

# BOUES THERMALES

## EVALUATION et MAINTIEN de L'ETAT SANITAIRE des BOUES THERMALES

## AU COURS de l'usage et du recyclage

AFTH DAX  
le 26/11/2009  
Par Christel Pigasse

### COLLABORATIONS

- Afreth
  - | Appel à projet, Investisseur
  - | Projet 2006-2009
- Laboratoire d'auto-surveillance des stations thermales de Balaruc-Les-Bains
  - | Dirigé par J.F. Méric
  - | A l'initiative de l'appel à projet
  - | Fournisseur de matières premières
- Laboratoire de microbiologie industrielle, UPS Toulouse III
  - | Chargé de la réalisation de travaux scientifiques
  - | Sous la responsabilité du Pr Christine Roques
  - | Responsable des travaux de recherche, C.Pigasse



### OBJECTIFS

- Optimiser les méthodes d'évaluation des caractéristiques microbiologiques des boues.
- Evaluer et suivre la complexité de la flore microbienne au cours des différentes phases du process.
- Evaluer nouveaux process de traitement des boues en vue de recyclage.

### PHASE 1 - ECHANTILLONNAGE

- Substrats: sédiments, boues.
- Complexité du support : pâteux, agrégats.
- Paramètres d'échantillonnage.

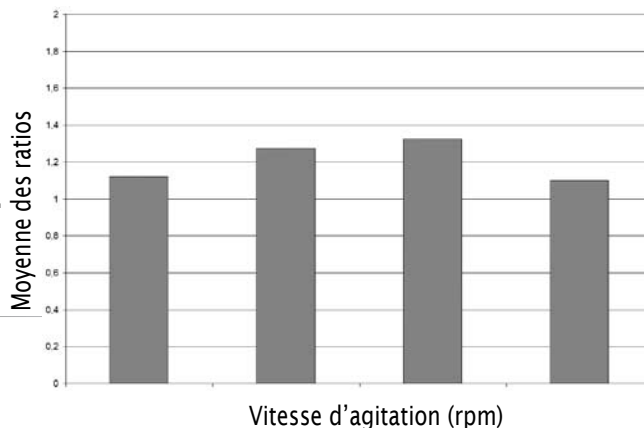


Solution analysable.

Conditions influençant peu la nature des substrats.

- Vitesse : Agitation de l'échantillon.
- Sédimentation de l'échantillon.
- Etalement vs inclusion : Cinétique de croissance.
- Milieu de culture: Flore totale, milieux sélectifs pour les germes indicateurs et recherchés.

- Vitesse
- Influence de la vitesse d'agitation.
- ⇒ Hétérogénéité des résultats.
- ⇒ 300 rpm, 30 min.



AFTH

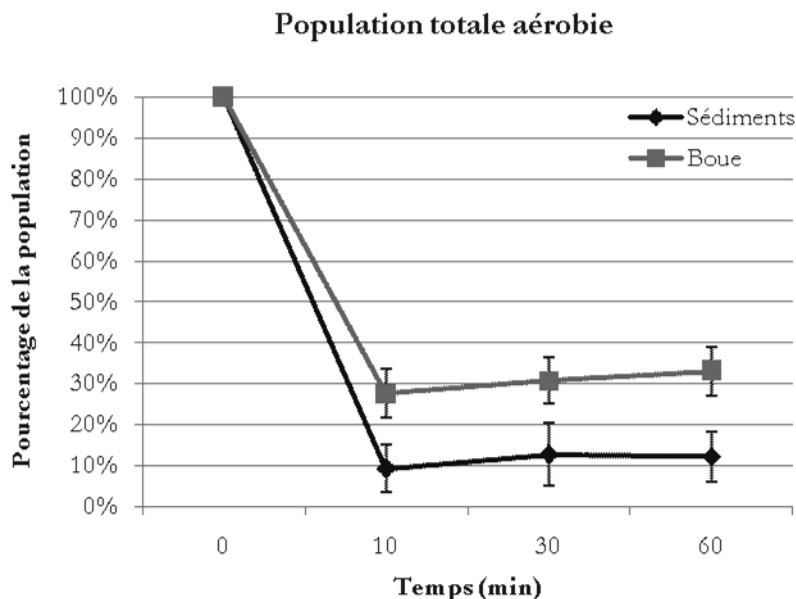
# EVALUATION et MAINTIEN de L'ETAT SANITAIRE des BOUES THERMALES

## AU COURS de l'usage et du recyclage

BOUES THERMALES

Afth

### ■ Sédimentation



⇒ Pertes importantes.

⇒ Paramètre déterminant pour l'analyse.

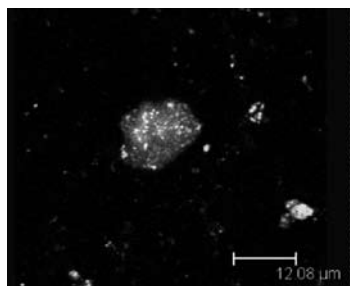
### ■ Ensemencement

- Etalement / Inclusion
- Problème pour l'identification (repiquage)
- Développement dans la gélose
- Microcolonies
- Envahissement des surfaces équivalent

### ■ Milieux et Culture

- TS/ R2A/ PCA 6j contre 7j
- 6 j : Croissance maximale
- 4 j : > 80% de la population
- 22-30-37°C

## PHASE 2 - OPTIMISATION RÉCUPÉRATION DE LA MICROFLORE



■ Dissociation des agrégats

■ Traitement des échantillons

■ Physique

■ Chimique

■ Interprétation indirecte, suivi de la microflore cultivable

# EVALUATION et MAINTIEN de L'ETAT SANITAIRE des BOUES THERMALES

## au cours de l'usage et du recyclage

BOUES THERMALES

Afth

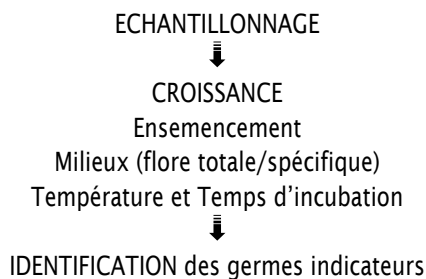
- Agents physiques
  - ▮ Ultra-sons :
    - Sonde +/- continu : **diminution/maintien** de la population.
    - Bain: Hétérogénéité. **Pas de condition optimale.**
  - ▮ Broyage :
    - 2500-6500rpm: Diminution de la flore de 2 à 1 min.
    - **Pas augmentation de la récupération.**
- Agents chimiques
  - ▮ EDTA :
    - Conditions modérées 0.01-0.2%. **Pas d'effet.**
  - ▮ Tween :
    - Conditions modérées 3-20% **Pas d'effet.**
  - ▮ Tampon alcalin :
    - Quelques essais positifs : **Peu reproductible.**
  - ▮ Diluant :
    - Peu significatif: **Peu reproductible.**

- Couplage de conditions modérées: Broyage/EDTA

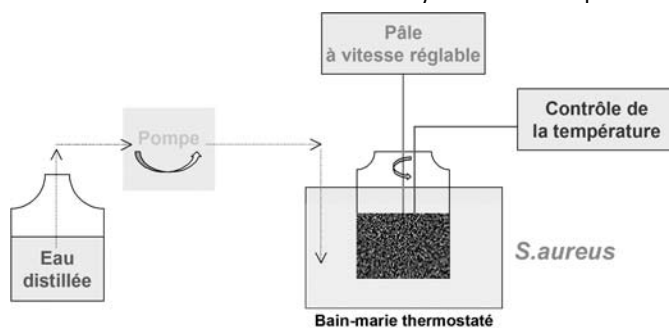
⇒ **HETEROGENEITE des résultats / Peu de REPRODUCTIBILITE**

Couplage : Dans les conditions testées, le couplage entre un broyage modéré et un échantillonnage en présence d'EDITAm n'a pas d'effet significatif sur la récupération de la microflore. La combinaison de ces paramètres ne permet pas de récupérer une flore microbologique plus importante.

### PHASE 3 - RÉDACTION D'UN PROTOCOLE D'ANALYSE



### PHASE 4 - HYGIÉNISATION : Système à 2 composants :



- Réacteur mimant le devenir de la boue thermique dans les trémies, avec contrôle de la vitesse d'agitation.

- Régulation de la température et maîtrise au cœur de l'échantillon.

# EVALUATION et MAINTIEN de L'ETAT SANITAIRE des BOUES THERMALES

## AU COURS de l'usage et du recyclage

BOUES THERMALES

Afth

A **température ambiante**, un maintien de la population totale endogène à la boue thermale est observé, d'un point de vue quantitatif. **Pour les essais à 40°C**, les variations sont plus importantes et sont caractérisées par une augmentation sur des temps longs. En ce qui concerne **les essais à 60°C**, la température impacte la quantité totale de micro-organismes du substrat de moins d'un facteur 6 pour le temps le plus long.

A **température ambiante**, une stabilité de la flore de la boue thermale ainsi que de *S.aureus* est notée. **Pour une température de 40°C**, un risque de croissance surtout pour la flore contaminante mésophile comme *S.aureus* est présent. **Dès 60°C**, une réduction de la flore de la boue est notable. Cette réduction est encore plus marquée lors d'une contamination par *S.aureus*, avec absence de détection dès 1h de mise en température.

*Ces premiers éléments, démontrant une efficacité d'un traitement à 60°C, doivent bien entendu être confirmés et validés sur site. Notamment, nos conditions d'essai en fermenteur permettent d'assurer une atteinte de la température au sein du sédiment. Ce facteur très important devra faire l'objet d'un contrôle sur site.*

### PHASE 5 - OUVERTURE VERS DES TECHNIQUES ALTERNATIVES

- Cytométrie en flux :  
Difficulté de réalisation (mélange complexe) + limite de quantification
- Observations confocales
- Analyse génomique : Validation de la phase d'extraction

### FINALITE

L'ensemble de ces travaux a conduit à :

- proposer un protocole standardisé de réalisation des analyses en vue de l'évaluation de la qualité microbiologique des boues thermales,
- proposer des conditions de conservation des échantillons avant analyse,
- évaluer la faisabilité de méthodes alternatives pour le suivi de la complexité de la flore.
- valider en préliminaire un process d'hygiénisation par traitement thermique de la boue thermale.

### COMMUNICATIONS

- PROJET: Presse Thermale et Climatique (2006)
- TRAVAUX :
  - Communication orale (2006) : 1<sup>er</sup> Symposium thermal européen, Aix-les-Bains
  - Poster (2007) : BioMicroWorld- II International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology.
- PROJET: Presse Thermale et Climatique (2006)
- PROTOCOLE
  - Site AFRETH
  - Presse Thermale et Climatique (2009) : Protocole d'analyse microbiologique de substrats thermaux, boue thermale et sédiments.
  - Publication scientifique (en cours de rédaction).