

## Identification des bactéries du compostage des déchets putrescibles de l'École Supérieure Polytechnique de Dakar. Évolution des Coliformes fécaux (C.F.), *Escherichia coli* (*E. coli*), bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR), *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudo. a*) au cours de la phase thermophile

Augustin Martial HERHAJANIAVO<sup>1</sup>, Falilou Mbacké SAMBE<sup>2\*</sup>, Modou DIENG<sup>3</sup>,  
 ANDRIANARY Philippe Antoine<sup>1</sup> et Codou MAR DIOP<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, Madagascar

<sup>2</sup> Laboratoire d'Electrochimie et des Procédés Membranaire (LEPM),  
 Ecole Supérieure Polytechnique de Dakar, Sénégal

<sup>3</sup> Laboratoire de Microbiologie Appliquée et de Génie Industriel (LMAGI),  
 Ecole Supérieure Polytechnique de Dakar, Sénégal

\* Correspondance, courriel : [khasambe@gmail.com](mailto:khasambe@gmail.com)

### Résumé

Le présent travail est basé sur l'étude de l'évolution de 4 types de bactéries identifiées pendant la phase thermophile du compostage tels que *Coliformes fécaux* (C.F.), *Escherichia coli* (*E. coli*), bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR), de *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudo. a*). Il est aussi focalisé sur la présence de certains microorganismes pathogènes dans le compost fini. Dans cette étude nous avons constaté que *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ont une population plus faible durant la phase thermophile. En particulier *Escherichia coli* est inhibé et quasi détruit au cours de cette phase. D'autre part *Pseudomonas aeruginosa* présente avec une quantité faible et variée, malgré cela la quantité maximale n'excède pas de 580 (UFC) / g. Durant la phase thermophile les coliformes fécaux (C.F) et les Bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) se trouvent en quantité faible. Le nombre de C.F a augmenté progressivement juste avant le début de la phase mésophile. On note également la présence de coliformes fécaux et des différentes bactéries comme les bactéries anaérobies sulfito-réductrices, *Pseudomonas aeruginosa* dans le compost.

**Mots-clés :** *Pseudomonas. coli*, *bactéries anaérobies sulfito-réductrices*, *Coliformes fécaux*, *thermophiles*, *mésophiles*, *compostage*.

### Abstract

Identification of bacteria from composting of putrescible waste from the Ecole Supérieure Polytechnique in Dakar. Evolution of fecal coliforms (C.F.), *Escherichia coli* (*E. coli*), sulfon-reducing anaerobic bacteria (ASR), *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudo a*) during the thermophilic phase

This work is based on the study of the evolution of 4 types of bacteria identified during the thermophilic phase of composting such as fecal Coliform (FC), *Escherichia coli* (*E. coli*), sulfite-reducing anaerobic bacteria (ASR), *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudo. a*). It is also focused on the presence of certain pathogenic microorganism

in the finished compost. In this study we found that *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* have a lower population during the thermophilic phase. Especially for *Escherichia coli*, they inhibited and almost destroyed during this phase. On the other hand the *Pseudomonas aeruginosa* present with a small amount and varied, despite that the maximum quantity does not reach more than 580 / g. During the thermophilic phase Fecal Coliform (FC) and sulfite-reducing anaerobic bacteria (ASR) appear in small quantities. The coliformes fécaux (CF) is gradually increased just before of the mesophilic phase. The presence of Fecal coliform and differents types of bacteria as sulfite-reducing anaerobic bacteria, *Pseudomonas aeruginosa* were also found in the compost.

**Keywords :** *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, sulfite-reducing anaerobic bacteria, fecal Coliform, thermophilic, mesophilic, composting.*

## 1. Introduction

Les déchets produits à l'Ecole polytechnique de Dakar quotidiennement sont riches en matière organique et presque les  $\frac{3}{4}$  de ces déchets sont biodégradables d'après des séances de triages. Ce sont des types de déchets ménagers et composés en générale par des feuilles mortes, papiers, cartons, restes alimentaires. La gestion de ces déchets et leur élimination sont alors une obligation. Leur mise en décharge étant difficile à gérer, leur incinération coûteuse, le compostage devient alors une solution pratique et simple. Il présente de nombreux avantages dont le principal étant la valorisation des déchets pour la production d'un amendement organique stable. La méthode par compostage est un procédé de valorisation les plus avantageux car ces déchets pourraient être valorisés comme engrais biologique. D'ailleurs le compost est également un produit très riche en adjuvant pour la croissance des plantes. Selon Basalo et Golueke, le recyclage des déchets ménagers après compostage est actuellement considéré comme une des composantes du développement durable [1, 2]. En effet l'introduction du compost mûr dans le sol est donc une solution pour le maintien de la matière organique dans le sol [3]. Selon ITAB, les matières organiques sont dans beaucoup de sols pauvres, la principale composante du complexe absorbant, c'est à dire la source des charges retenant les cations [4]. Dans le processus du compostage, les microorganismes jouent le rôle le plus important sur la formation du compost. En outre, une des caractéristiques principales du compostage est la production de la chaleur due aux réactions exothermiques d'oxydation. Cette production de la chaleur représente une mesure indirecte de l'activité microbiologique. Soulignons que les microorganismes sont les responsables principales de dégradations des matières organiques présents au cours du compostage ainsi que les changements de l'état physique et biologique des matières durant le processus. Les successions de communautés microbiennes au cours du compostage sont bien connues [5, 6] et même dans le compost produit après compostage des déchets, plusieurs germes pathogènes peuvent être présents [7]. De ce fait, nous avons essayé d'identifier des types de bactéries dans la phase thermophile ainsi que ses évolutions jusqu'au début de la phase mésophile.

## 2. Matériel et méthodes

Avant tout, les déchets collectés ont subi un prétraitement (triage). Pour ce faire, les matières non dégradables ont été séparés de ceux qui sont dégradables. Les déchets sont composés par des feuilles, des tiges des arbres, des cartons, des tissus et qui sont introduit dans l'andain pour le démarrage du processus de compostage. Les caractéristiques chimiques des matières premières utilisées dans le compostage ont été déterminées et présentées dans le tableau ci-dessous.

## 2-1. Caractéristiques chimiques des matières premières

**Tableau 1 : Caractéristique du déchet**

Paramètres	Valeur
Teneur en carbone organique (%)	86.6
Teneur en matière organique total (%)	91.180
Teneur en matière minéral (%)	8.819
Teneur en azote (%)	2.1
Phosphore (ppm)	795.57
C / N	43.23

L'adjuvant utilisé pour le compostage c'est un compost obtenu à partir de compostage de boue mélangée avec des déchets verts et des ordures biodégradables. Ses caractéristiques figurent dans ce **Tableau** ci-dessous :

**Tableau 2 : Caractéristiques de l'adjuvant**

Paramètres	Valeur
Teneur en carbone organique (%)	36.27
pH	7.3
Teneur en matière organique total (%)	51.972
Teneur en matière minéral (%)	48.027
Teneur en azote (%)	2.24
Phosphore (ppm)	1771.57
C / N	16.92

## 2-2. Conditions de compostage

La technique du compostage utilisée dans ces études est le compostage en tas. Il permet de composter les matières premières biodégradables sous formes de tas. Les matières premières sont disposées en tas de 1.20 m de hauteur et de 2.25 m<sup>2</sup> de surface. Le tas est retourné chaque semaine afin d'assurer une bonne aération et éviter également la surchauffe, deux conditions nécessaires qui permettent de maintenir les activités optimales des décomposeurs [8]. De plus cela permet une fermentation aérobie. Cette fréquence a été maintenue jusqu'à la fin du compostage.

## 2-3. Echantillonnage avant l'analyse

Les échantillons sont prélevés à l'occasion du retournement. Tout le matériel (pinces, ouvres boites, etc.) a été préalablement stérilisé et flambé à l'alcool éthylique 90° immédiatement avant l'emploi et refroidi. Les échantillons sont prélevés dans différents niveaux du tas de manière à obtenir un échantillon aussi représentatif que possible.

## 2-4. Analyse microbiologique

### 2-4-1. Dénombrement des coliformes fécaux

Le principe du milieu repose sur l'aptitude des coliformes à fermenter le lactose. Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des bactéries Gram positives et de certaines bactéries Gram négatives par la présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires. Le milieu gélosé lactosé bilié au cristal violet et au rouge neutre (V.R.B.L) (Conforme à la norme NF V 08-14) est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes.

### 2-4-2. Recherche et dénombrement des bactéries anaérobies-sulfito-réducteurs

La recherche permet de mettre en évidence un groupe de bactéries anaérobies caractérisées par la possibilité d'exister sous forme sporulée et par un équipement enzymatique réduisant plus ou moins activement les sulfites en sulfure. Dans ce groupe entrent les *clostridium* sulfito-réducteurs en particulier *clostridium perfringens*. Le milieu de dénombrement est la gélose T.S.N. réparti en tube à raison de 20 mL par tube. On laisse refroidir dans un bain-marie à 47° C si le milieu utilisé extemporanément. Dans le cas contraire, on fait fondre le milieu, puis on le régénère pendant 20 mn au bain-marie bouillant. De plus on laisse refroidir vers 47° C avant d'ensemencer.

### 2-4-3. Dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*

Le dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* s'effectue sur le milieu de culture gélose au cétrimide. C'est un milieu sélectif, qui permet l'isolement des *Pseudomonas* et notamment de *P. aeruginosa*. Ce milieu gélosé contient un antiseptique : le cétrimide (bromure de N-acétyl-N, N, N-triméthylammonium). L'utilisation de ce dérivé d'ammonium quaternaire comme agent sélectif produit une large inhibition des micro-organismes contaminants, inhibe suffisamment la flore d'accompagnement et permet une meilleure croissance de *Pseudomonas*. Ce milieu favorise la production de pigments par *P. aeruginosa* (pyoverdine et pyocyanine). Il s'agit de couler 17 ml de gélose cétrimide fondue ensuite d'étaler en surface environ 0,1 mL de l'inoculum et de ses dilutions et après d'incuber les boîtes retournées dans une étuve à 37° C (+ 1° C) pendant vingt-quatre heures ( $\pm$  deux heures). La dernière étape c'est de dénombrer les colonies verdâtres et vérifier l'oxydase (positive).

### 2-4-4. Dénombrement d'*E. coli*

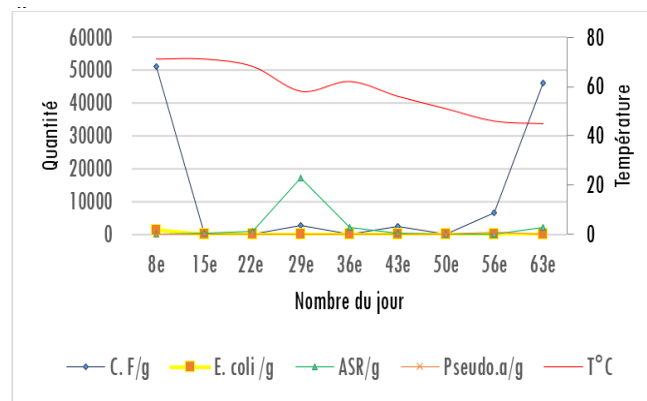
Le dénombrement d'*Escherichia. Coli* est réalisé sur milieu TBX. On dépose un inoculum de 0,1 mL de la suspension mère et des différentes dilutions de l'échantillon dans une boîte de Pétri contenant le milieu TBX refroidi. On incube les boîtes 24 h + / - 2 h à 44 °C + / - 1 °C. On compte toutes les colonies bleues-vertes aux dilutions retenues puis on ramène à la concentration de départ en multipliant le nombre de colonies par l'inverse du facteur de dilution de la boîte considérée.

## 3. Résultats et discussion

Après analyses, les résultats sont établis dans le **Tableau** ci-dessous. Le **Tableau** ci-dessous nous permet de tracer la courbes combinés suivantes qui présentent l'évolution des Coliformes fécaux (C.F.), *Escherichia coli* (*E. coli*), Bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR), *Pseudomonas aeruginosa* (*Pseudo. a*) au cours de la phase thermophile et dans le début de la phase mésophile (Température = 45° C).

**Tableau 3 : Résultat de l'évolution de C.F, E. Coli, ASR, Pseudo. A**

Date d'analyses	Jour	N° Echantillon	C.F. / g	E. coli / g	ASR / g	Pseudo. a. / g	Température °C
13/03/2015	8	1	51.10 <sup>3</sup>	1280	< 10	< 10	71
16/04/2015	15	2	< 10	< 10	300	< 10	71
23/04/2015	22	3	< 10	< 10	1000	< 10	68
30/04/2015	29	4	2700	< 10	17000	50	58
07/05/2015	36	5	< 10	< 10	2000	< 10	62
14/05/2015	43	6	2300	< 10	220	< 10	56
21/05/2015	50	7	< 10	< 10	1000	< 10	51
28/05/2015	56	8	6500	< 10	50	580	46
04/06/2015	63	9	46.10 <sup>3</sup>	< 10	2000	100	45



**Figure 1 : Évolution des Coliformes fécaux (C.F.), Escherichia coli (E. coli), Bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR), Pseudomonas aeruginosa (Pseudo. a)**

### 3-1. Pseudomonas aeruginosa et Escherichia coli

D'après les courbes ci-dessus *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ont une population plus faible durant la phase thermophile. A la première semaine de compostage, nous avons dénombré une importante quantité d'*Escherichia coli* (1280 UFC / g). Au bout de 15 jours, ce nombre a considérablement baissé voir nul durant la phase thermophile et jusqu'à la fin du processus. Quant à *Pseudomonas aeruginosa*, il apparaît alternativement lors du compostage. Ainsi, ce n'est qu'à la 4<sup>ème</sup>, à la 8<sup>ème</sup> et à la 9<sup>ème</sup> semaine, que nous avons pu dénombrer respectivement 50, 580 et 100 germes / mL. Cependant, il convient de souligner qu'à la 4<sup>ème</sup> semaine du processus, il y'a une augmentation anormale du taux de coliformes fécaux (2700 / g) et du taux de *Pseudomonas aeruginosa* 50 / g), compte tenu de la température élevée (58°C), qui est défavorable à leur croissance.

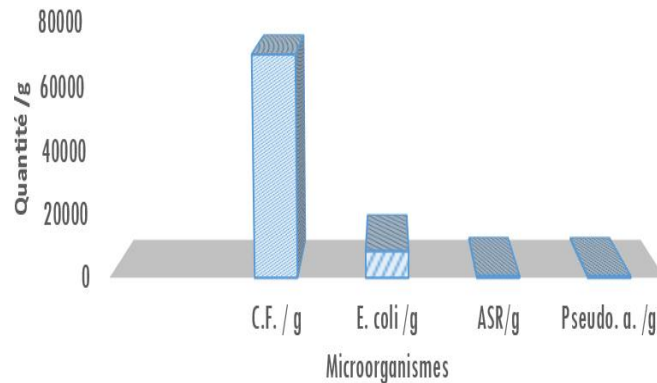
### 3-2. Les coliformes fécaux (C.F) et les Bactéries anaérobies sulfito-réductrices(ASR)

Durant la phase thermophile les coliformes fécaux (C.F) et les bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR) se trouvent en quantité faible particulièrement entre l'intervalle de température 71°C et 46°C est respectivement correspond au 8<sup>e</sup> et 56<sup>e</sup> jour de compostage. A partir du 56<sup>e</sup> jour, la quantité de C.F a augmenté progressivement. Il est remarqué également que la phase mésophile recommence à partir de 63<sup>e</sup> jour où la température atteint le 45°C qui est compris dans l'intervalle de la température du développement des microorganismes mésophiles (20°C et 45°C) [8].

### 3-3. Caractéristique bactériologique du compost

Le résultat des analyses bactériologiques du compost est représenté dans le tableau ci-dessous :

Date d'analyses : 19/06/2015



**Figure 2 : Histogramme des populations bactériennes du compost**

L'analyse microbiologique a révélé la présence des flores mésophiles aérobies totale ainsi que des coliformes fécaux et des différentes bactéries comme *les bactéries anaérobies sulfito-réductrices*, *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats sont également en accord avec ceux de [7] qui a montré la présence de plusieurs germes pathogènes dans le compost de déchets.

## 4. Conclusion

Les 4 types des bactéries (*Coliformes fécaux (C.F.)*, *Escherichia coli (E. coli)*, *bactéries anaérobies sulfito-réductrices (ASR)*, *Pseudomonas aeruginosa (Pseudo. a.)*) identifiés au cours de la phase thermophile se présentent en quantité faible. Ils sont quasi inhibés pendant cette phase. Nonobstant, au début de la phase mésophile, la population des *Coliformes fécaux (C.F.)* commence à accroître. Il est remarqué également que ces types de bactéries sont présents dans composte. Dans un processus de compostage aérobie où les températures avoisinent les 60°C pendant plusieurs semaines, il se produit une destruction efficace des agents pathogènes. Selon [9], l'augmentation de la température permet la destruction des agents pathogènes. Par contre la présence de quelques microorganismes dans ce compost a été remarquée et peut poser ainsi un risque pour la santé des utilisateurs. Selon [10], la présence de ces germes a pu être favorisée par la présence de lézards, de margouillats et d'insectes qui se réfugient dans les fosses. Ainsi, ce résultat nous permet de prendre une précaution pour la bonne protection du site de compostage contre ces insectes afin de conserver l'hygiène du tas jusqu'à la fin de la phase de maturation.

## Références

- [1] - C. BASALO, «Les ordures ménagères en agriculture.» *T.S.M. L'Eau*, 60 (1974) 15 - 23.
- [2] - C. G. GOLUEKE, «The biological approach to solide waste management.» *Compost Sci*, 18 (1977) 4 - 9.
- [3] - C. TIEJEN, «The potential of composting in developping countries.» *Compost Sci*, 16 (1975) 6 - 7.
- [4] - ITAB, Guide des matières organiques. Tome 1. Deuxième édition, (2001) 22 - 23 p.

- [5] - C. MONDINI & H. INSAM, «Community level physiological profiling as a tool to evaluate compost maturity : a kinetic approach.» *European Journal of Soil Biology*, 39 (2003) 141 - 148.
- [6] - J - C. TANG, T. KANAMORI, Y. INOUE, T. YASUTA, S. YOSHIDA & A. KATAYAMA, «Changes in the microbial community structure during thermophilic composting of manure as detected by the quinone profile method.» *Process Biochemistry*, 39 (2004) 1999 - 2006.
- [7] - R. HACHICHA, HASSEN. A. JEDIDI N, H. KALLALI, «Optimal conditions for MSW composting.» *Biocycle, J waste recyc*, 33.6 (1992) 76 - 77.
- [8] - R. V. MISRA, R. N. ROY, H. HIRAOKA, «Méthode de compostage au niveau de l'exploitation agricole.» *Document de travail sur les terres et les eaux*, 2.2 (2005).
- [9] - SIDHUJ, R. A. GIBBS, G. E. HO, UNKOVICH, Selection of salmonella Typhimurium as an indicator of pathogen regrowth potential in composted biosolids. *Letters in Applied Microbiology*, 29 (1999) 303 - 307.
- [10] - EMMANUEL COMPAORE, LEOPOLD S. NANEMA, SAÏDOU BONKOUNGOU, MICHEL P. SEDOGO, «Évaluation de la qualité de composts de déchets urbains solides de la ville de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso pour une utilisation efficiente en agriculture.» *Journal of Applied Biosciences*, 33 (2010) 2076 - 2083.