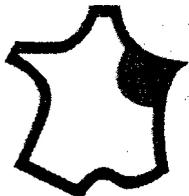


Ademe



Agence de  
l'Environnement  
et de la Maîtrise  
de l'Energie



AGENCE DE L'EAU  
RHIN-MEUSE



DISTRICT  
DE L'AGGLOMERATION  
NANCIENNE



1995 - ECOLE DOCTORALE "BIOLOGIE ET SANTE"

# THESE

Présentée et soutenue publiquement  
le **22** septembre **1995**

pour obtenir le titre de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ - NANCY 1**  
**Mention Chimie Microbiologie de l'Eau**

par

**Philippe GASPARD**

Titulaire du Diplôme **d'Etudes** Approfondies  
Chimie Microbiologie de **l'Eau**

Sujet :

**CONTAMINATION PARASITAIRE** DANS L'ENVIRONNEMENT :  
**PROSPECTIVE** POUR UNE GESTION DES RISQUES **SANITAIRES**

## MEMBRES DU JURY

Juges

Mr le Docteur PROST (Organisation Mondiale de la Santé)

Mr le Docteur WIART (**ADEME**)

Mr le Professeur BLOCK (Faculté de Pharmacie, UHP Nancy **1**)

Mme le Professeur SCHWARTZBROD (Faculté de Pharmacie, UHP Nancy **1**)

Rapporteurs

Mr le Professeur SALGOT (Pharmacie, Université de Barcelone)

Mr le Docteur BARADEL (Services Vétérinaires, Nancy)

**I. OEUF D'HELMINTHES DANS LES EAUX IX LES BOUES.****1.1. Présentation des différents types d'helminthes.****1.2. Etude des voies de transmission.****1.3. Caractérisation de la contamination des eaux et des boues.****1.4. Caractérisation du réservoir de pathogènes.****1.4.1. Helminthiases d'origine humaine.****1.4.2. Helminthiases d'origine animale.****II. COMPORTEMENT DES OEUF D'HELMINTHES DANS L'ENVIRONNEMENT****11.1. Oeufs d'helminthes et traitements d'épuration.****II.1.1. Etude de différents paramètres.***II.1.1.1. Vitesse de sédimentation.**II.1.1.2. Impact de la température.***II.1.2. Etude des différentes filières de traitement des boues.***II.Z.2.1. Traitements physiques.**II.1.2.2. Traitements biologiques.**II.1.2.3. Traitements chimiques.***11.2. Etude de la survie dans l'environnement.****II.2.1. Survie dans les eaux et les boues.****II.2.2. Survie dans les sols et sur les végétaux.****III. EVALUATION ET GESTION DU RISQUE PARASITAIRE.****111.1. Cycle de développement d'une pathologie infectieuse à partir d'eaux usées et de boues.****111.2. Cycle de développement et risque sanitaire en valorisation agricole de boues****III.2.1. Contamination des boues.****III.2.2. Transmission suivant différentes voies.***III.2.2.1. Contraintes sur la qualité des boues.**III.2.2.2. Contraintes sur les cultures et les usages des sols.**III.2.2.3. Contraintes sur l'épandage.**III.2.2.4. Contraintes sur les manipulations.***III.2.3. Mise en contact avec les populations cibles.***III.2.3.1. L'homme.**III.2.3.2. Les animaux d'élevage.**III.2.3.3. Les animaux sauvages.*

<b>111.3. Cycle de développement et risque sanitaire en valorisation agricole d'eaux usées.</b>	<b>36</b>
<b>III.3.1. Contamination des eaux usées.</b>	<b>36</b>
<b>IU.3.2. Transmission suivant différentes voies.</b>	<b>37</b>
<i>III.3.2.1. Contraintes sur les cultures.</i>	<b>37</b>
<i>III.3.2.2. Contraintes sur les modes d'irrigation.</i>	<b>37</b>
<b>III.3.3. Mise en contact avec les populations cibles.</b>	<b>38</b>
<b>III.2.4. Développement de la maladie.</b>	<b>38</b>
<b>IV. DÉTERMINATION DE LA CONTAMINATION PARASITAIRE.</b>	<b>40</b>
<b>IV.1. Caractéristiques des oeufs.</b>	<b>40</b>
<b>IV.2. Techniques d'étude de la concentration parasitaire.</b>	<b>43</b>
<b>IV.3. Techniques d'étude de la viabilité des oeufs de nématodes.</b>	<b>45</b>

## 1ère PARTIE : ADHESION ET DEVELOPPEMENT

<b>OBJECTIFS</b>	<b>49</b>
------------------	-----------

<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>51</b>
-----------------------------	-----------

<b>I. MATERIEL</b>	<b>51</b>
--------------------	-----------

<b>I.1. Oeufs d'<i>Ascaris</i></b>	<b>51</b>
<b>1.2. Les cellules de comptage</b>	<b>51</b>
<b>1.2.1. La cellule de Sedwig-Rafter</b>	<b>51</b>
<b>1.2.2. La cellule de Mac-Master</b>	<b>51</b>
<b>1.3. Les matériaux de filtration</b>	<b>52</b>
<b>1.4. La suspension de conservation</b>	<b>52</b>
<b>1.5. Les supports d'adhésion</b>	<b>52</b>
<b>1.6. Les milieux de l'environnement</b>	<b>52</b>
<b>1.7. Les colonnes de percolation</b>	<b>53</b>
<b>1.8. Les solutions chimiques</b>	<b>54</b>
<b>1.9. Les milieux de culture</b>	<b>54</b>

<b>II. METHODES</b>	<b>55</b>
---------------------	-----------

<b>11.1. Etude de l'adhésion</b>	<b>55</b>
<b>II.1.1. Standardisation de la suspension d'oeufs d'<i>Ascaris</i></b>	<b>55</b>
<b>II.1.2. Etude de l'adhésion</b>	<b>55</b>
<i>II.1.2.1. Etude de l'adhésion théorique</i>	<b>55</b>
<i>II.1.2.1.1. Conservation des suspensions</i>	<b>55</b>
<i>II.1.2.1.2. Préparation de l'échantillon</i>	<b>55</b>
<i>II.1.2.1.3. Phase d'adhésion</i>	<b>55</b>

II.1.2.1.4. Détermination du pourcentage d'oeufs fixés	56
II.1.2.2. Etude de l'adhésion en conditions environnementales	56
II.1.2.2.1. Oeufs en suspension dans l'eau usée brute	56
II.1.2.2.2. Etude de l'impact de la couche externe sur le cheminement des oeufs dans les sols	56
i) Granulométrie des sols	56
ii) Oeufs d'Ascaris décortiqués	57
iii) Oeufs d'Ascaris en suspension en eau usée brute	57
iiii) Protocole d'étude dans les sols	57

## **II.2. Etude du développement des oeufs de nématodes** 58

# **RESULTATS**

59

## **1. STANDARDISATION DE LA SUSPENSION D'OEUF D'ASCARIS** 59

**1.1. Analyse de l'appareil génital d'un Ascaris femelle** 59

**1.2. Mise en suspension des oeufs d'Ascaris** 61

**1.3. Conservation de la suspension d'oeufs d'Ascaris** 62

**1.3.1. Etude de la répartition des oeufs dans la suspension** 63

**1.3.2. Comportement des oeufs vis-a-vis des différents matériaux de laboratoire** 63

## **II. ETUDE DE L'ADHESION THEORIQUE** 64

**11.1. Choix du modèle expérimental** 65

**II.2. Etude de différents paramètres** 66

**II.2.1. Age de la suspension** 66

    II.2.1.1. Essai à 4°C 67

    II.2.1.2. Essai à 19°C 68

**II.2.2. Charge en support** 68

**II.2.3. Temps de contact** 69

**II.2.4. pH** 70

**II.2.5. Concentration ionique** 71

**II.2.6. Solutions chimiques** 71

## **III. ETUDE DE L'ADHESION DANS DES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES** 73

**111.1. Essai en eau usée brute** 73

    III.1.1. Evolution de l'adhésion en fonction de l'âge de la suspension 73

        III.1.1.1. Stockage des oeufs à 4°C 73

        III.1.1.2. Stockage des oeufs à 19°C 74

    III.1.2. Evolution de l'adhésion en fonction de différents paramètres. 75

**111.2. Essai dans les sols** 76

**111.3. Conclusion** 79

<b>IV. ETUDE DU DEVELOPPEMENT DES OEUF D'ASCARIS DANS DIFFERENTES CONDITIONS</b>	<b>80</b>
<b>IV.1. Effets de différents milieux sur le développement des oeufs</b>	<b>80</b>
<b>IV.2. Etude du développement dans les sols</b>	<b>84</b>
<b>IV.3. Etude du développement dans les boues</b>	<b>86</b>
<b>IV.4 Conclusion</b>	<b>07</b>

## 2ème PARTIE : METROLOGIE

<b>OBJECTIFS</b>	<b>89</b>
<b>[MATERIEL ET METHODES]</b>	<b>90</b>
<b>I. MATERIEL</b>	<b>90</b>
<b>1.1. Effluents et boues</b>	<b>90</b>
<b>1.2. Milieux de culture</b>	<b>90</b>
<b>1.3. Solutions chimiques</b>	<b>90</b>
<b>II. METHODES</b>	<b>91</b>
<b>11.1. Analyse quantitative</b>	<b>91</b>
<b>11.2. Analyse de la viabilité des oeufs de nématodes</b>	<b>93</b>
<b>RESULTATS</b>	
<b>1. QUANTIFICATION DE LA CONTAMINATION</b>	<b>94</b>
<b>1.1. Recherche en milieu hydrique</b>	<b>94</b>
<b>1.1.1. Choix d'une technique</b>	<b>94</b>
<i>X.1.1.1. Screening des méthodes</i>	<b>94</b>
<i>1.1.1.2. Etude sur le terrain</i>	<b>95</b>
<b>1.1.2. Validation de la méthodologie</b>	<b>96</b>
<i>1.1.2.1. Etude du rendement de la méthode en fonction de la charge en oeufs</i>	<b>96</b>
<i>1.1.2.2. Rendement de la méthode à la concentration de 1oeuf/litre</i>	<b>98</b>
<i>1.1.2.2.1. Etude en eau usée brute</i>	<b>98</b>
<i>1.1.2.2.2. Etude en eau usée épurée</i>	<b>98</b>
<b>1.2. Recherche des oeufs d'helminthes dans les boues</b>	<b>99</b>
<b>1.2.1. Influence du paramètre méthode</b>	<b>100</b>
<b>1.2.2. Etude du rendement de la technique</b>	<b>100</b>
<b>1.2.2.1. Essai en boues primaires</b>	<b>101</b>



1.3.1. Analyse quantitative	127
1.3.2. Analyse de la viabilité	129
<b>I.4. Echantillons prélevés après valorisation agricole des boues</b>	<b>130</b>
1.4.1. Prélèvements sur parcelle labourée	130
1.4.2. Prélèvements sur prairie naturelle	130
<b>II. METHODES</b>	<b>131</b>
<b>11.1. Etude sur la station d'épuration de Nancy-Maxéville</b>	<b>131</b>
<b>II.1 .1 . Echantillonnage</b>	<b>131</b>
II.1.1.1. <i>Eau usée brute</i>	131
II.1 .1.2. <i>Boues semi-deshydratées</i>	131
<b>II.1.2. Calcul de l'abattement</b>	<b>132</b>
<b>II.1.3. Prélèvements sur site agricole</b>	<b>132</b>
<b>II. 1.4. Méthodes d'analyses</b>	<b>132</b>
<b>11.2. Enquête nationale sur les produits valorisés en agriculture</b>	<b>132</b>
<b>II.2.1. Echantillonnage</b>	<b>132</b>
<b>II.2.2. Méthodes d'analyses</b>	<b>1 3 2</b>
<b>11.3. Prélèvements sur prairie</b>	<b>132</b>
<b>II.3.1. Echantillonnage</b>	<b>132</b>
<b>II.3.2. Méthodes d'analyses</b>	<b>1 3 2</b>
<b>RESULTATS</b>	
<b>1. ETUDE DE LA STATION DE NANCY-MAXEVILLE</b>	<b>134</b>
<b>1.1. Etude de la concentration parasitaire dans les effluents</b>	<b>134</b>
<b>1.1.1. Analyses en eau d'entrée</b>	<b>134</b>
I.1.1 .1. <i>Concentration en eau d'entrée</i>	134
I.1.1.2. <i>Quantité d'oeufs en eau d'entrée</i>	136
<b>1.1.1.2.1. Etude des flux d'effluents</b>	<b>136</b>
<b>1.1.1.2.2. Etude des quantités d'oeufs</b>	<b>138</b>
<b>I.1.2. Analyses en eau de sortie</b>	<b>1 4 1</b>
<b>12. Etude de la contamination parasitaire dans les boues</b>	<b>142</b>
<b>1.2.1. Détermination de la concentration</b>	<b>142</b>
<b>1.2.2. Calcul de l'abattement à la suite du traitement</b>	<b>143</b>
<b>1.2.3. Analyse de la viabilité</b>	<b>144</b>
<b>1.3. Contamination parasitaire et valorisation agricole des boues</b>	<b>144</b>
<b>II. ENQUETE NATIONALE SUR LA CONTAMINATION PARASITAIRE DES PRODUITS VALORISES EN AGRICULTURE</b>	<b>147</b>
<b>11.1. Etude de la concentration parasitaire</b>	<b>148</b>
<b>II.1.1. Etude de la contamination des boues urbaines</b>	<b>148</b>

II.1.1.1. <i>Présentation générale des résultats</i>	148
II.1.1.2. <i>Présentation en fonction de la capacité des ouvrages de dépollution</i>	148
II.1.1.3. <i>Présentation en fonction de la teneur en MS</i>	150
II.1.1.4. <i>Présentation en fonction du type de traitement</i>	151
II.1.1.5. <i>Interprétation générale de l'étude</i>	151
II.1.2. <b>Etude sur des prélèvements de boues chaulées, de sédiments de lagunage et de composts.</b>	152
II.1.2.1. <i>Boues chaulées</i>	152
II.1.2.2. <i>Sédiments de lagunage et composts</i>	153
<b>11.2. Aspect qualitatif de la contamination</b>	<b>154</b>
<b>II.3. Analyse de la viabilité des oeufs de nématodes intestinaux</b>	<b>155</b>
<b>III. ETUDE D'UNE PARCELLE FERTILISEE AVEC DES BOUES LIQUIDES</b>	<b>158</b>

## 4ème PARTIE : SURVIE DANS LES MILIEUX

<b>OBJECTIFS</b>	<b>162</b>
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	<b>163</b>
<b>1. MATERIEL</b>	<b>163</b>
1.1. Différents types de chaux	163
1.2. Echantillons de boues	164
1.3. Echantillons de sols	164
1.4 végétaux	164
<b>IL METHODES</b>	<b>165</b>
11.1. Protocole général d'étude des cinétiques de survie	165
11.2. Cinétiques de survie dans les boues	165
11.3. Essais sur les boues chaulées	166
11.4 Essais dans les sols	166
11.5. Essais sur les végétaux	167
<b>RESULTATS</b>	<b>169</b>
<b>1. CONDITIONS GENERALES DE SURVIE DES OEUFS</b>	<b>169</b>
1.1. Impact de la congélation sur la viabilité	169
1.1.1. Congélation à -3°C à 5°C	169

I.1.1.1. Etude sur des oeufs non <i>embryonnés</i>	169
I.1.1. 2. Etude sur des oeufs <i>embryon&amp;</i>	170
1.1.2. Congélation à -18°C	171
<b>I.2. Impact du pH sur la viabilité</b>	<b>171</b>
<b>II.ETUDE DE LA SURVIE DANS LES BOUES</b>	<b>172</b>
11.1. Survie dans différents types de boues	172
11.2. Survie dans les boues chaulées	175
II.2.1. Essais sur la concentrations en chaux	176
II.2.1.1. Essai préliminaire sur 4 types de chaux	176
II.2.1.2. Etude de 1 'abattement	179
II.2.1.2.1. Essai avec de la chaux vive	179
II.2.1.2.2. Essai avec de la chaux éteinte	180
II.2.2. Essais à différentes teneurs en matière sèche.	182
II.2.3. Essais sur différents types de boues	183
II.2.3.1. Essai à une concentration de 30% de chaux	183
II.2.3.2. Essai à une concentration de 10% de chaux	184
II.2.4. Conclusion - Discussion	185
<b>III. ETUDE DE LA SURVIE DANS LES SOLS</b>	<b>185</b>
111.1. Survie en sol argilo-limoneux	186
111.2. Survie en sol sableux	187
1113. Comparaison des survies obtenues en sol argilo-limoneux et sableux	188
<b>IV. ETUDE DE LA SURVIE EN PHYTOTRON</b>	<b>190</b>
IV.1. Cinétique de survie sur lame de verre	190
IV.2. Essai sur végétal	191
IV.2.1. Cinétique de survie sur feuilles de tomates	192
IV.2.1.1. Essai sur feuilles basses	192
IV.2.1.2. Essai sur feuilles hautes	193
IV.2.2. Cinétique de survie sur du concombre	194
<b>CONCLUSION</b>	<b>196</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>201</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>216</b>
• Liste des réglementations	217
• Liste des tableaux	218
• Liste des schémas	222
• Liste des figures	224
<b>PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS</b>	<b>227</b>

## INTRODUCTION GENERALE

La réutilisation à des fins agricoles des boues urbaines et des eaux usées épurées peut être une alternative très intéressante pour le monde agricole ainsi que pour la société qui produit ces déchets avec nécessité par la suite de les traiter et de les éliminer.

En effet, d'un point de vue agronomique, un besoin immédiat et indispensable en eau existe dans certaines régions où l'irrigation est très développée, la valorisation des eaux usées épurées peut répondre dans certains cas à cette importante demande.

Pour la valorisation des boues, le besoin ne peut pas sembler à priori si immédiat et si évident alors qu'en réalité si l'on veut conserver une bonne qualité de sol, l'apport de matière organique est primordial pour former un stock d'humus suffisant. En outre le système actuel avec une forte tendance à la monoculture limite la quantité de matière organique incorporée au sol et à terme si aucun apport n'est réalisé, nous risquons d'assister à une dégradation de la fertilité des sols.

En tout état de cause, si la demande pour ce type de produit n'est pas encore généralisée, l'offre ou plus justement la disponibilité pour ce type d'utilisation est importante et ce pour plusieurs raisons.

La Première est que notre société produit divers déchets dont l'eau usée, ainsi la consommation journalière en eau varie de 300 à 600 litres d'eau par habitant et le traitement de cette eau aboutit à la production de 15 à 20 Kg de matière sèche/habitant/an.

De plus la tendance actuelle en matière d'assainissement passe par la construction de nouvelles stations d'épuration et la mise en oeuvre de traitements d'eaux usées plus performants (Bittner., 1994). En France, une enquête réalisée en 1994 par les agences de l'eau et le ministère français de l'environnement montrait qu'en 1992, le nombre de stations d'épuration s'élevait à 11310 avec pour 2002 une estimation portant cette valeur à 12000 (Tableau n°1).

Type de traitement	Nombre de stations en 1992	Nombre de stations prévues en 2002
Traitement primaire	556	600
Lagunage	2383	2400
Boues activées	5636	5900
Cultures fiées	1523	1550
Autres principes	1119	1250
Physico-chimie	93	300
TOTAL	11310	12000

Tableau n° 1: Répartition et types de stations d'épuration en France (d'après Anonyme, 1994)

Il en résultera une augmentation constante de la production en boues urbaines. Les données concernant la situation actuelle et d'autre part une projection possible en France pour les années 2002 sont présentées dans le tableau n°2.

Production de boues (T de MS/an)			Modes d'utilisation et /ou d'élimination (en %)			
Références	U.E	FRANCE	Agriculture	Décharge	Incinération	Autres*
Hannan et Collins 1983	6.10 <sup>6</sup>		29	46	7	19
Davis 1992	6.6.10 <sup>6</sup>		38	43	10	9
Villessot et Fery 1994		7.10 <sup>5</sup>	50	35	15	0
Bebin (estimation 2002) 1995		1.3.10 <sup>6</sup>	32 ou 48	0	68 ou 52	0

\* Autres : rejets en mer.....

Tableau n° 2 : Evolution des modes d'utilisation et / ou d'élimination des boues entre 1983 et 1999 (d'après Bouché, 1995).

Actuellement la production annuelle de boues est de l'ordre de 6.6.10<sup>6</sup> tonnes de matière sèche (MS)/an pour la Union Européenne (U.E.) et de l'ordre de 7.10<sup>5</sup> tonnes de MS/an pour la France. La proportion valorisée en agriculture représente une part non négligeable avec 38% des boues pour l'Union Européenne et 50% pour la France.

A l'horizon 2002, quantitativement en France il est annoncé un doublement de la quantité de boues avec une production annuelle de 1.3.10<sup>6</sup> tonnes de MS.

Au niveau de l'utilisation et/ou de l'élimination, on note également une forte évolution, dans un premier temps la mise en décharge des boues sera interdite car cette voie est réservée aux déchets ultimes, ensuite l'incinération devrait connaître selon certains un fort développement avec 52 à 68% des boues qui pourraient être à terme éliminées par ce procédé alors que la proportion est actuellement de 15%, enfin la valorisation agricole est l'objet de débats avec pour conséquences une utilisation des boues pouvant varier de 32 à 48%. En effet, suivant les nouveaux aspects de la réglementation européenne encadrant la valorisation agricole des boues, cette voie sera plus ou moins restreinte et le volume des boues pouvant être ainsi utilise sera plus ou moins limité.

Une étude sur l'ensemble de l'Union Européenne (tableau n°3) montre de fortes variations en terme de quantités de boues produites mais également en terme de modes d'élimination suivant les différents états membres. Ainsi l'Allemagne est de loin le plus gros producteur avec 2.6.10<sup>6</sup> tonnes de MS/an suivie par l'Angleterre (1.1.10<sup>6</sup> tonnes de MS/an), l'Italie ( 8.10<sup>5</sup> tonnes de MS/an) et la France (7.10<sup>5</sup> tonnes de MS/an).

L'Allemagne représente cependant en proportion une utilisation relativement faible en agriculture (25%) par rapport à de nombreux états européens où la proportion de boues valorisées atteint 40 à 80% (Portugal: 80%, Suisse: 60%, Angleterre: 51%, France: 50%, Hollande: 44%).

Pays	Production de boues (T.10 <sup>3</sup> de MS/an)	Agriculture (%)	Décharge (%)	Incinération (%)	Autres (%)
Allemagne	2500	25	63	12	0
Angleterre	1075	51	16	5	28
Autriche	320	13	56	31	0
Belgique	75	31	56	9	4
Danemark	130	37	33	28	2
Espagne	280	10	50	10	30
France	700	50	50	0	0
Grèce	15	3	97	0	0
Hollande	282	44	53	3	0
Irlande	24	28	18	0	54
Italie	800	34	55	11	0
Luxembourg	15	31	18	0	1
Portugal	200	80	13	0	7
Suisse	215	60	30	20	0
TOTAUX	6631	38	43	10	9

Tableau n°3: Modes d'utilisation et/ou d'élimination des boues en Europe. (d'après Davis, 1992).

On constate donc que la valorisation est une voie déjà bien développée, cependant cette réutilisation ne pourra se pérenniser que si on a porté une attention suffisante aux risques potentiels liés à l'utilisation de ces produits afin d'assurer une complète sécurité lors de l'utilisation (OMS, 1980).

Actuellement le problème qui se pose relève de la qualité des boues car si les solutions de valorisation des boues paraissent intéressantes, il faut admettre que ces boues résiduaires peuvent renfermer des métaux lourds (Pb, Cd, Zn.....), des micropolluants organiques (hexachlorobenzène, hydrocarbures aromatiques, DDT, phtalates. . . .) et des microorganismes pathogènes (virus, bactéries, parasites...). Il convient donc de développer une connaissance suffisante pour déterminer les risques réels pour les plantes et pour la santé des populations humaines et animales lors de la présence de ces polluants.

Au niveau microorganismes, les boues résiduaires peuvent renfermer différents agents pathogènes apportés par les eaux usées: bactéries, virus et parasites (Faust, 1976; Schwartzbrod et al, 1986; Yanko, 1988).

Ce travail porte sur l'étude des parasites intestinaux présents dans les eaux usées et les boues et plus particulièrement sur les oeufs d'helminthes. (Schwartzbrod. et al, 1986; Barbier et al, 1990; Hespanhol et Prost, 1994).

## CONCLUSION

La valorisation des boues en agriculture doit prendre en compte le risque sanitaire inhérent à la présence d'agents pathogènes dans ce type de fertilisant.

En ce qui concerne la présence des oeufs d'helminthes dans les boues urbaines, elle ne doit constituer en aucun cas un obstacle à la valorisation agricole, cependant elle impose un certain nombre de contraintes (traitement des boues, utilisation des espaces, manutention....) afin de limiter voir même supprimer les risques potentiels.

Pour mieux définir le cadre d'utilisation de ces boues, différents paramètres relatifs aux oeufs d'helminthes dans les boues ont été étudiés.

En premier lieu, *l'étude de Z'adhésion* a permis de montrer à partir de l'oeuf d'*Ascaris* qu'il pouvait exister des interactions entre les oeufs et les différents supports du milieu avec pour conséquence des phénomènes d'adhésion intervenant en majorité sur les supports hydrophiles. Cependant du fait de la grande hétérogénéité des milieux, ces interactions évoluent dans le temps mais également suivant les propriétés de l'environnement que les oeufs contaminent avec dans une grande majorité des situations une diminution de la capacité d'adhésion. Cette évolution devrait en partie éviter les éventuels phénomènes d'adhésion des oeufs sur les végétaux et donc limiter les risques sanitaires liés à cette propriété. Cependant dans les sols, malgré une couche externe modifiée par des conditions environnementales et donc présentant une adhésion très faible sur nos supports (poudre de verre et laine de verre), la migration des oeufs est limitée quantitativement dans l'horizon superficiel (1 à 3 cm).

En ce qui concerne *l'embryonation* des oeufs, seuls les milieux présentant des conditions strictement aérobies ont permis le développement des oeufs au stade larvaire (sols agricoles, sables,...), à l'inverse dans la majorité des boues les oeufs restent dans un état unicellulaire quiescent. En général si le temps de séjour des oeufs dans les boues n'est pas trop important, la survenue de conditions favorables se traduit par l'obtention du stade larvaire.

L'ensemble de ces propriétés permet donc aux oeufs de rester dans les horizons superficiels avec un développement au stade larvaire si les conditions d'aération, de température et d'humidité le permettent.

Après avoir défini les caractéristiques propres au développement et à l'adhésion des oeufs, *un ensemble de méthodologies originales de quantification et d'étude de la viabilité* a été développé afin de pouvoir évaluer d'une façon significative le niveau de contamination parasitaire des eaux et des boues valorisées en agriculture.

-*Pour la quantification*, la meilleure efficacité a été obtenue avec un procédé qui permet une bonne purification par un traitement diphasique et qui diminue les phénomènes d'adhésion des oeufs par l'utilisation d'une

**solution de désorption composée d'hypochlorite de Na et de soude. La concentration des oeufs est obtenue par une flottation dans une solution de  $ZnSO_4$  ( $d=1.3$ ) et la quantification est réalisée au microscope optique (100x).**

**-Pour l'analyse de la viabilité des oeufs de nématodes, un protocole d'extraction-concentration comprenant un traitement diphasique avec une solution de détergent (SDS: 0.01%), une double filtration sur filtre de 500 et 100  $\mu m$ , une double flottation dans une solution de NaCl saturée ( $d=1.19$ ), a été élaboré. Ensuite la mise en culture des oeufs est réalisée dans de l'eau désionisée sous aération continue pendant 16 jours, enfin les oeufs sont dénombrés et le pourcentage d'oeufs au stade larvaire est calculé.**

**Au niveau de la stratégie d'échantillonnage et de la prise de décision, deux cas de figure ont été développés: la quantification dans les eaux usées épurées et l'analyse de la viabilité.**

**-Pour les eaux usées épurées, le modèle appliquant la loi de Poisson permet de définir 4 situations en fonction du nombre de prélèvement de 5 litres (n) et du nombre d'oeufs dénombrés (x):**

- \*l'eau est considérée comme non conforme (concentration  $>$  à 1 oeuf/L, risque  $\alpha <$  à 5%)**
- \*l'eau est considérée comme conforme (concentration  $c$  à 1 oeuf/L, risque  $\beta <$  à 5%)**
- \*l'eau est déclarée en surveillance (concentration obtenue  $>$  à 1 oeuf/L, risque  $\alpha \geq$  à 5%) et ne peut être utilisée avant confirmation du résultat par d'autres analyses.**
- \*l'eau est déclarée en surveillance (concentration obtenue  $\leq$  à 1 oeuf/L, risque  $\beta \geq$  à 5%) et peut être utilisée avant confirmation du résultat par d'autres analyses .**

**-Dans le cas de la viabilité, l'analyse des résultats à partir du modèle utilisant la loi binomiale montre que les concentrations en oeufs d'helminthes dans les boues imposent le développement de techniques permettant d'analyser une prise d'essai importante afin de travailler sur un volume de boues et sur un nombre d'oeufs représentatifs.**

**A l'aide des techniques précédemment développées, il a été possible d'évaluer le degré de contamination parasitaire (quantification et viabilité) de différents types de prélèvements: eaux usées brutes et épurées, boues urbaines, sédiments de lagunage, composts, sols et herbes .**

**-Globalement, la contamination est fréquente dans les nombreux échantillons analysés avec des concentrations :**

- dans les boues de l'ordre de 130 oeufs/100 g de MS,**
- dans les sédiments de lagunage, 56 à 569 oeufs/100 g de MS,**
- dans le compost, 40,8 oeufs/100 g de MS,**
- dans les eaux usées brutes, 0,07 à 0,43 oeufs/litre,**
- dans les eaux usées épurées,  $<$  à 0,004 oeuf/litre.**

**-L'étude de la viabilité d'oeufs de nématodes extraits des échantillons précédents a confirmé la résistance des oeufs d'helminthes aux traitements biologiques mésophiles (Digestion aérobie et anaérobie, lagunage).**

**Dans le cas des composts et de boues traitées à la chaux, la mise en évidence d'oeufs viables démontre la nécessité de parfaitement définir certains paramètres lors du compostage (t°, homogénéité, durée du traitement,...) ou du chaulage (pH, durée de stockage,...) pour permettre une réelle efficacité sur la viabilité des oeufs d'helminthes.**

**-Cette étude a été complétée par le suivi dans l'environnement de la contamination parasitaire lors d'épandage de boues sur une terre labourée et sur une prairie.**

**Sur parcelle labourée, il est constaté une élimination plus rapide de la contamination en surface par rapport aux horizons plus profonds.**

**Sur prairie naturelle en 8 semaines 95 % de la contamination avait disparu de la surface foliaire des herbes.**

**On constate donc que les conditions météorologiques (t°, dessiccation, lessivage,...) favorisent dans une grande part la destruction ou l'élimination des oeufs d'helminthes présents en surface de labour ou sur les herbes.**

**Enfin le suivi de la survie des oeufs d'*Ascaris* dans différentes conditions a été réalisé.**

**-L'étude de l'impact de basses températures, du pH et du stockage a montré:**

- une grande résistance au froid (de -3°C à -18°C)**
- un impact des fortes valeurs de pH (>13) après une durée suffisamment longue (>1mois)**
- une décroissance de la viabilité en cas de stockage dans différents types de boues avec une survie de l'ordre de 1 an pour les boues de digestion anaérobie et aérobie et des durées de survie plus faibles (de 90 à 180 jours) pour les boues de physico-chimie chaulées ou non.**

**-Une étude plus approfondie de l'impact du chaulage sur la survie de l'oeuf d'*Ascaris* a montré l'efficacité de ce traitement quelque soit le type de boues mais avec cependant la nécessité d'un respect de 3 paramètres:**

- une teneur en MS supérieure à 20%**
- des concentrations en chaux permettant un pH initial de 12,5-13,0**
- une stabilité du pH à des valeurs supérieures à 12,00 - 12,40 pendant 2 à 3 mois.**

**-De même, une étude de la survie dans des sols de type argile-limoneux et sableux confirme la forte influence des facteurs humidité et température sur la viabilité des oeufs avec une destruction rapide (> 90% en 60 jours) dans le cas où sont associés des températures élevées (30°C) et de faibles taux d'humidité (4%).**

**-Enfin l'étude de la survie sur différents végétaux (plants de tomates et concombres) n'a pas montré une capacité de survie très importante (t° diurne: 18,5°C et t° nocturne: 14°C, humidité relative: 75 à 80%). En effet après 30 jours 94 à 100% des oeufs avaient perdu leur caractère viable.**

**Que ce soit pour l'étude de la survie dans les sols ou sur les végétaux, on constate que la survie des oeufs d'helminthes nécessite des conditions de température et d'humidité précises. Dans les cas contraires, la persistance des oeufs se trouve limitée à des durées variant de 1 à 3 mois.**

**L'ensemble de ce travail a permis de cerner certains paramètres de la contamination parasitaire des boues, lors de la valorisation agricole. Il conviendrait d'en tenir compte pour aboutir à une utilisation où les risques de transmission des maladies parasitaires deviendraient très faibles ou voire négligeables.**