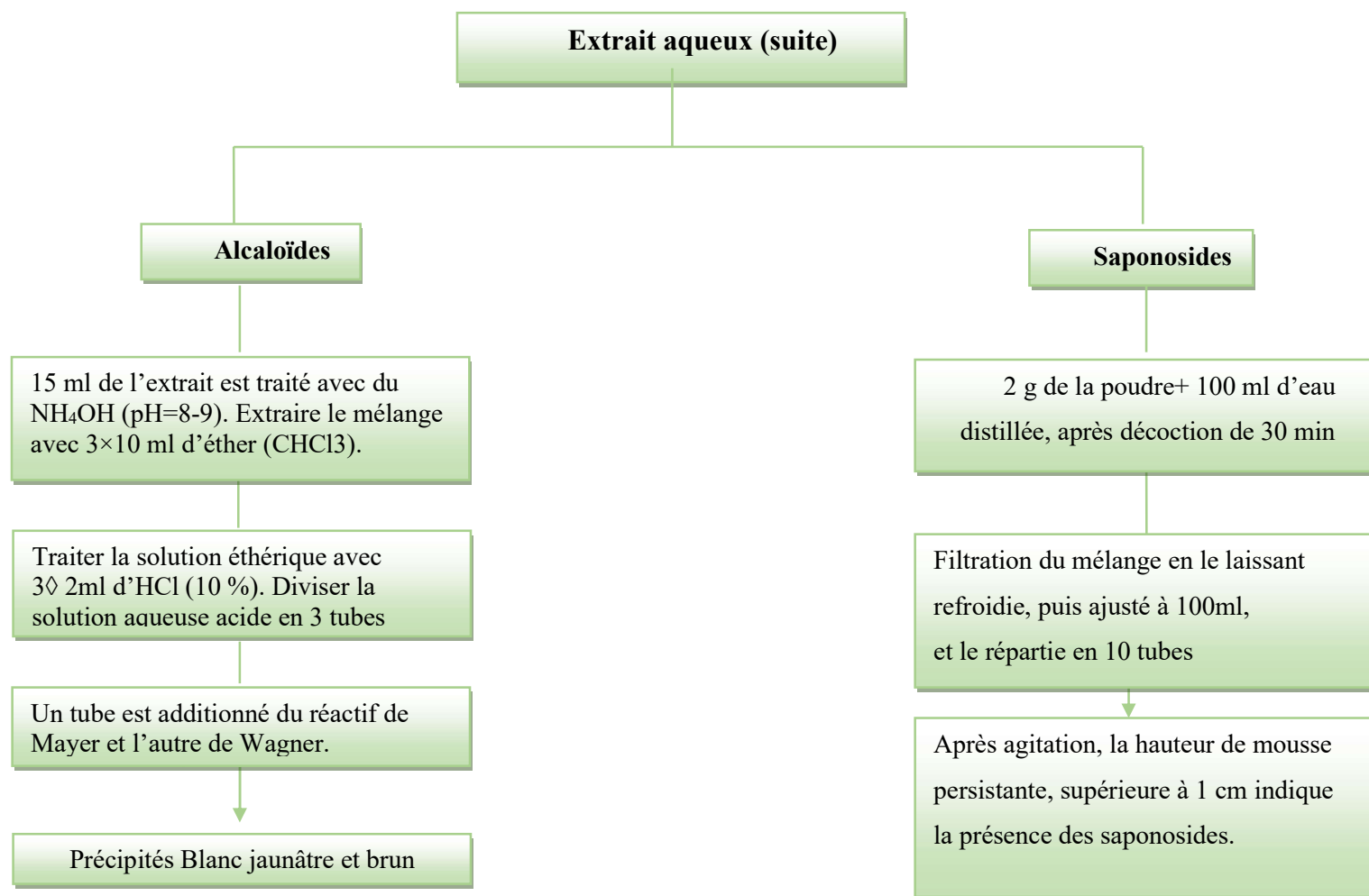
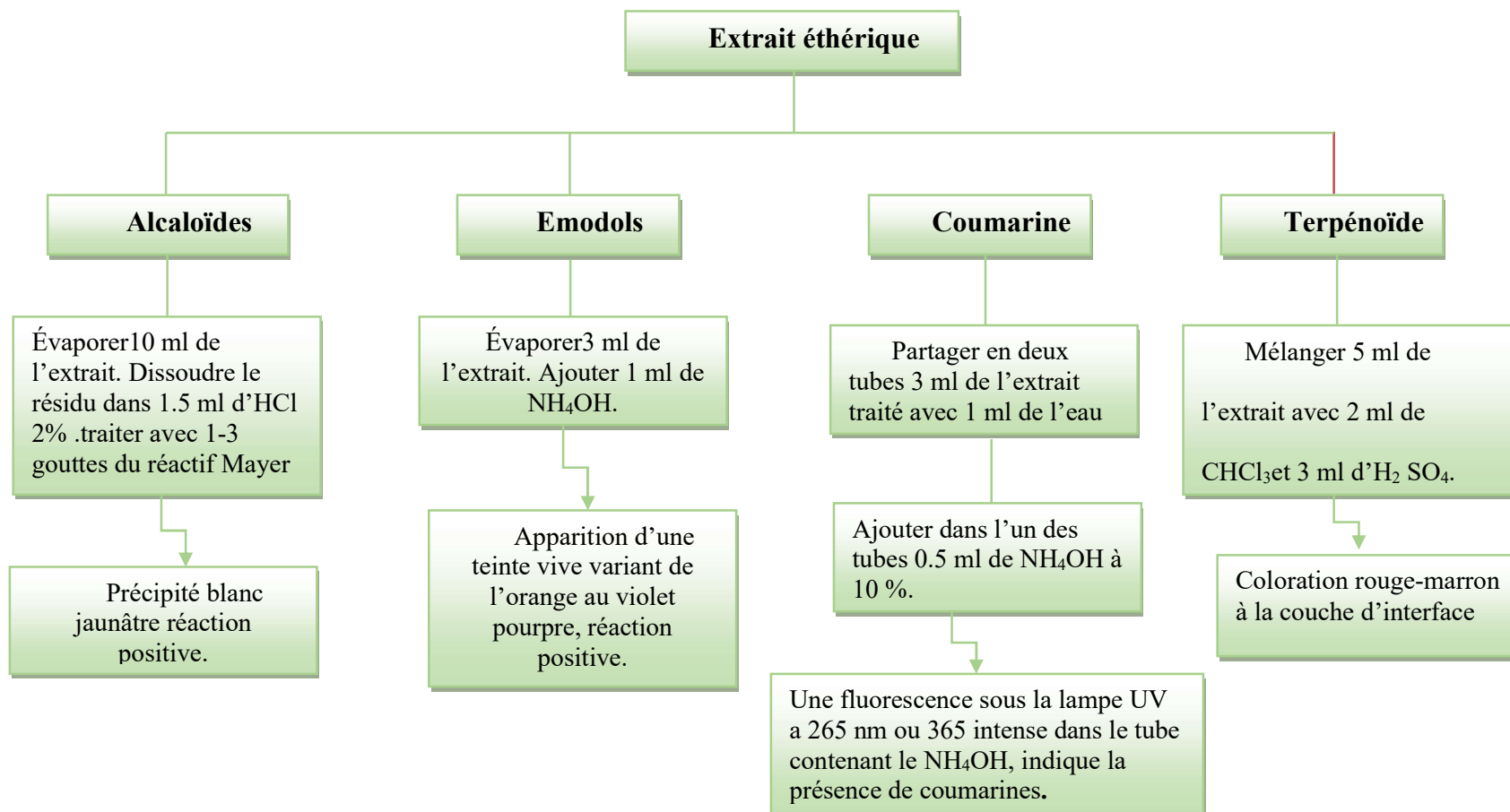


Figure II-9: Schémas des tests phytochimiques de l'extrait aqueux.

Chapitre II
Matériels et Méthodes



Chapitre II
Matériels et Méthodes

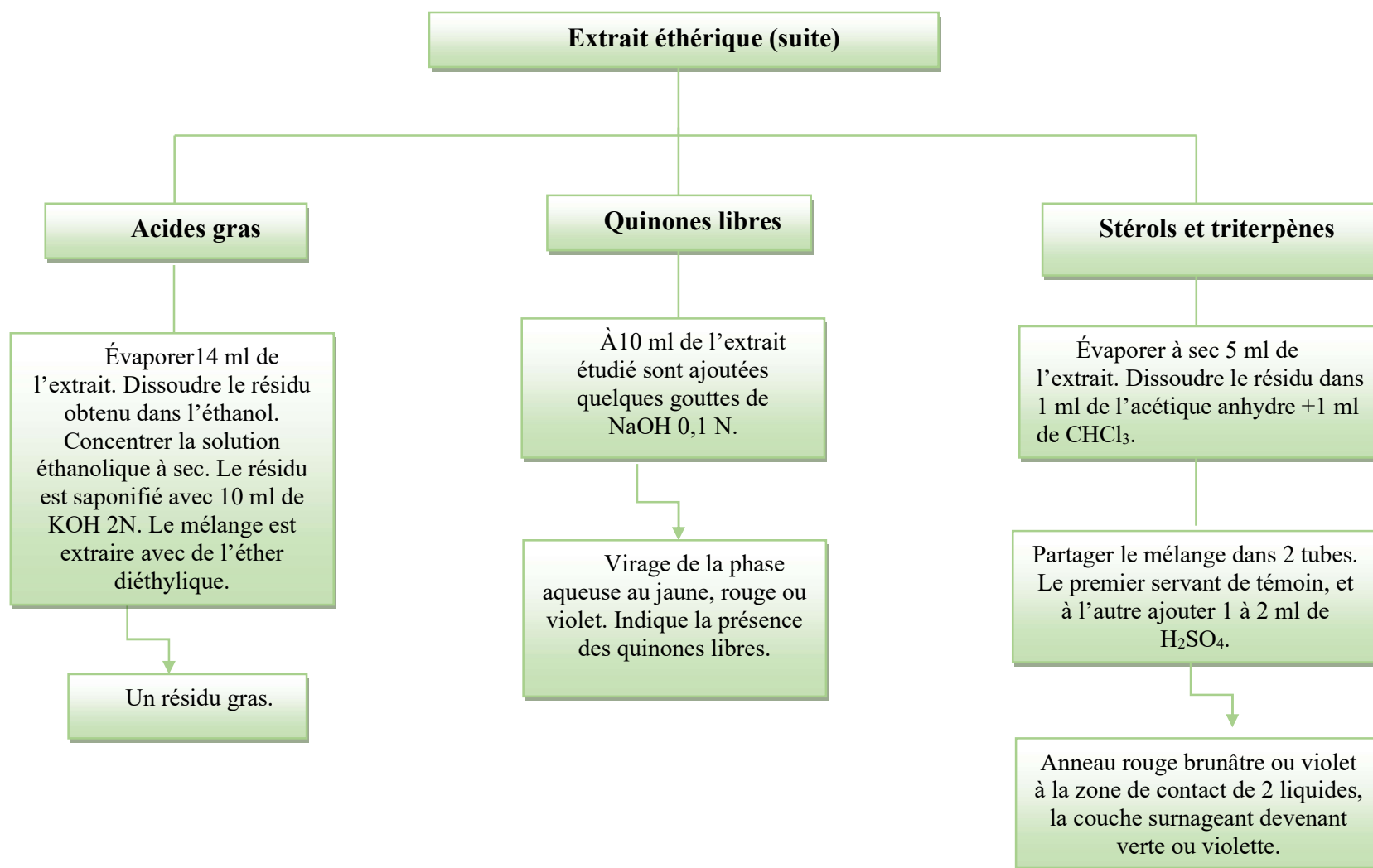
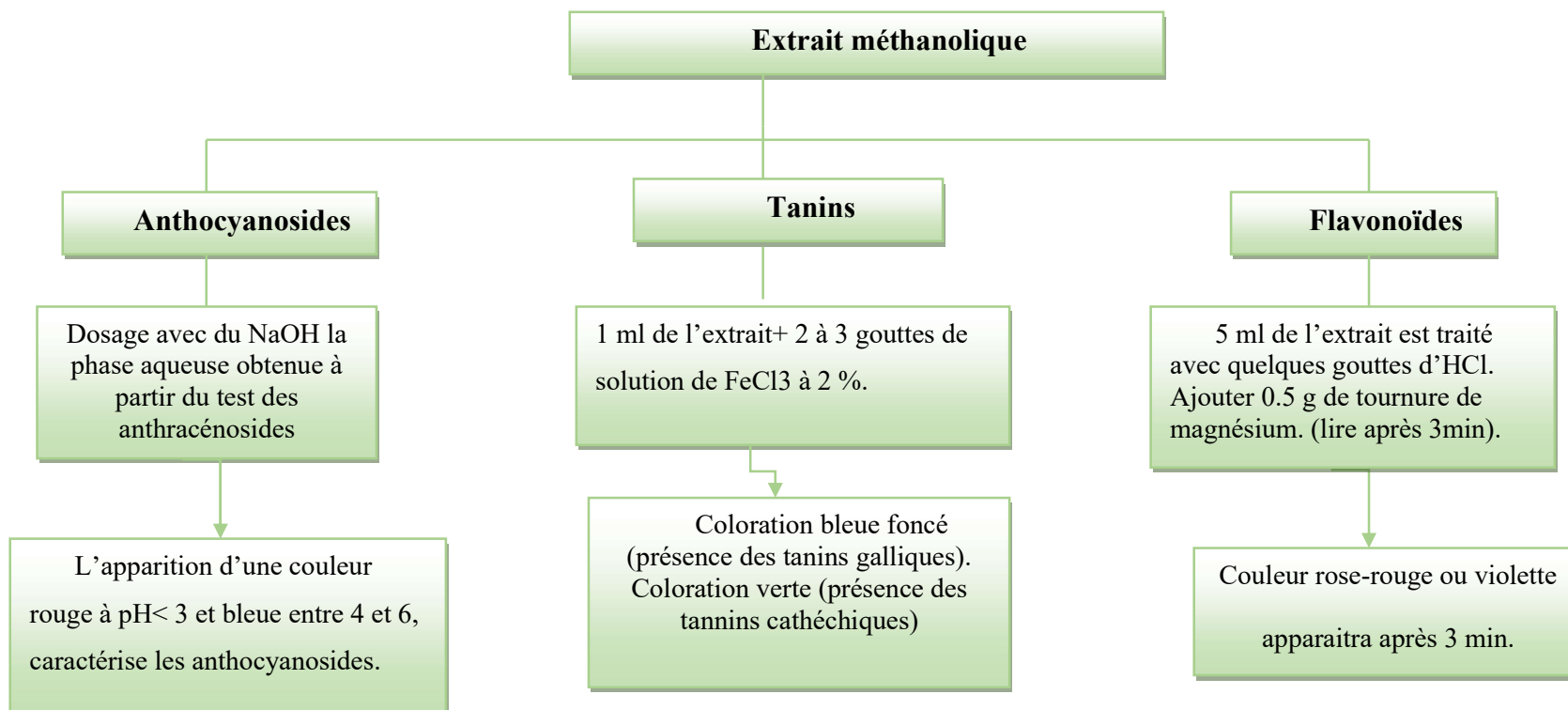


Figure II-10: Tests phytochimiques de l'extrait étherique.

Chapitre II
Matériels et Méthodes



Chapitre II
Matériels et Méthodes

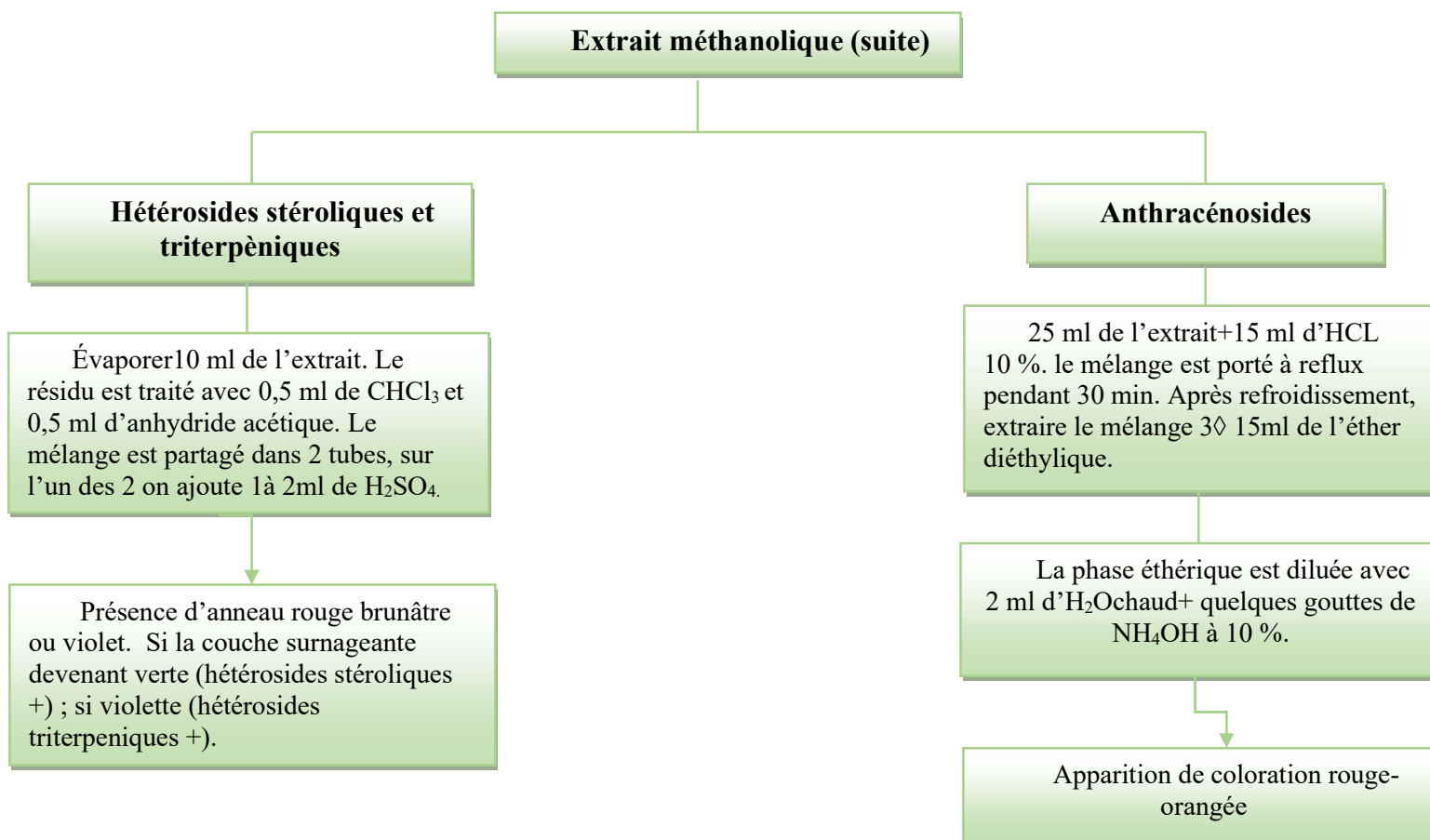


Figure II-11: Schémas des tests phytochimiques sur l'extrait méthanoliques.

II.5 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des graines de *M.oleifera*

Cette partie a pour but de connaître le pouvoir antibactérien des extraits *M.oleifera* après avoir réalisé dans le laboratoire et leur essai à différentes concentrations contre les souches testées. Les souches choisies dans cette étude sont des bactéries isolées à partir des eaux usées de l'oued de Bechar.

Le test de sensibilité des souches bactériennes a été effectué selon la méthode de diffusion par disques, ainsi par antibiogramme au but de comparer l'efficacité de nos extraits et d'étudier le comportement des souches isolées. Parmi ces souches uniquement trente (30) souches ont été testées.

II.5.1 Préparation des disques

La technique de disque en papier consiste à déposer des disques stériles en papier Wattman n°5, imbibé par un volume défini du filtrat, du surnageant ou de l'extrait organique utilisé, sur un milieu gélosé préalablement ensemencée par le germe test, après incubation, les zones d'inhibition sont mesurées autour des disques (**Lancini & Parenti, 2013**).

II.5.2 Préparation des concentrations des extraits

Les concentrations utilisées pour tester l'activité antibactérienne de nos trois (3) extraits sont :

- **Huile** : Les différentes concentrations d'huile ont été préparées par le diluant DMSO qui a un effet solubilisant, on a préparé cinq (5) concentrations selon le principe suivant : V/V, 2V/V, 3V/V, 4V/V, 5V/V, ainsi que l'huile à 100 % (sans DMSO) et le témoin (DMSO).

- **Extrait dégraissé et non dégraissé** : cinq (5) concentrations ont été testées 1000 mg/ml, 750 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml, 100 mg/ml.

II.5.3 Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 heures incubées à 37 °C sur bouillon nutritif. La densité optique de chaque souche est ajustée à l'aide de Densitomètre fixé à la longueur d'onde 600 nm, en utilisant le bouillon nutritif (BN) comme étalon de manière à obtenir une absorbance entre 0.08 à 0.1 qui correspond à une charge cellulaire 10^8 cellules/ ml. Les souches pathogènes sont ensemencées immédiatement sur le milieu de culture Muller Hinton sous forme d'un tapis réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

Dix boîtes ont été ensemencées pour chaque souche qui correspond à trois essais pour chaque extrait, avec une boîte pour l'antibiogramme. À l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre imbibés des extraits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée préalablement. L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C.

II.5.4 Sensibilité aux antibiotiques

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur les boîtes inoculées des souches à tester à l'aide d'une pince stérile de la même manière utilisée pour les extraits. Le choix des antibiotiques testés sur les différentes espèces bactériennes isolées repose sur l'identification du genre et son profil habituel vis-à-vis des antibiotiques, sur le spectre d'activité de chaque antibiotique et son action sur les bactéries à Gram (-) et/ou sur les bactéries à Gram (+) ; ainsi que les antibiotiques disponibles (**Tableau II-6**).

Tableau II-2: Liste des antibiogrammes utilisés (CASFM, 2012).

Famille	ATB	Charge	Diamètre d'inhibition (mm)	
			S	R
β Lactamines	Amoxicilline (AMX)	25 µg	≥ 21	<16
	Ampiciline (AMP)	10 µg	≥ 19	<16
Macrolides	Erythromycine (E)	15UI	≥22	<17
Aminosides	Gentamicines (GEN)	15 µg	≥ 15	<13
	Amikacine (AMK)	30 µg	≥ 17	<15
Cephalosporine	cefazoline (CZO)	30 µg	≥ 18	<12
	Cefotaxime (CTX)	30 µg	≥ 26	<23
Polypeptides	colisitine (COL)	50 µg	≥ 15	<15
Quinolones	Acide nalidixique (NAL)	30 µg	≥ 20	<15

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1 Caractéristiques physiques des milieux poreux

III.1.1 Analyse granulométrique

La lecture générale de la courbe granulométrique a montré que le sable d'Igli est un sable simple bien classé et bien trié, riche en particules fines et très propre (**figure III-1**) ces résultats sont semblables à ceux cités par **Taфраoui** en (**2009**).

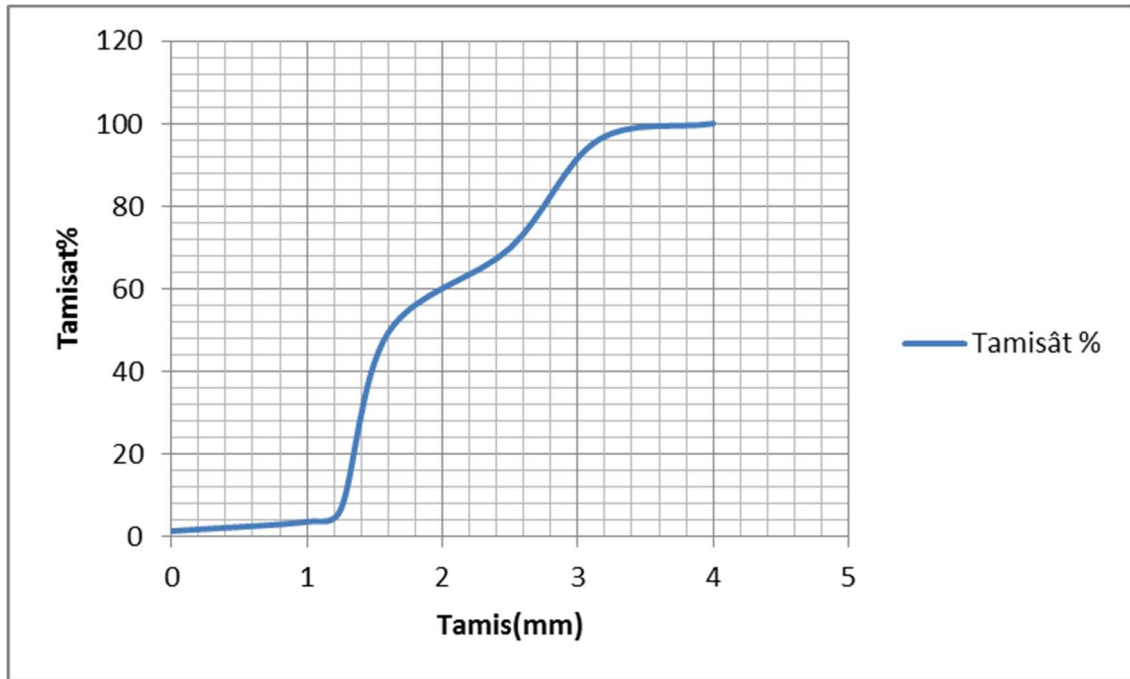


Figure III-1 : Résultats des analyses granulométriques du sable

➤ **Équivalent de sable (ES)**

La propreté du sable est la moyenne de trois valeurs d'équivalent de sable de trois échantillons. Selon la spécification NEP 18-598, un sable est considéré très propre lorsque son ES est supérieure ou égale 60%. Le sable étudié présente une valeur de l'ES égale à 98%, ceci nous permet de conclure que notre sable est très propre avec une absence presque totale des particules argileuses ou autres particules adhérentes à la surface des grains.

Chapitre III

Résultats et Discussion

➤ Masse volumique absolue et apparente

Les résultats obtenus pour le sable sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III-1: Résultats de masse volumique absolue et apparente.

Granulats	Nature	M volumique absolue kg/ m ³	M volumique apparente kg/m ³
Sable fin	Roulé	2600	1330

La détermination de la masse volumique du sable de la région d'Igli nous a permis de connaître le volume de vide contenu dans ce dernier, et lui donner une classification qui limite ses utilisations. Notons que la masse volumique apparente du sable est de l'ordre de grandeur de 1650 kg/ m³ et masse volumique absolue est de 2550 kg/ m³(NF P 18-555).

III.1.2 Analyses microbiologiques des milieux poreux

D'après les résultats des analyses microbiologiques des milieux poreux illustrés dans les figures ci-dessous (**Figure III-2, III-3**), en ce qui concerne le sable, on remarque la présence des flores aérobies mésophiles totales à 30°C avec une valeur maximale de $2,7.10^2$ UFC/ g pour les trois unités avec une absence totale des coliformes, des *Clostridium* sulfito-réducteur et les streptocoques (**figure III-2**). Pour la flore fongique les résultats du dénombrement ont montré une valeur maximale de $0,7.10^2$ ufc / g.

Concernant les résultats enregistrés pour les graines de *Moringa oleifera*, on enregistre la présence de la flore aérobie mésophile totale avec des taux variants entre $0,8.10^2$ et $4,2.10^2$ ufc /g pour les trois échantillons. La flore fongique est présente dans les échantillons avec des taux variant entre $0,5.10^2$ et $0,6.10^2$ UF/g (ufc/g). Sur l'ensemble des échantillons analysés, il y'a eu absence totale des coliformes, des *Clostridium* sulfito-réducteur et les streptocoques (**figure III-3**).

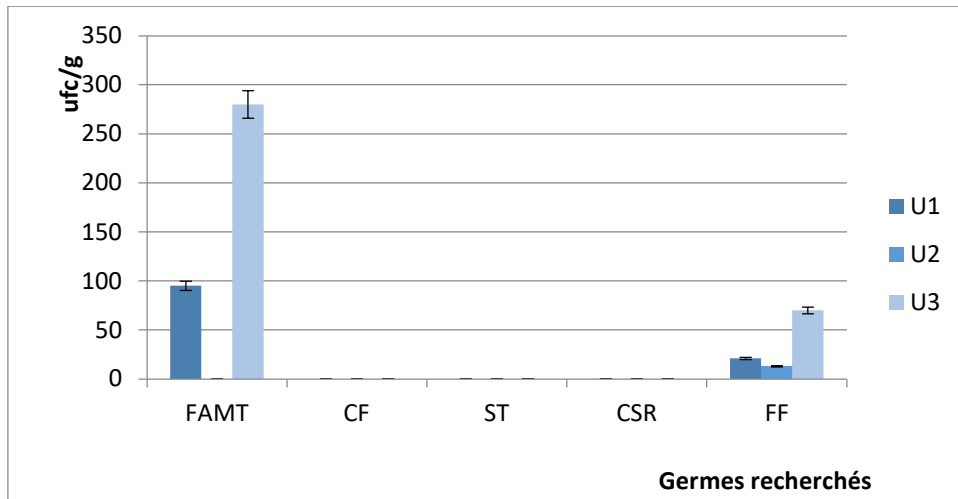


Figure III-2: Analyse microbiologique de sable.

FAMT : flore aérobie mésophile totale ; CF : coliformes fécaux ; ST : streptocoque thermotolérant ;
CSR : Clostridium sulfito-réducteur ; FF : flore fongique.

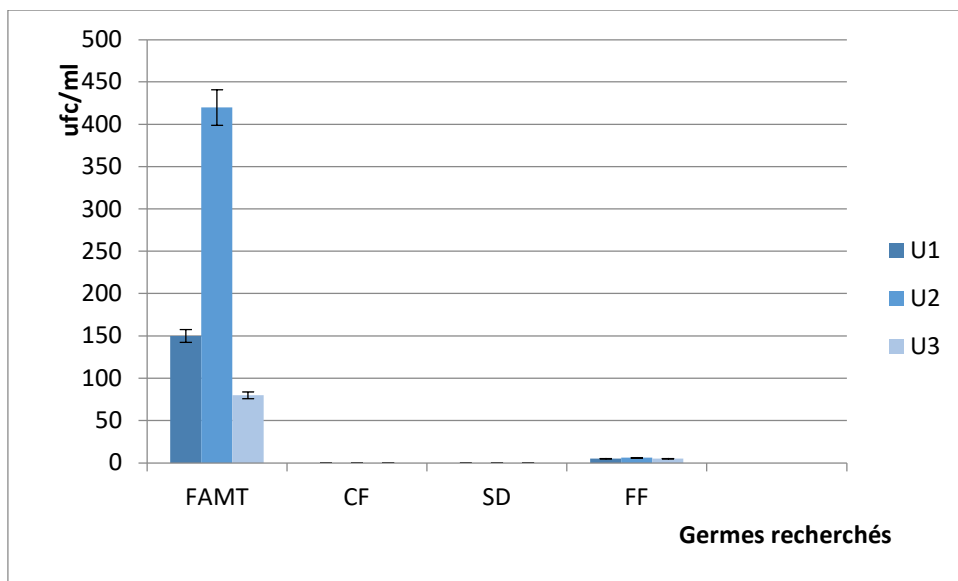


Figure III-3: Analyses microbiologiques des graines de *Moringa oleifera*.

(FAMT : flore aérobie mésophile totale ; CF : coliformes fécaux ; ST : streptocoque thermotolérant ;
CSR : Clostridium sulfito-réducteur ; FF : flore fongique).

III.2 Analyse des eaux usées avant et après filtration

III.2.1 Paramètres physico-chimiques

Selon **Rodier et al.** en 2009, la pollution des eaux résiduaires urbaines est généralement évaluée par la mesure des matières en suspension (MES), de la turbidité et de la pollution organique carbonée (DCO, DBO5).

➤ pH

Le pH est un paramètre chimique caractérisant l'acidité ou la basicité d'un milieu. Il résulte de la composition ionique de l'eau, et essentiellement de la présence des carbonates issus de l'échange de dioxyde de carbone (CO₂) à l'interface air-eau, ainsi que de la dissolution du calcaire (**Aminot et Kerouel, 2004**).

Le pH des eaux usées brutes et épurées est généralement alcalin (**Figure III-4**). Les valeurs du pH des eaux brutes varient entre 7,36 et 7,82 avec une moyenne de 7,56. Tandis que celles des eaux traitées par sable oscillent entre 7,6 et 7,69 avec une moyenne de 7,64. Dans cette étude, pour les filtrats à 1%, 2% et 3%, les valeurs de pH oscillent entre 5,5 et 6,92 avec une moyenne de 6,58. Ces valeurs se situent dans l'intervalle de conformité des normes de rejet appliquées en Algérie $6,5 < \text{pH} < 8,5$. La figure III-4 montre une diminution de pH avec l'augmentation du % en *M.oleifera*.

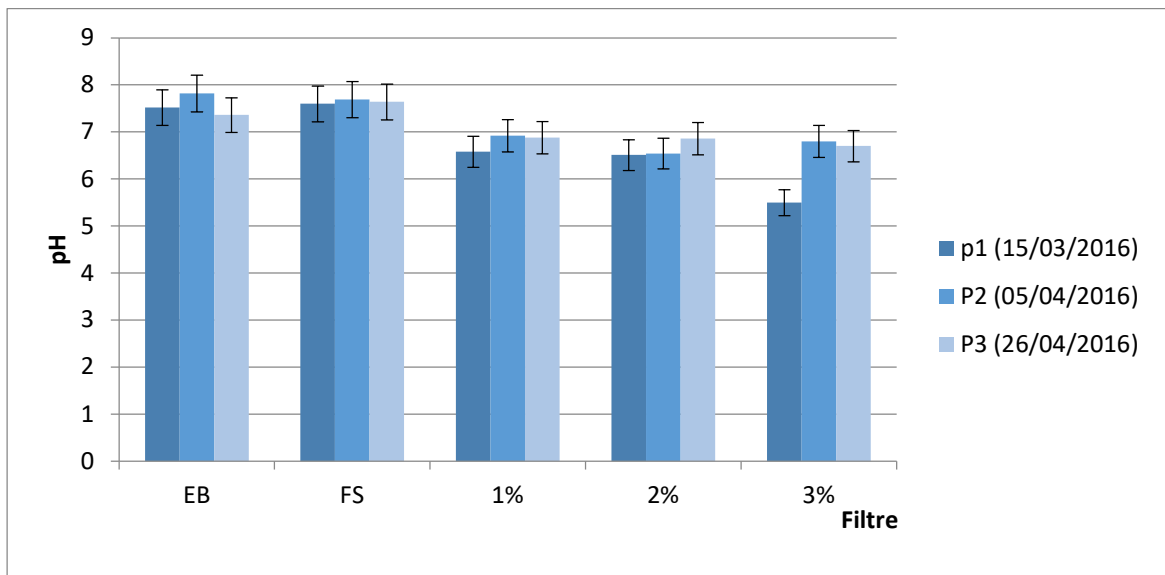


Figure III-4: Évolution de pH dans les différents lits filtrants

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3.

Chapitre III

Résultats et Discussion

L'histogramme ci-dessous (**Figure III-5**) présente les valeurs de pH obtenues avant et après filtration sur le support de filtre à sable, filtre à base de *Moringa* dégraissé et non dégraissé. En examinant cette figure, on remarque que les valeurs du pH des eaux usées urbaines de l'oued de Bechar sont comprises entre 7,23 et 8,14 avec une moyenne de 7,47.

Les résultats obtenus sont très proches des valeurs limites des eaux usées rejetées directement dans le milieu récepteur (6,5 et 8,5) selon l'OMS en 2012.

On observe aussi que les valeurs de pH sont comprises entre 6.07 à 7.2, avec une valeur moyenne de l'ordre de 6.57 pour l'eau traitée par le sable alors que l'eau traitée par la plante présente un pH de 4.04 à 6.54 et de 5.5 à 7.15, avec une moyenne de 6.08 et 6.3 respectivement pour les filtres à base des graines dégraissées et non dégraissées.

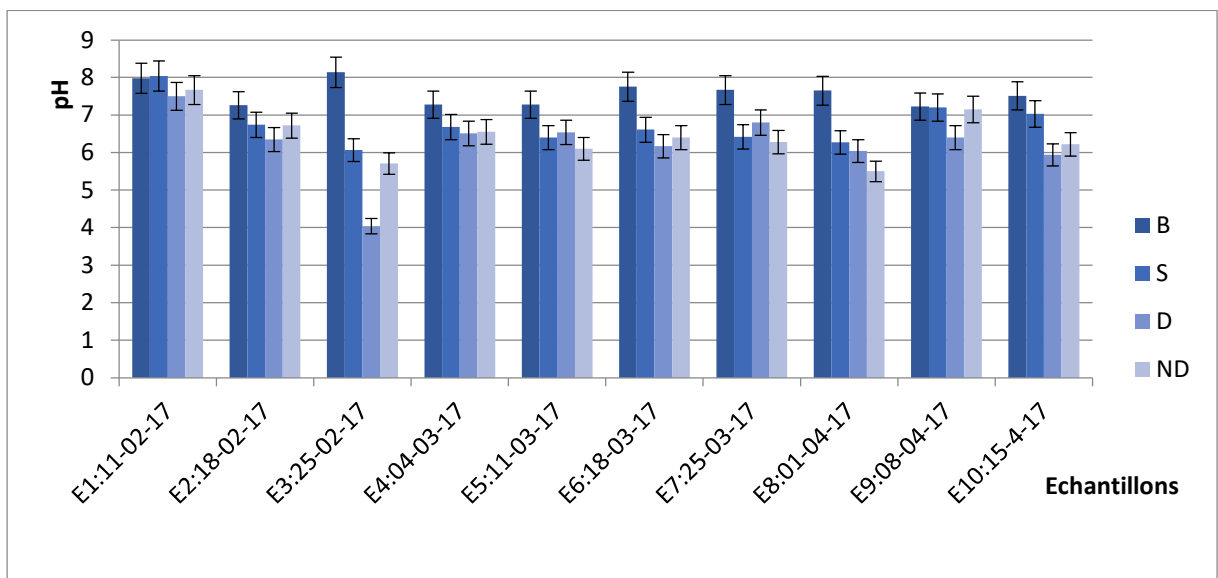


Figure III-5: Valeurs de pH des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

À partir de ces résultats, on peut considérer que l'eau filtrée par le sable est conforme aux normes algériennes de la qualité des eaux usées destinées à l'irrigation selon les travaux de **JORA** en (2006). Ces valeurs se trouvent également dans l'intervalle (6,5-8,4) recommandées par la **FAO** en (2003) et celles préconisées par la **CNS**, (2004). Ces résultats sont comparables avec ceux obtenus par **Maazouzi et al., 2011**, qui ont enregistré une diminution de 8.05 à 7.13, après filtration par filtre à sable.

Cependant, le pH de l'eau traitée par les deux autres filtres (graines dégraissées et non dégraissées) reste dans l'intervalle limité pour les eaux de maraîchage (El Addouli *et al.*, 2009). Une eau de bonne qualité, destinée au maraîchage, doit avoir un pH compris entre 5,5 et 7,5 selon les légumes cultivés. D'autre part, la valeur de pH d'eau usée traitée recommandée par OMS, (2006) situe entre 6.0 et 8.0.

➤ Conductivité

Les résultats de la mesure de conductivité électrique (CE) sont regroupés sous forme d'histogramme dans la **figure III-6**. Les valeurs de la CE des eaux brutes varient entre 2.75 mS/cm et 2.91mS/cm, avec une moyenne de 2.79 mS/cm et celles des eaux traitées par le sable balance varient entre 2.53 mS/cm et 2.75 mS/cm, avec une moyenne de 2.66 mS/cm.

En ce qui concerne, les valeurs de la conductivité électrique (CE) des eaux filtrées par le sable, nous avons observé une légèrement diminution par rapport à celle des eaux usées brutes, par contre la CE des filtrats à 1%, 2% et 3% obtenus ont enregistré une augmentation de l'ordre de 0.54 mS/cm. Les travaux de Majdi *et al.*, en 2020, montrent une diminution des valeurs de la conductivité de l'eau usée après l'essai JAR test par l'utilisation de chlorure ferrique comme coagulant chimique. Les valeurs enregistrées de la conductivité peuvent être liées à la composition des graines de *M.oleifera*.

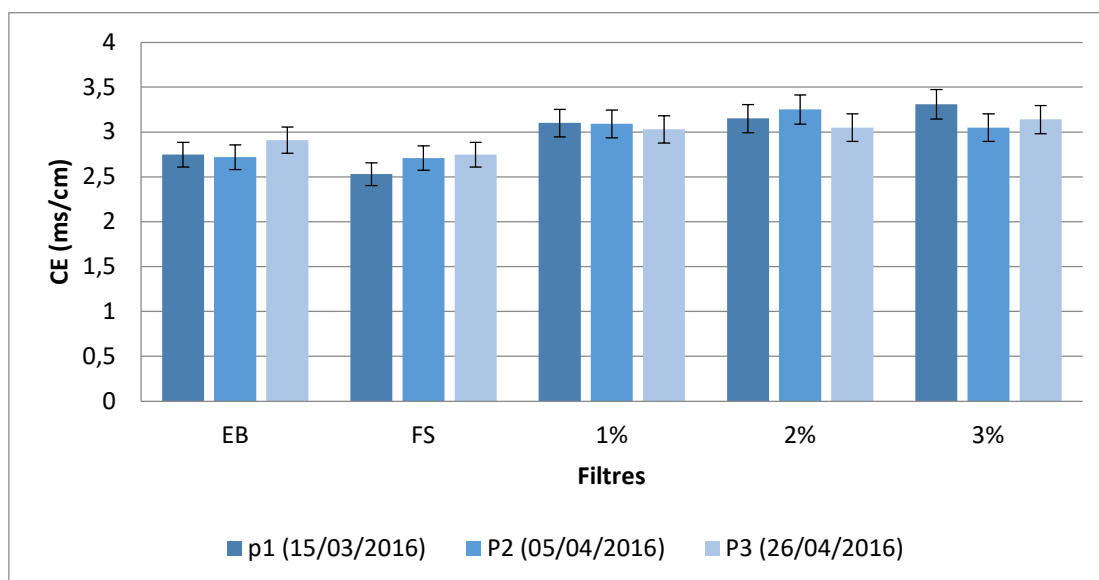


Figure III-6: Évolution de la conductivité dans les différents filtrants

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3.

Chapitre III

Résultats et Discussion

Les valeurs de la conductivité électrique (CE) élevées de (1.91mS/cm-3.35mS/cm) obtenues pour les échantillons avant et après filtration sur le support à sable à base de 1% des graines dégraissées et non dégraissées mettent en évidence la minéralisation importante des eaux usées. Le taux de ce paramètre permet de conclure que la variation de la charge polluante s'accompagne d'un accroissement de la conductivité.

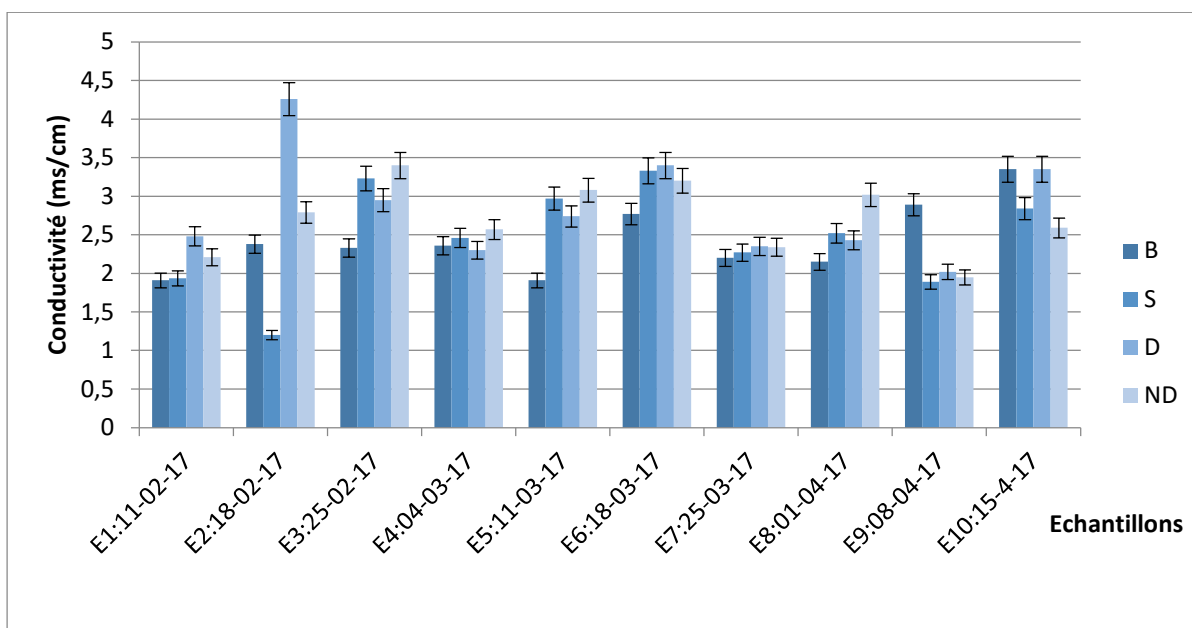


Figure III-7 : Résultats de conductivité mesurée des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre à base des graines non dégraissées).

La **figure III-7** montre que les valeurs des conductivités des eaux traitées par filtre à sable sont inférieures à celles des eaux traitées par filtre à base des graines de *Moringa*, avec une moyenne de 2492 μ S et 2766 μ S respectivement. Ces résultats sont extrêmement élevés, mais restent proches aux valeurs limites des rejets directs (**MEM, 2002**), et inférieurs à la valeur maximale 3000 μ s/cm des eaux destinées à l'irrigation (**CNS, 1994**).

Selon les travaux de **Dimane et al.,(2016)**, les eaux épurées présentent des valeurs de conductivité stables par rapport à celles d'entrée, elles sont comprises entre 2120 μ s/cm et 2640 μ s/cm avec une moyenne de 2368 μ s/cm.

➤ **Turbidité**

Elle est causée par la présence de matières en suspension ou par des substances en solution comme les substances minérales (sable, argiles ou limons), des matières organiques (matières organiques mortes ou des végétaux en décomposition, du plancton suspendu) ou d'autres matières microscopiques qui forment un obstacle au passage de la lumière dans l'eau (**Hade, 2003**).

La mesure de la turbidité est très utile pour le contrôle d'un traitement. Cependant, la turbidité ne donne pas d'indication sur la nature, la concentration, la taille des particules en suspension qui doivent faire l'objet de mesures spécifiques (**Rodier et al., 2009**). Elle peut nous renseigner dans certains cas indirectement sur la présence de microorganismes. Plus la teneur en particules en suspension dans l'eau est élevée, plus il est probable de trouver des microorganismes (**Attab, 2011**).

L'analyse de l'histogramme de la figure III.8 indique que la turbidité moyenne des eaux brutes filtrées par le sable a diminué de 132,56 NTU à 49,83 NTU, par contre celle des eaux traitées par filtres à base de 1, 2 et 3% de *M.oleifera* a augmenté considérablement pour atteindre 280.66 NTU (à 1%), 465.33 NTU (à 2%) et 585.66 NTU (à 3%).

Selon les travaux de **Kabore et al.** en **2013**, l'introduction du coagulant a entraîné une augmentation de la turbidité des eaux. *M.oleifera* est un coagulant primaire qui provoque la formation de ponts entre les colloïdes. Du fait de la faible présence de colloïdes dans l'eau brute, c'est la matière organique du coagulant *M.oleifera* qui a entraîné cette augmentation de la turbidité des eaux traitées par les filtres à base de *M.oleifera*.

Chapitre III

Résultats et Discussion

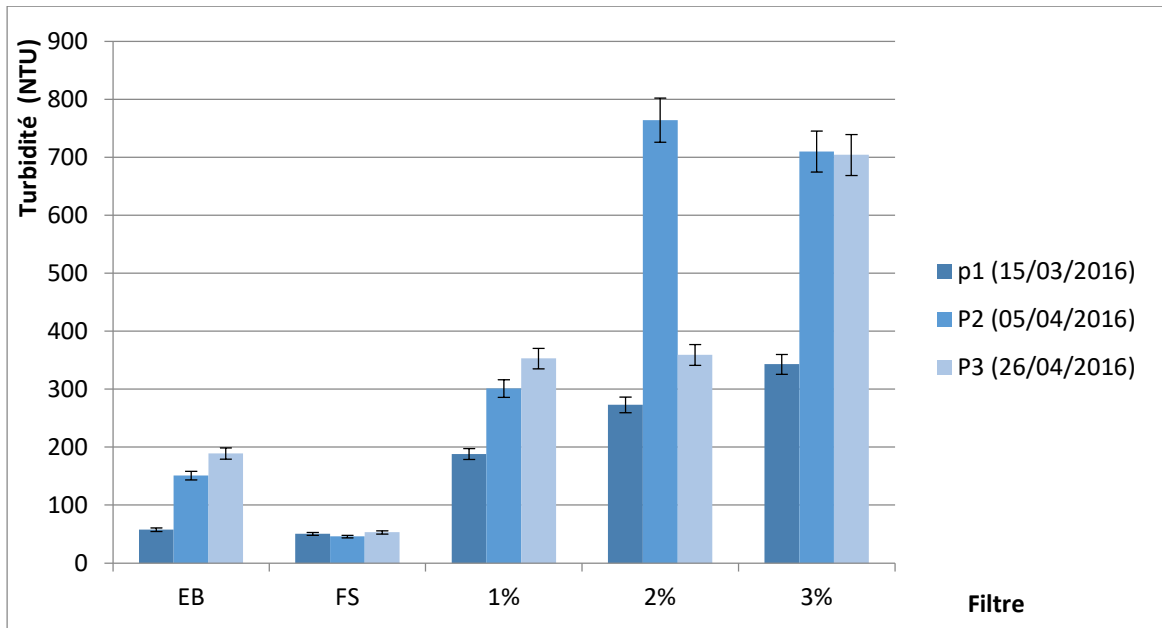


Figure III-8: Évolution de la turbidité dans les différents échantillons.

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3).

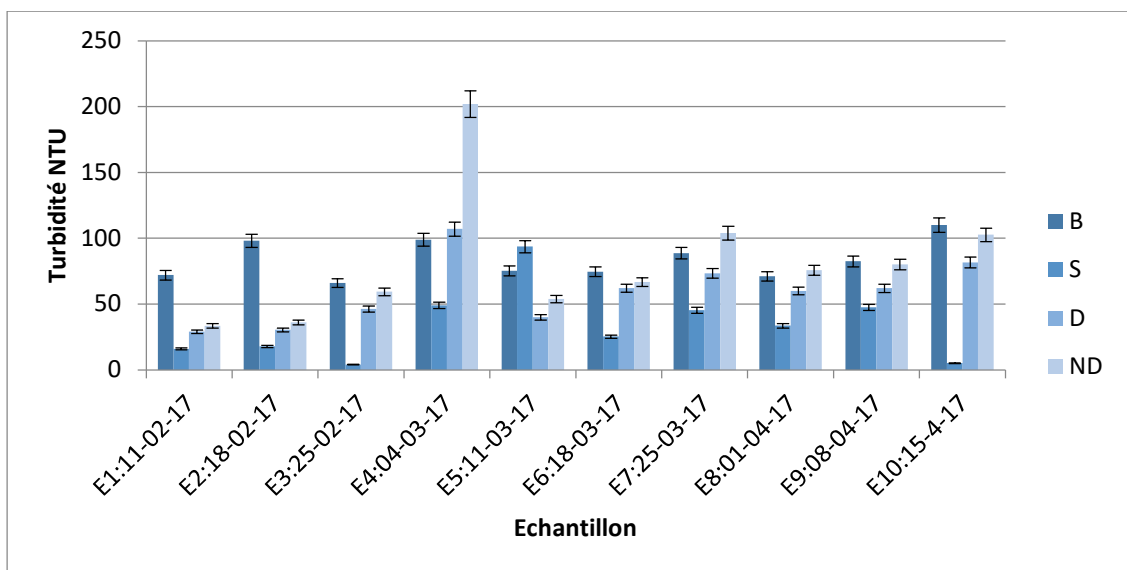


Figure III-9: Résultats de turbidité des différents échantillons.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

Chapitre III

Résultats et Discussion

D'après les résultats obtenus, des valeurs élevées sont enregistrées dans l'eau traitée par la poudre des graines non dégraissées et dégraissées 202 NTU et 101 NTU respectivement. Cependant, la turbidité de l'eau filtrée par le filtre à sable a une valeur maximale de 47.5 NTU. D'après ces résultats, on remarque que l'incorporation des graines de *M.oleifera* provoque une augmentation de la turbidité, cela est en concorde avec ce qui a été déclaré par **Yuliastri et al., 2016** « la turbidité augmente parce que les colloïdes résultants se neutralisent et se précipitent par l'optimum de dosage, alors que l'excès de ce coagulant cause la turbidité dans l'eau, dans le cas où il ne réagit pas avec la charge opposée des colloïdes ». D'autre part, nos résultats de la turbidité sont trop loin de celle limitée par la recommandation de l'OMS, 2001.

➤ Nitrates

Les nitrates sont généralement les résultats de la dégradation biologique des matières organiques azotées. La **figure III-10** montre les résultats de dosage des nitrates dans les différents échantillons traités.

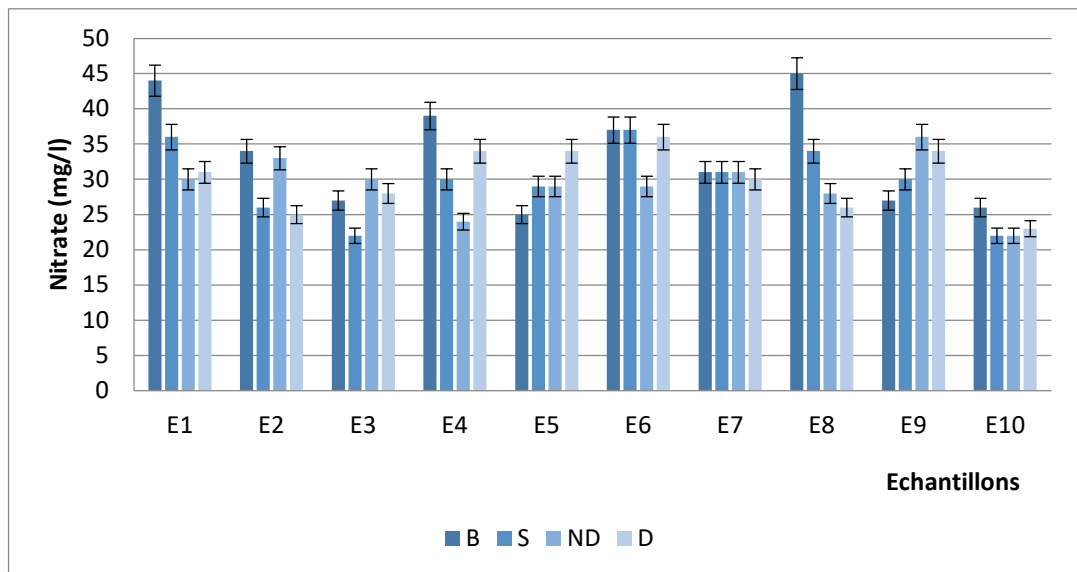


Figure III-10: Résultats de dosage du Nitrate des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre à base des graines non dégraissées).

Des valeurs maximales de nitrate sont enregistrées pour l'eau traitée par sable avec une moyenne atteinte 33.5 mg/ml suivi par 29.2 mg/ml et 29.7 mg/ml pour l'eau qui a subi un traitement par les graines dégraissées et non dégraissées. La réglementation fixe un seuil limite de 50 mg/L à cause de leur toxicité indirecte après leur transformation en nitrites (**Makhloufi, 2010**). Les concentrations des nitrates sont exprimées en mg/L.

➤ Nitrites

En absence de pollution, la concentration des nitrites dans les eaux ne dépasse pas 0.1 mg/L. Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque, soit la réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante (Makhloufi, 2010).

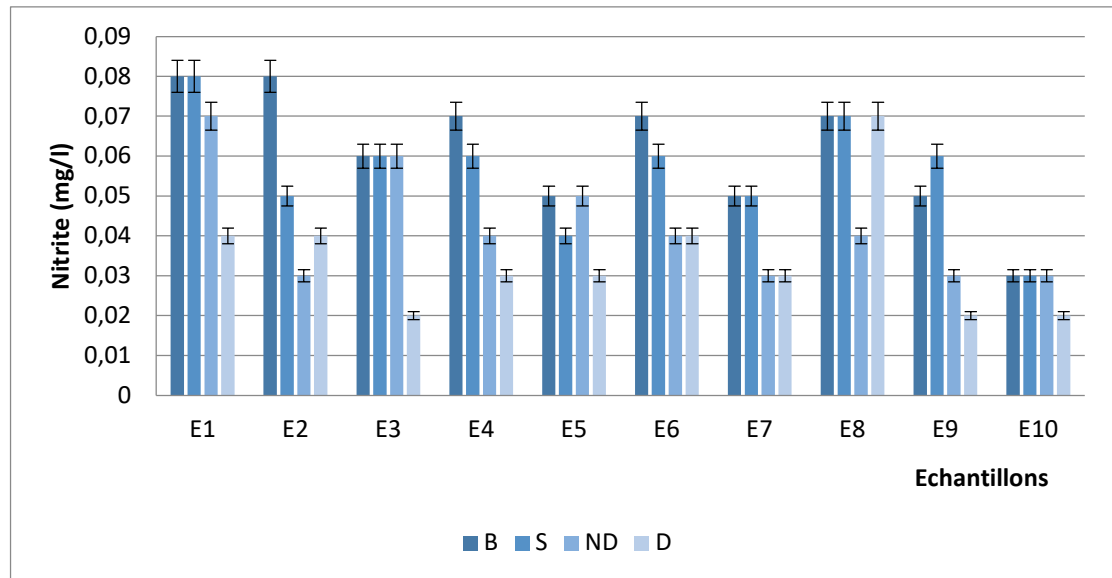


Figure III-11: Résultats de dosage du Nitrite des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre à base des graines non dégraissées).

Les eaux usées traitées ne dépassent pas les seuils fixés par les normes où nous avons enregistré des valeurs moyennes de 0.05 mg/ml pour les eaux traitées uniquement par le sable et 0.04 et 0.03 respectivement pour les eaux traitées par les filtres ND et D.

➤ Ammonium

L'ammonium est assez souvent rencontré dans les eaux et traduit habituellement un processus de dégradation incomplète de la matière organique. L'azote ammoniacal des eaux superficielles peut avoir origine la matière végétale des cours d'eau, la matière organique animale ou humaine, les rejets industriels, les engrais, etc.. (Rodier *et al.*, 1996).

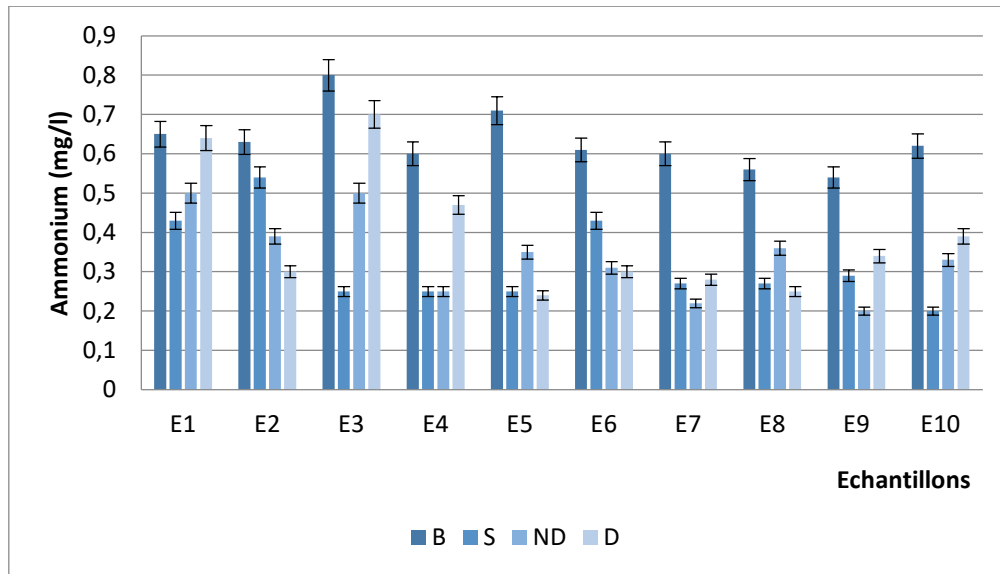


Figure III-12: Résultats de dosage de l'Ammonium des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre à base des graines non dégraissées).

Ces résultats montrent que les eaux brutes présentent des concentrations légèrement élevées en ammonium avec un maximum de 0.8 mg/l. Ces valeurs témoignent d'une bonne oxygénation des eaux entraînant ainsi l'oxydation de l'azote qui est à l'origine des mauvaises odeurs, et le processus de dégradation incomplète de la matière organique par des réactions d'ammonifications, la présence d'urine qui est le principal indicateur de la présence de l'azote dans les eaux résiduaires urbain, ainsi que les détergents à base d'ammonium (Makhoukh, 2011). Le traitement de ces eaux brutes par les filtres à base de 1% de graines ND et 1% de graines D a donné un abattement d'ammonium jusqu'à 0.5 mg/mL et 0.6 mg/mL respectivement.

➤ **Phosphates**

Le phosphore peut exister dans les eaux à l'état dissous ou en suspension. Le phosphore total dissous comprend le phosphore organique et le phosphore inorganique qui lui-même inclut les orthophosphates et les polyphosphates (Rodier *et al.*, 2009).

L'origine du phosphore dans les eaux usées est déduite de la connaissance des sources de phosphore naturel et de son utilisation. Elle est multiple. Le phosphore provient du métabolisme humain, des rejets industriels et des rejets agricoles ou d'origine naturelle (Villebrun, 1989).

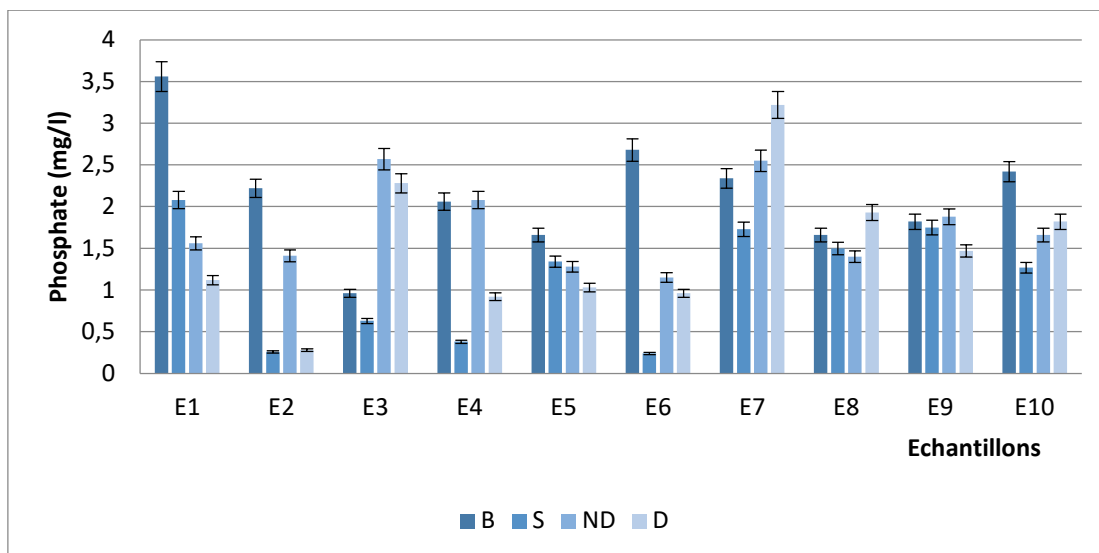


Figure III-13: Résultats de dosage du phosphate des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre à base des graines non dégraissées).

D'après nos résultats on remarque qu'il y a une diminution de taux de phosphate dans les échantillons traités par rapport à l'eau usée brute. Cette diminution est peut-être due à la fixation de cet élément par les composants des filtres qui consiste à « piéger » le phosphore dissous sous forme particulaire. Ce changement de phase a lieu au contact de cations (ions calcium, magnésium, aluminium ou ferriques) apportés soit par les eaux usées (précipitation naturelle), soit par ajout de réactifs à base de fer, d'aluminium ou de chaux (précipitation forcée) (Duchène & Cochard, 1999).

➤ **Carbone organique total (COT)**

Le carbone organique total (COT) est une mesure de la teneur en carbone des matières organiques dissoutes et non dissoutes, présentes dans l'eau. Il ne donne pas d'indication sur la nature de la substance organique (ISO 8245 : 1999). Les résultats sont présentés dans la figure suivante.

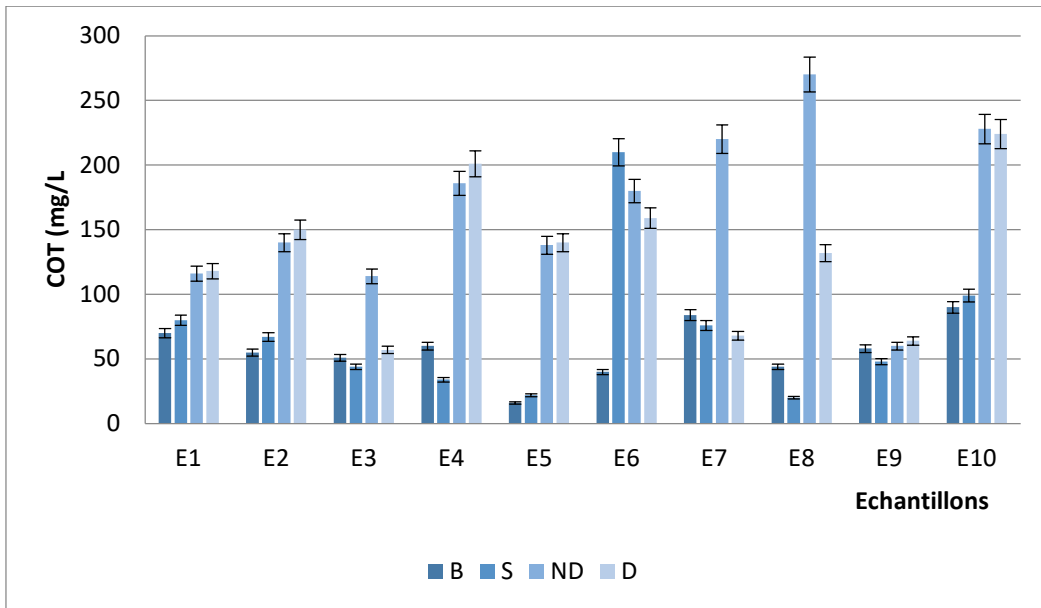


Figure III-14: Résultats de dosage du COT des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

Les résultats de cette figure montrent que les valeurs moyennes des COT des eaux traitées par les deux filtres D et ND, égales à 165.2, 131 mg/L respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles des eaux traitées par filtre à sable (70 mg/L). Ces résultats confirment les valeurs élevées de la turbidité des eaux traitées par les filtres à base de *M.oleifera* et qui sont attribuées à la dissolution de la matière organique du coagulant *M.oleifera*.

➤ **Métaux lourds et éléments indésirables**

III.2.1.1 Cadmium

Sur le plan de la chronocité le cadmium est nocif. C’est un toxique cumulatif, capable de s’accumuler dans les chaînes alimentaires. Les résultats du dosage du Cadmium sont présentés dans l’histogramme ci-dessous (**Figure III-15**).

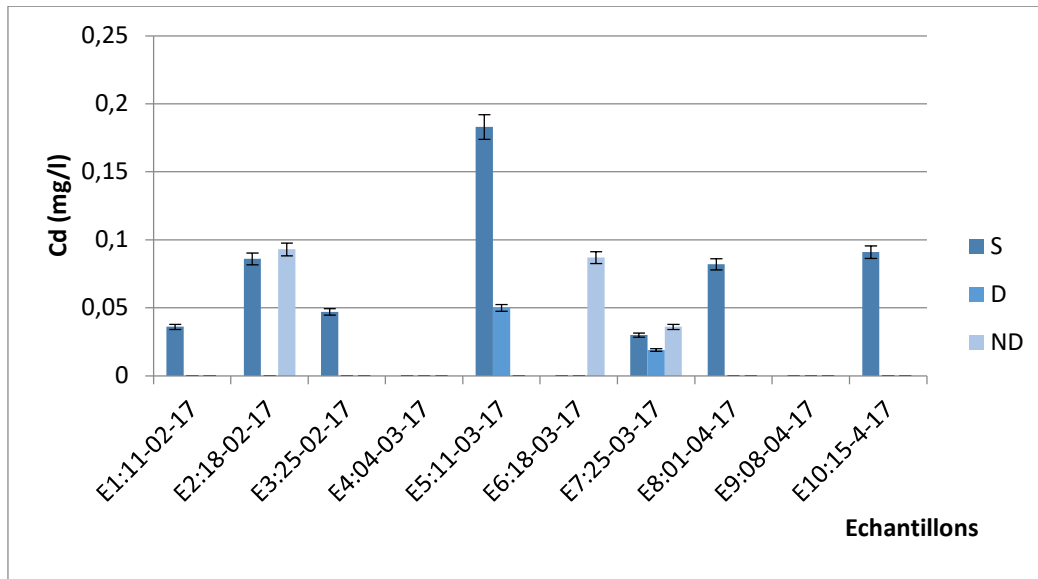


Figure III-15: Résultats de dosage du Cadmium des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

On remarque une présence non négligeable de ce métal avec une valeur moyenne de 0.0555 mg/ l pour le filtre à sable et 0.0069/0.0216 mg/l, avec élimination totale qui a été observée dans les 80 % et 70 % des échantillons analysés respectivement par les filtres à base des graines dégraissées et non dégraissées.

La teneur en Cd pour le filtre à base des graines dégraissées est en accord à celle autorisée par la **FAO en 2003 et l’OMS en (2012)** qui est de l’ordre de 0,01mg/l. D’après **Yuliastri et al., 2016**, les graines de *M.oleifera* utilisées comme coagulant diminuent le métal de Cd de 6 ppm à une concentration non détectable.

III.2.1.2 Chrome

Le chrome est présent en petite quantité dans la nature, il peut exister dans l’eau sous plusieurs formes. Pratiquement, le chrome est un élément anormal de l’eau, sa présence est le plus souvent liée aux rejets des ateliers de galvanoplastie. Les dérivées du chrome : acide chromique, chromate et bichromates sont très dangereux, car allergènes et cancérogène (**Rodier et al., 1996**).

Les résultats du Chrome dans les différents types d’eaux épurées sont présentés dans la figure ci-dessous (**Figure III-16**).

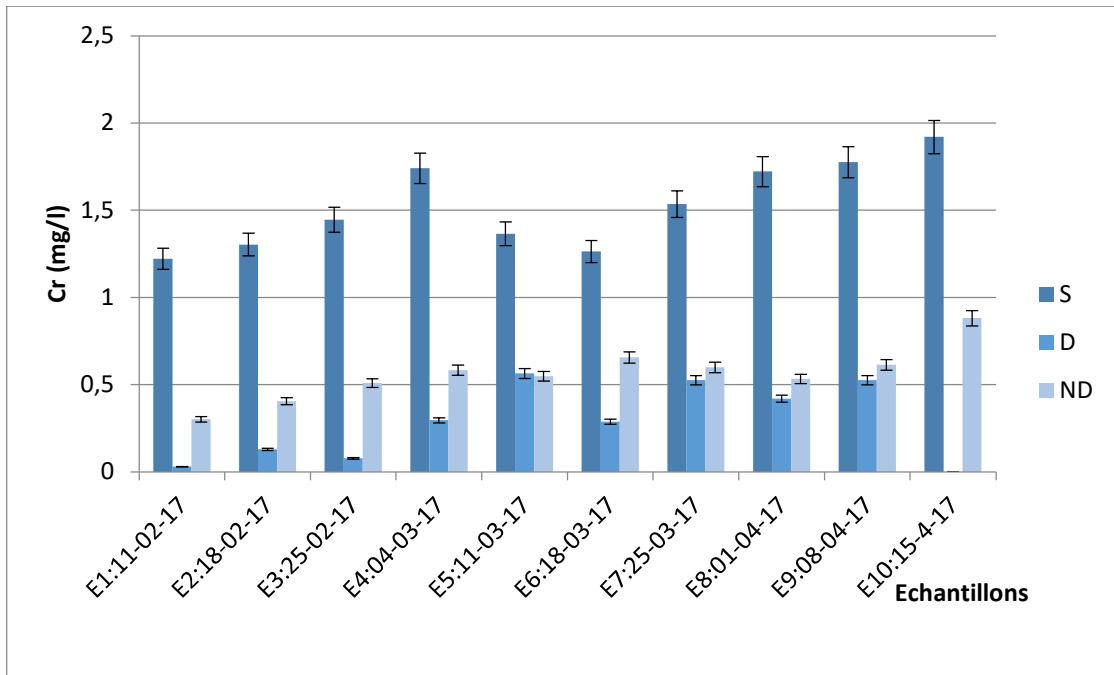


Figure III-16: Résultats de dosage du Chrome des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

D'après ces résultats, l'épuration par le filtre à sable donne des eaux avec une concentration de Chrome trop élevée, par rapport aux valeurs obtenues par les autres filtres où on a remarqué des faibles concentrations avec des valeurs qui s'étend de 0.03 et 0.564 mg /l et de 0.302 au 0.881 mg/l respectivement pour les deux filtres D et ND, voir indétectable dans certains cas pour le filtre D.

Ces résultats ne sont plus en accord avec celles recommandées par la **FAO (2003)** dont sa concentration ne doit pas dépasser le 0.1 mg/l pour les eaux destinées à l'irrigation.

III.2.1.3 Cobalt

Les concentrations de Cobalt détectées sont mentionnées dans le diagramme ci-dessous (Figure III-17).

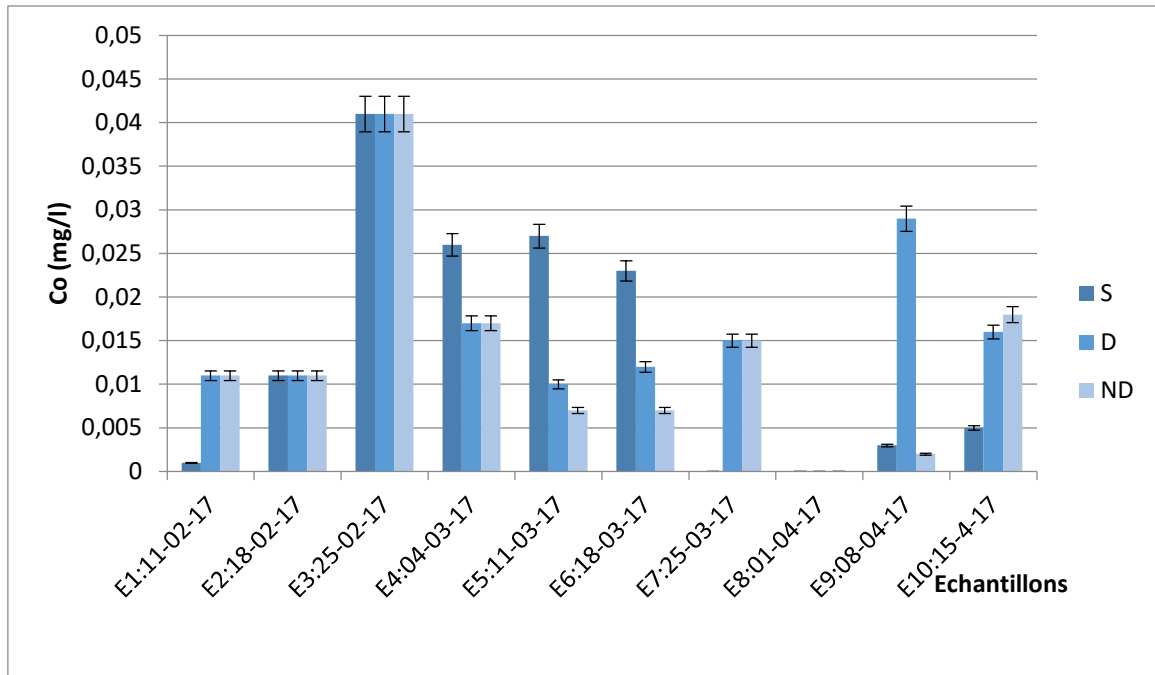


Figure III-17: Résultats de dosage du Cobalt des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

On a noté que le Cobalt est moins présent dans l'eau obtenue après filtration sur sable avec des teneurs de 0 à 0.041 mg/l contrairement à ceux enregistrés dans l'eau épurée par les graines dégraissées et non dégraissées avec des valeurs sommet 0.074 mg/l, 0.041 mg/l respectivement. Selon la norme tunisienne, ces concentrations sont restées dans les limites des rejets où le seuil ne doit pas dépasser 0.1 mg/l.

III.2.1.4 Palladium

Les résultats obtenus pour ce métal sont représentés dans la figure ci-dessous (Figure III-18).

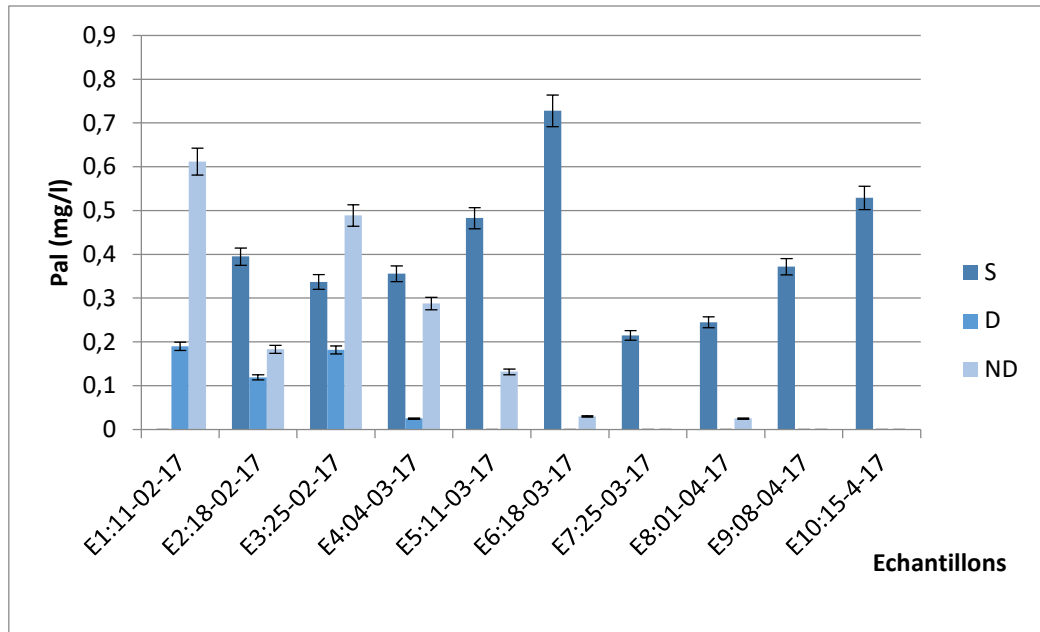


Figure III-18: Résultats de dosage du Palladium des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

L’histogramme ci-dessus (Figure III-18), montre que la teneur en palladium est très élevée dans l’eau filtrée par sable avec des concentrations maximales atteignent 0.785 mg / l, contrairement aux concentrations observées dans le filtre à base des graines dégraissées d’où on a noté qu’il existe des teneurs minimales voir indétectables. Alors que l’épuration par les graines non dégraissées enregistre la présence de palladium dans ces résultats avec 0.612 mg /l comme valeur maximale durant toute l’analyse, sachant qu’il est indétectable dans les derniers échantillons à partir de E7.

Nos résultats enregistrés, pour le filtre à base des graines dégraissées, répondent au seuil de palladium indiqué selon Chassot *et al.*,(1998), qui ont identifié la teneur moyenne en palladium est de l’ordre de 0,5mg/kg. En tenant compte que la valeur maximale de celle-ci est de 0,9mg/kg, autrement, d’après l’arrêté préfectoral complémentaire n°2016-326 en 2016, ces résultats sont conformes à la valeur limite en concentration de palladium dans une station épuration des eaux usées, ou le seuil ne doit pas dépasser 1mg/L.

III.2.1.5 Fer

La Figure III-19 montre les différentes concentrations de Fer trouvées dans les trois types d'eau après filtration.

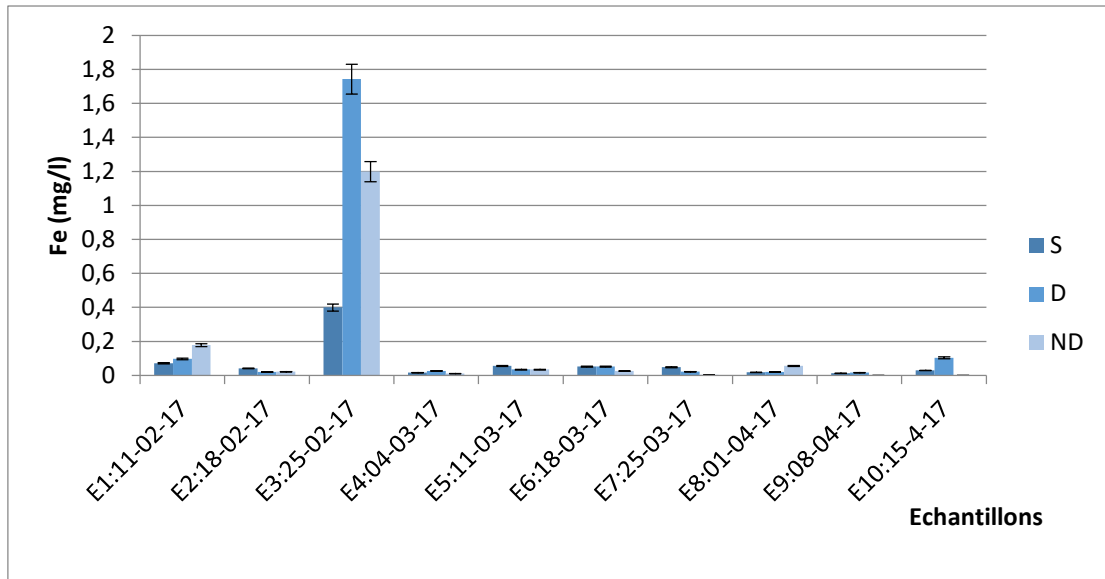


Figure III-19: Résultats de dosage du Fer des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

D'après les résultats illustrés dans la figure III-19, des valeurs minimales de l'ordre de 0.001 mg/l sont enregistrées dans l'eau épurée par les graines non dégraissées voir même indétectable, comme on a noté un taux maximal de l'ordre de 1.999 mg /l pour l'échantillon E₃. Pour ce qui est de l'eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées, les valeurs s'étend de 0.02 et 1.743 mg/l. concernant le filtre à sable la valeur moyenne s'élève à 0.07 mg /l.

Ces résultats sont légèrement supérieurs aux normes tunisiennes qui obliquent une concentration de 1 mg/l pour le rejet dans le milieu hydrique (Neubert et Benabdallah, 2003). Cependant, le taux recommandé par la Federal Water Pollution Control Administration diffère selon le type d'utilisation des eaux usées. En irrigation, la teneur en fer tolérable est de l'ordre de 5 mg/l dans un système d'irrigation intensif à base des eaux usées. Dans un système d'irrigation moins intensif, la teneur tolérable serait de l'ordre de 20 mg/l pour des eaux usées brutes, épandues sur des sols à texture fine (Ratel et al., 1986).

III.2.1.6 Cuivre

L'histogramme (Figure III-20) montre les différentes concentrations de cuivre trouvées dans nos échantillons :

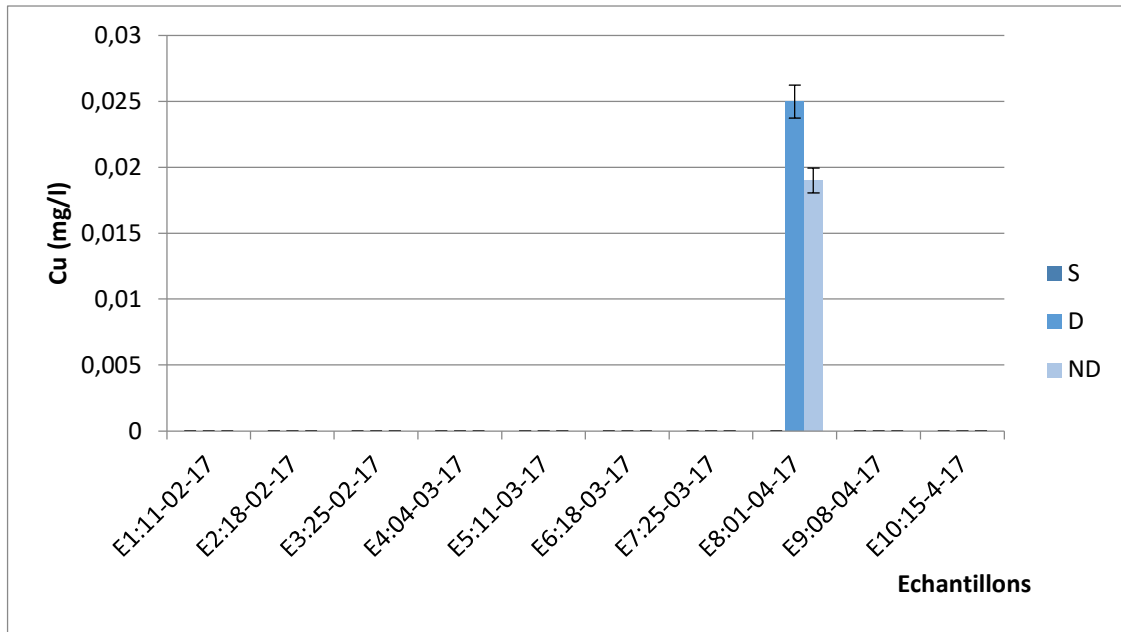


Figure III-20: Résultats de dosage du Cuivre des différents échantillons traités.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

Ce métal est indétectable dans nos échantillons, à partir de nos résultats et par comparaison avec les travaux de **Tamrabet (2011)**, les teneurs moyennes en cuivre dans les eaux usées des stations des eaux d'irrigation d'Oued El Gourzi varient de 0.60 à 0.66 mg / l avec une moyenne de 0.625 mg/l. La teneur en cuivre présente dans cette étude est largement inférieure à celle obtenue dans les stations d'épurations, et la réglementation italienne qui permette l'existence de 1 mg / l dans les eaux usées épurées comme valeur limite de cuivre (décret ministériel n°185 du 12 juin 2003).

Ces résultats ne dépassent pas les normes nationales et internationales de réutilisation et de rejet selon **El Hayek (1989)**, ainsi que celle préconisée par la **FAO (0.2 mg/l)** d'après **Derwich et al., en 2008**. En 2012, l'Organisation mondiale de la Santé a fixé le taux en cuivre de 0.20 mg/l, cette valeur limite et la même fixée par la réglementation espagnole. Un taux de 0.5 mg/l en cuivre est recommandé par la norme tunisienne de rejet (**Neubert et Benabdallah , 2003**). On peut déduire que nos échantillons sont conformes aux normes internationales en qualité de cuivre.

III.2.2 Résultats des analyses bactériologiques

L'analyse bactériologique a pour but la recherche et le dénombrement des germes existant dans l'Oued de Bechar et de contrôler l'efficacité de traitement de nos échantillons.

L'analyse microbiologique des eaux usées brutes et traitées permet de contrôler l'efficacité de traitement par filtration sur sable et le sable mélangé avec graines broyées de *M.oleifera*.

Les résultats présentés dans les figures de 26 au 31 indiquent la présence considérable des germes dans les eaux usées brutes. Néanmoins, l'amélioration de la qualité microbiologique des eaux traitées est significative. Les principales caractéristiques de nos échantillons sujets de notre étude sont présentées dans les figures suivantes :

➤ **Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale**

Les eaux usées renferment toute une flore très diversifiée, cependant le dénombrement des germes aérobies mésophiles, nous donne une idée sur la charge des eaux usées en microorganismes, il est utilisé aussi comme indicateur d'efficacité de traitement (**Rodier et al., 1996**).

Les résultats obtenus concernant la recherche et le dénombrement de la flore aérobies mésophile totale montrent que les germes présents dans l'eau brute sont nombreux avec une moyenne de $2,4 \cdot 10^7$ UFC/ml pour la flore aérobie mésophile totale à 22°C et de $4,1 \cdot 10^7$ UFC/ml à 30°C;

Concernant les eaux filtrées sur sable on remarque une diminution appréciable avec une moyenne de $1,1 \cdot 10^7$ UFC/ml (22°C) et $9,8 \cdot 10^6$ (30°C).

Quant aux filtres à 1%, 2% et 3% de *M.oleifera* les valeurs moyennes de la FAMT sont respectivement $1,9 \cdot 10^3$ UFC/ml, $1,3 \cdot 10^3$ UFC/ml et $1,1 \cdot 10^3$ UFC à 22°C et $1,1 \cdot 10^3$ UFC/ml, $8,8 \cdot 10^2$ UFC/ml et $8,4 \cdot 10^2$ UFC/ml à 30°C. Ce qui indique que nos filtres provoquent une diminution importante de la FAMT dans les différents filtres, donc ces résultats montrent l'efficacité des graines de *M.oleifera*.

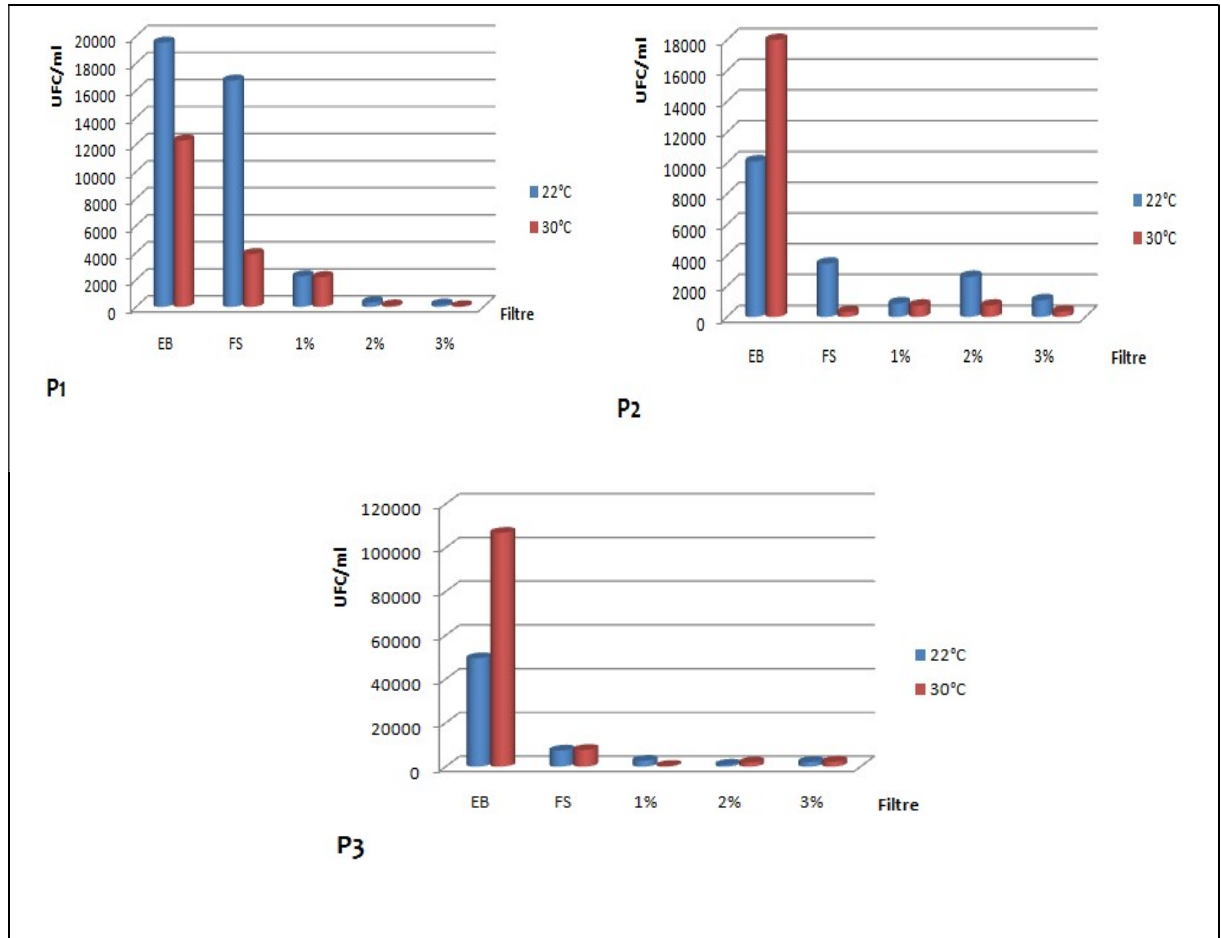


Figure III-21: Dénombrement de FAMT dans les eaux avant et après filtration après 24 h d'incubation.

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; 1 ; 2 et 3 % : filtre à base de 1 ; 2 et 3% de graines de *M.oleifera*. P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3)

L'ensemble des résultats obtenus pour la FAMT dans les échantillons bruts et traités par le sable, graines dégraissées et graines non dégraissées est représenté dans l'histogramme ci-dessous :

Les résultats du dénombrement de la flore aérobie mésophile totale des eaux brutes, à 30 °C, varient entre une valeur maximale de 1.5×10^8 UFC/ml enregistrée dans E₈ et une valeur minimale de 1.1×10^7 UFC/ml enregistrée dans E₁₀ et avec une moyenne de $5,35 \times 10^7$ (figure III-22). En ce qui concerne les résultats de la FAMT à 22 °C, la valeur minimale est enregistrée dans l'échantillon E₁₀ avec un taux de 1.1×10^7 UFC/ml, tandis que la valeur maximale est enregistrée dans l'échantillon E₆ avec une valeur de 7.2×10^7 UFC/ml et avec une moyenne de $2,86 \times 10^7$. En effet, les données relatives au dénombrement de la FAMT dans l'eau usée révèlent que la densité de la flore totale énumérée à 30°C est plus élevée que celle dénombrée à 22°C dans tous les échantillons.

Chapitre III

Résultats et Discussion

D'après les données du dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, il apparaît que la moyenne de ce comptage est inférieure à celles citées par **Benameur** et **Krim** en (2012) qui est de l'ordre de 10^8 UFC/ml à 37°C et $2,5 \times 10^8$ UFC/ml à 22°C .

La diminution de la flore indigène peut également être due à la présence de prédateurs bactériens tels que les protozoaires (**Servais et al., 2002**)

Les résultats obtenus après 48 heures d'incubation montrent qu'il y a une différence de concentration entre eaux traitées, concernant le filtre à sable présent une concentration élevée de la FAMT avec des valeurs maximales dans les températures 22°C et 30°C , ciblent $1,9 \times 10^7$ UFC/ml et un minimum de $2,5 \times 10^6$ UFC/ml.

En ce qui concerne les deux autres filtres, les valeurs oscillent vers des taux maximaux de $7,2 \times 10^6$ UFC/ml et $6,2 \times 10^6$ UFC/ml respectivement pour le filtre à graines dégraissées et non dégraissées, et un minimum de $1,6 \times 10^5$ UFC/ml et $1,3 \times 10^5$ UFC/ml ml respectivement pour le filtre à graines dégraissées et non dégraissées.

Selon l'étude de **Berdia et al., (1987)** ou ils ont montré dans leurs travaux que l'eau usée brute comporte une concentration de FAMT $3,2 \times 10^8$ bactéries par 100 ml, cette dernière a été diminuée à $2,8 \times 10^7$ dans l'eau usée traitée et épurée.

D'après **Goja et al., (2013)**, les graines de *M.oleifera* ont une activité et une capacité de débarrasser la FAMT des eaux usées au cours du traitement.

Une comparaison de ceux-ci avec nos résultats, on peut dire que le filtre à base de ses graines de *Moringa* et surtout les graines dégraissées donnent une eau traitée de bonne qualité vis-à-vis l'épuration sur sable.

Chapitre III
Résultats et Discussion

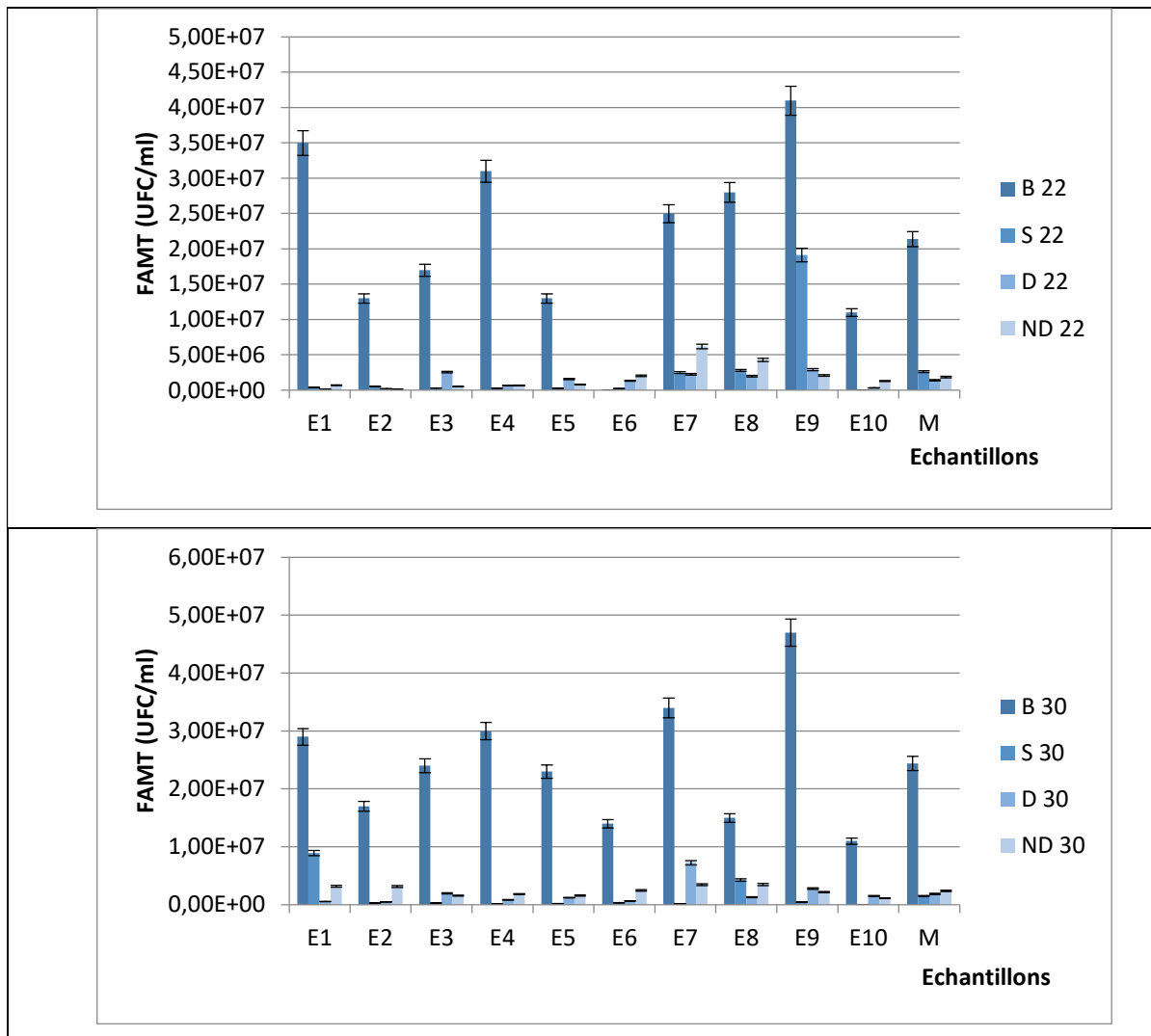


Figure III-22: Résultats de dénombrement de la flore aérobique mésophile totale.

(B :eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre avec des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre avec des graines non dégraissées)

➤ **Dénombrement des coliformes**

La pertinence de ce groupe comme indicateur est fortement contestée du fait que toutes les espèces incluses dans les CT ne sont pas spécifiques de la flore intestinale des animaux à sang chaud. En effet, certaines espèces sont d'origine tellurique ou aquatique et sont capables de se développer dans l'environnement aquatique (**Attab, 2011**)

Les résultats des coliformes totaux réalisés sur le milieu BCPL étaient positifs. Ces résultats montrent que l'eau brute et filtrée renferme des taux plus ou moins élevés des coliformes totaux.

Chapitre III

Résultats et Discussion

Les valeurs enregistrées pour les eaux usées traitées et non traitées, varient de 3 à $1,1 \cdot 10^3$ germes pour 100 ml.

Les résultats de dénombrement des coliformes thermo-tolérants montrent que les eaux usées brutes sont trop chargées avec des teneurs qui varient entre 2 et $2,4 \cdot 10^2$ germes pour 100ml, tandis que les valeurs enregistrées pour le filtre à sable sont comprises entre $0,28 \cdot 10^2$ germes/ml et $4,6 \cdot 10^2$ germes/ml. *M.oleifera* a provoqué une réduction de 100 % des coliformes fécaux pour toutes les concentrations.

Selon les travaux de **Martin et al** en 2012, l'évaluation de la qualité de l'eau traitée a été effectuée, en évaluant quelques paramètres après l'épreuve test-jar où la dose moyenne de *M.oleifera* extrait de graines été de l'ordre de 16 mg l^{-1} . Dans le cadre du traitement de l'eau pour la consommation humaine, ces résultats montrent des données très intéressantes.

Il y a une réduction importante dans la charge microbienne (jusqu'à 96 % et 94 % des coliformes fécaux et totaux et près de 100 % des streptocoques fécaux). De façon séquentielle, des systèmes tels que la filtration lente sur sable peuvent favoriser cette dépose des micro-organismes afin de parvenir à la qualité standard.

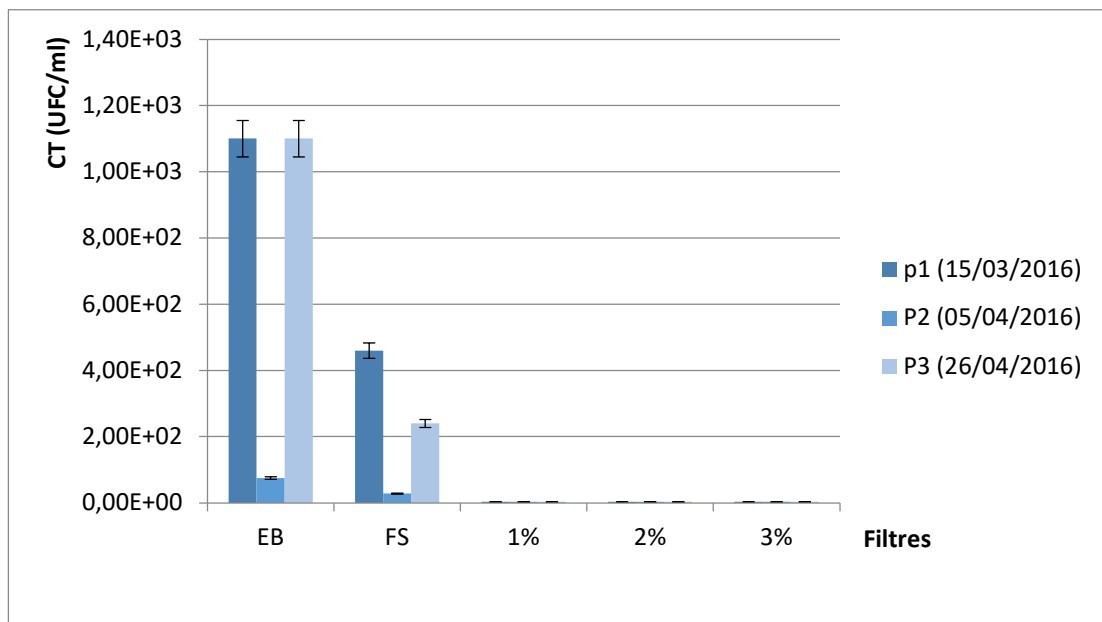


Figure III-23: Taux des coliformes totaux avant et après filtration

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3.

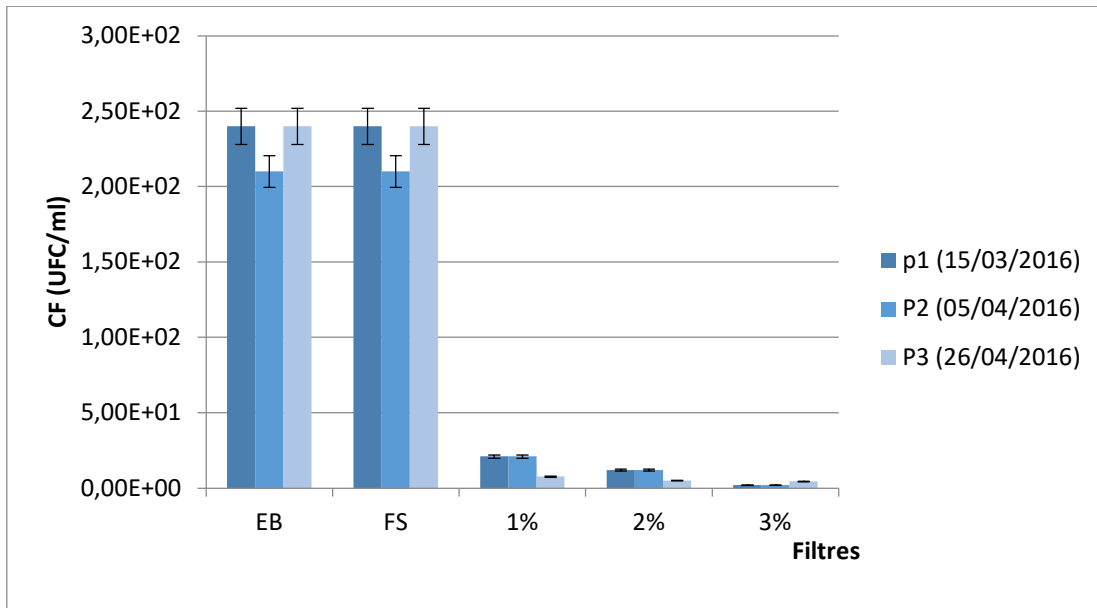


Figure III-24: Taux des coliformes fécaux avant et après filtration

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

Les coliformes totaux sont considérés comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale (Leyral *et al.*, 2002). On constate que l'effluent brut est caractérisé par des teneurs élevées en coliformes totaux à partir de l'échantillon E₃ ($> 1.1 \times 10^5$ germes/ 100 ml d'eau usée) (Figure III-24). Cependant, ces valeurs restent dans la limite par l'OMS fixée entre 10^3 et 10^7 germes/100 ml.

Selon les travaux de Cabral en 2010, ces concentrations élevées résultent de l'abondance en nutriments, en oxygène dissous, un pH alcalin et une température modérée. Ces derniers constituent des conditions de milieu idéales pour la prolifération des bactéries.

Le risque sanitaire relié à la présence de bactéries du groupe des coliformes totaux est souvent faible, à l'exception de certaines souches d'*E.coli* et de certaines bactéries opportunistes qui peuvent causer de graves maladies (El Haissoufi *et al.*, 2011). La figure suivante montre les taux des coliformes totaux dans les échantillons prélevés.

La présence des coliformes totaux dans les trois eaux traitées par le sable, les graines dégraissées et non dégraissées sont représentées dans la figure ci-dessous (Figure IV-25).

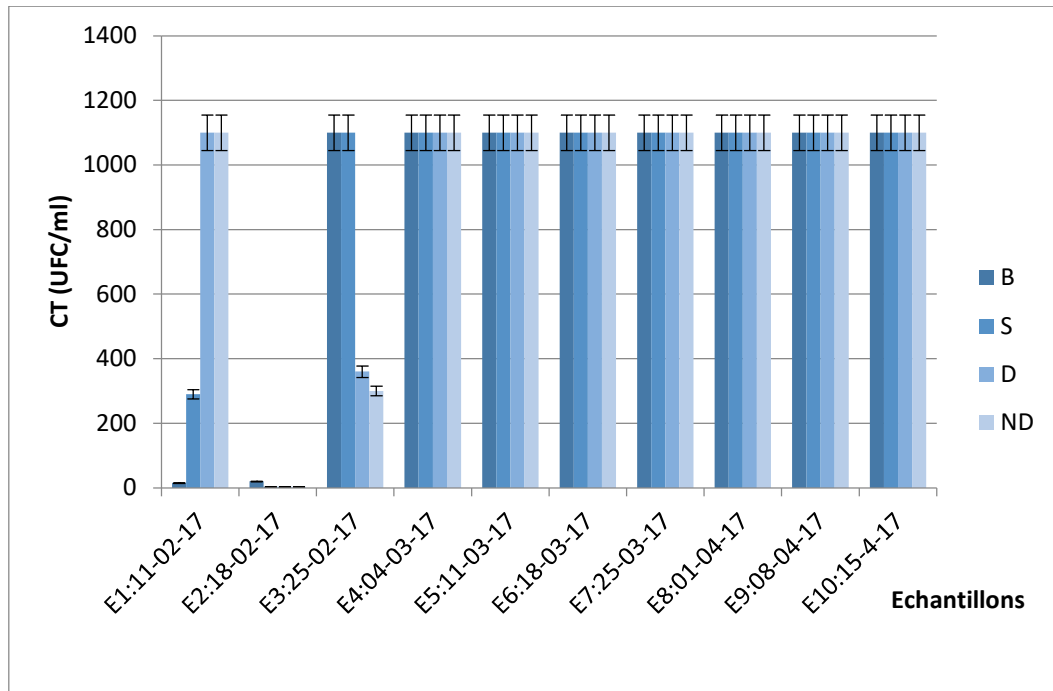


Figure III-25: Résultats de dénombrement des coliformes totaux.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre a base des graines non dégraissées).

Les résultats obtenus montrent que les eaux traitées restent riches en coliformes totaux dont la concentration de ceux-ci a une valeur maximale de 1.1×10^5 bactéries/100 ml. C'est une charge plus au moins importante, mais reste en concorde avec la déclaration d'OMS en (1989) dont la proportion de ces coliformes non fécaux est le plus souvent en grande quantité et qu'ils sont plus loin d'être considérés comme indicateurs de contamination fécale puisqu'ils ne sont pas exclusivement d'origine fécale surtout dans un climat chaud.

Selon Servais *et al.*, (2002), la teneur en coliformes totaux dans l'effluent traité dépend de la qualité microbiologique des eaux brutes d'une part et d'autre part de l'efficacité de la filière de traitement à éliminer les bactéries. D'où on peut dire que cette filtration est fortement efficace selon Corsin et Le Strat, (2007) qui ont donné une concentration de coliformes totaux entre 10^3 à 10^7 bactéries / 100 ml. Par contre, elle peut être plus efficace soit avec des charges microbiennes initiales réduites, soit avec des concentrations plus importantes de la graine (2 ou 3% au lieu de 1%) (Daniyan *et al.*, 2011).

En effet, les valeurs recommandées par la norme marocaine sont de 1000 bactéries / 100 ml pour les eaux usées traitées destinées à l'irrigation (Dimane *et al.*, 2016).

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tous les coliformes puissent exister dans les matières fécales, certains sont aussi les hôtes habituels du sol et des eaux tandis que d'autres ne peuvent vivre que dans le seul habitat fécal. La présence de ces coliformes dans l'eau constitue un bon indice de contamination des eaux par les matières fécales (**Mazieres, 1981**).

La concentration en coliformes thermotolérants varie d'une semaine à l'autre. Les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour les échantillons E₅, E₈, E₉, E₁₀ ($>1.1 \times 10^5$ germes/100ml). En revanche, les concentrations les plus basses varient de 9×10^2 à 6×10^3 germes /100ml d'eau dans les mois de février et Mars. Toutefois on a signalé l'absence totale de ces germes dans les échantillons (E₁, E₂, E₃). On constate que les effluents bruts ne dépassant pas la limite préconisée par l'OMS pour les normes de rejet fixées à 10^6 germes/100 ml (**Figure III-26**).

Selon les travaux de **Abdelmalek et al.,** en (**2012**) la présence des coliformes fécaux dans l'oued montre qu'il y a une contamination d'origine fécale de cet oued, d'une part par la présence de nombreux mammifères (moutons, caprin, chiens... *etc.*) et, d'autre part, par les rejets des eaux usées domestiques qui entoure cette rivière.

La charge en bactéries indicatrices de contamination fécale semble être liée au courant de l'eau et à l'effet des rejets domestiques le long d'oued, dont l'impact domine l'effet de dilution apporté par la précipitation. Ces constatations corroborent avec les observations de **Hunter et al., (1999)** qui ont évoqué l'existence d'une relation causale entre la qualité bactériologique de l'eau qui arrive au cours d'eau et les changements de sa concentration en coliformes thermotolérants. La figure suivante représente les variations de la teneur en coliforme thermotolérants dans les dix échantillons prélevés.

La présence des coliformes thermotolérants dans les trois eaux traitées par le sable, les graines dégraissées et non dégraissées est représentée dans la figure ci-dessous.

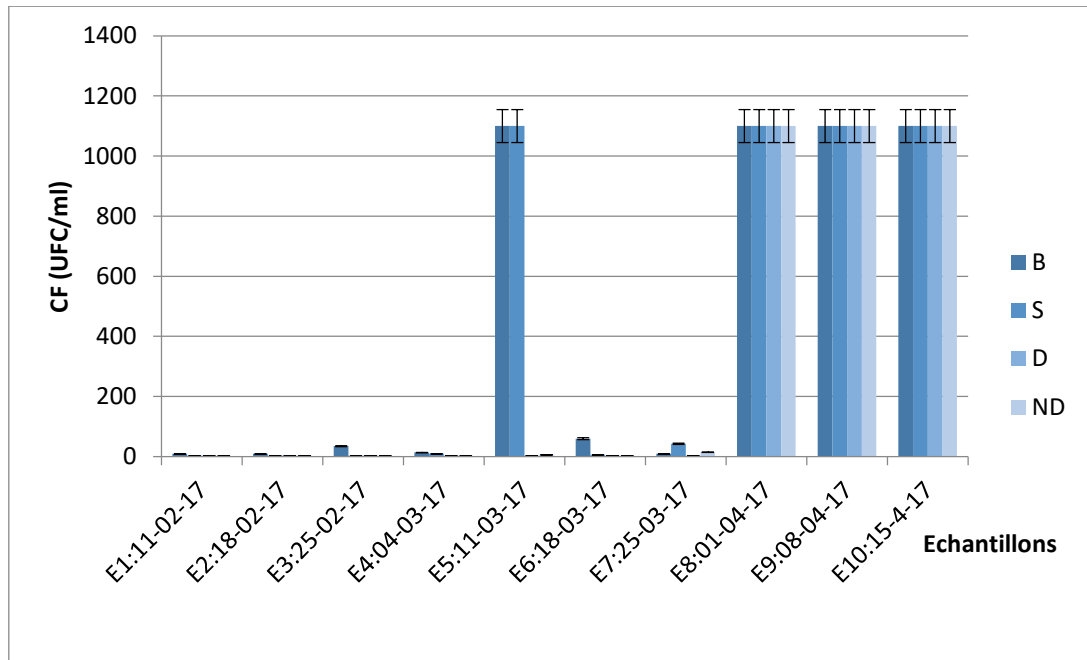


Figure III-26 : Résultats de dénombrement des coliformes fécaux.

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3.

Dans l’histogramme ci-dessus, on remarque qu’il a y une différence entre les eaux filtrées en fonction des filtrats, concernant le filtre à sable, l’eau qui lui provienne montre des charges un peu élevées par les coliformes fécaux dans les échantillons E5 et E7. Par contre moins importantes dans l’eau traitée par les graines non dégraissées et dégraissées respectivement.

En ce qui concerne la présence des coliformes thermotolérants, en concentrations élevées indique qu’il y a une contamination d’origine fécale à forte charge puisque cette eau est provenue à partir des rejets d’eaux usées urbaines dont la concentration en coliformes fécaux est relativement constante et de l’ordre de 10^6 à 10^7 par 100 ml dans l’eau d’effluent (Rodier *et al.*, 1996). À partir de cette déclaration, l’eau est très bien filtrée par les trois filtres avec une concentration maximale qui ne dépasse pas 10^5 bactéries / 100 ml. Cela indique qu’elle peut être utilisé dans différent domaine tel que l’aquaculture selon les recommandations sur la qualité microbiologique des excréta et des eaux résiduaires traitées destinées à être utilisés en aquaculture qui ont été formulées lors de la seconde réunion organisée à Adelboden (Suisse), en 1987, dont il a été recommandé que le nombre de coliformes fécaux soit inférieur à 10 000 pour 100 millilitres (OMS, 2012).

La présence de ces germes en concentrations très minimes dans les eaux traitées par la poudre des graines de *M.oleifera* par rapport à l'eau traitée par le sable, ainsi que l'abattement important par le traitement à l'aide des graines dégraissées avant le changement progressif durant la période du printemps que celle hivernale qui a touché tous les types des eaux. Selon le guide standard de la réutilisation des eaux usées en irrigation (1000 CTT / 100 ml), ainsi que la norme Tunisienne (2000 CTT / 100 ml), on peut dire que notre filtre à base des graines de *Moringa* et plus précisément la poudre de graines dégraissées donne une eau usée traitée conforme aux critères d'Engelberg OMS avec un meilleur rendement de 3.6×10^2 surtout dans la période d'hiver pour l'irrigation et une possibilité de réutilisation en aquaculture.

E. coli est une bactérie qui fait partie du groupe des coliformes totaux et constitue le seul membre de ce groupe que l'on trouve exclusivement dans les matières fécales des humains et des animaux. Sa présence dans l'eau indique une contamination récente par des matières fécales (**Prescott et al., 1999**).

L'analyse des eaux usées révèle la présence *E. coli* dans tous les échantillons sauf E₁, E₂, E₃. D'une manière globale, la variation temporelle de la contamination en *E.coli* rappelle celle en coliformes thermotolérants et confirme, par la suite, la contamination fécale des eaux analysées.

En effet, la détection d'*E.coli* dans les eaux est considérée comme suffisante pour affirmer la nature fécale de la pollution (**Aboukacem et al., 2007**). Cependant, elle n'identifie pas la source précise de la matière fécale (**El Haissoufi et al., 2011**).

La présence d'*Escherichia coli*, même dans de faibles teneurs, doit faire suspecter aussi, et donc craindre, la présence de toutes sortes de germes pathogènes d'origine intestinale, plus résistants dans l'environnement que les entérobactéries *Salmonella enterica* ou *Shigella spp*, comme les virus, les kystes de *Giardia*, les oocystes de *Cryptosporidium*, et les spores de *Clostridium* (**Payment et Hartemann, 1998**).

➤ **Dénombrement des streptocoques de groupe D**

Dans le cas de cette étude, une réduction du nombre de streptocoques de groupe D a été enregistrée. Les résultats des analyses de dénombrement des streptocoques fécaux au niveau des eaux usées brutes a montré des valeurs moyennes de $2,5.10^2$ germes /ml.

La diminution de ce groupe au niveau des filtres à 1%, 2% et 3% de *M.oleifera* est considérable avec un rendement de 85%, notons que le filtre à sable n'a pas montré de bons résultats.

D'après ces résultats, on peut déduire que le sable constitue un bon filtre en le recombinaut avec les graines de *M.oleifera* ces résultats sont proches à ceux obtenus par **Fatombi *et al.* en 2007**.

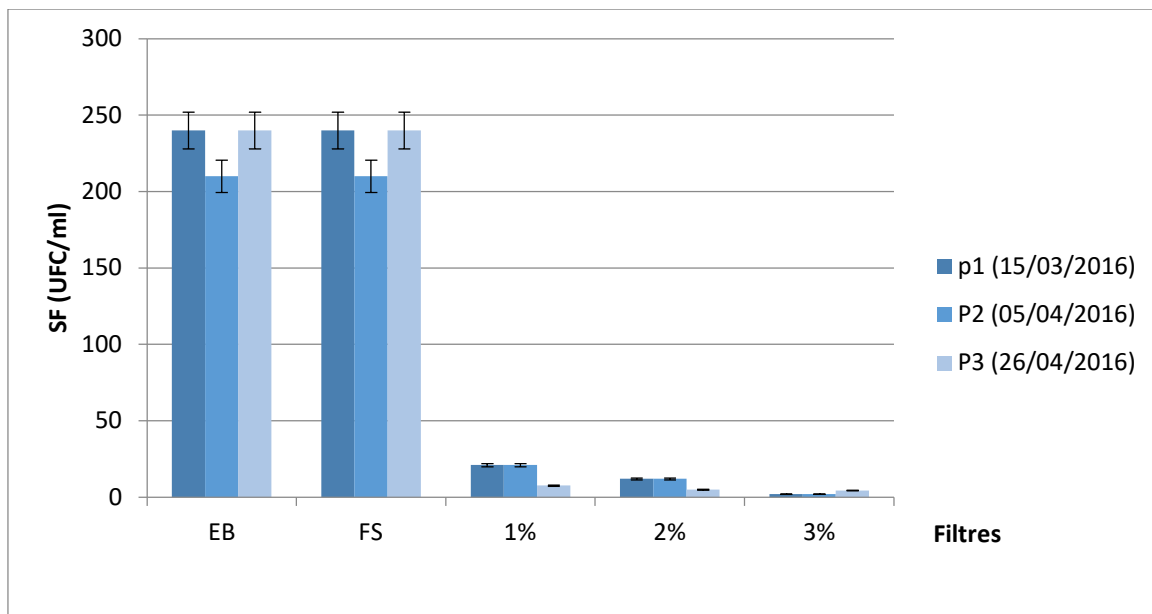


Figure III-27: Résultats de dénombrement des streptocoques D avant et après filtration.

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; 1 ; 2 et 3 %: eau traitée par le filtre à 1 ; 2 et 3% de *M.oleifera*. P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3)

La présence des streptocoques fécaux dans les trois eaux traitées par le sable, les graines dégraissées et non dégraissées sont représentées dans la figure ci-dessous (**Figure III-28**).

Ces germes sont associés aux coliformes thermotolérants, ils sont considérés comme un bon indicateur de pollution, aussi utilisé comme indicateurs d'efficacité de traitement, car ils sont nettement plus résistants que les coliformes et autres entérobactéries pathogènes (**Leyral *et al.*, 2002**). Cette recherche est souvent associée à celle des coliformes thermotolérants pour constituer un bon indice de contamination fécale. En effet, ils témoignent d'une contamination fécale ancienne tandis que les coliformes thermotolérants témoignent d'une contamination d'origine fécale récente.

Les teneurs en streptocoques D varient d'une semaine à une autre, mais généralement les valeurs les plus élevées sont enregistrées pour les échantillons (E4, E5, E6 et E9) avec des valeurs qui s'élèvent à 1.1×10^5 germes/100ml. La valeur minimale est enregistrée pour l'échantillon E7 avec une valeur de 4×10^3 germes/100ml la **figure III-28** représente le taux des Streptocoques D dans nos échantillons.

Chapitre III

Résultats et Discussion

On constate que les eaux usées urbaines de l'oued de Béchar ne répondent pas aux recommandations de l'OMS fixées à 10^5 , ceci est dû probablement à la résistance des Streptocoques dans l'environnement.

Les coliformes totaux et thermotolérants ont été très longtemps les principaux indicateurs de contamination fécale, mais aujourd'hui, *Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux sont reconnus comme plus appropriés et proposés pour remplacer les coliformes dans certaines normes de qualité microbiologique des eaux.

Il est cependant important de comprendre les potentialités et les limites de ces différents indicateurs (Edberg *et al.*, 2000). Ces bactéries sont des témoins assez résistants de contamination fécale, y compris dans les milieux salés (Gaujous, 1995). Ils peuvent aussi se multiplier dans les milieux présentant des pH allant jusqu'à 9.6, par conséquent, sont utilisés comme indicateurs d'organismes pathogènes qui présentent une résistance similaire au pH élevé (OMS, 1979). La figure ci-dessous montre l'évolution de la concentration en streptocoque de groupe D dans les eaux usées de l'oued de Bechar.

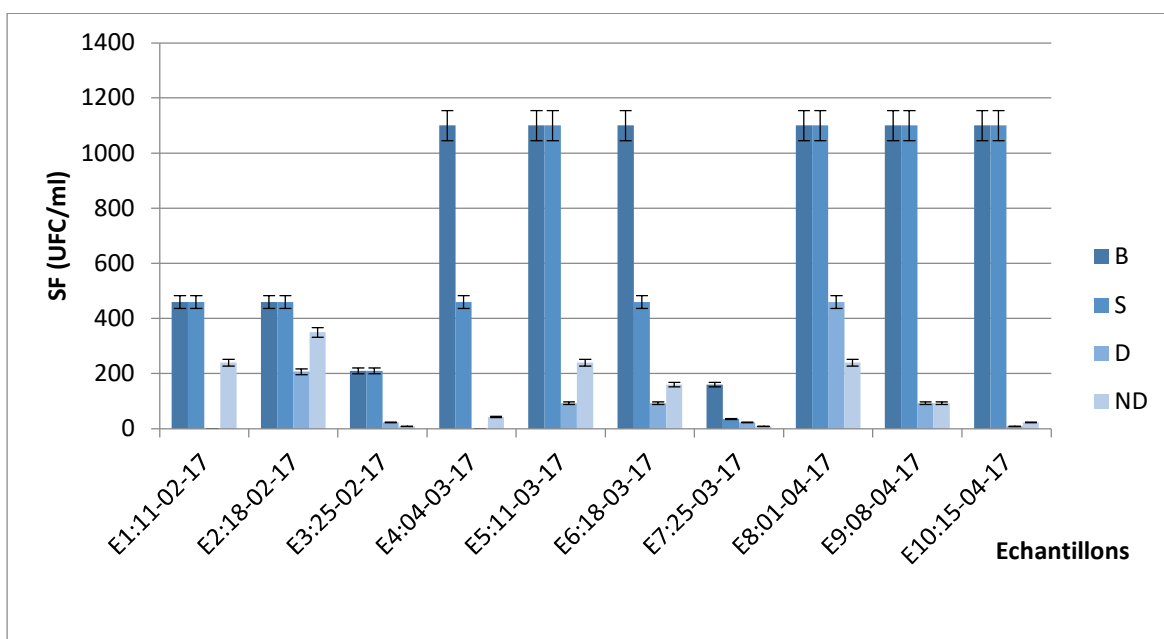


Figure III-28: Résultats de dénombrement des Streptocoques groupe D.

(B : eau brute ; S : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base des graines dégraissées ; ND : eau traitée par le filtre à base des graines non dégraissées).

Des concentrations trop élevées par ces germes dans le filtre à sable ont été enregistrées avec des valeurs maximales atteintes plus de 1.1×10^5 bactéries / 100 ml.

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tandis que les résultats obtenus par le filtre à base de *M.oleifera* dégraissé donne les meilleurs résultats vis-à-vis l'élimination des streptocoques allant à un enlèvement de 100% , la même chose pour le deuxième filtre constitué par les graines non dégraissées, mais avec une élimination moins importante.

Les résultats du dénombrement des streptocoques de groupe D varient d'un filtre à l'autre et d'un échantillon à l'autre dont on observe que la charge est présente dans les différents filtres, mais elle n'est pas trop élevée par rapport à celle enregistrée par les coliformes, et cela peut être expliqué par les travaux de **El-Addouli et al.,(2009)**, qui ont été observé que les concentrations des streptocoques fécaux les plus élevées sont enregistrées en été et en automne par contre la diminution du nombre des streptocoques fécaux est observée au printemps et en hiver. Neanmoins, la moyenne du taux de mortalité est plus rapide chez les SF et probablement influencée par les facteurs abiotiques de milieu naturel (**Hunter et al., 1999**).

Selon **Neubert et Benabdallah, (2003)**, ces résultats sont très utiles et conformes aux critères et la charge mentionnée par la norme Tunisienne qui permet de réutiliser les eaux usées épurées avec une concentration de streptocoques groupe D de 10^3 bactéries / 100 ml.

➤ Dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

L'analyse microbiologique des échantillons d'eau traitée a montré une élimination très importante de tous les germes dans les filtrats 1%, 2% et 3% par rapport à celle de l'eau brute et le filtre à sable, ceci peut être expliqué par les dépôts sur les matériaux filtrants, l'abattement a été de 100 %. Ces résultats sont proches à ceux obtenues par **Fatombi et al.** en 2007.

Tableau III-2: Taux des Clostridium SR avant et après filtration

Forme	EB	FS	F à 1%	F à 2%	F à 3%
Végétative	17	Ind	0	0	0
	Ind	Ind	0	0	0
	Ind	Ind	0	0	0
Sporulée	13	07	0	0	0
	Ind	Ind	0	0	0
	Ind	Ind	0	0	0

(Ind: indénombrable, EB: eau brute, FS : eau traitée par le filtre à sable, F : filtre)

Chapitre III

Résultats et Discussion

Après une incubation de 48 h, les résultats de dénombrement des *Clostridium* sulfito réducteurs sont présentés dans le tableau suivant (**Tableau III-2**).

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs sont des germes capables de se reproduire et de se maintenir très longtemps dans l'eau sous une forme sporulée. Elles sont normalement présentes dans les sols, rivières et dans les systèmes digestifs des animaux ainsi que dans les matières fécales, mais en plus petites quantités que les *Escherichia coli*.

Les spores de clostridies se rencontrent normalement dans les matières fécales humaines et animales ; ses spores peuvent survivre dans l'eau et dans l'environnement pendant plusieurs mois (**Richard, 1996**). La présence de la spore des *Clostridium* sulfito-réducteurs dans une eau naturelle fait penser à une contamination fécale et, en l'absence de bactéries coliformes, à une contamination déjà ancienne (**OMS, 1994**).

D'après les résultats indiqués dans le tableau suivant, on a remarqué que la valeur maximale des *Clostridium* sulfito-réducteur soit pour la forme sporulée ou végétative est égale à $1,1 \times 10^5$ Germe / 20 ml, tandis que la valeur minimale de la forme végétative est de $2,5 \times 10^2$ alors que pour la forme sporulée est 10^2 . Il est à noter également que la moyenne de CSR en forme végétative ou sporulée est respectivement $6,9 \times 10^3$, $5,5 \times 10^3$ Germe / 20 ml elle est moins importante que celle trouvée par **Hamaidi et Kais en (2016)** qui ont trouvé une valeur égale à $3,43 \times 10^4$ Germes / 20 ml.

Tableau III-3: Résultats de dénombrement des CSR après 48 h

Filtres	Sable				Dégrossé				Non Dégrossé			
	Végétative		Sporulée		Végétative		Sporulée		Végétative		Sporulée	
Dilutions	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-3}
E1 :11-2-17	Ind	Ind	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
E2 :18-2-17	5	Ind	Ind	0	0	0	0	0	Ind	2	4	1
E3 :25-2-17	1	Ind	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E4 :04-3-17	Ind	Ind	Ind	Ind	0	0	0	0	0	1	0	0
E5 :11-3-17	Ind	1	Ind	2	1	0	0	0	1	0	0	0
E6 :18-3-17	Ind	Ind	2	0	0	0	0	0	2	2	1	0
E7 :25-3-17	15	4	26	5	1	1	1	0	0	2	1	0
E8 :01-4-17	Ind	4	8	2	1	0	0	0	0	0	0	0
E9 :08-4-17	17	Ind	Ind	Ind	0	0	0	0	0	1	1	0
E10 :15-4-17	1	0	Ind	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ind : indénombrable

Cette bactérie est un excellent indicateur de contamination fécale récent ou antérieur, et considérée comme indicateurs efficaces de traitement (Pierzo et Delattre, 2000).

Comme les résultats de tableau ci-dessus (Tableau III-3) montrent que le filtre à sable a un enlèvement trop faible vis-à-vis ces bactéries puisqu'ils sont déjà connus par leur résistance élevée aux traitements désinfectants (Pierzo et Delattre, 2000), donc le sable ne peut pas influencer. Une forte élimination arrive à presque 100 % dans l'eau traitée par les graines de *Moringa* dégraissées avec une concentration de 10^2 bactéries par 100 ml comme valeur maximale et moins importante pour la poudre non dégraissée avec une concentration de 4×10^2 bactéries par 100 ml et par contre, dans l'eau filtrée par le sable une concentration plus élevée voir indénombrable dans certain échantillon. À partir de ces résultats et par comparaison avec les travaux de Berdai *et al.*, (1989), dont ils ont présenté une concentration de 7×10^3 bactéries par 100 ml dans les eaux usées épurées dans leur étude. On conclue que ce type de traitement à l'aide des graines dégraissées prend une classe importante et d'un caractère épuratoire efficace pour l'éradication des *Clostridium* sulfite réducteur.

➤ Dénombrement des staphylocoques

Les résultats de la recherche des Staphylocoques dans les eaux brutes, ont montré une valeur moyenne de $1,16.10^2$ UFC / ml, valeur importante vue le degré de virulence de ce germe. Le filtre à 3%, 2% et 1% a montré une diminution considérable où les valeurs moyennes sont respectivement 22 UFC / ml, 38 UFC / ml et 57 UFC / ml. Ces résultats montrent qu'on peut classer les mélanges Sable / *Moringa* comme des meilleurs supports filtrants.

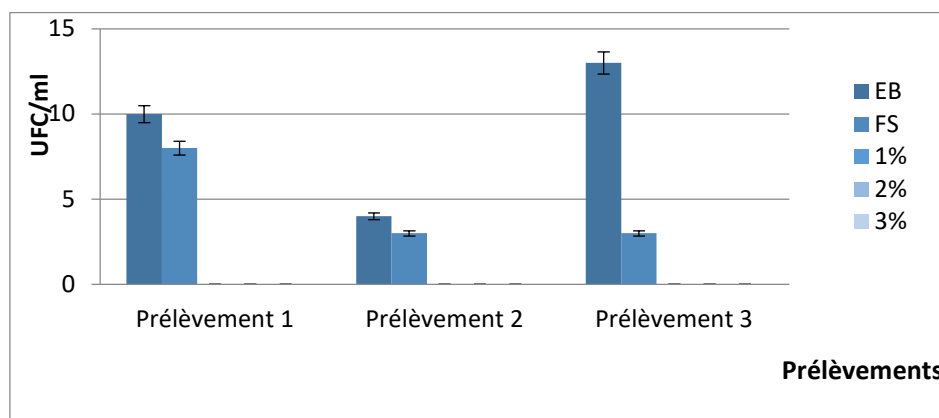


Figure III-29 : Résultats de dénombrement des staphylocoques avant et après filtration.

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre à base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3.

➤ Dénombrement des salmonelles

Ces bactéries sont capables de se multiplier à partir de faibles concentrations jusqu'à des concentrations élevées durant l'écoulement des eaux usées (Fewtrell et Kay, 2007). Le nombre des Salmonelles dans les eaux brutes est élevé, on remarque un abattement dans le filtrat 3%, avec une diminution de moyenne de $0,22 \cdot 10^2$ UFC / ml, 28 UFC / ml pour le 2% et 37 UFC /ml pour le 1%, signalons ainsi le faible abattement pour le filtre à sable.

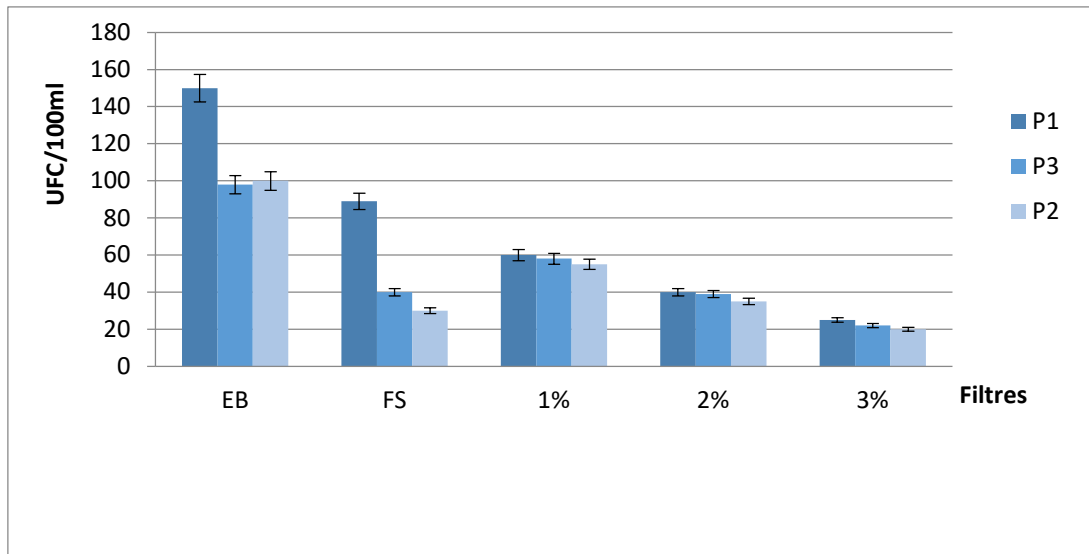


Figure III-30: Résultats de dénombrement des Salmonelles avant et après filtration.

(EB : eau brute ; FS : eau traitée par le filtre à sable ; D : eau traitée par le filtre a base de 1 ; 2 et 3 % des graines de *M.oleifera*, P1 ; P2 et P3 : prélèvement 1 ; 2 et 3.

➤ Recherche de quelques germes pathogènes

Le tableau ci-dessous exprime la présence de l'ensemble des germes pathogènes dans l'eau traitée par le sable et les graines.

Les résultats exprimés dans le tableau **Tableau III-4** montrent une absence des *Vibrio cholerae* dans tous les échantillons pour les trois filtres malgré le nombre élevé d'échantillonnages qui englobe au moins deux saisons.

Chapitre III

Résultats et Discussion

Ces résultats sont en accord avec les travaux d'**Aboukacem et al., (2007)** et de **Talouizte et al., (2007)**, et selon leurs publications, ceci pourrait être expliquées par l'effet de la température (T° moyenne des eaux usées = $21,2^{\circ}\text{C}$) sur le processus de prolifération des bactéries notamment le Vibriion cholérique dans l'eau usée et également par l'absence de porteurs de la maladie, donc on a noté une absence de ces derniers après filtration.

Concernant le reste des germes, on a noté une absence de plus de 50 % de *Salmonella* pendant la période d'étude, alors que pour les *Staphylococcus aureus*, la présence a été mentionnée dans un seul échantillon. Cette observation touche ainsi *E.coli* qui a marqué sa présence dans les 70 % des prélèvements surtout dans les derniers échantillons.

Dans notre recherche et d'après ce qu'on a déjà précédemment cité, une concentration des coliformes fécaux a été détectée. En concorde avec quelques travaux, les scientifiques ont fait une relation entre la présence de celle-ci et l'existence des germes pathogènes, ce qui a été déclaré par l'**OMS (1989)**, les eaux usées qui contiennent 1000 bactéries coliformiques par 100 ml, contient peu ou pas des germes pathogènes.

Alors que la présence des *Salmonella* et les *Staphylococcus aureus* qui sont des bactéries avec un degré de pathogénicité élevé et notamment *E. coli* qui présente l'une des bactéries coliformiques peut être justifié par la concentration des coliformes fécaux dans les eaux traitées ainsi qu'une élévation de la température perturbe fortement le milieu et peut être le facteur d'accroissement de la productivité biologique (**Gaujous, 1995**).

La modeste existence de ces germes peut cibler l'effet des graines de *M.oleifera* dont elle agit avec une activité bactéricide selon **Oluduro et Aderiye,(2007)** et que la poudre des graines avec ces protéines chargées positivement exerce une force d'attraction de toute charge négative, ce qui constitue des floes le fort possible lie avec eux les bactéries qui vont être éliminé par la suite (**Schwarz, 2000**). Comme il est indiqué dans certains travaux, les bactéries pathogènes pouvaient conserver leur pathogénicité dans l'état viable non cultivable (**Maalej et al, 2004**).

L'utilisation des graines de *M.oleifera* dans le traitement des eaux est un équivalent de l'utilisation d'un désinfectant qui a un effet sur les bactéries à Gram négative ainsi qu'à celle de Gram positive (**Kawo et al., 2009**), ce qui permet d'argumenter les résultats des staphylocoques comme bactéries à Gram positive et les Salmonelles avec *E.coli* comme Gram négative.

Chapitre III
Résultats et Discussion

Tableau III-4: Résultats des germes pathogènes dans les eaux traitées par sable.

Filtre à sable	<i>Salmonella</i>	<i>V. cholerea</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
E ₁ :11-2-17	-	-	-	-
E ₂ :18-2-17	-	-	-	-
E ₃ :25-2-17	-	-	-	-
E ₄ :04-3-17	+	-	-	-
E ₅ :11-3-17	-	-	-	+
E ₆ :18-3-17	+	-	+	+
E ₇ :25-3-17	-	-	-	+
E ₈ :01-4-17	+	-	+	+
E ₉ :08-4-17	+	-	-	+
E ₁₀ :15-4-17	+	-	-	+

Tableau III-5: Résultats des germes pathogènes présents dans les filtres à base des graines.

D / ND	<i>Salmonella</i>	<i>V. cholerea</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
E ₁ :11-2-17	-	-	-	-
E ₂ :18-2-17	-	-	-	-
E ₃ :25-2-17	-	-	-	-
E ₄ :04-3-17	+	-	-	+
E ₅ :11-3-17	-	-	-	+
E ₆ :18-3-17	+	-	-	+
E ₇ :25-3-17	-	-	-	+
E ₈ :01-4-17	+	-	+	+
E ₉ :08-4-17	+	-	-	+
E ₁₀ :15-4-17	+	-	-	+

III.3 Résultats d'isolement et d'identification des souches isolées

L'objectif de cette partie d'étude est double, d'une part, de collecter à partir des huit échantillons des eaux usées prélevées, un grand nombre de souches pour avoir la plus grande diversité possible d'espèces isolées ; d'autre part, avoir une image actualisée sur la diversité des bactéries pathogènes dans les eaux usées de l'oued de Bechar.

Au cours de cette étude et tout au long de la période des prélèvements, on a pu isoler plus de 70 souches pathogènes, cependant, certaines ayant eu un problème au cours de repiquage et éliminer à cause de la contamination. Nous n'avons pu conserver que 50 souches, afin de les identifier. Les résultats des caractères morphologiques et biochimiques sont rapportés dans le **tableau III-6**.

Parmi les souches bacilles à Gram négatif obtenu, 25 ayant différents résultats des tests conventionnels ont été choisis pour l'identification par Galerie API 20 E, afin de les caractériser. Les résultats sont représentés dans le **tableau III-7**. Concernant les *Pseudomonas spp* leurs identifications a été suivi par des tests spécifiques et on s'y arrivé jusqu'à l'identification moléculaire du genre (**Tableau III-8 et Figure III-6**). Alors que pour les *Streptocoques D* leurs identifications a été suivi par le test d'esculinase ainsi que l'étude du pouvoir hémolytique (**Tableau III-8**).

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-6: Résultats des caractères morphologiques et des tests biochimiques des souches isolées.

Souches	TSI				Cit	NRt	Mannitol mobilité		VF	VP	RM	IND	Cat	Oxy	Gram	Forme
	Glu	Lac	Gaz	H ₂ S			Mani	Mob								
S1	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	-	-	Bacille
S3	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S5	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	+	+	-	-	Bacille
S7	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S9	+	+	+	+	+	-	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Cocobacille
S10	+	-	+	+	-	-	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S14	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	-	-	+	-	-	Bacille
S18	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Cocobacille
S19	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	-	-	-	-	-	Bacille
S22	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Cocobacille
S24	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Cocobacille
S25A	+	+	+	+	+	+	+	+	Aérobic strict	+	-	-	+	+	-	Bacille
S25B	+	+	-	-	+	+	+	+	Aérobic strict	+	-	-	+	+	-	Bacille
S27	+	+	+	+	+	+	+	+	Aérobic strict	-	+	-	+	+	-	Bacille
S29	+	+	+	-	+	+	+	+	Aérobic strict	+	-	-	+	+	-	Bacille
S30	+	+	+	-	+	+	+	+	Aérobic strict	+	-	-	+	+	-	Bacille
S32	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	-	-	Bacille
S33	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	+	+	-	-	Cocobacille
S34	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	+	+	-	-	Bacille
S36A	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S36B	+	+	-	-	-	-	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	+	+	+	-	Bacille

Chapitre III

Résultats et Discussion

S37	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S38	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S39	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S41	+	+	+	-	-	+	+	+	Aér-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Cocobacille
S42	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Cocobacille
S43	+	+	-	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S45,46	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	+	-	Bacille
S47	+	+	+	-	-	+	+	-	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Cocobacille
S48	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Cocobacille
S54	+	+	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	+	-	Cocobacille
S56	+	+	+	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S57	+	-	-	+	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S60	+	+	-	+	+	+	+	+	Aérobic	+	-	-	+	+	-	Bacille
S62	+	+	-	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	+	-	Bacille
S63	+	+	-	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S65	+	+	-	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	-	-	-	Bacille
S70	+	+	-	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	-	-	-	Bacille
S71	+	+	-	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S73	+	+	+	-	-	+	+	+	Aéro-anaérobie	-	+	-	+	-	-	Bacille
S74	+	+	+	+	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S69	+	+	-	-	+	+	+	+	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	-	Bacille
S52	+	+	-	-	+	+	+	-	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	+	Cocci
S55	+	+	-	-	+	-	+	-	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	+	Cocci
S58	+	+	-	-	+	-	+	-	Aéro-anaérobie	+	-	-	+	-	+	Cocci

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-7: Résultats d'identification par Galerie (API 20E).

Souche	Probabilité	Espèce	Pourcentage
S1	1	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	~89%
	2	* <i>Escherichia coli</i>	~87%
	3	<i>Citrobacter farmer</i>	~87%
S7	1	* <i>Kluyvera ascorbata</i>	~97%
	2	* <i>Kluyvera georgiana</i>	~91%
	3	* <i>Escherichia coli</i>	~ 90%
S19	1	* <i>Escherichia coli</i>	~ 84%
	2	<i>Escherichia fergusonii</i>	~ 84%
	3	<i>Citrobacter sedlakii</i>	~82%
S24	1	<i>Citrobacter brakii</i>	~94%
	2	* <i>Enterobacter cloacae</i>	~91%
	3	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	~91%
	4	<i>Citrobacter freundii</i>	~91%
S25B	1	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	~84%
	2	<i>Pseudomonas gessardii</i>	~ 77%
		<i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar 3	~69%
S 27	1	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	~84%
	2	<i>Oligellaure olytica</i>	~70%
	3	<i>Pseudomonas acidovorans</i>	~70%
S29	1	* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	~94%
	2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biovar 3	~79%
S36A	1	<i>Kluyvera ascorbata</i>	~90%
	2	<i>Serratia fonticola</i>	~89%
S36B	1	<i>Aeromonas media</i>	~89%
	2	<i>Aeromonas salmonicida</i>	~92%
	3	<i>Aeromonas salmonicida subs pmasoucida</i>	~82%
	4	<i>Vibrio mediterranei</i>	~89%
S32	1	<i>Yokenella regensburgei</i>	~88%
	2	* <i>Escherichia coli</i>	~87%
	3	<i>Escherichia fergusonii</i>	~ 87%
	4	<i>Butiauxilla izardii</i>	~86%
S33	1	* <i>Escherichia coli</i>	~84%

Chapitre III

Résultats et Discussion

	2	<i>Escherichia fergusonii</i>	~84%
	3	<i>Citrobacter sedlakii</i>	~82%
S37	1	* <i>Enterobacter cloacae</i>	~95%
	2	Enteric group	~91%
S39	1	<i>Citrobacter freundii</i>	~95%
	2	* <i>Citrobacter brakii</i>	~94%
	3	<i>Citrobacter murlinie</i>	~89%
	4	<i>Citrobactergillenii</i>	~89%
S45	1	<i>Burkholderia cepacia</i>	~84%
	2	<i>Pseudomonas luteola</i>	~77%
	3	<i>Burkholderia caryophylli</i>	~84%
	4	<i>Burkholderiagladioli</i>	~80%
S47	1	* <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	~99%
	2	<i>Raoultella planticola</i>	~95%
	3	<i>Klebsiella oxytoca</i>	~95%
	4	<i>Raoultella terrigena</i>	~90%
S48	1	* <i>Enterobacter cloacae</i>	~95%
	2	Enteric group	69~91%
	3	* <i>Enterobacter aerogenes</i>	~91%
	4	<i>Enterobacter desolvans</i>	~91%
S54	1	* <i>Enterobacter sakazakii</i>	~95%
	2	* <i>Enterobactercloacae</i>	~95%
	3	<i>Enterobacter desolvans</i>	~95%
	4	Enteric group	69~91%
S56	1	* <i>Enterobacter cloacae</i>	~89%
	2	Enteric group	69~88%
	3	<i>Rahnella aquatilis</i>	~85%
	4	* <i>Enterobacter sakazakii</i>	~84%
S57	1	* <i>Salmonella enteric subsp .houtenae</i>	~93%
	2	<i>Salmonella enterica subsp .enterica</i>	~91%
	3	<i>Salmonella enterica subsp.salamae</i>	~91%
	4	<i>Salmonella enterica subsp.arizonae</i>	~89%
S60	1	<i>Providencia rettgeri</i>	~87%

Chapitre III

Résultats et Discussion

S63	2	<i>*Providencia stuartii</i>	~87%
	3	<i>Pragia fontium</i>	~80%
	4	<i>Providencia alcalifaciens</i>	~80%
	1	<i>Pantoea agglomerans</i>	~97%
S65	2	<i>Erwinia persicina</i>	~95%
	3	<i>*Citrobacter freundii</i>	~91%
	4	<i>Pectobacter iumatrosepticum</i>	~94%
	1	<i>Aeromonas media</i>	~85%
S62	2	<i>*Vibrio fluvialis</i>	~82%
	3	<i>Vibrio furnissii</i>	~82%
	4	<i>Vibrio natriegens</i>	~85%
	1	<i>Vibrio vulnificus</i> bio group 1	~79%
S70	2	<i>Vibrio mimicus</i>	~75%
	3	<i>Aeromonas veroni</i> biovar <i>sobria</i>	~75%
	4	<i>Vibrio panaeicida</i>	~77%
	1	<i>Pantoea agglomerans</i>	~89%
S71	2	<i>*Citrobacter freundii</i>	~87%
	3	<i>Citrobacter murlinae</i>	~86%
	4	<i>Citrobacter gillenii</i>	~85%
	1	<i>Pantoea agglomerans</i>	~97%
	2	<i>*Citrobacter gellinii</i>	~93%
	3	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>ozanae</i>	~89%
	4	<i>Erwinia persicina</i>	~91%

Selon le site ABIS consulté sur http://www.tgw1916.net/bacteria_logare_desktop.html. *même espèce trouver selon le site API-Web consulter sur : <http://210.242.211.31/servlet/Identify?action=prepareNew&stripId=1>

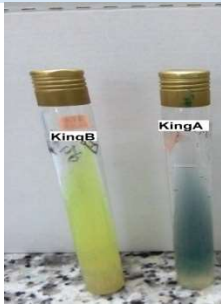



Tableau III-8 : Caractères morphologiques et tests d'identification des Streptocoques D

Souche	Catalase	Esculinase	Pouvoir hémolytique	Forme
S11	-	+	Hémolyse de type β	Cocci gram+
S12	-	+	Hémolyse de type β	Cocci Gram+
S28	-	+	Hémolyse de type β	Cocci Gram+
S61	-	+	Hémolyse de type β	Cocci Gram+

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-9 : Résultats des tests d'identification de *Pseudomonas* spp

Souche	S25B	S27	S29	S45
Résultat sur King A et King B				
Interprétation	Présence de pyocyanine sur milieu King A et pyoverdine sur milieu King B	Présence de Pyoverdine sur milieu King B	Présence de pyomélanine sur milieu King A.	Présence de pyomélanine sur milieu King A et pyoverdine sur milieu King B

L'amplification du gène *oprI* a été utilisée pour confirmer l'appartenance de nos souches au genre *Pseudomonas*. En utilisant un marqueur de taille (MT), l'amplification réussie génère une seule bande de taille de 249 pb correspond au gène *oprI*. L'apparition de 2 bandes de taille 249 pb pour les souches 25 B et 27 témoigne la pureté de ces souches et confirme efficacement leur appartenance au genre *Pseudomonas*. Mais aussi ne signifie pas que les autres souches n'appartiennent pas au genre *Pseudomonas*, parce que l'essai a été effectué une seule fois, la preuve que pour la souche 45 on note une nuance de bande peut être la quantité d'ADN n'était pas suffisante.

D'après les résultats obtenus et cités dans le **tableau III-9**, les souches 25 B et 27 possèdent le gène opéron *oprI*, ainsi la souche 25 B possède les deux pigments pyoverdine et pyocyanine représente *Pseudomonas aeruginosa*; tandis qu'uniquement la pyoverdine pour l'isolat 27 représente *Pseudomonas fluorescens*.

Chapitre III

Résultats et Discussion

L'application des tests confirmatifs nous a permis de mettre en évidence la présence d'un cortège des souches pathogènes, en provenance majoritaire des excréta fécales, qui reflètent le degré de la pollution de ces eaux usées, dont cinq souches appartenant à *Escherichia coli*, cinq à *Enterobacter spp* avec différents degrés d'apparenté (que ce soit *E.cloacae*, *E.sakazakii*, *E.aerogenes*), deux *Salmonella spp*, quatre Streptocoques de groupe D . Et d'autres souches ayant différentes sources de provenance trois *Vibrio spp*, une souche *Aeromonas spp*, quatre *Pseudomonas spp*, Six *Citrobacter spp*, une souche *Providencia stuartii*, et une souche *Klebsiella pneumoniae*...Etc.

Ces bactéries peuvent entraîner des pathologies à l'occasion de la consommation d'éléments souillés par l'eau contaminée, d'où les gastro-entérites, les diarrhées qui due principalement à *E.coli*, *Vibrio spp*, *Streptocoques D*, ou de salmonellose due à certaines espèces de *Salmonella spp*, ces derniers proviennent des malades qui excrètent le germe ou encore des porteurs sains de *Salmonella* dans leur tube digestif et peuvent dans certaines circonstances les disséminer.

L'existence des espèces incriminées dans les infections nosocomiales d'où les infections urinaires (tel que *Citrobacter freundii*, *Citrobacter brakii*, *Enterobacter spp*) les infections respiratoires (*Klebsiella pneumoniae*), ou des infections opportunistes (*Pseudomonas aeruginosa*), et d'autre affections graves témoigne l'absence du traitement des rejets hospitalier avant leur déversement dans le milieu récepteur. Il faut noter que ces eaux usées peuvent entraîner la dégradation de la qualité des eaux souterraines par une infiltration facile en raison de la nature du sol à dominance calcaire de la région de Bechar, de plus ces rejets constituent une source de pollution pour les terrains agricoles et les puits riverains (Maazouzi *et al.*, 2011), et pour cela la conception des systèmes d'épuration s'inscrit dans une stratégie qui vise à la protection de l'environnement et la santé publique, le dégagement d'une ressource en eau supplémentaire et la réutilisation des eaux épurées notamment pour l'irrigation.

Afin d'étudier le pouvoir antibactérien des graines de *Moringa oleifera* (plante très utilisé traditionnellement pour améliorer la qualité des eaux) contre les souches isolées, nous avons préparé trois extraits à savoir extrait huileux, extrait dégraissé et extrait non dégraissé.

III.4 Résultats d'extraction et rendement des extraits

Le rendement d'extraction des extraits aqueux et l'huile de *M. oleifera* a été calculé par rapport au poids total de la poudre des graines de la plante. L'extraction de 15g de poudre des graines de *M.oleifera* a produit un extrait aqueux sec dégraissé et non dégraissé de l'ordre de 20,26 %. Pour l'huile le rendement est de 25.28 %. Les proportions du rendement sont représentées dans la figure ci-dessous :

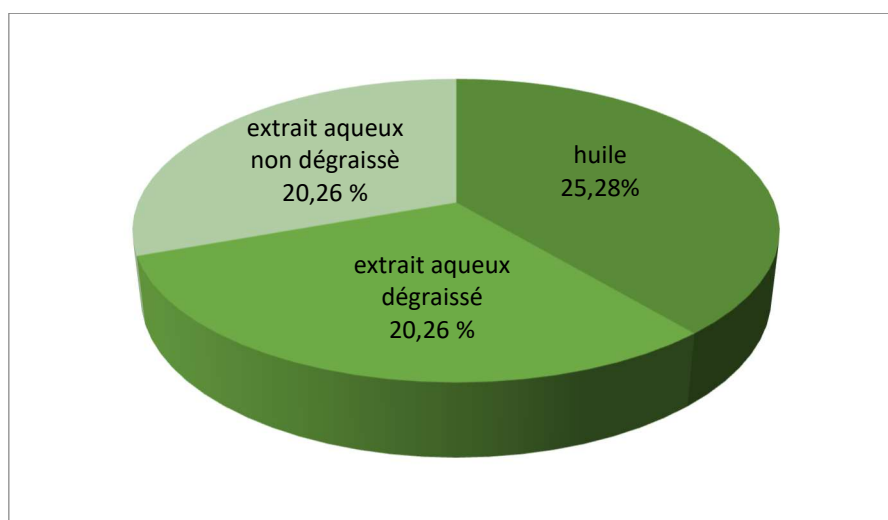


Figure III-31: Proportions des rendements d'extraction des graines de *M.oleifera*.

Ces rendements ont été déterminés par rapport à 15 g des graines broyées pour l'extrait aqueux dégraissé et non dégraissé ; on remarque que leurs rendements sont équivalents à **20,26 %**, malgré qu'il ya eu une différence dans la masse obtenue pour chaque extraction, et pour chacun des extraits bruts. Tandis que l'huile a été obtenue après évaporation à sec de la phase hexanique issue de l'extraction par soxhlet (15g de la poudre pour chaque cartouche). Notant que l'hexane est le meilleur solvant d'extraction d'huile fixe qui possède des propriétés apolaires lui confère une grande affinité pour les lipides, ainsi que les graines de *M.oleifera* sont riche en huile cela justifier son rendement élevé par rapport aux autres extraits bruts. Ces résultats sont moins importants à ceux obtenus par **Anwar et Bangher, (2003)** et **Lalas et Tsaknis,(2002)** qui ont trouvé un pourcentage 40.39 % de la partie huileuse.

III.5 Résultats de Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique a été effectué sur des graines de *Moringa oleifera* récoltées de la région d'Adrar, au sud de l'Algérie. Les résultats montrent que les graines sont riches en phyto-constituants. Les résultats illustrés dans le tableau **III-10** montrent que les graines sont riches en saponosides, alcaloïdes, anthocyanosides, anthracynosides, composés réducteurs, quinones, terpénoides, hétérosides triterpéniques, et tanins cathéchiques. D'autre part, nos résultats montrent l'absence des : Coumarines, amidon, stéroïls, tritépènes et flavonoïdes.

La présence de différentes classes phytochimiques dans les graines de *M.oleifera* est plus ou moins similaire à partir des extraits des feuilles et des racines de la même plante étudiée. Les travaux de **Lalas et Tsaknis (2002)** sur les feuilles de *M.oleifera* ont révélés la présence des alcaloïdes, des terpénoides, des tanins, et une faible quantité des flavonoïde ; ainsi que les travaux de **Torres et al (2013)** , qui ont montrés la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des alcaloïdes et l'absence des tanins et des saponosides dans l'extrait aqueux et méthanolique des feuilles, des racines, des tiges, et du cortex de la plante. Ces métabolites secondaires jouent un rôle de défense de la plante contre les microorganismes pathogènes, par exemple les tanins sont doués d'activité antimicrobienne et antifongique ; notant aussi le pouvoir antifongique des alcaloïdes et des saponosides.

Les phyto-constituants ainsi identifiés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses justifient l'utilisation multiple de *M.oleifera Lam* en médecine traditionnelle (**Mbaïhougadobe, 2017 ; Samaké et al., 2020**). Il faut noter que la distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (températures élevées, salinité..), qui stimule la biosynthèse de ces métabolites (**Falleh et al., 2008**).

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-10 : Résultats du criblage phytochimique des trois extraits

Métabolites Secondaires	Réactif	Extrait aqueux	Extrait méthanolique	Extrait éthérique
Alcaloïdes sels	Mayer et wagner	+		
Composés réducteurs	Liqueur de Fehling	+	-	
Flavonoïdes			-	
Saponosides		+		
Amidon	Réactif d'amidon	+		
Alcaloïdes bases	Réactif de Mayer			+
Emodols	NH ₄ OH			+
Coumarines	NH ₄ OH à 10%			-
Stérols et Triterpènes	H ₂ SO ₄			-
Terpénoides	Acide sulfurique			+
Quinones libres	NaOH 0.1N			+
Acides gras	KOH à 2N			+
Tanins cathéchiques	FeCl ₃	+	+	
Tanins galliques	FeCl ₃	-	-	
Anthracénosides	NH ₄ OH à 10%		+	
Anthocyanosides	NaOH		+	
Hétérosides stéroliques	H ₂ SO ₄		-	
Hétérosides triterpeniques	H ₂ SO ₄		+	

Ces métabolites contenus dans les graines, les feuilles et les fleurs des plantes médicinales sont considérés comme une source naturelle des substances à activités biologiques remarquables (antimicrobienne, antioxydantes, anti-inflammatoire...etc) (Makhloufi *et al.*,2015 ; Terfaya *et al.*,2017 ; Smahi *et al.*,2019)

III.6 Résultats d'antibiogramme

Les résultats obtenus de la sensibilité des souches appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* vis-à-vis des huit antibiotiques testés sont reportés dans le **tableau III-11**

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-11: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les entérobactéries (BONNET *et al.*, 2012 ; et SAEN, 2011).

Souches	ATB							
	COL	NAL	AMK	AMP	CZO	CTX	GEN	AMX
<i>Escherichia coli</i> 1	14	24	20	20	0	29	21	15
<i>Escherichia coli</i> 2	20	36	30	0	30	40	36	0
<i>Escherichia coli</i> 3	14	29	25	0	22	32	25	0
<i>Enterobacter spp</i> 1	10	19	10	/	10	28	/	13
<i>Escherichia coli</i> 4	15	10	23	0	/	23	15	0
<i>Escherichia coli</i> 5	22	29	28	0	23	42	29	0
<i>Kluyveraspp</i> 1	14	25	23	15	0	29	27	0
<i>Enterobacter spp</i> 2	14	20	17	15	0	0	/	/
<i>Klebsiella spp</i> 1	0	0	30	/	25	20	/	13
<i>Enterobacter spp</i> 3	20	20	20	/	0	29	/	19
<i>Enterobacter spp</i> 4	16	28	25	0	0	29	25	0
<i>Enterobacter spp</i> 5	16	27	23	21	7	35	25	18
<i>Salmonella spp</i> 1	18	24	28	0	0	28	30	0
<i>Providencia spp</i> 1	6	29	20	/	28	35	/	27
<i>Citrobacter spp</i> 1	15	0	13	/	12	15	/	25
<i>Citrobacter spp</i> 1	26	28	30	0	30	30	44	0
<i>Citrobacter spp</i> 1	26	28	30	0	30	30	44	0

(Résistante, Sensible, Intermédiaire), COL : Colistine, NAL : Acide Nalidexique, AMK : Amikacine, AMP : Ampicilline, CZO : Cefazoline, CTX : Céfotaxime, GEN : Gentamicine, AMX : Amoxicilline.

D'après ces résultats nous constatons que :

- Les cinq souches d'*Escherichia coli* sont résistantes aux β -lactamines (AMX, AMP), 3/5 souches les sont même aux polypeptides (COL), 2/5 souches ayant une résistance même à la céfazoline, par contre une forte sensibilité aux autres antibiotiques pour les cinq souches. Les mêmes résultats sont enregistrés pour la souche *Salmonella spp*.

- Les résultats de sensibilité des *Enterobacter* (*Enterobactercloacae*, *Enterobacter sakazakii*) montrent une résistance totale aux céphalosporines, aux β -lactamines, 2/4 souches sont résistantes à la colistine. Notant aussi une sensibilité totale à l'acide nalidexique, l'Amikacine, la Gentamicine.

Chapitre III

Résultats et Discussion

▪ Pour les souches *Citrobacter* (d'où *Citrobacter freundii*), on remarque une forte résistance aux β -lactamines, par contre une sensibilité totale aux autres antibiotiques testés (sauf une seule souche), avec des diamètres de sensibilité remarquable pour la Gentamicine. Les mêmes résultats sont détectés pour la souche *Providencia stuartii*.

▪ Concernant la souche *Klebsiella spp* on remarque qu'elle est résistante à tous les antibiotiques testés sauf l'amikacine et la céfazoline.

▪ L'étude de la multi-résistance de chaque genre d'entérobactéries isolées montre une similitude presque totale de résistance de différentes souches avec une légère dominance de résistance à *Enterobacter* par rapport à *Citrobacter*, *E.coli*, *Klebsiella* et *Salmonella* (tableau III 11).

L'étude de l'état de résistance des souches de *Pseudomonas* isolées vis-à-vis les antibiotiques testés montre une sensibilité totale à l'Amikacine, et à la Gentamicine (Tableau III 12).

Tableau III-12: Résultats d'antibiogrammes des Pseudomonas spp (CASFM, 2012 ; et SAEN, 2011).

Souche	AMK	GEN
<i>Pseudomonas spp1</i>	21mm	27mm
<i>Pseudomonas spp2</i>	25mm	34mm
<i>Pseudomonas spp3</i>	30mm	/
<i>Pseudomonas spp4</i>	29mm	/

Les résultats de l'antibio-résistance des souches de *Streptocoques D* révèlent une résistance modérée à l'Erythromycine sauf la souche 61 qui est fortement résistante, d'autre part elles sont fortement sensibles aux β -lactamines (AMP) , et aux aminosides (Gentamycine) (Tableau III-13). Alors que pour la souche de *Staphylococcus*, on remarque sa forte résistance à la colistine et l'Erythromycine, et sa sensibilité à l'Amikacine (Tableau III-14).

Tableau III-13: Résultats de sensibilité des streptocoques D aux antibiotiques (CASFM, 2012 ; et SAEN, 2011).

Souches	E	AMP	GEN
<i>Streptocoques D 1</i>	15mm	22mm	30mm

Chapitre III

Résultats et Discussion

<i>Streptocoques D 2</i>	30mm	45mm	28mm
<i>Streptocoques D 3</i>	17mm	20mm	17mm
<i>Streptocoques D 4</i>	0 mm	30mm	28mm

(Résistante, Sensible, Intermédiaire)

Tableau III-14 : Résultats d'antibiogramme de *Staphylococcus* (CASFM, 2012 ; et SAEN, 2011).

Souche	AMK	COL	E
<i>Staphylococcus</i>	21mm	9mm	0mm

(Résistante, Sensible)

D'après ces résultats, diverses constatations émergent :

- La Gentamycine a une activité inhibitrice élevée et montre une efficacité totale.
- Une résistance majoritaire aux β -lactamines utilisée pour les bactéries à Gram négatif.
- Dans le cadre d'effluents anthropiques les études sont principalement focalisées sur les bactéries d'intérêt clinique et connues pour être impliquées dans de nombreuses infections nosocomiales, telle que les *entérocoques* résistants à la vancomycine (ERV) et à l'érythromycine (ERE), SARM, *Pseudomonas aeruginosa*, certaines espèces d'*enterobacteriaceae* comme *E.coli*, *Enterobacter cloacae*, et *Klebsiella pneumoniae* présentant différents phénotypes de résistance (Stalder, 2012).
- Citant précédemment que certaines souches suspecte ayant provenance le milieu hospitalier ; les effluents hospitaliers peuvent présenter une importance voie d'entrée des souches multirésistantes et participer à la dissémination de l'antibio-résistance dans l'environnement.
- Des études ont souligné un effet d'effluents hospitaliers dans la dissémination des souches bactériennes résistantes dans les réseaux d'eaux usées urbains ; ainsi, il a été montré que dans une STEP traitant des eaux urbaines recevant les effluents d'un hôpital, le taux d'*E. coli* résistantes aux antibiotiques testés était plus important que dans deux autres STEP recevant uniquement des effluents urbains (Reinthaler *et al.*, 2003).
- Tant que le site principal de prélèvement se situe proche à un abattoir ; on suspecte que les déchets issus des abattoirs sont une autre source potentielle d'introduction de bactéries résistantes et de gènes de résistance dans l'environnement. Une fois l'animal abattu le contenu du tube digestif est éliminé, et les eaux de lavage et autres effluents de procédés de ces installations rejoignent, après des traitements plus ou moins élaborés, au mieux les réseaux urbains, avec le risque de dissémination des bactéries spécifiques des abattoirs.

Chapitre III

Résultats et Discussion

- L'émergence de résistance et les transferts génétiques entre les espèces rejetées dans l'eau, ou entre ces espèces et d'autres bactéries autochtones résistantes pourraient être favorisés par l'existence habituelle de teneurs élevées en matières organiques et en bactéries dans l'environnement aquatiques (Debabza, 2004).

L'étude de l'antibio-résistance des souches de *Vibrio* et *Aeromonas* montre une résistance totale des trois souches aux β -lactamines et aux polypeptides (COL) ; avec une résistance de *Vibrio vulnificus* à l'acide nalidixique, et une sensibilité intermédiaire de *Vibrio fluvialis* à la céfotaxime (Tableau III-15).

Tableau III-15 : Résultats de l'antibiogramme des *Vibrio* (CASFM, 2012 ; et SAEN, 2011).

ATB	NAL	AMP	CTX	AMX	COL
Souche					
<i>Aeromonas spp 1</i>	25mm	15mm	29mm	0mm	14mm
<i>Vibrio spp 1</i>	0mm	13mm	30mm	20mm	0mm
<i>Vibrio spp 2</i>	25mm	14mm	17mm	20mm	15mm

(Résistante, Sensible, Intermédiaire),

Ces résultats de détermination de la sensibilité aux antibiotiques des *Vibrio* isolées montrent que le phénotype dominant est de type sauvage (Tableau III-15). Peu d'études ont été consacrées à l'antibio-résistance des vibrions durant le traitement des eaux usées (Mimouni, 2004).

Notant que toutes les souches présentent une résistance à l'ampicilline et à l'amoxicilline (avec une faible sensibilité de 2/3 souches) ; la résistance des souches de *Vibrio* documentées jusqu'à maintenant aux β -lactamines est causé par un plasmide codant en même temps pour de nombreux antibiotiques (Olukoya *et al.*,1995 ; Kruse *et al.*,1995).

Une étude réalisée par Aucher *et al.*, 1998, rapporte que l'Ampicilline est généralement inactive vis-à-vis la majorité des vibrions, cette résistance est due à de multiples mécanismes, dont la résistance plasmidique transférable et chromosomique. De façon générale, les *Vibrio* sont habituellement sensibles aux β -lactamines, aminosides, quinolones, tétracyclines, chloramphénicol, sulfamides, triméthoprime, furanes, acide nalidixique, fluoroquinolones. La multirésistance est acquise par l'intermédiaire des éléments génétiquement transférables (plasmides, transposons conjugatifs) au sein de *Vibrionaceae* est devenue très fréquent (Ahmed *et al.*, 2005).

Chapitre III

Résultats et Discussion

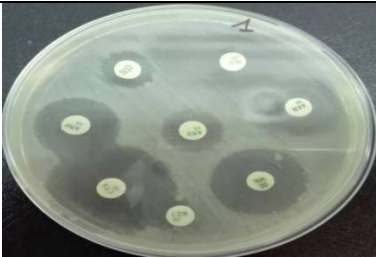
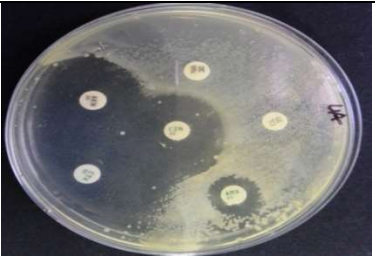

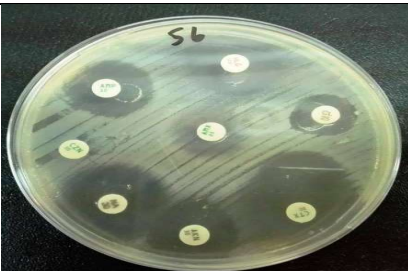
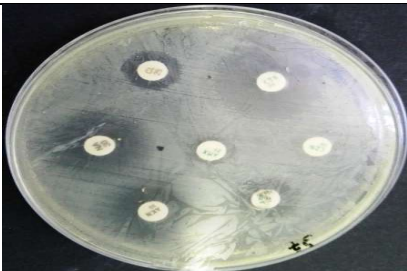



		
<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
		
<i>Enterobacter spp (suspecte E. cloacae)</i>	<i>Salmonella spp (suspecte S. enterica)</i>	<i>Streptocoque D</i>
		
<i>Staphylococcus</i>		<i>Vibrio spp (suspecte V. fluvialis)</i>

Figure III-32 : Résultats des zones d'inhibition de quelques souches testée

III.7 Résultats de l'activité antibactérienne

La sensibilité des souches testées a été mise en évidence par la méthode de diffusion des disques vis-à-vis les 3 extraits des graines de *M.oleifera* : extrait dégraissé, extrait non dégraissé et l'huile. L'activité antibactérienne est obtenue par la mesure des zones d'inhibition sont illustrés dans les Tableaux (III-16, III-17, III-18) et la figure (III-34).

Tableau III-16 : Diamètre des zones d'inhibition de quelques souches testée (mm) exercé par l'huile de *M.oleifera*.

Concentration Souche	Huile	5V/V	4V/V	0	0	0
<i>Escherichia coli 1</i>	8	8	8	0	0	0
<i>Escherichia coli 2</i>	8	7	8	8	7	0
<i>Streptocoque D 1</i>	8	10	0	0	0	0
<i>Streptocoque D 2</i>	0	12	0	10	9	0
<i>Escherichia coli 3</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacterspp 1</i>	7	10	0	0	0	0
<i>Kluyverasp 1</i>	7	7	8	0	7	7
<i>Pseudomonas spp 1</i>	7	9	0	7	0	0
<i>Pseudomonas spp2</i>	7	10	10	10	0	0
<i>Enterobacterspp 2</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli 4</i>	7	0	0	7	7	0
<i>Pseudomonas spp3</i>	7	11	8	8	8	0
<i>Enterobacter spp 3</i>	0	10	9	7	0	0
<i>Pseudomonas spp 4</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio spp1</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli 5</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella spp 1</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Providencia spp 1</i>	7	8	9	9	0	0
<i>Citrobacter spp 1</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter spp 2</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp 4</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio spp2</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter spp 3</i>	7	9	7	0	0	0
<i>Aeromonas spp 1</i>	7	8	10	7	0	0
<i>Streptocoques D 3</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Streptocoques D 4</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus spp</i>	7	9	7	9	8	9

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-17: Diamètre des zones d'inhibition (mm) de quelques souches testée exercé par l'extrait non dégraissé.

Concentration	1000mg/ml	750mg/ml	500 mg/ml	250 mg/ml	100 mg/ml
Souche					
<i>Escherichia coli 1</i>	10	0	0	0	0
<i>Escherichia coli 2</i>	10	9	12	8	0
<i>Streptocoques D 1</i>	10	7	7	7	0
<i>Streptocoques D 2</i>	27	25	24	18	17
<i>Escherichia coli 3</i>	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp 1</i>	9	7	0	0	0
<i>Kluyvera spp 1</i>	10	7	7	0	0
<i>Pseudomonas spp 1</i>	8	7	0	0	0
<i>Pseudomonas spp 2</i>	8	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp 2</i>	9	7	7	7	7
<i>Escherichia coli 4</i>	13	10	8	7	0
<i>Pseudomonas spp 3</i>	10	10	0	0	0
<i>Enterobacter spp 3</i>	10	8	7	7	0
<i>Pseudomonas spp 4</i>	22	20	19	18	17
<i>Vibrio spp 1</i>	10	9	9	8	0
<i>Escherichia coli 5</i>	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella spp 1</i>	10	9	8	6	0
<i>Providencia spp 1</i>	10	10	9	8	8
<i>Citrobacter spp 1</i>	10	10	10	8	7
<i>Citrobacter spp 2</i>	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp 4</i>	0	0	0	0	0
<i>Vibrio spp 2</i>	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter spp 3</i>	20	17	15	12	10
<i>Aeromonas spp 1</i>	8	0	0	0	0
<i>Streptocoques D 3</i>	22	20	19	14	10
<i>Streptocoques D 4</i>	22	18	17	13	12
<i>Staphylococcus spp</i>	13	13	15	11	0

Chapitre III

Résultats et Discussion

Tableau III-18 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) de quelques souches testée exersé par d'extrait dégraissé.

Concentration	1000mg/ml	750mg/ml	500mg/ml	250mg/ml	100mg/ml
Souche					
<i>Escherichia coli 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli 2</i>	15	10	9	0	0
<i>Streptocoques D 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Streptocoques D 2</i>	21	21	20	19	18
<i>Escherichia coli 3</i>	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Kluyvera spp 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas spp 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas spp 2</i>	10	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp2</i>	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli 4</i>	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas spp 3</i>	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp3</i>	10	0	0	0	0
<i>Pseudomonas spp 4</i>	11	11	10	10	10
<i>Vibrio spp 1</i>	15	15	10	10	0
<i>Escherichia coli 4</i>	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella spp 1</i>	0	0	0	0	0
<i>Providencia spp 1</i>	19	10	0	0	0
<i>Citrobacter spp 1</i>	10	10	7	7	0
<i>Citrobacter spp 2</i>	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter spp4</i>	0	0	0	0	0
<i>Vibrio spp 2</i>	10	10	0	0	0
<i>Citrobacter spp 3</i>	20	17	16	15	15
<i>Aeromonas spp 1</i>	8	0	0	0	0
<i>Streptocoques D 3</i>	19	20	19	15	10
<i>Streptocoques D 4</i>	15	17	13	7	6
<i>Staphylococcus spp</i>	12	12	10	0	0

Chapitre III

Résultats et Discussion

L'étude de l'activité antibactérienne des différentes concentrations d'huile de *M.oleifera* révèle que la majorité des zones d'inhibition sont de 6 mm de diamètre (diamètre de disque), ce qui indique que l'huile ne possède aucune activité antibactérienne vis-à-vis les souches testées, ces résultats sont concordés avec ceux obtenus par **Abdurasheed et al., (2015)**.

La présence des zones d'inhibition extrêmement faible comprise entre 9 mm et 12 mm dont les meilleures zones sont 12 mm et 11 mm autour des disques de 5V/V pour les souches des *Streptocoques D*, alors qu'aucune activité n'est observée autour des disques d'huile pure pour la majorité des souches, peut-être s'expliquer par l'action de DMSO, qui possède une légère activité antibactérienne (**Begin et al., 2002**). Son utilisation comme témoin négatif a donné des zones d'inhibition allant jusqu'à 11 mm de diamètre.

Les résultats d'activité antibactérienne d'extrait non dégraissé exhibent des zones d'inhibition comprise entre 8mm à 27mm dont les plus grandes sont observées autour des disques de 1000 mg/ml témoignent d'une activité efficace.

Les différentes concentrations d'extrait non dégraissé ayant permis de donner des zones d'inhibition uniquement vis-à-vis trois quarts des souches des *Streptocoques D* (avec des grands diamètres qui s'élèvent à 27 mm autour des disques de 1000 mg/ml), en ce qui concerne *Pseudomonas spp* et *Citrobacter spp* les meilleurs diamètres sont ≥ 20 mm de diamètre, une sensibilité modérée est observée par *Staphylococcus spp*. Par contre une faible ou absence totale d'activité a été observée pour les autres souches *E.coli*, *Pseudomonas spp*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Aeromonas spp*, *Vibrio spp* (**tableau III-17**).

Concernant l'effet de pouvoir antibactérien de l'extrait dégraissé sur les cultures bactériennes sa révèle des diamètres allant de 7 mm à 21 mm, dont la forte activité est observée pour la plus grande concentration d'où : trois quarts de Streptocoques D montrent des larges diamètres dans les trois dernières concentrations arrivées jusqu'à 21 mm autour des disques de 1000 mg/ml, mêmes résultats observés pour une souche de *Citrobacter spp* pour toutes les concentrations testées, et une sensibilité modérée de *Staphylococcus spp*. Par contre une forte résistance des autres souches dont : *E.coli*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp*...(tableau III-18).

Ces résultats sont en concordance avec les travaux de **Caceres et al., (1991)**, qui a montré que l'extrait des graines de *M.oleifera* a une inhibition positive à 37°C vis-à-vis *P.aeruginosa* et *S.aureus*, avec l'absence d'inhibition de *E.coli* en considérant comme résultat positif des diamètres d'inhibition ≥ 7 mm.

En comparant les trois extraits évalués, l'extrait non dégraissé a donné des larges zones d'inhibition par rapport à celui de l'extrait dégraissé vis-à-vis les souches de *Streptocoques D*. **Bichi et al., (2012)** a révélé que le meilleur extrait qui a donné des grandes zones d'inhibition de 9 mm contre les souches de *E.coli* c'était l'extrait dégraissé, cela confirme nos résultats dont on a trouvé une seule souche de *E.coli* qui a marqué une zone d'inhibition de 15 mm de diamètre autour de disque de 1000 mg/ml d'extrait dégraissé par rapport à celui non dégraissé ; en effet nos résultats s'accordent avec les travaux de **Thilza et al., (2010)** qui ont montré la présence des zones d'inhibition de 10 mm avec la même concentration citée précédemment en travaillant sur l'extrait des feuilles de *M.oleifera* ;notant que les autres souches de *E.coli* présentent une résistance surtout vis-à-vis l'extrait dégraissé.

On note également une activité antibactérienne plus prononcée sur les bactéries à Gram positif que ceux à Gram négatif qui est extrêmement faible, citant précédemment que les extraits des graines de *M.oleifera* exhibent des meilleurs résultats d'activité surtout vis-à-vis les *Streptocoques D*, alors que la majorité des autres souches sont plus ou moins résistantes, cela peut être due au caractère sauvage des souches qui est confirmé par leur antibiorésistance à certains antibiotiques testés (tel que les β -lactamines) vus leur source de Provenance des eaux usées de l'oued.

L'activité antibactérienne montrée par les extraits des graines dégraissés et non dégraissés des graines de *M.oleifera* est due à la richesse de ces dernières en phytoconstituants d'où les terpénoides, les stérols et triterpènes, et les composés phénoliques représentés par les tanins ; ces différents composés leur confèrent une activité antimicrobienne.

De plus, **Eilert et al., (1981)** a identifié des substances bactéricides trouvées dans les graines de *M.oleifera* qui sont la Pterygospermine, et la moringine, puis dans d'autres études ils ont attribué l'activité à la présence de composé 4-(α -L-rhamnosyloxy)-benzylisothiocyanate, ce composé est identifié comme principe antibactérien. **Suarez et al., (2003)** ont exhibés que les graines contiennent des polypeptides agissant en coagulant les bactéries et les particules en suspension ce qui permet la clarification des eaux. **Broin et al., (2002)** ont reportés qu'une protéine recombinante est capable de flocculer les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Donc d'après ces études et toutes ces constatations on peut dire que l'action des graines de *M.oleifera* est double, elle représentée par une action biologique en raison des substances bioactives qu'elles contiennent et une action physique par adsorption et coagulation.

Chapitre III

Résultats et Discussion




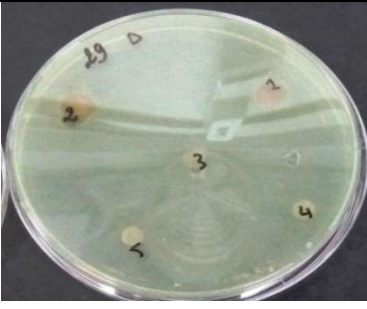
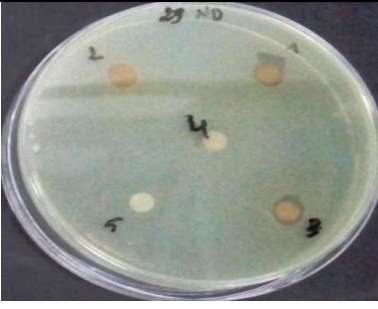







Résultats d'extraits dégraissés	Résultats d'extraits non dégraissés	Résultats d'huile
		
<i>Citrobacter spp</i>		
		
<i>Pseudomonas spp</i>		
		
<i>Enterobacter spp</i>		
		
<i>Streptocoque D</i>		

Figure III-33: Résultats de l'activité antibactérienne de quelques souches testées.

Conclusion et Perspectives

La croissance démographique accrue génère des milliers de m³ des eaux usées domestiques et industrielles. Ces dernières sont déversées quotidiennement dans les milieux récepteurs sans traitement préalable (DHW, 2007) ; d'où le cas d'Oued de Béchar. Ces effluents sont riches en polluants qui peuvent nuire à la santé publique, et de charger les eaux de surface et souterraines en provoquant la dégradation de leur qualité.

Cette étude s'inscrit dans le cadre du développement durable, de valorisation des matériaux locaux et de protection des milieux naturels récepteurs. Dans ce contexte, notre étude a visé l'application d'une filtration par un système simple et le plus souvent disponible, qui inclut le sable de la région d'Igli et les graines de *M.oleifera*. Ce traitement peut être généralisé dans les différents endroits de pollution à savoir les eaux usées domestiques pour la réutilisation simultanée dans l'agriculture privée, ainsi que la réutilisation dans l'arrosage des routes et les pelouses.

Les résultats obtenus nous ont permis de collecter des données suffisantes sur l'effet des graines de *M.oleifera*, d'où on a noté une meilleure élimination des *Clostridium* et Streptocoque D avec un abattement de 96 % et 81 % respectivement dans l'eau traitée par les graines dégraissées, et 81 %, 97 % dans le filtre à base des graines non dégraissées respectivement. Cet abattement est meilleur comparativement à celui obtenu lors de filtrations par le sable, grâce à l'effet antibactérien des graines sur les germes notamment les bactéries à Gram négative et positive tel que *Salmonella* et *Staphylococcus aureus* dans la colonne des germes pathogènes existant dans les eaux usées.

On ce qui concerne les coliformes et la flore aérobie mésophile totale, la réduction a été minimes et reste un peu à l'écart aux normes limitées pour les eaux usées épurées destinées à la fois pour l'irrigation et l'aquaculture et cela peut être dû au faible pourcentage des graines incorporées dans nos filtres.

Les résultats obtenus montrent l'existence d'une diversité des bactéries pathogènes dans les eaux usées de l'Oued Béchar. Ces souches pathogènes ayant plusieurs sources de provenance (effluents urbains, hospitaliers et industriels). La majorité des bactéries à Gram négatif isolées sont exhibé résistantes vis-à-vis des β -lactamines, ce qui pose un problème de la dissémination des souches résistantes dans l'environnement.

Vu l'absence d'une station de traitement des eaux usées dans la ville de Béchar, les eaux usées versées directement dans l'oued de Bechar constituent une source de pollution pour les terrains agricoles et les puits riverains, de plus une contamination des eaux souterraines de la nappe selon un processus d'infiltration en raison de la nature du sol à dominance calcaire, et par conséquent la dégradation de la qualité des eaux de la nappe.

En outre, l'existence d'un abattoir à proximité du collecteur principal des eaux usées de l'Oued aggrave la situation parce que d'une part, l'eau de rinçage peut être contaminée, cela dépend de l'éloignement d'un point d'eau par rapport à la source de pollution et la profondeur de la nappe ou des puits.

D'autre part les rejets d'abattoirs peuvent constituer une source de dissémination des microorganismes pathogènes ainsi que leur antibio-résistance. Ces résultats suggèrent la prise en charge sérieuse de la collecte et de l'épuration de ces rejets.

L'effet épuratoire des graines de *M.oleifera* apparaît aussi dans l'éradication des métaux lourds à savoir le cadmium qui a été totalement débarrassé dans le filtre à graines dégraissées. Contrairement aux résultats positifs enregistrés par les graines dans les deux sortes « D et ND », des résultats inacceptables apparaissent dans la conductivité et la turbidité avec des hautes valeurs qui dépassent les normes trouvées dans quelques échantillons. Afin de préserver la qualité des ressources d'eau et la réduction du danger des eaux usées sur l'environnement et la santé publique, il serait obligatoire d'instaurer certaines démarches :

Évaluation de l'impact des rejets de l'Oued sur les puits riverains et les nappes en effectuant des analyses microbiologiques périodiques rigoureux ;

Construire une station d'épuration des eaux usées basée sur des procédés du traitement naturel et peu coûteux tel que l'utilisation de *M.oleifera* avec le sable ;

À partir de nos résultats, des perspectives peuvent être aussi soulignées de raison d'améliorer et optimiser ce système de filtration à savoir :

L'utilisation des différents pourcentages des graines dans les stations d'épuration pour accomplir la mission de traitement avec un niveau élevé et sans risque de désinfectants et produits chimiques.

Il est important de réaliser des analyses plus approfondies surtout pour les paramètres physicochimiques (facteurs de pollution, facteurs de toxicité et les facteurs indésirables... etc.), et biologiques (parasites et protozoaires...).

Il serait intéressant également de mener une étude plus approfondie sur les différentes eaux souterraines qui entourent les extrémités de l'Oued par des analyses plus poussées afin de déterminer leurs degrés de pathogénicité et de toxicité des eaux des puits et l'impact sur la santé publique.

Références Bibliographiques

- Aboukacem, A., Chahlaoui, A., Soulaymani, A., Rhazi-Filali, F., & Benali, D. (2007). Étude comparative de la qualité bactériologique des eaux des oueds Boufekrane et Ouislane à la traversée de la ville de Meknès (Maroc). *Rev. Microbiol. Ind. San. Environ*, 1, 10-22.
- Abouzlam, M. (2014). *Optimisation d'un procédé de traitement des eaux par ozonation catalytique* (Doctoral dissertation, Poitiers).
- Ahmed, A. M., Shinoda, S., & Shimamoto, T. (2005). A variant type of *Vibrio cholerae* SXT element in a multidrug-resistant strain of *Vibrio fluvialis*. *FEMS microbiology letters*, 242(2), 241-247.
- Alessandro, L.G. (2013). *Eco-procédés pour la récupération sélective d'antioxydants à partir d'Aronia melanocarpa et ses co-produits*. thèse de doctorat, université de lille1, France.
- Amaglo, N. K., Bennett, R. N., Curto, R. B. L., Rosa, E. A., Turco, V. L., Giuffrida, A., ... & Timpo, G. M. (2010). Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. *Food Chemistry*, 122(4), 1047-1054.
- Aminot, A., & Kérouel, R. (2004). *Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses*. Editions Quae.
- Anwar, F., & Bhangar, M. I. (2003). Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 51(22), 6558-6563.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(1), 17-25.
- Aoubed A. (2007). *Les différents procédés des traitements des eaux l'université BLIDA*.
- Asano, T. (Ed.). (1998). *Wastewater reclamation and reuse: water quality management library* (Vol. 10). Crc Press.
- Asano, T., Burton, F., & Leverenz, H. (2007). *Water reuse: issues, technologies, and applications*. McGraw-Hill Education.
- Atakpama, W., Kponor, E. G. E., Kanda, M., Dourma, M., M'tékounm, N. A. R. E., Batawila, K., & Akpagana, K. (2014). *Moringa oleifera* Lamarck (Moringaceae): une ressource phytogénétique à usage multiple. *Sciences de la vie, de la terre et agronomie*, 2(1).

Attab S. (2011). Amélioration de la qualité microbiologique des eaux épurées par boues activées de la station d'épuration Haoud Berkaoui par l'utilisation d'un filtre à sable local mémoire de magister, université Kasdi Merbah de Ouargla.

Aucher, P., Dugaz, G., Missonnier, F., & Fortas, N. (1998). A propos d'un cas d'infection autochtone à *Vibrio cholerae* non O1 et non O139. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 56, No. 2, pp. 213-4).

Bassompierre, C. (2007). *Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers: de la conception d'un pilote à la validation de modèles* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Grenoble-INPG).

Baumont S., Camard J.P., Lefranc A. et Franconi A. (2004). Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Ile de France, Rpport ORS (observatoire régional de sante d'Ile – de – France), France.

Bégin, D., Lavoué, J., & Gérin, M. (2002). *La substitution des solvants par le diméthylsulfoxyde: rapport*. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.

Belaid, N. (2010). Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax: salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques (Doctoral dissertation, Limoges).

Belhamadi M. (2011). Etude de la biodégradation du 2,4-dichlorophénicol par le macrobiote des effluents d'entrée et de sortie de la station d'épuration des eaux usées d'Ibn Ziad. Mémoire de Magister en Microbiologie appliquée et biotechnologies microbiennes. Université Mentouri-Constantine, Algérie,

Benalia, O. (2013). *Gestion de l'environnement : traitement des eaux usées*, Ed Page bleu, collection : manuels de l'étudiant .

Berdai, H., Jellal, N., & El Hamouri, B. (1989). Wastewater treatment in an alga channel with high yield and its use for the cabbage irrigation. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Veterinaires*.

Bhosale Gopal M. ,Salkar V. D.(2013) .Rehabilitation by Chemical Treatment for Sand Media of Rapid Sand Filtration units for Sangli City, IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology (IOSR-JESTFT) e-ISSN: 2319-2402,p- ISSN: 2319-2399. Volume 6, Issue 5.

- Bichi, M. H., Agunwamba, J. C., Muyibi, S. A., & Abdulkarim, M. I. (2012). Effect of extraction method on the antimicrobial activity of Moringa oleifera seeds extract. *Journal of American Science*, 8(9), 450-458.
- Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P., ... & Weber, P. (2012). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Recommandations 2012*.
- Bourgeois, C.M.,Leveau, J.Y. (1996).Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires. Lavoisier,Paris.
- Boutin, C., Esser, D., Molle, P., & Lienard, A. (2000, March). Les filtres et lits plantés de roseaux en traitement d'eaux usées domestiques. Perspectives pour le traitement d'eaux pluviales. In *Les rendez-vous du GRAIE. Le traitement des eaux par macrophytes. Perspectives pour les eaux pluviales* (pp. p-1).
- Bouziani, M. (2000). L'eau de la pénurie aux maladies.
- Branger, A. (2007). *Microbiochimie et alimentation*. Educagri Editions.
- Broin, M. (2005). Composition nutritionnelle des feuilles de Moringa oleifera.
- Broin, M., Santaella, C., Cuine, S., Kokou, K., Peltier, G., & Joet, T. (2002). Flocculent activity of a recombinant protein from Moringa oleifera Lam. seeds. *Applied microbiology and biotechnology*, 60(1), 114-119.
- Cabral, J. P. (2010). Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *International journal of environmental research and public health*, 7(10), 3657-3703.
- Caceres, A., Cabrera, O., Morales, O., Mollinedo, P., & Mendia, P. (1991). Pharmacological properties of Moringa oleifera. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 33(3), 213-216.
- CASFM.(2012).Recommandations d'antibiogramme 2012.
- Cauchi , Hyvrard, Nakache, Schwartzbrod , Zagury ,Baron ,Carre, Courtois, Denis, Derrat ,Larbaigt ,Derangere,Martigne et Seguret. (1996). La réutilisation des eaux usées après épuration , Technique, sciences et méthodes 2 .
- CEAEQ. (2000) .Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.

Chassot, G. M., Kupper, T., Candinas, T., & Bachmann, H. J. (1999). Caractérisation métabolique des sites d'observation en 1998. Un essai en conditions réelles. *Beobachtung des Stoffwechsels der Anthroposphäre im Einzugsgebiet ausgewählter Abwasserreinigungsanlagen (SEA), Ergebnisse des Projekts SEA. FAL-Institut für Umweltschutz und Landwirtschaft IUL Liebefeld. Bern, 57-111.*

Chavannes, M., Jullien, A., Beaudoin, G. J., Flamand, E. (1991). Chimie organique expérimentale, 2^{ème} édition, Modulo. L. F. Fieser et K. L. Williamson.

Cherif, H., SILINI, A., & Ghoul, M. (2001). LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SALMONELLA DANS LES EAUX DE RIVIERES DE SETIF. *Sciences & Technologie. A, sciences exactes, 55-62.*

Comité Normes Standards, (CNS) (1994), Ministère de l'environnement du Maroc. Rabat.

Corsin, P., & Le Strat, P. (2007). Les effluents des stations d'épuration: comment les rendre aptes à une seconde vie. *EAU L INDUSTRIE LES NUISANCES, 299, 47.*

Coulibaly, K. (2005). Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique de l'eau des puits de certains quartiers du district de Bamako. *Faculté de médecine de pharmacie thèse doctorat d'état.*

CSHPF. (1995). Recommandations sanitaires relatives à la désinfection des eaux usées urbaines, Pp22.

Daniyan, S. Y., Abalaka, M. E., & Eru, E. O. (2011). THE USE OF MORINGA SEED EXTRACT IN WATER PURIFICATION. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy, 2(4).*

De Castro, M. L., & Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta, 369(1-2), 1-10.*

De Vos, D., De Chial, M., Cochez, C., Jansen, S., Tümmler, B., Meyer, J. M., & Cornelis, P. (2001). Study of pyoverdine type and production by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients: prevalence of type II pyoverdine isolates and accumulation of pyoverdine-negative mutations. *Archives of microbiology, 175(5), 384-388.*

- De Vos, D., Lim Jr, A., De Vos, P., Sarniguet, A., Kersters, K., & Cornelis, P. (1993). Detection of the outer membrane lipoprotein I and its gene in fluorescent and non-fluorescent *Pseudomonas*: implications for taxonomy and diagnosis. *Microbiology*, 139(9), 2215-2223.
- Debabza, M. (2004). Analyse microbiologiques des eaux des plages de la ville de annaba (évaluation de la résistance aux antibiotiques des microorganismes pathogènes).université Badji Mokhtar ,annaba.
- Debray ,M., Jacquemin ,H., Razafindrambo, R.(1971).Phytochemical Screening of *Pentadesma butyracea Sabine* (Clusiaceae) Acclimated in Benin by GC/MS. Travaux et documents de l'Orstom, Paris, France,Pp8.
- Denis, F., Cattoir, V., Martin, C., Ploy, M. C., & Poyart, C. (2016). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Masson.
- Derwich, E., Beziane, Z., Benaabidate, L., & Belghyti, D. (2008). Evaluation de la qualité des eaux de surface des Oueds Fès et Sebou utilisées en agriculture maraîchère au Maroc. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782*, (7).
- DHW.(2007). Bilan des rejets domestiques et industriels du bassin de Guelma, Rapport inédit, Direction de l'hydraulique de Guelma, Algérie.
- Dimane, F., Haboubi, K., Hanafi, I., & El Himri, A. (2016). Etude de la performance du dispositif de traitement des eaux usees par boues activees de la ville d'Al-Hoceima, Maroc. *European Scientific Journal*, 12(17).
- Djeddi, H., (2007). *Utilisation des eaux d'une station d'épuration pour l'irrigation des essences forestières urbaines* (Doctoral dissertation, Constantine: Université Mentouri Constantine).
- Djelouat,Zoughileche.(1983).le diagnostic biochimique bactérien. Science et technique, 122-123.
- Duchene, P. (1999). *Estimation de la production des boues* (Doctoral dissertation, irstea).
- Duchène, P., & Cochard, J. L. (1999). La normalisation européenne en matière de traitement des eaux résiduaires urbaines. *Ingénieries eau-agriculture-territoires*, (19), p-43.
- Edberg, S. C. L., Rice, E. W., Karlin, R. J., & Allen, M. J. (2000). Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of applied microbiology*, 88(S1), 106S-116S.

- Eilert, U., Wolters, B., & Nahrstedt, A. (1981). The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Planta medica*, 42(05), 55-61.
- El Addouli, J., Chahlaoui, A., Berrahou, A., Chafi, A., Ennabili, A., & Karrouch, L. (2009). Influence des eaux usées, utilisées en irrigation, sur la qualité des eaux de l'Oued Bouishak-région de Meknes (centre-sud du Maroc). *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3(1), 56-75.
- El Haissofi, H., Berrada, S., Merzouki, M., Aabouch, M., Bennani, L., Benlemlih, M., ... & Lalami, A. E. O. (2011). Pollution des eaux de puits de certains quartiers de la ville de Fès, Maroc. *Revue de microbiologie industrielle sanitaire et environnementale*, 5(1), 37-68.
- El Hayek, N. (1989). Méthodes d'analyse de l'eau. *Editions OPU. Alger, Algérie. 179p.*
- EPA Victoria, (2002). Guidelines for environmental management, disinfection of treated wastewater.
- Faby ,J.A., Brissaud ,F. (1997). L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. Office International de l'Eau, Pp76.
- Faizi, S., Siddiqui, B. S., Saleem, R., Siddiqui, S., Aftab, K., & Gilani, A. U. H. (1994). Isolation and structure elucidation of new nitrile and mustard oil glycosides from *Moringa oleifera* and their effect on blood pressure. *Journal of Natural Products*, 57(9), 1256-1261.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- FAO (2003). Irrigation avec des eaux usées traitées, manuel d'utilisation.
- Fatombi, J. K., Jossé, R. G., Wotto, V., Aminou, T., & Coulomb, B. (2007). Paramètres physico-chimiques de l'eau d'Opkara traitée par les graines de *Moringa oleifera*. *Journal-société ouest africaine de chimie*, 23, 75.
- Festy, B., Hartemann, P., Ledrans, M., Levallois, P., Payment, P., & Tricard, D. (2003). Qualité de l'eau. *Environnement et santé publique-Fondements et pratiques*, 333-368.
- Fewtrell, L., & Kay, D. (2007). Microbial quality of rainwater supplies in developed countries: a review. *Urban water journal*, 4(4), 253-260.
- Flandrois, J. P. (1997). *Mycobacterium tuberculosis*; bactériologie médicale. *Collection AZAY, presse universitaire de Lyon*, 152-7.

- Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001). Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie. *Potentiel de développement des produits de Moringa. Dar es-Salaam, Tanzanie, du, 29*, 175-232.
- Gaujous, D. (1995). *La pollution des milieux aquatiques: aide-mémoire*. Technique et documentation Lavoisier.
- Ghebremichael, K. A. (2004). *Moringa seed and pumice as alternative natural materials for drinking water treatment* (Doctoral dissertation, Mark och vatten).
- Goja, A. M., Yang, H., Cui, M., & Li, C. (2013). Aqueous two-phase extraction advances for bioseparation. *J. Bioprocess. Biotechnol*, 4(1), 1-8.
- Gommella M. et Guerree H. (1983). Les eaux usées dans les agglomérations urbains ou rurales, Tomes I : La collecte, Ed : Eyrolles, Paris.
- Grosclaude, G. (1999). *L'eau: Tome I. Milieu naturel et maîtrise*. Quae.
- Grubben, G. J. H., & Denton, O. A. (2004). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 2. Légumes. *Fondation PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Pays-Bas*.
- Hade, A. (2003). *Nos lacs: les connaître pour mieux les protéger*. Les Editions Fides.
- Hamaidi, M., & Kais, H. (2016). Évaluation de la charge en pathogènes et de la microfaune dans les eaux de l'effluent brute et traité rejeté dans un milieu récepteur: cas de la station d'épuration de Médéa. *Larhyss Journal*, (26), 183-208.
- Hamoda, M. F. (2004). Water strategies and potential of water reuse in the south Mediterranean countries. *Desalination*, 165, 31-41.
- Hart, T., & Shears, P. (2002). Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. *Paris, p213*.
- Haslay, C., & Leclerc, H. (1993). *Microbiologie des eaux d'alimentation*.
- Hegazy, A. K., Abdel-Ghani, N. T., & El-Chaghaby, G. A. (2011). Phytoremediation of industrial wastewater potentiality by *Typha domingensis*. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 8(3), 639-648.
- Hunter, C., Perkins, J., Tranter, J., & Gunn, J. (1999). Agricultural land-use effects on the indicator bacterial quality of an upland stream in the Derbyshire Peak District in the UK. *Water Research*, 33(17), 3577-3586.
- Igwe, I. O. (2004). The effects of temperature on the viscosity of vegetable oils in solution. *Industrial crops and products*, 19(2), 185-190.

ISO 8245. (1999). Qualité de l'eau — Lignes directrices pour le dosage du carbone organique total (COT) et du carbone organique dissous (COD)

Jolliet, O., Saadé, M., & Crettaz, P. (2010). *Analyse du cycle de vie: comprendre et réaliser un écobilan* (Vol. 23). PPUR Presses polytechniques.

Jora. (2006). journal officiel de la république algérienne. Décret Exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 Avril 2006, section 1, article 3.

Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

Kawo, A., Abdullahi, B., Halilu, A., Gaiya, Z., Dabai, M., & Dakare, M. (2009). Preliminary phytochemical screening, proximate and elemental composition of *Moringa oleifera* lam seed powder. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 2(1), 96-100.

Kerharo, P. J. (1969). Un remède populaire Sengalais: Le 'Nebreday' (*Moringa oleifera* L.) employs thérapeutiques en milieu Africain chimie et pharmacologie. *Plantes Med Phytother*, 3, 14-219.

Kleiman, R., Ashley, D. A., & Brown, J. H. (2008). Comparison of two seed oils used in cosmetics, moringa and marula. *Industrial Crops and Products*, 28(3), 361-364.

Kruse, H., Sørum, H., Tenover, F. C., & Olsvik, Ø. (1995). A transferable multiple drug resistance plasmid from *Vibrio cholerae* O1. *Microbial Drug Resistance*, 1(3), 203-210.

Lagarette M.J.L.(2004).L'eau potable et l'assainissement , Edition Johanet ,Paris , p154.

Lalami, A. E. O., Zanibou, A., Bekhti, K., Zerrouq, F., & Merzouki, M. (2014). Contrôle de la qualité microbiologique des eaux usées domestiques et industrielles de la ville de Fès au Maroc (Microbiological Control wastewater domestic and industrial city of Fes Morocco). *Journal of Materials and Environmental Science*, 5, 2325-2332.

Lalas, S., & Tsaknis, J. (2002). Extraction and identification of natural antioxidant from the seeds of the *Moringa oleifera* tree variety of Malawi. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(7), 677-683.

Laleye, O. A. F., Ahissou, H., Olounlade, A. P., Azando, E. V. B., & Laleye, A. (2015). Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khaya senegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) et *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5), 2682-2700.

Lancini, G., & Parenti, F. (2013). *Antibiotics: an integrated view*. Springer Science & Business Media.

Lauzin, X. (2009). *Guide pratique des stations de traitement des eaux*. Editions Eyrolles.

Leyral, G., Ronnefoy, C., & Guillet, F. (2002). *Microbiologie et qualité des industries agroalimentaire*. Paris, 245p.

Lo Monaco, P. A., Matos, A. T. D., Jordão, C. P., Cecon, P. R., & Martinez, M. A. (2004). Influência da granulometria da serragem de madeira como material filtrante no tratamento de águas residuárias. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 8(1), 116-119.

Maalej, S., Gdoura, R., Dukan, S., Hammami, A., & Bouain, A. (2004). Maintenance of pathogenicity during entry into and resuscitation from viable but nonculturable state in *Aeromonas hydrophila* exposed to natural seawater at low temperature. *Journal of applied microbiology*, 97(3), 557-565.

Maazouzi, A., Kettab A., Badri A., Kabour A., Zahraoui B. (2011). Estimation de la charge polluante des eaux usées domestique de oued bechar (sw algerie) et apport de la filtration sur le sable du grand erg occidental (sable de taghit). 1er Séminaire International sur la Ressource en eau au sahara : Evaluation, Economie et Protection, Ouargla, Algérie.

Majdi, N., Uthoff, J., Traunspurger, W., Laffaille, P., & Maire, A. (2020). Effect of water warming on the structure of biofilm-dwelling communities. *Ecological Indicators*, 117, 106622.

Makhloufi, A. (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru (Doctoral dissertation).

Makhloufi, A., Larbi, L. B., Moussaoui, A., Lazouni, H. A., Romane, A., Wanner, J., ... & Höferl, M. (2015). Chemical composition and antifungal activity of *Aaronsohnia pubescens* essential oil from Algeria. *Natural product communications*, *10*(1), 1934578X1501000134.

Makhoukh, M., Sbaa, M., Berrahou, A., & Van Clooster, M. (2011). Contribution à l'étude physico-chimique des eaux superficielles de l'Oued Moulouya (Maroc oriental). *LARHYSS Journal* P-ISSN 1112-3680/E-ISSN 2521-9782, (9).

Makonnen, E., Hunde, A., & Damecha, G. (1997). Hypoglycaemic effect of *Moringa stenopetala* aqueous extract in rabbits. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products*, *11*(2), 147-148.

Mazieres, J. (1981). Méthodes usuelles d'analyse bactériologique pour le contrôle sanitaire courant des eaux de mer et des coquillages.

Mbaïhougadobe, S., Ngakegni-Limbili, A. C., Gouollaly, T., Ngaïssona, P., Koane, J. N., Nkounkou, L. C., ... & Ouamba, J. M. (2017). Inventaire et essais phytochimiques sur quelques plantes du Tchad utilisées dans le traitement de la goutte. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *11*(6), 2693-2703.

Mehta, K., Balaraman, R., Amin, A. H., Bafna, P. A., & Gulati, O. D. (2003). Effect of fruits of *Moringa oleifera* on the lipid profile of normal and hypercholesterolaemic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*, *86*(2-3), 191-195.

Melloul, A., Amahmid, O., Hassani, L., & Bouhoum, K. (2002). Health effect of human wastes use in agriculture in El Azzouzia (the wastewater spreading area of Marrakesh city, Morocco). *International journal of environmental health research*, *12*(1), 17-23.

Metahri, M. S. (2012). *Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées par des procédés mixtes: cas de la STEP est de la ville de Tizi Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Metiche, M. (2004). Environnement: phénomènes de pollution et techniques de protection. *Centre Universitaire de Béchar, Algérie*.

Meziani, M. (2012). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas*. mémoire de Magistère, université de Mentouri, Constantine.

Mimeche, L. (2014). Etude de faisabilité de l'installation de station d'épuration des rejets urbains par les filtres plantés en milieu aride-Application à la région de Biskra (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

Mimouni, R. (2004). Etude microbiologique des eaux usées dans le Grand Agadir: Épuration par infiltration-percolation, impact sur l'environnement marin et réutilisation en agriculture (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat d'Etat. Université Ibnou Zohr. Faculté des Sciences, Agadir. Maroc, p 170).

Ministère de l'Environnement du Maroc, 2002 ; (Arrêté, 2012).

Moussa, M. (2005). Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries: caractéristiques physicochimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surface et les eaux souterraines (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat Présentée et soutenue publiquement le 01/07/2005 devant le jury de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-stomatologie (FMPOS) du Mali. 135p).

MRE.(2001). Ministère des Ressources en Eau Les ressources en eau d'Algérie. Rapport de

Nemlin, J., & Brunel, J. F. (1995). Fascicule de travaux pratiques de matière médicale (3ème année). Département de Pharmacognosie, Laboratoire de Phytologie, Faculté de Pharmacie, Université Nationale de Côte d'Ivoire.

Neubert S., benabdallah S.,(2003). La réutilisation des eaux usées traitées en tunisie, institut allemand de developpement olivier alexandre et al. , station d'épuration des petites collectivités : méthodologie et analyse des couts d'investissement et d'exploitation par unité fonctionnelle, edition quae.

Okwu, D. E. (2005). Phytochemicals, vitamins and mineral contents of two Nigerian medicinal plants. *Int. J. Mol. Med. Adv. Sci*, 1(4), 375-381.

Oluduro, A. O., & Adewoye, B. I. (2007). Efficiency of Moringa oleifera seed extract on the microflora of surface and ground water. *J Plant Sci*, 6, 453-438.

Olukoya, D. K., Ogunjimi, A. A., & Abaelu, A. M. (1995). Plasmid profiles and antimicrobial susceptibility patterns of *Vibrio cholerae* O1 strain isolated during a recent outbreak in Nigeria. *Journal of diarrhoeal diseases research*, 118-121.

OMS (WHO) (2006). Guideline for drinking-water quality (electronic resources): incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations, 3rd edition.

OMS (WHO). (1989). Technical report series 778. Geneva

OMS (WHO).(2001) Water Quality: Guidelines, Standards and Health, Guidelines: the current position ; Edited by Lorna Fewtrell and Jamie Bartram, London, UK. ISBN: 1 900222 28 0

OMS. (1978). Cholera et autres diarrhées associées à des vibrions. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé, 1,27-52.

OMS. (1989) .L'utilisation des eaux usées en agriculture et en aquaculture : recommandations à visées sanitaires. Organisation Mondiale de la Santé. Série de rapports techniques ,778. OMS. Genève.

OMS. (2004). Guidelines for drinking-water quality. Vol.1. Recommandations, 3rd, Ed. World Health Organization. Geneva.

OMS.(2012) .directives oms pour L'utilisation sans risque des eaux usées, des excreta, Volume II : utilisation des eaux usées en agriculture et des eaux ménagères

OUALI, M. S. (2001). Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. *Edition, 2*, 4334.

Payment P., Godfree A., and Sartory D.,(2002). Encyclopedia of environmental microbiology, pp 861-871,Wiley Interscience,N.Y.

Payment, P., & Hartemann, P. (1998). Les contaminants de l'eau et leurs effets sur la santé. *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science, 11*, 199-210.

Penchev, P. I. (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions (Doctoral dissertation).

Pierzo V. et Delattre J.M. (2000). Etat de l'art sur l'efficacité des traitements tertiaires de désinfection des eaux résiduaires (Chloration, Ozonation, Uv, Infiltration). Institut Pasteur de Lille , Agence de l'Eau Artois-Picardie.

Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (1999). Microbiology McGraw-Hill. *New York*, 533.

Quilici, M. L., & Robert-Pillot, A. (2011). Infections à vibrions non cholériques. *Emc:: Maladies Infectieuses, 8*, 1-12.

Rabeh, A. A. (2012). Elimination des métaux lourds (Cd, Pb, Cr, Zn et As) des eaux usées industrielles et naturelles par le procédé d'infiltration-percolation , thèse de doctorat, université Ibnou Zohr , Agadir.

Rajangam, J., Azahakia Manavalan, R. S., Thangaraj, T., Vijayakumar, A., & Muthukrishnan, N. (2002). Production et utilisation du Moringa en Inde du Sud: la Situation Actuelle. CIRAD.

Ratel, C., Nejjar, A., & Bentaleb, M. (1986). La réutilisation des eaux usées pour l'irrigation au Maroc: Cas de la ville de Marrakech. *Séminaire sur les technologies appropriées pour l'eau et l'assainissement en zones arides*.

Reggani M. E. (2010). Contribution à l'étude de la bio écologie du Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775)(Orthoptera- Acrididae) dans la région d'Adrar , these de doctorat, Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.

Reinthal, F. F., Posch, J., Feierl, G., Wüst, G., Haas, D., Ruckebauer, G., ... & Marth, E. (2003). Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water research*, 37(8), 1685-1690.

Rejsek F. (2002), Analyse des eaux : Aspects réglementaires et techniques, Centre Régional De Documentation Pédagogique D'aquitaine, France, ISBN : 2-86617-420-8.

Rodier, J., Bazin, C., Brontin, J. P., Chambon, P., Champsaur, H., Rodier, L. (1996). L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer (8^{ème} édition). *DUNOD, Paris*.

Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J.P., Chambon P. , Champsaur, H., Rodi, L., (1997) : l'analyse de l'eau : esaux natuerelles, eaux résiduaires et eau de mer, 8 eme édition , édition : DUNOD.

Rodier, J., Legube, B., & Merlet, N. (2009). L'analyse de l'eau. 9eme édition entièrement mise à jour. Dunod paris, 1526p.

Roy, E. (2013). Les plantes exotiques dans les cosmétiques: réel intérêt ou effet marketing? (Doctoral dissertation).

Ruckmani, K., Kavimani, S., An, R., & Jaykar, B. (1998). Effect of Moringa oleifera Lam on paracetamol-induced hepatotoxicity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60(1), 33.

Salghi, R. (2006). Différents filières de traitement des eaux. *Cours. Ecole nationale des sciences appliquées d'AGADIR. Université IBEN ZOHIR. ROAUME du MAROC*.

Samaké S, Togola I, Diarra N, Samaké M, Sanogo R. (2020). Etude ethnobotanique et screening phytochimique de plantes ornementales à usage thérapeutique du district de Bamako, Mali ;8(08):251-262.

Schwarz, D. (2000). Water Clarification using Moringa oleifera Technical Information W1e. *Gate-Technical Information W1e*, 1-7.

- Sefrioui, D., Sarafan-Vasseur, N., Beaussire, L., Baretta, M., Gangloff, A., Blanchard, F., ... & Di Fiore, F. (2015). Clinical value of chip-based digital-PCR platform for the detection of circulating DNA in metastatic colorectal cancer. *Digestive and Liver Disease*, 47(10), 884-890.
- Servais, P., George, I., Albabusaclai, A., & Lizin, P. (2002). Etude expérimentale de la dynamique des coliformes fécaux dans l'estuaire de la Seine. *2001 Activity Report of the scientific programme Seine-Aval II*.
- Singleton, P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies.
- Smahi, K., Makhloufi, A., Ouguerti, N., Yahi, A., Dahane, Ruissate, N., Sediki, N., & Harek, Y. (2020). Antibacterial Activity of Moringa oleifera Seeds Extract on Pathogenic Bacteria Isolated from Wastewater of Oued Bechar, Bechar Province, Southwest Algeria. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 10(3), 121-129.
- Stalder, T. (2012). Implication des effluents d'activités hospitalières et de la filière carnée sur la dissémination de l'antibiorésistance: Dynamique des intégrons de l'émission au rejet (Doctoral dissertation, Limoges).
synthèse, Alger, Algérie., 73 p.
- Tafraoui, A. (2009). *Contribution à la valorisation du sable de dune de l'erg occidental (Algérie)* (Doctoral dissertation, Toulouse, INSA).
- Talouizte, H., Merzouki, M., El Ouali Lalami, A., Bennani, L., & Benlemlih, M. (2007). Evolution de la charge microbienne de la laitue irriguée avec les eaux usées urbaines de la ville de Fès au Maroc. *Tribune de l'eau*, 642.
- Tamrabet, L. (2011). *Contribution à l'étude de la valorisation des eaux usées en maraîchage* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Terfaya, B., Makhloufi, A., Mekboul, A., Benlarbi, L., & Abdelouahed, D. (2017). Antifungal activity of Juniperus oxycedrus Tar; growing wild in north-west of Algeria. *Applied Biology in Saharan Areas*, 1, 33-36.
- Theophile, M. (2014). Effet de la fertilisation sur la croissance et la production de *Moringa oleifera* local et *Moringa oleifera* PKM-I dans la Région des Cascades (Burkina Faso). mémoire de magistère en production végétale, université de Burkina Faso.
- Thilza, I. B., Sanni, S., Zakari, A. I., Sanni, F. S., Muhammed, T., & Musa, B. J. (2010). In vitro antimicrobial activity of water extract of Moringa oleifera leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases. *Academia arena*, 2(6), 80-82.

Torres-Castillo, J. A., Sinagawa-García, S. R., Martínez-Ávila, G. C. G., López-Flores, A. B., Sánchez-González, E. I., Aguirre-Arzola, V. E., ... & Gutiérrez-Díez, A. (2013). *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. *International Journal of Experimental Botany*, 82, 193-202.

Trease, E., et Evans, W.C. (2004). *Pharmacognosie*, Billiaire Tindall. London 13th Edition, 61-62. In : Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamifera* (Baume du pommier), coordonnée par Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Et Ogunjaja, V.O. (1987), 3, 179-182. *Journal of Medicine and Scientific Research*, Nigeria.

Treguer R., Couvert A., Wolber D., Suty H., Randon G., (2005) . Etude de la coagulation floculation pour l'élimination des matières organiques dissoutes, *Récents Progrès en Génie des Procédés*, n°92.

Urios, L. (2005), *Technique D'épuration des eaux usées*, Technique et documentation. Paris.

Vilagines, R. (2003). *Eau, environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie* (2^{ème} édition). Tec et Doc- lavoisier, France.

Villebrun, J. F. (1989). *La déphosphatation biologique appliquée à la station d'épuration de Craon*. Rapport de la DDAF de la Mayenne.

Vincent M., (2003). *Aquaculture environnement*, Institut Française de l'environnement.

Young, J. P., Downer, H. L., & Eardly, B. D. (1991). Phylogeny of the phototrophic rhizobium strain BTAi1 by polymerase chain reaction-based sequencing of a 16S rRNA gene segment. *Journal of Bacteriology*, 173(7), 2271-2277.

Yuliasri, I. R., Rohaeti, E., Effendi, H., & Darusman, L. K. (2016). The use of *Moringa oleifera* seed powder as coagulant to improve the quality of wastewater and ground water. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 31, No. 1, p. 012033). IOP Publishing.

Annexes

Annexe I: Milieux de cultures

Bouillon Roth

Composition	Quantité
Tryptose	15,0 g
Extrait de boeuf	4,50 g
Chlorure de sodium	7,50 g
Glucose	7,50 g
Azide de sodium	0,20 g
Eau distillé	1L
pH final à 25°C	7,2 ± 0,2

Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol

Composition	Quantité
Tryptone	5,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Lactose	5,0 g
Pourpre de bromocrésol	25,0 mg
Eau distillé	1 L
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C	6,7 ± 0,2.

Bouillon Iva Litsky

Composition	Quantité
Peptone de viande	10,0 g
Phosphate monopotassique	2,70 g
Peptone de caséine	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Glucose	5,0 g
Azide de sodium	0,30 g
Phosphate dipotassique	2,70 g
Ethyl violet	0,0005 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,0 ± 0,2

Eau peptone

Composition	Quantité
Peptone	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,2 ± 0,2

Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS)

Composition	Quantité
Polypeptone	10,0 g
Extrait autolytique de levure	5,0 g
Saccharose	20,0 g
Bile de boeuf bactériologique	5,0 g
Cholate de sodium	3,0 g
Citrate de sodium	10,0 g
Thiosulfate de sodium	10,0 g
Chlorure de sodium	10,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,0 g
Bleu de bromothymol	40,0 mg
Bleu de thymol	40,0 mg
Agar agar bactériologique	14,0 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	8,6 ± 0,2

Gelose Hektoen

Composition	Quantité
Peptone pepsique de viande	12,0 g
Extrait autolytique de levure	3,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Sels biliaires	9,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	40 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,2 ± 0,2

Gélose de Chapman

Composition	Quantité
Peptone	8,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Lactalbumine	3,0 g
Chlorure de sodium	30,0 g
Mannitol	10,0 g
Rouge de phenol	0.0225 g
Chlorure de lithium	7 g
Glycine	1,0 g
Pyruvate de sodium	3,0 g
Agar	12,0 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,4 ± 0,2

Gélose Salmonella-Shigella (SS)

Composition	Quantité
Peptone pancréatique de viande	5,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Lactose	10,0 g
Sels biliaires	8,5 g
Citrate de sodium	10,0 g
Thiosulfate de sodium	8,5 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,0 g
Rouge neuter	25,0 mg
Vert brillant	0,33 mg
Agar agar bactériologique	15,0 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,0 ± 0,2

Gélose Tryptone Glucose Extract (TGEA)

Composition	Quantité
Tryptone	5,00
Extrait de viande	3,00
Glucose	1,00
Agar	15,00
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,0 ± 0,2

Eau Peptonée Exempte d'Indole

Composition	Quantité
Tryptone	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,2 ± 0,2

Milieu Schubert

Composition	Quantité
Tryptone	10,0 g
Tryptophane	0,20 g
Chlorure de sodium	2,00 g
Mannitol	7,50 g
Phosphate disodique	4,12 g
Phosphate monopotassique	0,58 g
Acide glutamique	0,20 g
Sulfate de magnésium	0,70 g
Sulfate d'ammonium	0,40 g
Citrate de sodium	0,50 g
Eau distillé	1L
pH final à 25°C :	7,6 ± 0,2

Bouillon Giolitti-Cantoni

Composition	Quantité
Tryptone	10,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Glycine	1,20 g
Mannitol	20,0 g
Pyruvate de sodium	3,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Chlorure de lithium	5,0 g
Polysorbate 80	1.0 g
Eau distillé	1L
pH final à 25°C	6,9 ±0,2

Bouillon Sélénite Cystine

Composition	Quantité
Tryptone	5,0 g
Lactose	4,0 g
Sélénite acide de sodium	4,0 g
Phosphate disodique	10,0 g
L-cystine	0,01 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,0 ± 0,2

Milieu viande-Foie

Composition	Quantité
Peptone viande-foie	30,0 g
Sulfite de sodium	2,50 g
Glucose	2,0 g
Citrate ferrique ammoniacal	0,50 g
Amidon soluble	2,0 g
Agar	11,0 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	7,6 ± 0,2

Eau peptoné alcalin

Composition	Quantité
Peptone	20,0 g
Chlorure de sodium	20,0 g
Eau distillé	1 L
pH final à 25°C	8,5 ± 0,2

Citrate de Simmons

Ingrédients	Quantité
Citrate de sodium	1.0 g
Bleu de bromothymol	0.08 g
Chlorure de sodium	5.0 g
Sulfate de magnesium	0.2 g
Hydrogénophosphate de potassium	1.0 g
Dihydrogénophosphate d'ammonium	1.0 g
Agar-agar	15.0 g
PH	6.9

Mannitol mobilité

Ingrédients	Quantité
hydrolysats tryptique de caséine	10,0 g
mannitol	7,5 g
rouge de phénol	0,04 g
nitrate de potassium	1,0 g
agar	3,5 g
pH	7,6

Eau Peptonée Tamponné

Ingrédients	Quantité
Mélange de peptone	10 g
chlorure de sodium	5 g
hydrogénophosphate disodique	3,5 g
hydrogénophosphate de potassium	1,5 g
PH	7,2

Gélose Chapman

Ingrédients	Quantité
Peptone	11g
Extrait de viande	1g
NaCl	75 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar	15 g
pH	7,5

Milieu Slanetz

Ingrédients	Quantité
Peptone	20 g
Extrait de levure	5g
Glucose	2g
Phosphate bipotassique	4g
Azohydrate de sodium	0,4g
Agar	10g
Ph	7,2

King A

Ingrédients	Quantité
Peptone	20g
Glycerol	10 ml
sulfate de potassium	10 g
chlorure de magnesium	1,4 g
agar purifié	12 g
PH	7,2

King B

Ingrédients	Quantité
Peptone dite B	20 g
Glycérol	10 mL
Phosphate dipotassique	1,5 g
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	1,5 g
Agar agar bactériologique	15 g
PH	7,2

Gélose Muller Hunton

Ingrédients	Quantité
infusion de viande	2 g
hydrolysate acide de caséine	17,5 g
amidon soluble	1,5 g
Agar	17 g
PH	7,3

Gélose à l'esculine

Ingrédients	Quantité
Peptone	10g
Esculine	1g
Citrate de fer amoniacal	1g
Agar	20g
PH	7,4

Gélose Sang-Azoture

Ingrédients	Quantité
Tryptone	10g
Extrait de viande et de bœuf	3g
Chlorure de sodium	5g
Azoture de Sodium	0,2g
Agar	12g
PH	7,2 ± 0,2



➤ Réactifs et Solution :

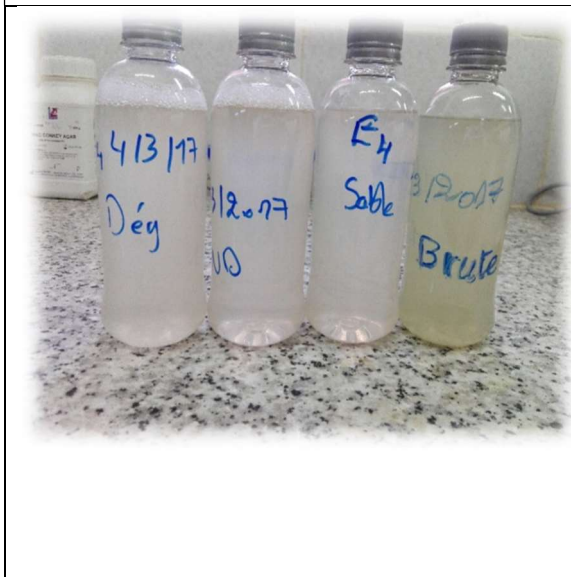
- Eau oxygénée
- Réactif de Griess (NIT I, NIT II).
- Réactif Kovacs.
- Réactif Voges-Proskauer (VP).
- Réactif rouge de méthyle (RM).
- Huile à immersion
- Solution de lugol
- Alcool
- Violet de gentiane
- Fuchsine
- Bleu de méthylène
- Éthanol
- DMSO

Annexe II : Préparation du gel d'agarose

1. Ajouter 1g d'agarose dans 500 ml de tampon 1 % dans un erlenmeyer.
2. Mettre le mélange dans le bain maré pour Surveiller toutes les 30 secondes l'état du gel,
il doit être transparent et sans grumeaux.
3. Ajouter quelques gouttes de BET
4. Une fois le gel refroidi aux alentours de 55°C, la couler dans le moule pourvu d'un peigne (le peigne permet de créer puits dans le gel dans lesquels seront déposés les diverses solutions d'ADN à faire migrer)
5. Laisser refroidir jusqu'à solidification, en enlevant le peigne et les deux bordures, les puits calibrés sont désormais visibles dans le gel.

NB: La réussite de la manipulation dépend grandement de la qualité du gel qui va assurer la bonne migration des fragments d'ADN.

Annexe III : Quelques échantillons après filtration



Annexe IV: Réactifs de Screening Phytochimique

1. Réactif de Mayer

Dissoudre 1.358 g de HgCl₂ dans 60 ml d'eau. Dissoudre 5g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un trouble et un précipité.

2. Réactif de Wagner

Dissoudre 2g de KI et 1.27g d'I₂ dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

3. liqueur de Fehling

La liqueur est un mélange de deux solutions :

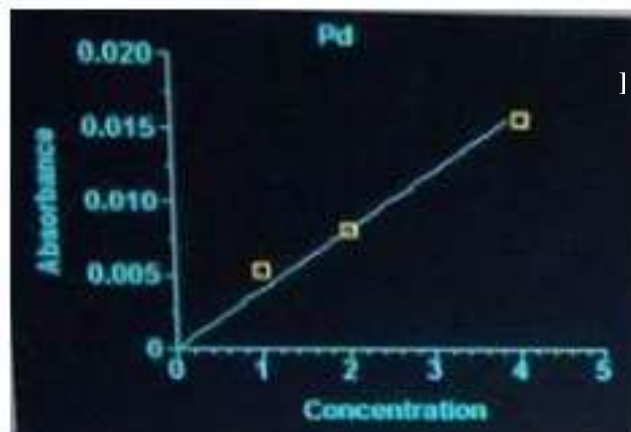
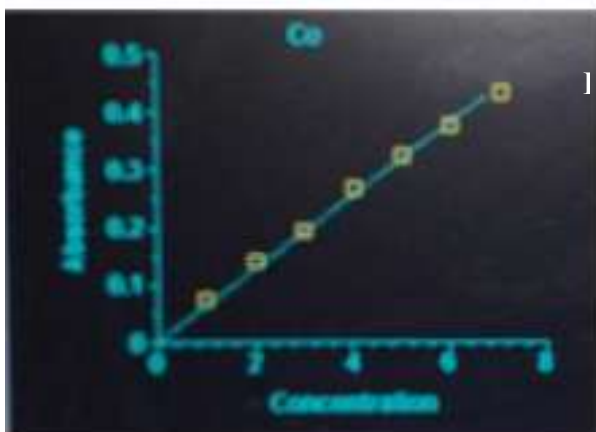
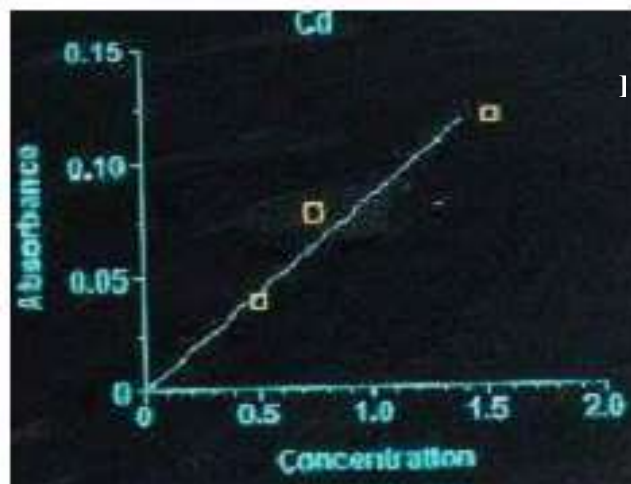
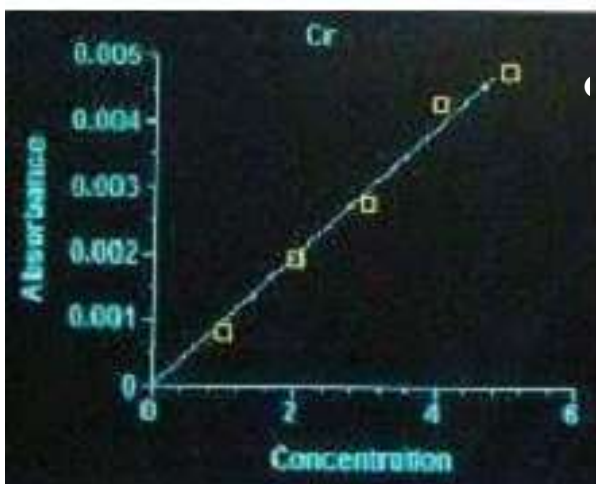
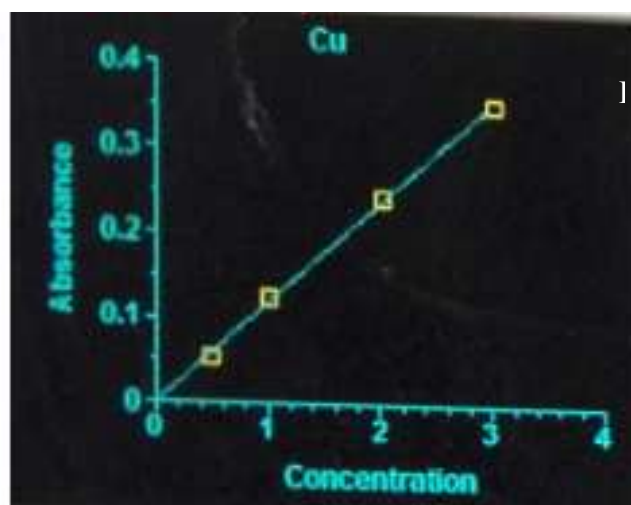
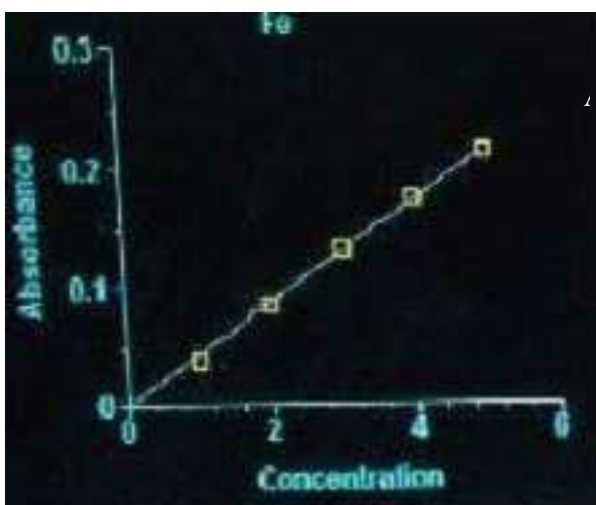
Fehling a : dissoudre 2g de CuSO₄.5H₂O dans 50 ml d'eau distillée.

Fehling b : dissoudre 6.5g de NaOH ,17.3 g de tartrate de sodium et potassium dans 35 ml d'eau distillée puis compléter le volume à 50 ml.

4. Réactif d'amidon

1,2 g d'I₂ et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée.

Annexe V : Courbes d'étalonnages des métaux lourds et éléments indésirables



Eléments indésirables Fe : Fer, Cu : Cuivre, Métaux lourds : Cr : Chrome, Cd : Cadmium , Co: Cobalt, Pd : Palladium

Annexe VI: Dosage des métaux lourds et éléments indésirables par SAA (Rodier *et al.*, 2009).

Élément à dose	Cuivre	Cobalt	Fer	Chrome	Cadmium
Prétraitement de l'échantillon	Les échantillons destinés au dosage d'élément en trace sont stabilisés à pH < 2 par ajout d'acide nitrique concentré (5 ml d'HNO ₃ concentré par litre d'échantillon)				
Solutions d'étalonnages	Une solution étalon mère contenant 1.000g de métal par litre est préparée pour chacun des éléments à doser, le métal ou le sel sont dissous dans l'acide (le plus souvent de l'acide nitrique concentré en chauffant jusqu'à complète dissolution, après refroidissement, la solution est transférée dans une fiole jaugé et le volume est ajusté avec de l'eau ultra-pure				
Courbes d'étalonnages	Une préparation de 4 dilutions à partir de la solution étalon qui couvrant la gamme de concentrations souhaitées (annexe I)				
Réactifs	Solution mère étalon de Cuivre à 100 mg /L	Solution mère étalon de Cobalt à 100 mg /L	Solution mère étalon de fer à 1g/l et une solution fille étalon à 10 mg avec un pH égale 2.5	242.4 g Dichromate d'ammonium + 10 ml d'acide nitrique + 1 L d'eau dé-ionisée	100 mg de Cadmium métal + 12 ml d'acide nitrique concentré+ 1L d'eau dé- ionisée
La longueur d'onde	324.7 nm	240.7 nm	248.3 nm	357.94 nm	265.5 nm

The efficiency of urban wastewater purification by a filtration system (sand and seeds of *Moringa oleifera* Lam.)

Khayra SMAHI^{1,2,*}, Ahmed MAKHLOUFI^{1,2}, Laila OUAZANI¹, Hadjer SNINI¹, Linda DAHANE ROUISSAT^{1,2}, Noura SEDDIKI^{1,2}, Fatima MOKRI³ & Yahia HAREK⁴

¹Department of Biology, Tahri Mohamed University, Bechar, Algeria

²Laboratory of Valorization of Vegetal Resource and Food Security in Semi-Arid Areas, South West of Algeria, BP 417, Tahri Mohamed University, Bechar, Algeria

³Laboratory of Catalysis and Synthesis in Organic Department of chemistry, Faculty of sciences, University Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen 13000, Algeria

⁴Laboratory of Analytical Chemistry and Electrochemistry, Department of chemistry, Faculty of sciences, University Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen 13000, Algeria

*Corresponding author smahik1@gmail.com

Abstract – wastewater treatment has been imposed to preserve the quality of natural environments, treated wastewater may be used either for certain needs of the industrial sector or for the irrigation of certain crops in the agricultural sector.

Considering the use of wastewater is allowed in different sectors of activity and pollution is now increasing, our study is based on the introduction of potentially more efficient microbiological and physicochemical to treat wastewater by incorporation of *Moringa oleifera* Lam seeds.

Weekly, from February until mid-April 2018, many wastewater samples were taken from the main sewer in the Oued of Bechar in South-West of Algeria. The filtration systems suggested in our study include the use of gravel layers in different diameters, sand and 1 % of seed powder defatted and not defatted of *Moringa oleifera* mixed with sand. The filtered water is analysed and tested for the total mesophil flora, fecal coliforms, totals coliforms, Streptococci D, *Salmonella*, *Clostridium*, *Vibrio cholera*, *Staphylococcus aureus*, and for physicochemical parameters as pH, conductivity, turbidity, nitrate, nitrite, phosphate, ammonium, COT and some heavy metals.

The obtained results from filter prepared with defatted seeds powder show that seeds can perfectly eliminate 96% of *Clostridium*, and remove streptococci with 81 %. Moreover, the second filter realized with simple seeds powder eliminate 97 % and 84 % of *Streptococcus* and *Clostridium* respectively. As for the physicochemical effect, the seeds generate an undesirable change as a high conductivity with average 2771 µS/cm and great turbidity 202 NTU as result of incorporation of seeds powder and COT with a simple nitrite reduction.. Although a best elimination of Cadmium is recorded in water treated with defatted seeds powder.

The presented treatment follow an effectiveness of *Moringa oleifera lam* seed in purification, which can be more, performed.

Key words: *Moringa oleifera lam*; purification; wastewater; Microbiological analyzes physicochemical parameters; heavy metals.

1. Introduction

In the face of population growth and the high density of urban areas, wastewater discharges have become enormous, posing a growing danger to the natural environment because of their suspended matter and pathogenic microorganisms. Many diseases that affect the planet's population are related to the portion of domestic and industrial wastewater discharge deficiency. These have become more and more enormous in the face of industrial development, economic growth, population growth and the high density of urban areas. In the absence of treatment, these wastewaters are a growing danger to human health and the natural environment because of their toxic chemical charges and pathogenic microorganisms (bacteria, viruses, parasites, etc.). They therefore constitute permanent threats to both human and animal health (Aitmelloul *et al.*, 2002).

According to WHO, 80% of the diseases that affect the planet's population are related to water pollution (WHO, 2004). This is why control and monitoring of water quality, especially wastewater,

seems more and more essential (EL Ouali *et al.*, 2013).

Moreover, wastewater treatment has therefore been imposed to preserve the quality of natural environments, particularly surface and groundwater. In this context, treated wastewater may be used either for certain needs of the industrial sector or for the irrigation of certain crops in the agricultural sector (BICHARA, 1999).

Indeed, the increase in population growth in Bechar city (south West of Algeria) generates considerable quantities of wastewater discharged directly without control in Bechar River (Oued), which divides the city into two major riverbanks where water resources are highly sought after for various activities. The deterioration of the water quality is caused, on the one hand, by the nature of the soil with limestone dominance, which allows an easy infiltration, and on the other hand by the liquid discharges. The burden of these discharges is increasing with the demographic development of the city of Bechar (Maazouzi *et al.*, 2011).

As a result, the aim of our present study is to carry out the effectiveness of the *Moringa oleifera lam* seeds and local

dune sand (Igli Great Western Erg), for the wastewater treatment (microbiological and physicochemical parameters).

2. Material and methods

2.1. Study sites and sampling:

Moringa oleifera lam seeds used in our study are collected from farm, which

it is located 120 km south of the city of Adrar (figure1), south of Algeria.

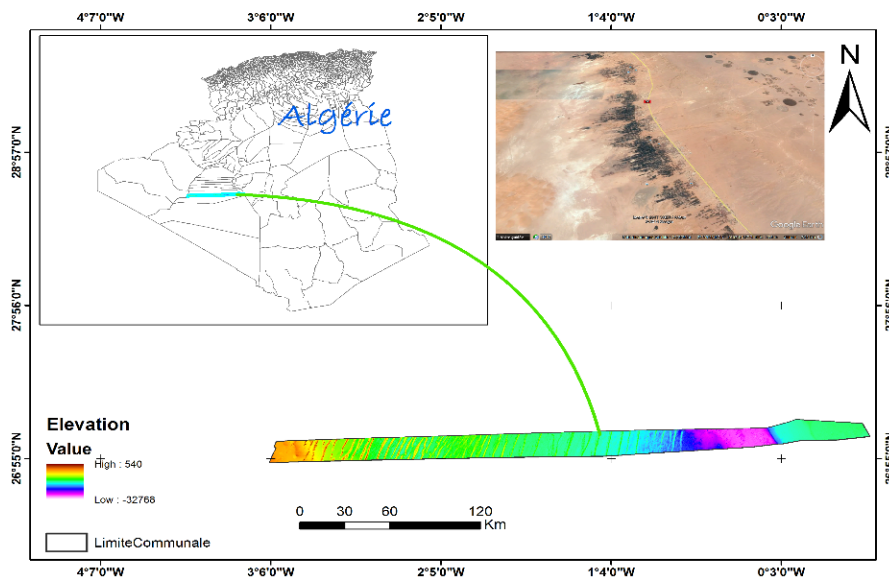


Figure 1: Site of sampling of *M.oleifera* seeds

For this study, the flocculating properties of *Moringa oleifera lam* seeds were exploited to achieve coagulation-flocculation for the clarification and elimination of water pollution.

Numerous samples were taken during the month of February until the first

fortnight of April by a weekly rhythm from the large collector of Oued Bechar (figure 2), which runs through Bechar city (southwest of Algeria) from northeast to southwest. The zone targeted for our sampling is the end of Bechar Oued, place of great collector of urban wastewater.

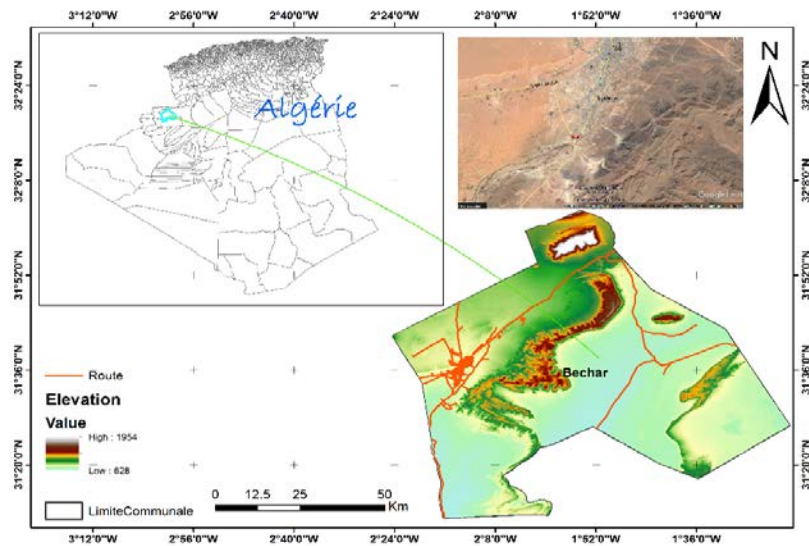


Figure 2: Site of sampling of wastewater

The filtration system consisted of applying different treatments based on the defatted and non-defatted seeds of *M. oleifera* at a concentration of 1%, which were well

mixed with the sand of the great occidental erg (Figure 3); this latter are include with gravel of different diameters.

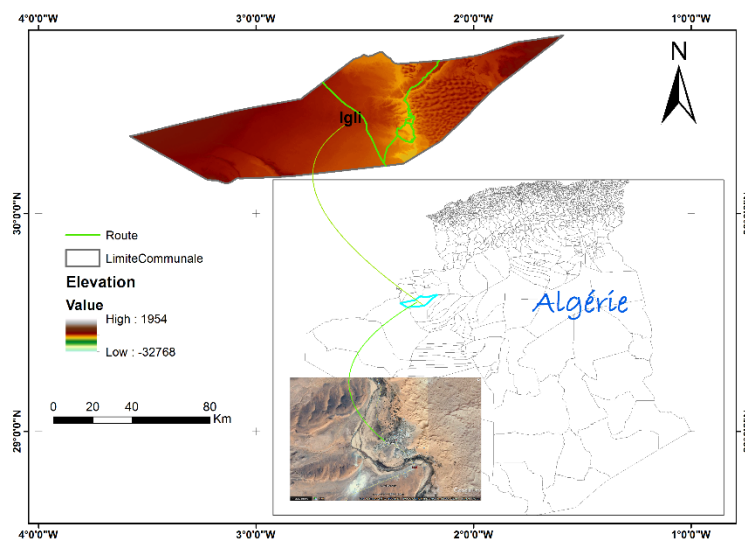


Figure 3: Site of sampling of sand Great occidental erg, Igli region

2.2. Presentation of filter device

PVC pipes 110 mm in diameter and 100 cm in length constituted the

filtration device (fig4); they are closed down and lead a tap that facilitates the recovery of water analyzed.



Figure 4: Filtration device

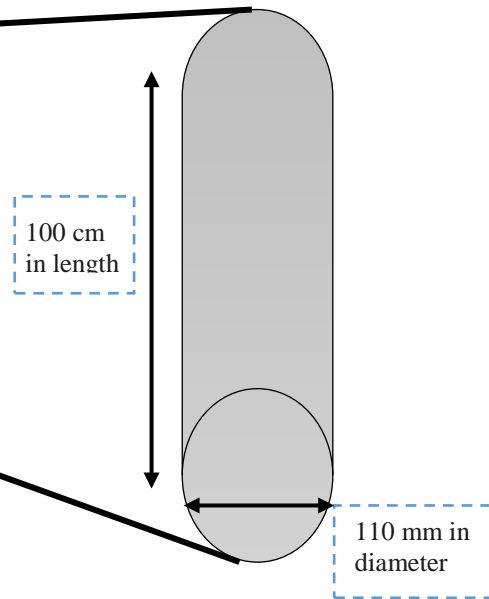


Figure 5: Descriptive diagram of the filtration unit.

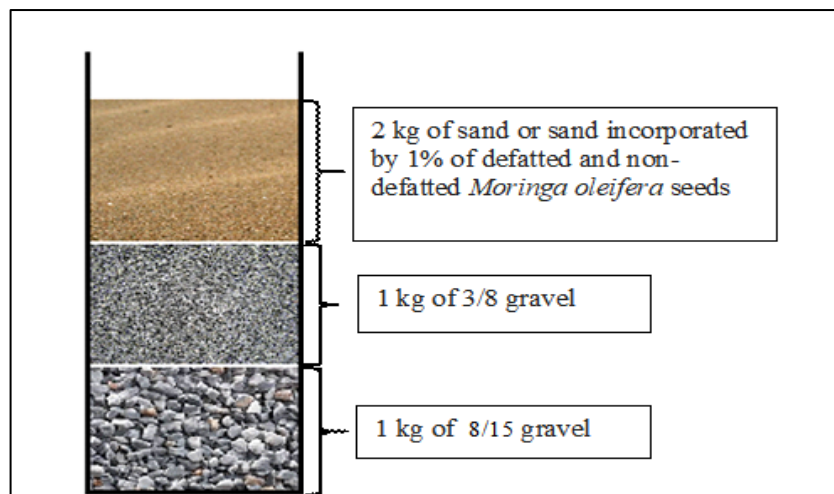


Figure 6: device mounting (different consecutive materials)

Each filter is filled with 1 kg of coarse gravel (8/15) followed by 1 kg of gravel (3/8), the third layer contains either grains and sand or sand. For a single filter 2 kg of treated sand are weighed and poured on the last layer of gravel, this indicates that this

filter will constitute a sand filter only. The other two filters are prepared based on defatted grains and not defatted at a rate of 1%, that is to say 10 g thereof for 1 kg of sand.

2.3. Analysis of treated wastewater

Physicochemical and microbiological analyses were carried out according to standards methods for examination of water and wastewater

2.3.1. Bacteriological analyzes

Research and enumeration of Total Mesophilic Aerobic Flora (The ISO 6222-1999 standard by decimal dilutions inoculated in TGEA medium), *Salmonella* search (NF ISO 6579 standard), research of Coliforms & *E.coli* (NF ISO 21528-1) by the NPP technique with three tubes per series and the standard NF EN ISO 9308-2 for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria). Research on Group D *Streptococci* (NF EN ISO 7899-1), research of *Vibrio cholerae* (ISO 21872:2007), research of *Staphylococcus aureus* (NF EN ISO 6888-3), and detection and enumeration of *Clostridium* sulphito-reducer (NF T90-415).

2.3.2. Physico-chemical analyzes

Physical and chemical analyses were carried out according to standards methods. Quality parameters, pH (NF T 90-008), conductivity (NF T 90-031), turbidity (Method 2130B), nitrate (DIN 38405-D9-2), nitrite (DIN EN 26777-D10), phosphate (DIN EN ISO 6878-D11), ammonium (DIN 38406-ES) and TOC (DIN EN 1484).

In our study, we limit ourselves to the determination of six elements; the

method of analysis of these metals is based on the use of atomic absorption spectrophotometer apparatus with flame (Rodier *et al.*, 2009). The dosage concentrations of Iron, Copper, Cadmium, Chromium, Cobalt, and Palladium are similar to the nitric acid reagent, and each of them has a standard stock solution and wavelengths characterized. The results are expressed in ml / L of metals.

3. Results and Discussions:

3.1. Results of bacteriological analyze

3.1.1. Research and enumeration of aerobic total mesophilic flora:

The sand filter has maximum values, target 4×10^{11} bacteria / 100ml noticed in the spring. With regard to the other two filters, there are maximum levels of 1.1×10^9 bacteria / 100 ml and 7.4×10^8 bacteria / 100 ml respectively for the defatted and non-defatted seed filter in the spring whereas 10^3 bacteria / 100 ml in the winter according to the study by Berdia *et al.*, (1989) where they showed in their work that the raw waste water has a concentration of FAMT 3.2×10^8 bacteria per 100ml, the latter has been decreased to 2.8×10^7 in wastewater treated and purified.

According to Goja *et al.*, (2013), *Moringa oleifera lam* grains have an activity and ability to rid the FAMT of wastewater during treatment.

A comparison of these with our results, we can say that the filter based on its seeds of *Moringa* and especially the

defatted seeds, gives a treated water of good quality compared to the purification on sand.

Table 1: Enumeration of FAMT in water treated with sand and seeds.

FAMT (bacteria/ 100 ml)	(22°C)			(30°C)		
	SAND	Defatted	Not defatted	SAND	Defatted	Notdefatted
S1	3,96. 10 ³	1,64. 10 ²	7,20. 10 ²	8,95. 10 ⁴	5,95. 10 ²	3,22. 10 ³
S2	5,26. 10 ³	2,05. 10 ²	1,37. 10 ²	3,41. 10 ³	5,15. 10 ²	3,16. 10 ³
S3	3,24. 10 ³	2,57. 10 ³	5,04. 10 ²	3,31. 10 ³	1,99. 10 ³	1,62. 10 ³
S4	3,00. 10 ³	6,55. 10 ²	6,64. 10 ²	1,56. 10 ³	8,69. 10 ²	1,85. 10 ⁴
S5	2,94. 10 ³	1,59. 10 ³	7,97. 10 ²	2,20. 10 ³	1,24. 10 ³	1,62. 10 ³
S6	2,40. 10 ³	1,36. 10 ³	2,05. 10 ²	3,55. 10 ³	7,05. 10 ²	2,50. 10 ³
S7	2,50. 10 ⁴	2,28. 10 ³	6,20. 10 ³	1,81. 10 ³	7,29. 10 ⁴	3,50. 10 ³
S8	2,80. 10 ⁵	2,02. 10 ³	4,30. 10 ³	4,30. 10 ⁵	1,33. 10 ³	3,53. 10 ³
S9	1,91. 10 ⁵	2,91. 10 ³	2,11. 10 ³	4,70. 10 ³	2,82. 10 ³	2,19. 10 ³
S10	2,55. 10 ²	3,57. 10 ²	1,31. 10 ³	1,60. 10 ²	1,56. 10 ³	1,12. 10 ³
Means	5,17. 10 ⁴	1,41. 10 ³	7,46. 10 ³	5,41. 10 ⁴	8,45. 10 ³	4,10. 10 ³

3.1.2. Research and enumeration of Coliforms:

The results obtained show that the treated water remains rich in total coliforms, the concentration of which has a maximum value of 1.1×10^5 bacteria / 100 ml.

According to WHO (1989) the proportion of these non-fecal coliforms is most often in large quantities.

Corsin&Patricia, (2007) found a total coliform load in the Wastewater

Treatment and Treatment Plant between 10^3 and 10^7 bacteria / 100 ml.

According to the recommendations on the microbiological quality of excreta and treated wastewater for use in aquaculture (WHO, 2012) which requires a faecal coliform level of less than 10 000 per 100 milliliters, waters treated with *Moringa* seeds are close to the interval of reuse.

Table 2: Enumeration of Coliforms in water treated with sand and seeds.

Coliforms bacteria/ 100 ml	Total			Faecal		
	SAND	Defatted	Not defatted	SAND	Defatted	Not defatted
S1	2,90. 10 ²	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	3,00	3,00	3,00
S2	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
S3	1,10. 10 ³	3,60. 10 ²	3,00. 10 ²	3,00	3,00	3,00
S4	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	9,20	3,60	3,60
S5	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	3,60	6,10
S6	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	6,20	3,00	3,00
S7	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	4,30. 10 ¹	3,60	1,50. 10 ¹
S8	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³
S9	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³
S10	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³	1,10. 10 ³
Means	9,09. 10 ²	9,16. 10 ²	9,10. 10 ³	4,47. 10 ²	3,32. 10 ²	3,34. 10 ²

3.1.3. Research and enumeration of Streptococci D Group

Too high concentrations were recorded in the sand filter with maximum values reaching more than 1.1×10^3 bacteria / 100 ml.

While the degreased *Moringa oleifera* filter gives the best results with regard to the elimination of streptococci going to a 100% removal. These results are in concord with the observations of El-

addouli *et al.*, (2009), who noted that the highest concentrations of faecal streptococci are recorded in summer and autumn, whereas the decrease in the number of faecal streptococci is observed in spring and winter. According to Neubert *et al.*, (2003), these results are very useful and comply with the criteria that allow the reuse of treated wastewater with a fecal streptococcal concentration of 1000 bacteria / 100 ml.

Table 3: Enumeration of *Streptococci* in water treated with sand and seeds.

<i>Streptococci</i> (bacteria/ 100 ml)	Sand	Defatted	Not defatted	<i>Streptococci</i> (bacteria/ 100 ml)	Sand	Defatted	Not defatted
S1	4,60. 10 ²	0,00	2,40. 10 ²	S6	4,60. 10 ²	9,30. 10	1,60. 10 ²
S2	4,60. 10 ²	2,07. 10 ²	3,50. 10 ²	S7	3,60. 10	2,30. 10 ³	9,20
S3	2,10. 10 ²	2,30. 10	9,20	S8	1,10. 10 ³	4,60. 10 ²	2,40. 10 ²
S4	4,60. 10 ³	0,00	4,30. 10	S9	1,10. 10 ³	9,30. 10	9,30. 10
S5	1,10. 10 ³	9,30. 10	2,40. 10 ²	S10	1,10. 10 ³	9,20	2,30. 10
				Means	6,49. 10 ²	1,00. 10 ²	1,41. 10 ²

3.1.4. Research and enumeration of *Clostridium* sulphito-reducers:

The enumeration results of *Clostridium* sulphito reducers are presented in the following table. This bacterium is an excellent indicator of recent or past faecal contamination, and is considered an effective indicator of treatment (Pierzo *et al.*, 2000).

A strong elimination occurs at almost 100% in the water treated by defatted *Moringa* seeds with a concentration of 10² bacteria / 100 ml as the maximum value and less important for the non-defatted powder.

On the other hand, the water filtered by the sand has higher concentrations, see uncountable in certain sample.

It is concluded that treatment with defatted seeds is effective for the eradication of *Clostridium* sulphito reducer compared with the work of Berdai *et al.*, (1989) (7000 bacteria per 100ml in treated wastewater in their study).

According to Pierzo *et al.*, (2000) these bacteria are known for their high resistance to disinfectant treatments, which explains the inefficiency of sand.

3.1.5. Research and enumeration of pathogenic germs:

The following table 4 shows the result of bacteriological analyses of treated water of 10 samples from the main collector of wastewater.

Table 4: Research of some pathogenic germs in water treated with sand and seeds.

Samples	<i>Salmonella</i>		<i>V. cholerea</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	D/ ND	S	D/ND	S	D/ND	S	D/ND	S
S1	-	-	-	-	-	-	-	-
S2	-	-	-	-	-	-	-	-
S3	-	-	-	-	-	-	-	-
S4	+	+	-	-	-	-	+	-
S5	-	-	-	-	-	-	+	+
S6	+	+	-	-	-	+	+	+
S7	-	-	-	-	-	-	+	+
S8	+	+	-	-	+	+	+	+
S9	+	+	-	-	-	-	+	+
S10	+	+	-	-	-	-	+	+

According to the WHO, (1989) the presence of these pathogens and strongly linked to the existence of faecal coliforms whose wastewater contains 10^3 coliform bacteria per 100 ml, contains little or no pathogenic germs.

The weak presence of these germs can be explained by the effect of seeds of *Moringa oleifera* which it acts with a bactericidal activity according to Oluduro And Aderiye, (2007) and according to Schwarz, (2000) the force of attraction of any load Negative exerted by the seed proteins, which constitutes flocs

the strongest possible bind with them the bacteria that will be eliminated thereafter. Seed powder is a disinfectant equivalent that eliminates Gram positive and negative bacteria (Kawo *et al.*, 2009).

These results are in accordance with the studies of Aboukacem *et al.*, (2007) and Talouizte *et al.*, (2007), and according to their publications, this could be explained by the effect of temperature (mean waste water = 21.2 ° C) on the proliferation process of bacteria including *Vibrio cholera* in wastewater and also by the absence of carriers of the disease.

3.2. Results of physicochemical parameters

The tables below express the means values of the physicochemical

parameters in the water treated by sand and seeds during our study.

Table 5. Means of chemicals parameters value for various filter of treated water

Parameters	SAND	Defatted	Not defatted
pH	6.57	6.08	6.3
Turbidity (NTU)	47.5	101	202
Conductivity (μS)	2492	2766	2766
NH₄⁺(mg/ l)	0,318	0,341	0,391
H₃PO₄(mg/ l)	1,118	1,754	1,503
NO₂⁻(mg/ l)	0,056	0,042	0,034
NO₃⁻(mg/ l)	29,7	29,2	29,1
COT (mg/ l)	70	165,2	131,3
Fe (mg/ l)	0.07	1.743	0.2
Cu (mg/ l)	0	0	0
Cd (mg/ l)	0.0555	0.0069	0.0216
Ch (mg/ l)	1.8	0.564	0.881
Co (mg/ l)	0.041	0.074	0.041
Pal (mg/ l)	0.785	0.19	0.612

Sand-filtered water meets in the range (6.5-8.4) recommended by the **FAO in (2003)** and that recommended by the CNS, treated by the other two filters remains in the range recommended by **WHO in (2006)** which ranges between 6.0 and 8.0 (**AMAGLOH et al., 2009**).

High turbidity values were recorded in 202 NTU and 101 NTU non-defatted and degreased seed-treated water. However, the turbidity of the water filtered

by the sand filter has a maximum value of 47.5 NTU.

From these results, it is noted that the incorporation of *Moringa oleifera* seeds causes an increase in turbidity, which is consistent with what has been stated by Hendrawati *et al.*, (2016) "the turbidity increases because the resulting colloids are neutralize and precipitate by the optimum of dosage, while the excess of this coagulant causes turbidity in the water. In

the case, where it does not react with the opposite charge of the colloids". On the other hand, our turbidity results are too far from that limited by the WHO recommendation, (2001).

Maximum conductivity values are detected in water that has been treated with defatted, non-defatted seeds with an average of 2766 μS followed by 2492 μS for sand-treated water. These results are lower than the maximum value 3000 μS / cm of water intended for irrigation (CNS, 1994).

The ammonium level is slightly increased for both D and ND filters compared to the results obtained by the sand filter. The presence of ammonium in water may be related to the reduction of nitrogen forms (nitrites and nitrates) under reduced conditions.

Naturally occurring nitrates are soluble in soil, groundwater and streams, but are also synthetically produced by fertilizers (Chapman *et al.*, 1996). They also come from the mineralization of organic nitrogen and the oxidation of ammonium (El Ouali *et al.*, 2011).

A low absorption of nitrate is observed for the two filters, respectively 29.1 mg / l and 29.2 mg / l for ND and D respectively, compared to the sand filter, this is due to the filter beds, which are possibly rich in nitrate.

Nitrites are considered as intermediate ions between nitrates, nitrites, and ammoniacal nitrogen, which explain the low quantities encountered in aquatic environments (Rodier *et al.*, 2009).

The reduction of the nitrite content is also low compared to the sand filter where the values ND 0.056, D 0.042 and S0.034 mg / l are respectively recorded.

On the other hand, the results recorded for the TOC show a growth in the concentration of this element for the two filters D and ND compared with that of the sand filter where the values 165.2, 131.3 and 70 mg / l are respectively recorded. This is due to the filter beds which are possibly rich in organic matter.

A total elimination of Cadmium was observed in the 80% and 70% of the samples analyzed respectively by the filters based on the defatted and non-degreased seeds compared to that obtained by the sand filter. The Cd content for the defatted seed filter is in line with that authorized by FAO in 2003 and the WHO in (2012) which is of the order of 0.01 mg/l.

According to Hendrawati *et al.*, (2016), *Moringa* seeds used as a coagulant decrease the Cd metal by 6 ppm to an undetectable concentration.

According to these results, the sand filter treatment gives water with a chromium concentration that is too high,

compared to the values obtained by the other filters where low concentrations have been observed with values ranging from 0.03 and 0.564 mg / l for the defatted seed filter.

These results are no longer in line with those recommended by FAO (2003), whose concentration should not exceed 0.1 mg / l for water intended for irrigation.

The results obtained show that the sand filter has minimal concentrations of cobalt relative to the water purified by the defatted and non-defatted seeds with top values 0.074 mg / l, 0.041 mg / l respectively. The results recorded for the non-defatted seed-based filter meet the cobalt thresholds recommended by the Spanish and Italian regulations with values less than 0.05 mg / l laid down in Ministerial Decree No 185 of 12 June 2003.

Maximum concentrations of palladium are detected in sand-filtered water while filtration with defatted seeds has minimum or even undetectable levels. These results are extremely lower than the values requested by the complementary prefectural decree 2016-326 in 2016.

The water treated with defatted seeds has iron values ranging from 0.02 to 1.743 mg/l and minimum values in the order of 0.001 mg / l are recorded in purified water by non-defatted seeds. For

the sand filter the average value is 0.07 mg / l.

According to Ratel *et al.*, (1986), the rate recommended by the Federal Water Pollution Control Administration, differs according to the type of wastewater use, in irrigation, the tolerable iron content is of the order of 5 mg / l in an intensive irrigation system based on wastewater, which allows using the water obtained after our filters.

The copper is undetectable in our samples, the copper content present in this study is much lower than that obtained in the purification plants, and the Italian regulation, which allows the existence of 1 mg / l in the treated wastewater as value copper limit (Ministerial Decree No. 185 of 12 June 2003).

These results do not exceed national and international standards for reuse and disposal according to El Hayek, (1989), as well as that advocated by FAO and WHO in (2012) (0.2 mg / l) (Derwich, 2008) this limit value is the same set by the Spanish regulation (decree 1620/2007).

4. Conclusion

The Scientists are always looking for the best way to treat wastewater with the minimum of expense and maximum efficiency. Phyto-purification is an ecological purification method that is advantageous in more than one way (Mimeche, 2014). According to Jahn

(1988), the plants used for flocculation must fulfill certain conditions. They must be easy to produce and their coagulant easy to dose. In addition, they must not have any toxicity. The seeds of *M. oleifera* respond very well to these criteria.

The experiment allowed us to collect sufficient data on the effect of the seeds, from which we noticed a better efficiency of the elimination on the two germs of contamination of which *Clostridium* and *Streptococci* D with 96% and 81% respectively in the water treated by the defatted seeds, and 81%, 97% in the filter based on seeds not degraded respectively for *Clostridium* and *Streptococci*.

As well as an abatement better than that obtained during filtration by sand, thanks to the antibacterial effect of seeds on germs including Gram negative and positive bacteria such as *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in the column of pathogens existing in water waste.

For coliforms and total mesophilic aerobic flora, the reduction has been very minimal and remains somewhat out of keeping with the limited standards for treated wastewater for both irrigation and aquaculture and this can be due to the small percentage of seeds incorporated in our filters.

The eliminatory effect of the seeds of *M. oleifera* also appears in the

eradication of heavy metals namely cadmium which has been completely removed in the defatted seed filter.

In contrast to the positive results recorded by the seeds in both kinds D and ND', unacceptable results appear in the conductivity and turbidity with high values that exceed the standards found in some samples.

5. Acknowledgments

We acknowledge Doctor ABDELWAHAB FILALI developer and risk manager for the supply of the geologic map university of Batna2.

6. References

- Aboukacem, A., Chahlaoui, A., Soulaymani, A., Rhazi-Filali, F., & Benali, D. (2007). Etude comparative de la qualité bactériologique des eaux des oueds Boufekrane et Ouislane à la traversée de la ville de Meknès (Maroc). *Rev. Microbiol. Ind. San. Environ*, 1, 10-22.
- Aitmelloul A., Amahmid, Hassani L. et Bouhoum K. (2002). Health effect of human wastes use in agriculture in El Azzouzia (the wastewater spreading area of Marrakech city, Morocco) *International Journal of Environmental Health Research* 12: 17-23.
- Amagloh, F. K., & Benang, A. (2009). Effectiveness of *Moringa oleifera* seed as coagulant for water purification.

- Berdai H., Jellal N. (1989). Traitement des eaux usées domestiques dans un chenal algal à haut rendement et leur réutilisation pour l'irrigation du chou, l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II.

- Bichara, D., & Burchi, S. (1999). *Elaboration des réglementations nationales de gestion des ressources en eau. Principes et pratiques*. FAO.

- Chapman D.K.V. (1996). Selection of water quality variables. Water quality assessment. a guide to the use of biota, sediments and water in environment monitoring, Chapman edition, 2nd ed. E&FNSpon, London pp 59-126

- Comité Normes Standards, (CNS) (1994), Ministère de l'environnement du Maroc. Rabat.

- Corsin P & Patricia L., 2007. Les effluents des stations d'épurations : comment les rendre aptes à une seconde vie. L'eau, l'industrie, les nuisances, 299, pp. 6-10.

- Derwich E., Beziane Z., Benaabidate L., Belghyti D. (2008). Evaluation De La Qualite Des Eaux De Surface Des Oueds Fes Et Sebou Utilisees En Agriculture Maraichere Au Maroc, Larhyss Journal, ISSN 1112-3680, n° 07, Juin 2008.

- El Addouli, J., Chahlaoui, A., Berrahou, A., Chafi, A., Ennabili, A., & Karrouch, L. (2009). Influence des eaux

usées, utilisées en irrigation, sur la qualité des eaux de l'Oued Bouishak-région de Meknes (centre-sud du Maroc). *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn*, 3(1), 56-75.

- El Ouali Lalami, A., El-Akhal, F., Berrada, S., Bennani, L., Raiss, N., & Maniar, S. (2014). Évaluation de la qualité hygiénique des eaux de puits et de sources par l'utilisation d'une analyse en composantes principales (ACP): Une étude de cas de la région de Fès (Maroc). *J. Mater. Environ. Sci*, 5(S1), 2333-2344.

- El Ouali Lalami, A., Zanibou, A., Bekhti, K., Zerrouq, F., & Merzouki, M. (2014). Contrôle de la qualité microbiologique des eaux usées domestiques et industrielles de la ville de Fès au Maroc. *J. Mater. Environ. Sci*, 5(S1), 2325-2332.

- FAO (2003). Irrigation avec des eaux usées traitées, manuel d'utilisation.

- Goja, A.M. 2013. Physico-chemical properties of oil produced from *Moringa oleifera*, *Jatropha curcas* and *Carthamus tinctorius* L. seeds. *International Journal of Advanced Research*, Volume 1, Issue 4, 181-187.

- Yuliasri, I. R., Rohaeti, E., Effendi, H., & Darusman, L. K. (2016, January). The use of *Moringa oleifera* seed powder as coagulant to improve the quality of wastewater and ground water. In *IOP Conference Series: Earth and*

Environmental Science (Vol. 31, No. 1, p. 012033). IOP Publishing.

- Jahn SAA. 1988. Using *Moringa oleifera* seeds as coagulant in developing countries. J Am Water Works Assoc: 43–50

- Kawo AH, Abdullahi BA, Halilu A, Dabai M, Dakare MA (2009) Preliminary phytochemical screening, proximate and elemental composition of *Moringa oleifera* lam seed powder. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences 2.

- Maazouzi, A., Kettab, A., Badri, A., Zahraoui, B., Kabour, A., & Chebbah, L. (2011). Contribution to the study of the effect of urban wastewater on the degradation of ground water quality and to the treatment by filtration on dune sand of the city of Bechar (Algeria). *Desalination and Water Treatment*, 30(1-3), 58-68.

- Mimeche L. 2014. Etude de faisabilité de l'installation de station d'épuration des rejets urbains par les filtres plantés en milieu aride – Application à la région de Biskra, Université Mohamed khider , Biskra,.

- Ministerial Decree of June 12, 2003. 2003 No. 185: Regulations on Technical Standards for Reuse Wastewater, OJ No. 169 of 23/07/2003; Ministry of Environment Territory: Roma, Italy.

- Neubert, S., & Benabdallah, S. (2003). The re-utilization of treated

wastewater in Tunisia. *The re-utilization of treated wastewater in Tunisia*.

- Oluduro, A. O., & Aderiye, B. I. (2007). Efficacy of *Moringa oleifera* seed extract on the microflora of surface and underground water. *J Plant Sci*, 2, 453-458.

- OMS (WHO) (2006). Guideline for drinking-water quality (electronic resources): incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations, 3rd edition.

- Pierzo V. et Delattre J.M. (2000). Etat de l'art sur l'efficacité des traitements tertiaires de désinfection des eaux résiduaires (Chloration, Ozonation, Uv, Infiltration). Institut Pasteur de Lille, Agence de l'Eau Artois-Picardie Commande no 99030.

- Ratel C., Nejjar, A. et Bentaleb, M. (1986) La réutilisation des eaux usées pour l'irrigation au Maroc : Cas de la ville de Marrakech. Séminaire sur les technologies appropriées pour l'eau et l'assainissement en zones arides, Rabat (Maroc), 24-28 Novembre.

- Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., & Brunet, R. (2009). *Eaux Résiduaires. L'analyse de l'eau: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 9th edn. Dunod, Paris*.

- Schwarz, D. (2000). Water clarification using *Moringa oleifera* gate information service. Technical Information W1e Eschborn, Germany.

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (1992). 18th Edition, pp. 2-9, Method 2130B, ().

- Talouizte H., Merzouki M., El OualiLalami A., Bennani L., Benlemlih M., (2007). Evolution de la charge microbienne de la laitue irriguée avec les eaux usées urbaines de la ville de Fès au Maroc, *Tribune de l'eau*. N°642.

- WHO. (1989). Technical report series 778. Geneva

- WHO. (2004). Guidelines for drinking-water quality. Vol.1. Reccommandations, 3rd, Ed. World Health Organization. Geneva.

- WHO.(2012) . directives oms pour L'utilisation sans risque des eaux usées, des excrta, Volume II : utilisation des eaux usées en agriculture et des eaux ménagères.

**REGULAR ARTICLE**

Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Seeds Extract on Pathogenic Bacteria Isolated from Wastewater of Oued Bechar, Bechar Province, Southwest Algeria

Smahi Khayra^{1,2,*}, Makhloufi Ahmed^{1,2}, Ouguirti Nawal¹, Yahi Ahlem¹, Dahane Rouissat Linda^{1,2}, Seddiki Noura^{1,2} & Harek Yahia³

¹Department of Biology, Tahri Mohamed University, Bechar, Algeria

²Laboratory of Valorization of Vegetal Resource and Food Security in Semi-Arid Areas, South West of Algeria, BP 417, Tahri Mohamed University, Bechar, Algeria

³Laboratory of Analytical Chemistry and Electrochemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen 13000, Algeria

ARTICLE INFO**Article History:**

Received: 28 Feb 2020

Revised: 12 Apr 2020

Accepted: 14 Apr 2020

***Corresponding Author:**

Email: smahik1@gmail.com

Keywords: *Moringa oleifera*; antibiotic resistance; antibacterial activity; Oued Bechar

ABSTRACT

The increase of drug-resistant pathogens occurring due to indiscriminate use of antibiotics and their rejection in nature are becoming a serious problem. This situation has motivated researchers across the globe to search for suitable alternatives in natural compounds. *Moringa oleifera* has been the object of several researches due to its multiple uses, as its seeds are known to possess antibacterial and antifungal properties. In the present study, pathogenic bacteria were isolated from wastewaters of Oued Bechar; the *in vitro* antibacterial activity of aqueous seeds extract against 30 strains, and the phytochemical screening of this plant were investigated. The results of isolated strains revealed the existence of various pathogenic bacteria dominated by: *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*; *Streptococcus D*, *Pseudomonas spp*, *Vibrio spp*. the inhibition diameters of aqueous seeds extract with and without oil removal ranged from 7mm to 21mm, and 8mm to 27mm respectively, with a significant antibacterial effect was observed against 3 of 4 *Streptococci D* around 1g /ml disc. Additionally, the phyto-chemical screening results showed that seeds of *M. oleifera* are rich in phyto-molecules such as terpenoids and tannins which are characterized by antifungal and antibacterial activity. The results of this study suggest that *M. oleifera* seeds from South-Western Algeria can be a source of natural antibacterial agent.

1. Introduction

Water micropollutants are among the ever current problems that increase with industrial and urban development (Makhloufi & Abdelouahid, 2017). The availability of good quality water is an essential element for preventing diseases and maintaining

the quality of life (Oluduro & Adewoye, 2007). Nowadays, the situation in Algeria is characterized by an increasing demand for water in period during which water resources are continuously rarefying. Moreover, in this country less importance is given to sanitation services, wastewater recycling and purification. In fact, 130000m³ of domestic and

manufacturing wastewater is dumped daily in water streams (nature) with no primary treatments (Yazid, 2014); which is the case of Oued Bechar that divides the city into two important agglomerated banks, where water resources are highly craved for various activities. The rejection of these effluents and their reuse without previous treatments generate serious sanitary problems due to the presence of pathogenic microorganisms such as protozoa and parasites (helminth eggs, *Giardia*), enteric viruses, and pathogenic bacteria (*Salmonella sp*, *Shigella sp*, *Aeromonas sp*, *Vibrio cholerae*..), or opportunist pathogenic bacteria (*Pseudomonas sp*). These different species of bacteria transported by wastewater can contaminate surface and underground water by an infiltration process because of the dominance of limestone soil; and the same case applies for agricultural lands; which cause a potential danger for human health, as well as for the ecological environment (Maazouzi et al., 2011).

In this regard, the treatment is pivotal for protecting the ecosystem and human's life by taking away the danger of phytopathogens.

The use of chemical additives for water treatment raises many concerns over safety issues (Arbuckle et al., 2002 ; Goveas et al., 2010). In addition, the high cost of chlorine, especially in developing countries where it needs to be imported, make it imperative to look for more economical alternatives that are also environmentally-friendly also. Some Studies (Eilert et al., 1981, Suarez et al., 2003, Suarez et al., 2005, Thilza et al., 2010, and Bukar et al., 2010) have identified the presence of an active antimicrobial agent in *Moringa oleifera* seeds.

M. oleifera Lam (syn. *M. ptreygosperma* Gaertn.) is one of the best known and most widely distributed and naturalized species of a monogeneric family *Moringaceae* (Nadkarni, 1976; Ramachandran et al., 1980). In Sudan, crude seed extract is used instead of alum by rural women to treat the highly turbid Nile water because of a traditional fear of alum causing gastro-intestinal disturbances and Alzheimer's disease (Crapper et al., 1973), (Miller et al., 1984), (Martyn et al., 1989) & (Muyibi, 1994). *Moringa* seeds are very effective for high turbidity water and show similar coagulation effects to alum (Muyibi & Evison, 1995). *Moringa* seeds also possess antimicrobial properties (Olsen, 1987; Madson et al., 1987). Broin et al. (2002) reported that a recombinant protein in the seed is able to flocculate Gram-positive and Gram-negative bacteria

cells.

In this case, microorganisms can be removed by settling in the same manner as in the removal of colloids in properly coagulated and flocculated water (Kumar et al., 2010). On the other hand, the seeds may also act directly upon microorganisms and result in growth inhibition. Antimicrobial peptides are thought to act by disrupting the cell membrane or by inhibiting essential enzymes (Silvestro et al., 2000; Suarez et al., 2003).

The antimicrobial effects of the seeds are attributed to the compound 4(α -L-rhamnosyloxy) benzyl isothiocyanate (Eilert et al., 1981). The present work is a part of the study on both physical activity using sand filters and biological activity of *M. oleifera* seeds from South-western Algeria especially against microorganisms from wastewaters. We processed to search, isolate and identify pathogenic bacteria from wastewater of Oued Bechar. Results were followed by evaluating the antibioresistance, and the screening for antibacterial activity of three *M. oleifera* seeds extract: normal aqueous extract, removal oil aqueous extract, and oil extract.

2. Materials and methods

2.1. Processing of *M.oleifera* seeds extract

M. oleifera seeds were obtained from the city of Adrar, this plant is native to India and was introduced in Algeria and cropped in a firm located in south west of this country. To prepare the seeds extracts, good quality dry seeds of *M. oleifera* were selected and ground into powder using a coffee grinder. 60g of powdered seeds were separately extracted in 800ml of hexane using a Soxhlet device. In order to ensure the removal of oil seeds, the solvent was eliminated by vacuum evaporation using a Rotavapor; then the oil extract was recuperated.

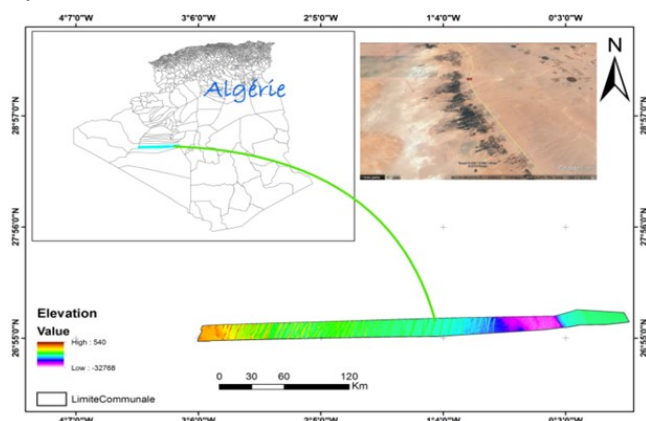


Figure 1: Site of sampling of *M. oleifera* seeds.

A quantity of 15g of each powdered seed with removed oil, and powdered normal oil seeds were separately extracted in 500ml distilled water in two flasks (aqueous extraction). After 24h of steeping (maceration) with continuous magnetic agitation, the extracts were separately filtered using sterile Whatman No.1 filter paper; then evaporated in order to obtain dry extracts (normal aqueous extract, removal oil aqueous extract). These three extracts were used in further processes.

2.2. Phytochemical screening

Phytochemical analysis was performed on the basis of tests for coloring characteristics to highlight the major chemical groups. It focused on decoction extracts, Ethylic, methanol and aqueous extracts of *M. oleifera* seeds. Various chemical groups were identified by reference to the protocol described by Nemlin and Brunel (Nemlin & Brunel, 1996).

2.3. Source of samples and origin of strains

Samples were obtained from the principal wastewater collector, which gathers all the city effluents, located in Bechar city, southwest Algeria, and contains wastewater coming from diverse places (Hospitals, homes, industries, etc.). Samples of wastewater were collected in sterile glass bottles, and transported in cold containers at 4°C to the laboratory where testing was initiated within about 15min of sample collection.

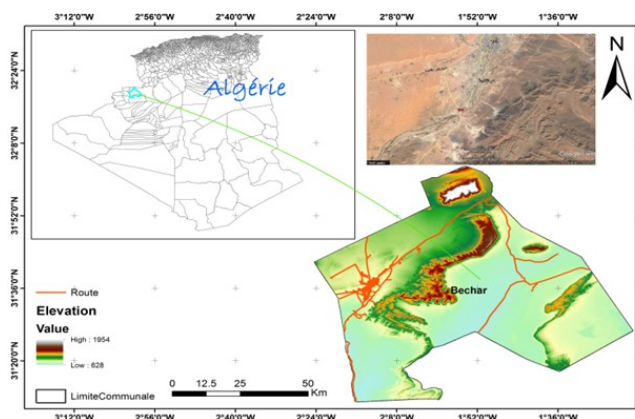


Figure 2: Site of domestic wastewater sampling.

Gram-negative enteric-bacteria: To isolate oxidase -negative Gram-negative enteric bacteria, processed wastewater samples were diluted serially in sterile distilled water and plated in MacConkey agar. After incubation at 37°C and 44°C for 24 h, different colonies were isolated, and streaked to quadrants of MacConkey agar for growth and confirmation of purity (Habi & Daba, 2009). Subsequent identification involved oxidase testing and conven-

tional biochemical tests, and the use of a commercial identification system, namely the API 20E system. Each strip contained a preset battery of 20 microtubes, which gave the results of 22 biochemical tests for the identification of 49 species of *Enterobacteriaceae*, and 38 groups or species of gram -negative bacteria.

Salmonella and Shigella: Enrichment procedures were deemed necessary for the detection of *Salmonella* and *Shigella* species, so samples of processed wastewater were inoculated in buffered peptone water, and then incubated at 37°C for 16 to 20 h.

Following incubation, 1 ml of BPW was inoculated in selenite of cysteine broth, then incubated for 24 to 48h at 37°C, followed by isolation using two selective agar plating media *Salmonella-Shigella* agar and Hektoen agar (Bourgeois & Leveau, 1991; Rodier et al., 2009). Dudley *et al.* suggest an elevated temperature for the isolation and enumeration of *Salmonella* from polluted waters. These investigations were preferred to incubate inoculated enrichment and plating media at 42°C. However, the low levels of indigenous *Salmonella* in wastewater, can result in environmental damage to stressed organisms, and the inhibitory nature of the enrichment medium suggested that a 37°C incubation temperature would facilitate the detection of these organisms (Dudley et al., 1980).

For these reasons, 37°C was used to enhance the growth of *Salmonella* in enrichment, but also in isolation. The isolation step consisted in selecting suspect colonies using negative lactose, with and without black center. The process was followed by identification using conventional biochemical methods, and the system API20E.

Vibrio cholerae and other Vibrions: the process was realized by a first enrichment in buffered peptone water concentrated ten times and incubated for 6h at 37°C; the second selective enrichment in alkaline peptone water lasted for 6h incubated at 37°C, followed by inoculation in selective plate medium TCBS incubated for 24 to 48h at 37°C (Lalami et al., 2014). Suspected colonies had been identified in the same manner as mentioned above.

Pathogenic Staphylococcus: Enrichment was based on inoculating Giolliti-Cantoni broth, incubated at 37°C for 24h, followed by inoculating selective medium chapman, incubated at 37°C for 24h. Colonies showing a typical yellow zone of fermentation were

isolated for Gram staining. Those colonies identified as being Gram-positive cocci, should be catalase positive, and their identification was followed by coagulase test (Rodier et al., 2009).

Streptococci D.: Their detection is based on presumptive test using ROTH broth and confirmative test by inoculating positive tubes of Roth in Litsky EVA broth. In the process, tubes of fecal *Streptococcus* medium were considered positive when turbid growth occurred with a purple pastille down the tube (Bourgeois & Leveau, 1991).

The positive tubes were streaked in Slanatz plate medium, and incubated at 37°C for 24h; *Streptococcus* was confirmed by a Gram's stain. Followed by catalase test, Esculinase test, and the study of hemolysis in blood and Azide agar medium; species of *Streptococcus* D have shown positive-Esculinase and positive hemolysis.

Pseudomonas aeruginosa: most species of *Pseudomonas* do not require a specific factors, so they can be developed in usual media, but also in selective media for enteric bacteria (Brossard et al., 2008), as a result, isolated strains were obtained from these media. This step was followed by the identification of *P. aeruginosa* using conventional biochemical tests mentioned previously. At the same time, they had been plated in King A and King B; and were incubated at 37°C for 5 days, then exposed to fluorescent light to enhance pigmentation. This test was followed by the study of their growth at 4°C and 41°C (*P. aeruginosa* grows at 41°C but not at 4°C).

2.4. Antibacterial bioassays

For antibacterial activity, a disk diffusion method was adopted utilizing extract-impregnated paper disks. Their antibioresistance was also studied as a comparative method in order to evaluate the effectiveness of our extracts, and the attitudes of isolated strains. Concerning extract concentrations, they were prepared as follows: for oil concentrations, they were prepared using DMSO, which has a solubilization effect, 5 concentrations had been prepared: V(DMSO)/V(oil), 2V(DMSO)/V(oil), 3V(DMSO)/V(oil), 4V(DMSO)/V(oil), 5V(DMSO)/V(oil), but also 100% of pure oil (free DMSO) and (DMSO) as witness.

For the removal oil aqueous extract, and normal aqueous extract, five concentrations were also prepared but this time using sterile distilled water: 1g/ml, 750mg/ml, 500mg/ml, 250mg/ml, and 100 mg/ml. Strains were inoculated in a Nutrient broth and

incubated at 37°C for 18 hours. Using a sterilized swab, aliquots from each tube were spread on dishes with Muller-Hinton agar. The extract was added and incubated at 37°C for 24 hours. Disks soaked with sterile distilled water, and DMSO (for dishes of oil extract tests) were used as negative control. Ten dishes were soaked for each strain; correspond to three essays for each extract, and one essay was soaked for the antibiogram.

Antibiotic discs were chosen based on bacterial genus isolated and identified, their natural profile in face of antibiotics, their antibiotics activity's spectrum; their action against positive and negative gram strains, but also the available antibiotics.

3. Results and discussion

3.1. Yields of extraction

The calculation of the three extracts yield was done by averaging the values obtained in respect of each extract. Yields were determined for 30g of powdered seeds for removal oil and normal aqueous seeds extract; where the yield was **20.26%**, while the yield of oil obtained from evaporation of hexane phase extracted by soxhlet was higher (**25.28%**). This is because the hexane is the better solvent for extracting fixed oils as it possesses non-polar properties that allowed it to have a big affinity for lipids; it is also worth-noting that seeds of *M. oleifera* are rich in fixed oil, which can justify the high yield of oil obtained. These results are less important compared with those obtained by Anwar and Bangher, (Anwar & Bhangher, 2003) and those of Lalas and Tsaknis (Lalas & Tsaknis, 2002), that was **40.39%** for oil extract.

3.2. Phytochemical screening results

Results of phytochemical screening showed that *M.oleifera* seeds were rich in phyto-constituents evidenced by the presence of: Saponins, Alkaloids, Anthocyanins, Anthraquinones, reduced compounds, Quinones, Terpanoids, Heterosides triterpenes, Catechic tanins in different extracts. On the other hand, it showed the absence of coumarins, Starch, Sterols triterpenes, and flavonoids. Absence of studies concerning phytochemical screening of *M.oleifera* seeds, obliges us to compare our results with those obtained by Lalas and Tsaknis (Lalas & Tsaknis, 2002) for *M.oleifera* leaves, that revealed the presence of Alkaloids, Terpanoids, tannins, and flavonoids; while another report (Torres-Castillo et al., 2013), showed the presence of phenolic compounds, flavonoids, Alka-

	Normal aqueous extract					Removal oil aqueous extract					Oil extract					
	100	250	500	750	1000	100	250	500	750	1000	oil	5V/V	4V/V	3V/V	2V/V	V/V
<i>Streptococcus D1</i>	6	7	7	7	10	6	6	6	6	6	8	10	6	6	6	6
<i>Streptococcus D2</i>	17	18	24	25	27	18	19	20	21	21	6	12	6	10	9	6
<i>Streptococcus D3</i>	10	14	19	20	22	10	15	19	20	19	6	6	6	6	6	6
<i>Streptococcus D4</i>	12	13	17	18	22	6	7	13	17	15	6	6	6	6	6	6
<i>Pseudomonas spp4</i>	17	18	19	20	22	10	10	10	11	11	6	6	6	6	6	6
<i>Citrobacter spp3</i>	10	12	15	17	20	15	15	16	17	20	7	9	7	6	6	6
<i>Providencia spp1</i>	8	8	9	10	10	6	6	6	10	19	7	8	9	9	6	6
<i>Escherichia coli2</i>	6	8	12	9	10	6	6	9	10	15	8	7	8	8	7	6
<i>Staphylococcus spp</i>	6	11	15	13	13	6	6	10	12	12	7	9	7	9	8	9
<i>Vibrio spp1</i>	6	8	9	9	10	6	10	10	15	15	6	6	6	6	6	6

Table1: Antibacterial effect of the *Moringa oleifera* extracts against some tested strains (diameter in mm).

loids; whereas one can notice the absence of tannins and saponins in leaves aqueous and methanolic extracts of leaves, roots, rods, cortex of this plant. Those metabolites have an important part in plant defense against pathogenic microorganisms, for example, tannins are endowed with antibacterial and antifungal activity, while alkaloids and saponins possess an antifungal activity.

3.3. Results of isolated strains

More than 30 different strains were isolated. Confirmative identification tests allowed to highlight the existence of various strains coming mainly from human excreta, the latter reflecting degree of pollution of those effluents; identified strains were as follows:

Five strains belong to *Escherichia coli*, five of *Enterobacter spp* with different degrees (either *E.cloacae*, *E.sakazakii*, or *E.aerogenes*), two *Salmonella spp*, four *Streptococcus D*. and strains coming from other different sources such as: three strains of *Vibrio spp*, one strain belonging to *Aeromonas spp*, four *Pseudomonas spp*, six strains of *Citrobacter spp*, one of *Providencia* and one strain of *Klebsiella pneumoniae*.

Those species of bacteria can cause many diseases by accidental consumption of elements polluted with contaminated water, such as gastroenteritis, diarrhea, that is mainly due to *Escherichia coli*, *Vibrio spp*, *Sreptococcus D*. Studies also revealed the presence of *Salmonella spp* which are serious enteric pathogens responsible for salmonellosis. These last ones came from sick people whom excrete this pathogen, or from asymptomatic or healthy carrier that can disseminate this pathogen in some circumstances.

In addition, the existence of some incriminated species in nosocomial infections such as urinary tract infections (*Citrobacter freundii*, *Citrobacter brakii*, *Enterobacter spp*); and respiratory infections (*Klebsiella pneumoniae*), or opportunist infections such as *P. aeruginosa* and other serious infections affirmed the absence of treatment of hospital establishment wastewater before dumping them in water streams.

However these effluents can contaminate surface and underground water by infiltration because of the nature of the soil with limestone dominance, hence the degradation of good water quality; and the same case for agricultural lands, therefore causing a potential danger for human health, and the ecological environment (Maazouzi et al., 2011). For this reason, the conception of a purification system can be part of a future strategy that aims to protect the ecosystem and human health, besides providing supplementary sources of recycled water mainly for irrigation.

3.4. Antibigram results

Inhibition diameters were calculated according to Bonnet et al.(2013), in which it was noticed that most of isolated Gram-negative bacteria were resistant to β -lactam antibiotics, whereas *Streptococcus D* is much more sensitive. On the other hand, large inhibitory zones have been noticed around Gentamicin discs against all strains tested. A general study of multi-resistance of each *Enterobacteriaceae* genus revealed nearly total resistance similarities for different strains with a slight dominance in terms of resistance of *Enterobacter* compared to *Citrobacter*, *E.coli*, *Klebsiella* and *Salmonella*. However, strains of *Pseudomonas* showed a total sensitivity for Amikacin and Gentamicin antibiotics.

	COL	NAL	AMK	AMP	CZO	CTX	GEN	AMX	E
<i>Streptococcus D1</i>	-	-	-	22	-	-	30	-	15
<i>Streptococcus D2</i>	-	-	-	45	-	-	28	-	30
<i>Streptococcus D3</i>	-	-	-	20	-	-	17	-	17
<i>Streptococcus D4</i>	-	-	-	30	-	-	28	-	6
<i>Pseudomonas spp4</i>	-	-	29	-	-	-	30	-	-
<i>Citrobacter spp3</i>	26	28	30	6	30	30	44	6	-
<i>Providencia spp1</i>	6	29	20	-	28	35	-	27	
<i>Escherichia coli2</i>	20	36	30	6	30	40	36	6	
<i>Staphylococcus spp</i>	9	-	21	-	-	-	-	-	6
<i>Vibrio spp1</i>	6	6	20	13	-	30	-	-	-

Table 2: Antibigram results against some tested strains (diameter in mm).

COL: Colistine, NAL: Nalidexic Acid, AMK: Amikacin, AMP: Ampicilline, CZO: Cefazoline, CTX: Cefotaxime, GEN: Gentamycine, AMX: Amoxicilline

Antibioresistance results of *Vibrio* and *Aeromonas* strains carried out a total resistance to β -lactams, and polypeptides; while one strain of *Vibrio* is also for Nalidexic acid; with a middle sensibility to Cefotaxim antibiotics.

Concerning positive-gram bacteria, strains of *Streptococcus D* had exhibited an average resistance to Erythromycin except one strain that showed large resistance. However, strains are too sensitive to β -lactams, and aminosides antibiotics; whereas large inhibitory zones around discs of colistine and Erythromycin were remarked for one strain of *Staphylococcus*, due to its sensibility to Amikacin.

In the field of anthropic effluents, studies are mainly focused on clinical bacteria known to be responsible for manifold nosocomial infections such as Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE), Erythromycin-Resistant Enterococci (ERE), MRSA, *P. aeruginosa*, some species of *enterobacteriaceae* like *E.coli*, *Enterobacter cloacae*, and *K. pneumonia* present different resistance phenotypes (Stalder, 2012).

Moreover, hospital effluents may represent an important source of multi-resistance strains, and can help in disseminating antibioresistance in the environment. In this regard, some studies highlighted the effect of hospital effluents on disseminating resistant strains in urban wastewater grids where they had revealed that the rate of antibioresistance *E.coli* strains is more important in a STEP treating urban wastewaters receiving hospitals effluents than in two other STEP receiving only urban effluents (Reinthalder et al., 2003).

Furthermore, samples collected near a slaughterhouse raises suspicions that wastes issued from this facility can be another potential source for inserting resistant bacteria and their genes in the environment. However, the emergence of resistance and genetic transfer between rejects strains in wastewater, and resistant autochthonous strains can be promoted by high rates of organic materials and bacteria in aquatic environments (Eddabra, 2011).

3.5. Antibacterial activity results

Results of the antibacterial activity of different *M. oleifera* oil concentrations revealed that most of inhibition zones were 6mm (including disc diameter) thereby indicating that oil had no activity against all strains tested; which corroborates the results obtained by Abdulrasheed et al.(2015).We

noticed the presence of inhibition zones of extremely low range between 9mm and 12mm around discs of 5V/V for *Streptococci D* strains, while no activity was marked around those of pure oil for most of strains, which can be explained by the fact that the DMSO action has a little antibacterial activity (Begin et al., 2002), and its utilization as a negative control had shown diameters going up to 11mm.

Results of antibacterial activity of normal aqueous seed-extract exhibited inhibition zones ranging from 8mm to 27mm where the largest ones were observed around discs of 1g/ml showing a potent activity. Different extract concentrations provided inhibition diameters just for three out of four strains of *Streptococcus D* with large diameters of up to 27mm around discs of 1g/ml, whereas the best ones were marked for *Pseudomonas spp* and *Citrobacter spp* are ≥ 20 mm. However, a moderate sensibility was observed for *Staphylococcus spp*. Nevertheless, low activity was noticed for the other strains such as *E.coli*, *Pseudomonas spp*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Aeromonas spp*, and *Vibrio spp*.

Concerning antibacterial effect of different concentrations of removal oil aqueous seeds extract, they had shown diameters ranging from 7mm to 21mm; where a high inhibition was observed for high concentrations. Three quarters of *Streptococcus D* revealed a large inhibition zones for the three last concentrations reaching 21mm around discs of 1g/ml. The same result was marked for one strain of *Citrobacter spp* in all tested concentrations; whereas moderate inhibition was observed for the strain of *Staphylococcus spp*. On the contrary, high resistance was revealed for the other strains, namely, *E. coli*, *Enterobacter spp*, and *Pseudomonas spp*.

These results confirmed the results of Caceres et al. (1991), in which they found that seeds extract of *M. oleifera* possess a positive inhibition at 37°C against *P. aeruginosa* and *S. aureus*; with absence of inhibition of *E. coli* considered as positive results for diameters ≥ 7 mm. Moreover comparing normal aqueous seeds extract and removal oil aqueous seeds extract, the last one gave large inhibition zones against strains of *Streptococcus D*. Bichi et al. (2012) found that removal oil extract is the best, as it gives large inhibition zones of 9mm against strains of *E.coli*. This confirms our results in which we found zones of 15mm around discs of 1g/ml for one strain of *E.coli*.

However Thilza et al.(2010) , used extract from *Moringa* leaf stalk, and found a 10 mm inhibition zone for *E.coli*. With the same concentration, we used (1g/ml); which confirmed results obtained noting that other strains of *E. coli* are resistant. A more pronounced antibacterial activity was noticed for positive gram bacteria compared with negative gram. This activity shown by both extracts (normal aqueous extract and removal oil aqueous extract) of *M.oleifera* is due to the composition of their seeds, they are rich on phyto-molecules such as terpanoids, sterols and three terpenes, and phenolic compounds represented by tannins, which are endowed by antifungal and antibacterial activity. Eilert et al. (1981) have identified bactericidal substances found in *M. oleifera* seeds: Pterygospermin, and moringine; while in other studies antimicrobial effects of the seeds were attributed to the compound 4(α -L-rhamnosyloxy) benzyl isothiocyanate. Suarez et al. (2003) found that *M. oleifera* seeds contain polypeptides which acts as a water clarification agent that coagulates particles and bacteria in suspension. Broin et al. (2002) reported that a recombinant protein in the seed is able to flocculate Gram-positive and Gram-negative bacteria cells. In this case, microorganisms can be removed by settling them in the same manner as the removal of colloids in properly coagulated and flocculated zones; therefore *M.oleifera* has a dual action; a biological one due to biomolecules contained in its seeds, and the physical one is represented by coagulating and flocculating microorganisms.

4. Conclusion

M. oleifera seeds had exhibited potential antibacterial activity especially against Gram-positive bacteria. This, to the best of our knowledge, is the first work concerning antibacterial activity of *Moringa* seeds extracts against bacterial strains isolated from wastewater. In addition to the first seeds, phytochemical screening improves the presence of biomolecules responsible for its biological activity. However, For the benefit of science, this plant might represent a natural substitute to commonly used disinfecting agents; seeds can be used to eliminate microorganisms and purify wastewaters. In addition, the isolation of bioactive compounds could serve as a natural antibacterial source. While *Moringa* oil seeds showed no such activity, and because of its insolubility it may not be suitable for application in water disinfection, but it can be removed by extraction methods and used in other technological processes.

Acknowledgments

We acknowledge Doctor GHOMRI TEDJ for his help in writing the article and ABDELWAHAB FILALI developer and risk manager for the supply of the geographic map.

References

- Abdulrasheed M,Ibrahim IH,Mubarak MA,Umar FA (2015) Comparison of antimicrobial activity of seed oil of garlic and *Moringa oleifera* against some food-borne microorganisms. *Bayero Journal_of Pure and Applied Sciences* 8 :196–201.
- Anwar F ,Bhanger MI (2003)Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *Journal of Agricultural and_Food Chemistry* 51 :6558–6563.
- Arbuckle TE, et al (2002) __Assessing exposure in epidemiologic studies to disinfection by-products in drinking water: report from an international workshop., *Environmental Health Perspectives* 110 :53.
- Bégin D,Lavoué J,Gérin M(2002)La substitution des solvants par le diméthylsulfoxyde: rapport.Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.
- Bichi MH,Agunwamba JC,Muyibi SA, Abdulkarim MI (2012)Effect of Extraction Method on the Antimicrobial Activity of *Moringa Oleifera* Seeds Extract. *Journal of_American Science* 8 : 450–458.
- Bonnet R et al (2013)Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie,in *Recommandations*.
- Broin M, Santaella C, Cuine S, Kokou K,Peltier G,Joet T (2002) Flocculent activity of a recombinant protein from *Moringa oleifera* Lam. seeds. *Applied Microbiology and Biotechnology* 60 : 114–119.
- Brossard H,Leyral G,Terry O (2008)Activités technologiques en microbiologie.Dunod , France.
- Bourgeois CM,Leveau JY (1996) Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires. Lavoisier,Paris, France.
- Bukar A,Uba A, Oyeyi T (2010)Antimicrobial profile of *Moringa oleifera* Lam. extracts against some food–borne microorganisms. *Journal of Pure and Applied Sciences* 3 :1.
- Caceres A,Cabrera O,Morales O, Mollinedo P, Mendia P (1991) Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 33 : 213–216.
- Crapper DR, Krishnan SS, Dalton AJ (1973)Brain aluminum distribution in Alzheimer's disease and experimental neurofibrillary degeneration. *Science* 180 :511–513.
- Dudley DJ,Guentzel MN, Ibarra MJ,Moore BE,Sagik BP (1980) Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Applied and Environmental Microbiology* 39 :118–126.
- Eddabra R (2011)Evaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du grand Agadir: Isolement, caractérisation moléculaire et antibiorésistance des espèces du genre *Vibrio*. Strasbourg.
- Eilert U,Wolters B,Nahrstedt A (1981)The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Planta Medica* 42 :55–61.

- Goveas JL, Sinha R, Krishnan ER, Patterson CL, Namboodiri V (2010) Bench-Scale Evaluation of Peracetic Acid and Twin Oxide as Disinfectants in Drinking Water," in World Environmental and Water Resources Congress 2010: Challenges of Change 261–269.
- Habi S, Daba H (2009) Plasmid incidence, antibiotic and metal resistance among *Enterobacteriaceae* isolated from Algerian streams. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12 : 1474–1482.
- Kumar PS, Mishra D, Ghosh G, Panda CS (2010) Medicinal uses and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. *International Journal of Phytomedicine* 2 :3.
- Lalami EA, Zanibou A, Bekhti K, Zerrouq F, Merzouki M (2014) Contrôle de la qualité microbiologique des eaux usées domestiques et industrielles de la ville de Fès au Maroc (Microbiological Control wastewater domestic and industrial city of Fes Morocco. *Journal of Materials and Environmental Sciences* 5 : 2325–2332.
- Lalas S, Tsaknis J (2002) Extraction and identification of natural antioxidant from the seeds of the *Moringa oleifera* tree variety of Malawi. *Journal of American Oil Chemical Society* 79 :677–683.
- Maazouzi A, Kettab A, Badri A, Zahraoui B, Kabour A, Chebbah L (2011) Contribution to the study of the effect of urban wastewater on the degradation of ground water quality and to the treatment by filtration on dune sand of the city of Bechar (Algeria). *Desalination* 127 :58–68.
- Madsen M, Schlundt J, Omer EF (1987) Effect of water coagulation by seeds of *Moringa oleifera* on bacterial concentrations. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 90 :101–109.
- Makhloufi A, Abdelouahid DE (2017) Physico-Chemical and Microbiological Quality of the Water of Djorf-Torba Dam, Bechar. *South West of Algeria. Applied Biology in Saharian area* 1:37-40.
- Martyn CN, Osmond C, Edwardson JA, Barker DJP, Harris EC, Lacey RF (1989) Geographical relation between Alzheimer's disease and aluminium in drinking water. *Lancet* 1:61–62.
- Miller RG, Kopfler FC, Kelty KC, Stober JA, Ulmer NS (1984) The occurrence of aluminum in drinking water. *Journal of American Water Works Association* 76 : 84–9.
- Muyibi SA (1994) The potential of Zogale (*Moringa oleifera*) seeds as a water treatment chemical. *Niger Society of Engineers* 29 :27–33.
- Muyibi S. A, Evison L. M (1995) Optimizing physical parameters affecting coagulation of turbid water with *Moringa oleifera* seeds. *Water Research* 29 :2689–2695.
- Nadkarni KM (1976) *Indian Materia Medica*. Bombay: Popular Prakashan Private Limited," Pop. Press 1 :1142.
- Nemlin J, Brunel JF (1996) Travaux pratiques de matière médicale (3ème Année)," Univ. Natl. Côte-d'Ivoire, Fac. Pharm. Département Pharmacogn. Laboratory Phytology 47.
- Olsen A (1987) Low technology water purification by bentonite clay and *Moringa oleifera* seed flocculation as performed in Sudanese villages: effects on *Schistosoma mansoni* cercariae. *Water Research* 21 :517–522.
- Oluduro AO, Adewoye BI (2007) Efficiency of *Moringa Oleifera* Seed extract on The microflora of surface and ground water. *Plant Science* 6 :438–453.
- Ramachandran C, Peter KV, Gopalakrishnan PK (1980) Drumstick (*Moringa oleifera*): a multipurpose Indian vegetable. *Economic Botany* 34 :276–283.
- Reinthal FF et al (2003) Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water Research* 37 :1685–1690.
- Rodier J, Legube B, Merlet N, Brunet R (2009) L'analyse de l'eau-9e éd.: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Dunod, Paris, France.
- Silvestro L, Weiser JN, Axelsen PH (2000) Antibacterial and antimembrane activities of cecropin A in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents in Chemotherapy* 44 : 602–607.
- Stalder T (2012) Implication des effluents d'activités hospitalières et de la filière carnée sur la dissémination de l'antibiorésistance: Dynamique des intégrons de l'émission au rejet. Limoges, France.
- Suarez M et al (2003) Expression of a plant-derived peptide harboring water-cleaning and antimicrobial activities. *Biotechnology and Bioengineering* 81 :13–20.
- Suarez M et al (2005) Structure-function characterization and optimization of a plant-derived antibacterial peptide. *Agents Chemotherapy* 49 :3847–3857.
- Thilza IB, Sanni S, Zakari AI, Sanni FS, Muhammed T, Musa (2010) In vitro antimicrobial activity of water extract of *Moringa oleifera* leaf stalk on bacteria normally implicated in eye diseases. *Acad. arena* 2 : 80–82.
- Torres-Castillo JA et al (2013) *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. *International Journal of Experimental Botany* 82 :193–202.
- Yazid B (2014) Évaluation de la toxicité des eaux usées traitées par la station d'épuration de Guelma et son impact sur l'oignon «*Allium cepa*». Annaba, Algeria.

ABOUT THE JOURNAL: SAJEB (eISSN: 2230-9799) is a peer-reviewed, open-access and online journal aimed at advancement and rapid dissemination of scientific knowledge generated by the highly motivated researchers in the field of biological sciences through publication of high-quality original research and critical up-to-date review articles covering all the aspects of biological sciences. Every year, it publishes six issues. SAJEB has received Global Impact Factor (GIF)-2015, 0.765; Index Copernicus Value-2015, 93.0 and NAAS (ICAR)-India 2017 rating, 4.79. SAJEB has been included in the ISI master list of journals of Thomson Reuters under Zoological Record. The SAJEB is also covered by CABI (UK), AGRICOLA, NLM catalogue, CAS (ACS, USA), DOAJ, Journal TOCs (ICBL, Edinburgh), Directory of research Journals Indexing (DRJI) and Indian Science Abstracts (ISA, NISCAIR). SAJEB is a member of CrossRef.