

Méthodologie d'échantillonnage et d'analyse pour l'évaluation du taux d'abattement en coliphages somatiques dans les boues

Prélèvements des échantillons

Les prélèvements des boues brutes non traitées et des boues après stockage seront réalisés conformément aux prescriptions de l'annexe V de l'arrêté du 8 janvier 1998 susvisé.

Prise en charge des échantillons

Le laboratoire doit effectuer un contrôle des échantillons à réception lors de l'enregistrement. Ce contrôle porte sur l'intégrité des échantillons, la conformité de l'identification, du nombre de flacons, du délai entre l'échantillonnage et la réception et de la température de l'enceinte frigorifique (5 ± 3 °C). Le délai entre l'échantillonnage et l'analyse par le laboratoire ne doit pas dépasser 72 heures.

Méthode d'analyse

Homogénéisation

Les échantillons sont homogénéisés au blender pendant 30 s avant prélèvement d'une prise d'essai de 25 g (poids humide) contrôlée gravimétriquement. Cette prise d'essai est ensuite transférée dans un contenant stérile hermétique d'un volume minimal de 500 mL.

Elution

Une solution tampon stérile est ajoutée jusqu'à atteindre un volume de 250 mL. Un barreau aimanté stérile est ajouté et l'échantillon est agité pendant 15 à 20 minutes à température ambiante.

Clarification

L'échantillon est transféré dans un tube stérile et centrifugé à 4 000 g à une température de 4 ± 2 °C pendant 30 minutes ; le surnageant est récupéré.

Décontamination

Le surnageant est récupéré à l'aide d'une seringue stérile et filtré à l'aide d'un filtre seringue avec une membrane polyethersulphone de taille de pores 0,2 µm.

Le volume total à décontaminer dépend de la densité de coliphages somatiques et donc du type de boues.

Le filtrat est récupéré dans un flacon stérile hermétique et transféré immédiatement à 5 ± 3 °C jusqu'à l'énumération qui doit être réalisée dans les 12 heures.

Enumération et dénombrement des bactériophages

La méthode de détection et de dénombrement des coliphages somatiques devra reposer sur les principes des normes NF EN ISO 10705-2.

Détermination du taux de matière sèche

Une analyse du taux de matière sèche est réalisée sur chaque échantillon selon les principes de la norme NF EN 12880.

Expression des résultats

Les résultats d'analyses des concentrations en coliphages sont exprimés par le laboratoire en pfu/g de matière brute (pfu : plaque forming unit) ou en pfu/g de matières sèche.

Performance de la méthode

Les principes de la norme NF EN ISO 10705-3 Qualité de l'eau - Détection et dénombrement des bactériophages - Partie 3 : validation des méthodes de concentration des bactériophages dans l'eau sont respectées et les limites de quantification et de détection suivante sont respectées :

- limite de quantification 40 UFP/g MB ;
- limite de détection : 10 UFP/g MB.

Méthode de calcul du taux d'abattement

Les concentrations en bactériophages mesurées par le laboratoire en pfu/g de matière brute ont été converties en pfu/g de matière sèche.

Le taux d'abattement est calculé en comparant la concentration en coliphages somatiques mesurée dans les boues brutes non traitées (C0) et celle mesurée dans les boues traitées après stockage (C) :

Taux d'abattement = $\log(C0/C)$

C0 : concentration initiale en coliphages somatiques exprimée en pfu/g de matière sèche

C : concentration en coliphages somatiques après la durée de stockage exprimée en pfu/g de matière sèche

Les concentrations mesurées inférieures à la limite de détection sont remplacées par la moitié de cette limite.

Définition de lot au sens de l'arrêté :

Un lot représente une quantité de matières produites sur une période identifiée dans des conditions analogues. Il est caractérisé par une analyse représentative de la période de production. Son cheminement de la production à l'épandage sur une ou plusieurs parcelles agricoles est identifié. Dans le cas des boues liquides, un lot sera nécessairement restreint à la capacité du stockage.

Source :

- [Arrêté du 20 avril 2021 modifiant l'arrêté du 30 avril 2020 précisant les modalités d'épandage des boues issues du traitement des eaux usées urbaines pendant la période de covid-19](#)