

Viabilité des œufs d'*Ascaris* dans les boues résiduaires

Khalid KHALLAAYOUNE¹ & Fatiha FETHI²

(Reçu le 26/07/1995 ; Accepté le 27/10/1995)

دراسة تجريبية لعيش بويضات الأسكاريس في الأوحال

إن تعرض الأوحال الراسبية المحتوية على بيض "الباراسكاريس" لدرجات حرارية مختلفة، أثبت على أن التطور الأمثل لهذا البيض يتم ما بين 25° و 35°. عتبة تحمل بيض "الباراسكاريس" المحضون في 10° هي 7 أسابيع حيث إن هذا البيض يبدأ تطوره الجنيني ببطء و لكنه يموت خلال السبعة أسابيع الأولى دون أن يصل إلى المرحلة الجنينية. بينما في 45°، بيض "الباراسكاريس" يبدأ تطوره الجنيني خلال الأسبوع الأول، و لكن الأجنة تموت بعد 5 أسابيع. في 55°، المرحلة التقطعية للبيض تبدأ في الساعات الأولى للتخصين، و لكن الأجنة تموت بعد يومين من ذلك. نظرا لمقاومة بيض "الأسكاريس" لدرجات حرارية مرتفعة، فقد تم استنتاج أن طرق معالجة الأوحال يجب أن تبقى على درجات حرارية تفوق 55° لمدة أسبوع على الأقل، و ذلك قصد القضاء على بيض "الاسكاريس" و السماح بإعادة استعمال الأوحال في الفلاحة دون أي خطر صحي.

الكلمات المفتاحية : الوحل الراسب - المياه العادمة - ديدان - بيض - البقاء على الحياة - باراسكاريس إيكووروم - حرارة.

Viabilité des œufs d'*Ascaris* dans les boues résiduaires

L'exposition de boues résiduaires, expérimentalement ensemencées avec des œufs de *Parascaris equorum*, à différentes températures montre que le développement optimal des œufs s'effectue entre 25 et 35°C. Les œufs incubés à 10°C entament une embryogenèse très lente, mais dégénèrent au bout de 7 semaines sans parvenir au stade larvaire. À 45°C, les œufs s'embryonnent dès la première semaine, mais les larves ne survivent pas plus de 5 semaines. À 55°C, la segmentation se déclenche durant les premières heures d'incubation, mais les embryons dégénèrent au bout de 2 jours. Il est suggéré qu'en raison de la résistance des œufs d' *Ascaris*, aux températures élevées, les procédés de stabilisation des boues résiduaires doivent maintenir une température supérieure à 55°C, pendant au moins une semaine, afin de neutraliser les œufs d' *Ascaris*, ce qui permet une réutilisation de ces boues en agriculture sans risque sanitaire.

Mots clés : Boue résiduaire - Eaux usées - Œufs - Helminthe - *Parascaris equorum* - Viabilité - Température

Viability of *Ascaris* eggs in sewage sludge

Exposure of sewage sludge artificially contaminated with *Parascaris equorum* eggs to various temperatures shows that optimal development occurs at a temperature range of 25 to 35°C. Eggs incubated at 10°C start embryogenic development slowly, but die within 7 weeks without reaching the larval stage. At 45°C, eggs start their development from the first week, but do not resist more than 5 weeks. At 55°C, blast cell development occur during the first hours of incubation, but the embryos die within the following 2 days. It is suggested that due to resistance of *Ascaris* eggs to high temperature, the methods of sludge treatment should maintain a temperature above 55°C for at least one week to deactivate the *Ascaris* eggs and allow a reuse of sludge without public health risks.

Key words : Sewage sludge - Waste water- Eggs - Helminth - *Parascaris equorum* - Viability - Temperature

¹ Département de Parasitologie et Maladies parasitaires, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6202- Institut 10101 Rabat, Maroc

² Laboratoire de l'Eau et de l'Environnement, Faculté des Sciences, Université Chouaïb Doukkali, El Jadida, Maroc

✦ Auteur correspondant

INTRODUCTION

La plupart des procédés de traitement des eaux usées génèrent de grandes quantités de boues résiduaires dont la réutilisation en agriculture est limitée en raison des restrictions sanitaires imposées par l'OMS (1989). En effet, de par leur richesse en éléments nutritifs pouvant être utilisés pour l'amendement des sols, ces boues concentrent de grandes quantités d'éléments toxiques d'origine minérale et organique ainsi que de nombreux microorganismes pathogènes pour l'Homme et l'animal (Thevenot, 1988).

Dans les eaux usées, les agents pathogènes d'origine bactérienne ou virale ne survivent pas plus de 3 semaines lorsqu'ils sont exposés à des températures supérieures à 20°C (Boutin *et al.*, 1984) alors que les œufs d'helminthes, et en particulier ceux d'*Ascaris*, sont doués d'une grande résistance pouvant dépasser 5 ans dans la nature (Soulsby, 1982). La survie des œufs d'*Ascaris* dans les boues peut, ainsi, augmenter les risques d'infestation de l'Homme ou de l'animal, directement ou indirectement, par ce parasite lors de la réutilisation des boues à des fins agricoles (O.M.S., 1989), surtout si les œufs sont ingérés à un stade infestant.

Le présent travail se propose d'étudier la survie des œufs d'*Ascaris* dans des boues résiduaires exposées à différentes températures. Le but principal est de déterminer le seuil de tolérance de ce parasite à la chaleur en vue de proposer un moyen de stérilisation qui serait en mesure de réduire le risque sanitaire lors de leur réutilisation de ces boues en agriculture.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Dans la présente étude, les œufs de *Parascaris equorum* ont été utilisés du fait qu'ils sont faciles à obtenir et que leur développement dans le milieu extérieur est similaire à celui des autres espèces d'*Ascaris* parasites des mammifères domestiques (Soulsby, 1982).

Les œufs de *Parascaris equorum* sont obtenus par dissection de femelles gravides prélevées dans l'intestin de cheval. La suspension récupérée est filtrée sur un tamis métallique (diamètre = 0,1mm) afin d'éliminer les débris grossiers, puis conservée à 4°C.

Les boues résiduaires proviennent des lits de séchage de la station de traitement à boues activées

de la ville de Khouribga. C'est une station de type aération prolongée qui traite les eaux usées domestiques de la ville. Les boues ont déjà été épaissies et ont séjourné 1 mois dans les lits de séchage, leur taux d'humidité relative était en moyenne de 85% et leur pH de 7-7,5.

Les boues sont stérilisées par autoclavage à 120°C pendant 20 mn et réparties dans des boîtes de Pétri contenant chacune 20 g de boue, puis ensemencées avec une suspension d'œufs de *Parascaris equorum* titrée à 2500 œufs/ml. Les échantillons sont ensuite incubés à des températures constantes de 10°C, 25°C, 35°C, 45°C ou 55°C.

Une fois par semaine, un échantillon de boue est examiné pour déterminer l'état de développement des œufs. Pour les boues incubées à 55°C, les examens sont effectués tous les deux jours. L'échantillon de boue est pesé, humidifié avec de l'eau distillée (P/V) puis soumis à une agitation pendant 5 mn, et enfin le contenu est filtré à travers un tamis (diamètre = 0,85mm). Le filtrat est mélangé avec le détergent SDS (10%) (V/V) puis centrifugé à 1200 tours par minute pendant 5mn. Le culot obtenu est ensuite lavé à l'eau distillée (3 à 4 fois) jusqu'à élimination totale du détergent.

Les œufs sont concentrés à partir du culot par la technique d'Arther *et al.* (1981) et incubés dans la gélose à 20 pendant 21 jours à 25°C pour déterminer leur viabilité. Au cours des examens microscopiques (Gx100), les œufs sont considérés viables lorsqu'ils sont embryonnés ou lorsqu'une segmentation, en 8 blastomères au minimum, est observée à l'intérieur de la coque (Stien, 1989).

RÉSULTATS

Les taux de viabilité les plus élevés des œufs de *Parascaris* sont observés à 25°C et à 35°C. À ces températures, les œufs poursuivent un développement embryonnaire optimal, et ne dégèrent complètement que vers le troisième mois d'exposition. Toutefois, à 35°C, le pourcentage en œufs viables est plus élevé et la période d'embryonnement est plus courte qu'à 25°C (Figures 1 & 2).

Pour les œufs incubés à 10°C et à 45°C, l'embryogenèse est arrêtée respectivement vers la 8ème et la 6ème semaine. La plupart des œufs qui ont dégénéré à 10°C ont été ceux qui n'avaient pas entamé leur embryogenèse, alors que ceux qui sont arrivés à s'embryonner dès les premiers jours

d'incubation sont restés viables jusqu'à la 7ème semaine (Figure 3). À 45° C, la majorité des œufs qui avaient dégénéré avaient déjà entamé ou, le plus souvent complété, leur embryogenèse (Figure 4).

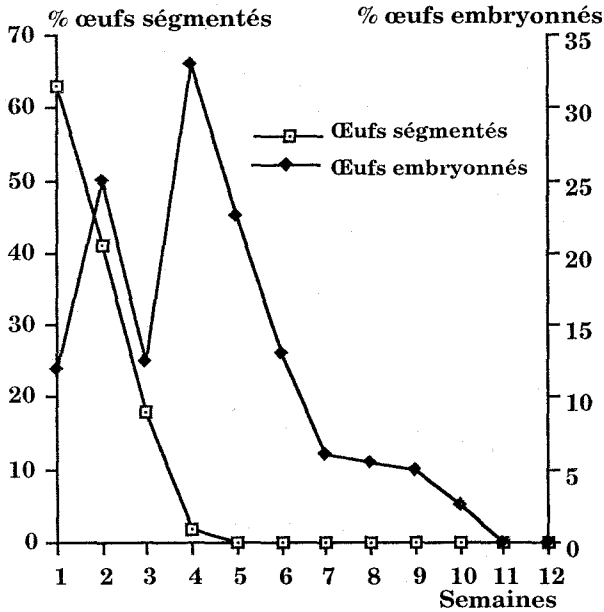


Figure 1. Évolution du taux en œufs viables incubés dans la boue à 25°C

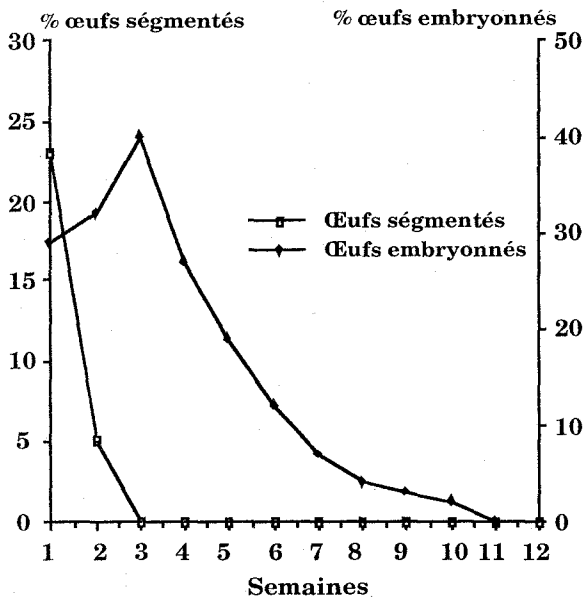


Figure 2. Évolution du taux en œufs viables incubés dans la boue à 35°C

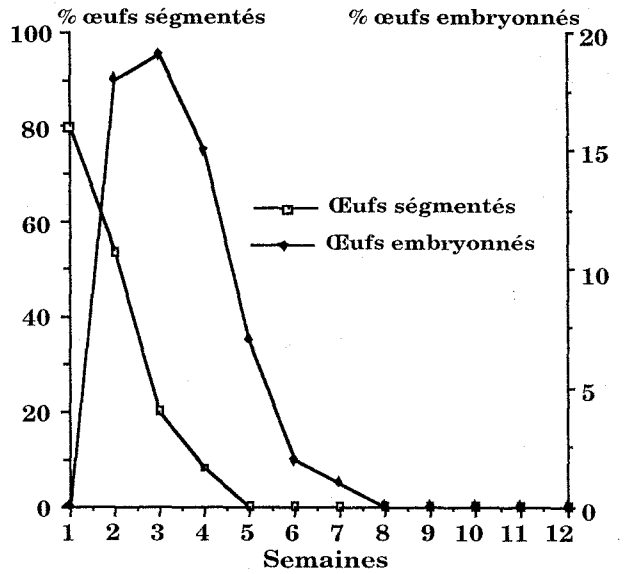


Figure 3. Évolution du taux en œufs viables incubés dans la boue à 10°C

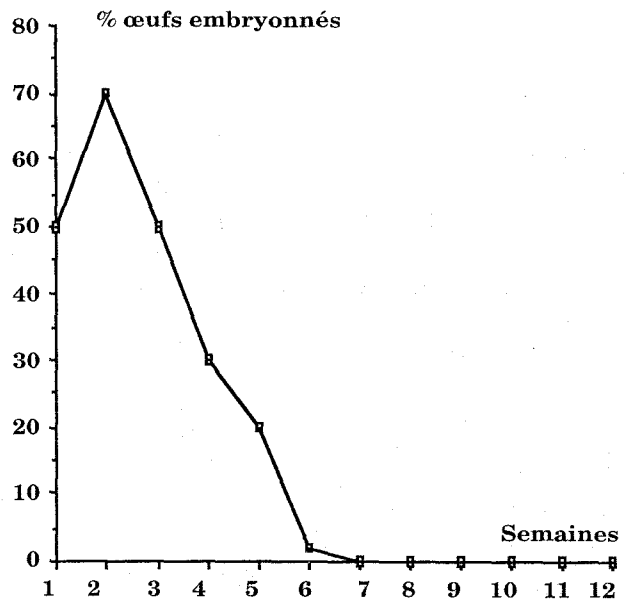


Figure 4. Évolution du taux en œufs viables incubés dans la boue à 45°C

À 55°C, tous les œufs avaient dégénéré dès la première semaine d'incubation. Afin de mieux évaluer la cinétique d'abattement des œufs à cette température, on a procédé à des observations tous les deux jours. Ceci a permis de noter que 69% des œufs avaient dégénéré au bout de 2 jours d'incubation (Figure 5).

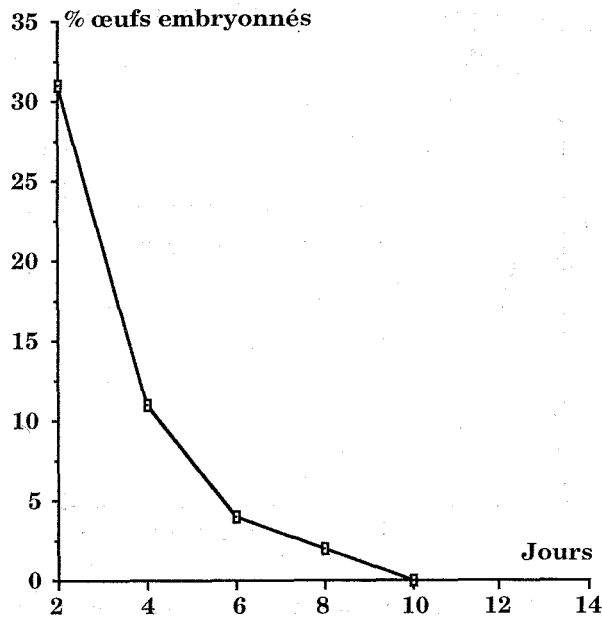


Figure 5. Évolution du taux en œufs viables incubés dans la boue à 55°C

DISCUSSION

Les résultats obtenus montrent que le développement optimal des œufs de *P. equorum* s'effectue à un intervalle de températures compris entre 25° C et 35° C.

Le seuil de tolérance des œufs incubés à 10°C est de 7 semaines. À cette température, les œufs entament une embryogenèse très lente, mais finissent par dégénérer au bout de 7 semaines sans parvenir au stade larvaire. Alors qu'à 45°C, les œufs s'embryonnent dès la première semaine, mais ne résistent pas plus de 5 semaines à cette température. À 55°C, la segmentation des œufs se produit durant les premières heures d'incubation, mais les cellules dégèrent au bout de 2 jours.

Ces résultats confirment bien l'hypothèse d'Antipin (1940) selon laquelle la durée de développement des œufs de *P. equorum* est intimement liée à la température du milieu environnant. Selon le même auteur, le stade infectant est atteint au bout 8 jours à 25°C et le développement des œufs cesse complètement à des températures inférieures à 10°C ou supérieures à 39°C.

L'incubation à 25°C montrait que les œufs de *P. equorum* restent viables jusqu'à 3 mois. Arther *et al.* (1981) ont démontré que les œufs d'*Ascaris suum* peuvent survivre plus d'une année dans la boue où les conditions d'humidité, de température et d'aération sont réunies. De même Katakura *et al.* (1986) ont rapporté que 94-99% des œufs d'*Ascaris* enfouis dans le sol arrivaient à maintenir leur viabilité pendant plus d'une année.

À 35°C, le taux de viabilité des œufs de *P. equorum* était seulement de 12 % après 6 semaines d'incubation. Des résultats similaires ont été rapportés par Barbier *et al.* (1989) selon lesquels 12% seulement des œufs d'*Ascaris* sont restés viables après 6 semaines d'incubation à 37°C.

Par ailleurs, Bhaskaran *et al.* (1956) ont signalé que dans un compost d'excréta humains et d'ordures ménagères où la température a été maintenue à 30-32°C, les œufs d'*Ascaris* disparaissent qu'au bout de 3 mois.

Tous ces résultats démontrent que les températures qui dépassent 30°C, bien qu'elles favorisent le déclenchement du processus d'embryonnement des œufs, sont défavorables pour le développement et la survie des larves.

De nombreux auteurs ont confirmé que les températures qui dépassent 50°C sont léthales pour les œufs d'*Ascaris*. En effet, selon Hwkins *et al.* (1978), il suffit de quelques heures voire même quelques minutes d'exposition à 50°C pour détruire les œufs d'helminthes.

Dans notre cas, aucun œuf viable d'*Ascaris* n'a été retrouvé dans les boues après le 5ème jour d'incubation. D'après Kiff *et al.* (1984), les températures qui dépassent 50°C inactivent l'embryon et provoquent sa dégénérescence au bout de 24 heures. De même dans un compost anaérobique, où la température est maintenue à 55-60°C, les œufs d'*Ascaris* ne résistent pas plus de 30 à 60 minutes (Gottaas, 1959).

De par l'effet direct de la température sur le développement et la survie des œufs, plusieurs autres facteurs peuvent intervenir dans la survie des œufs d'*Ascaris*.

En effet, Stien *et al.* (1990) ont montré que les œufs incubés à la surface du sol perdaient leur viabilité plus rapidement que ceux se trouvant dans le sol. El Hamouri *et al.* (1993) ont montré que dans des

boues étalées sur des lits de séchage de la Station Expérimentale d'Épuration des eaux usées de Ouarzazate, les œufs d'helminthes disparaissaient au bout de 9 mois. Dans le même sens, Artheret *al.* (1981) ont lié le développement et la survie des œufs d'*Ascaris* à la température, à l'humidité et la nature du substrat.

Il ressort de ce travail que les œufs d'*Ascaris*, qui sont doués d'une grande résistance dans la nature, peuvent être éliminés des boues sous l'effet des températures élevées.

Ainsi, les procédés de traitement de boues résiduaires qui peuvent maintenir une température de plus de 55°C, pendant au moins une semaine, seraient efficaces pour éliminer les œufs d'*Ascaris*. Par ailleurs, le compostage, pendant 8 semaines, qui permet d'atteindre une température de 70°C se prêterait le mieux pour stériliser les boues et de ce fait les réutiliser dans la fertilisation des sols sans risque sanitaire pour l'Homme ou l'animal (Soudi *et al.*, 1995).

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leurs remerciements au Prof. El Hamouri pour avoir facilité la réalisation de ce travail dans le Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et au Dr. Aziz Marhaben, Directeur des abattoirs de Rabat, pour l'aide qu'il leur a apportée.

Cette étude a été réalisée grâce au support financier de la Fondation Internationale pour la Science Bourse B/1106-2.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Antipin J.L. (1940) Epizootology of Parascariidosis of Horses. *Veterinariya* (3): 46-64
- Arther R.G., Fitzgerald P.R. & Fox J.C. (1981) Parasite ova in anaerobically digested sludge. *Journal Water Pollution Control Federation* (53): 1334-1338
- Barbier D., Perrine D., Georges P. & Doublet R. (1989). Evaluation du risque parasitaire lié à l'utilisation agricole des boues résiduaires. *Journal Français d'Hydrologie* (20) Fasc. 1: 103-111
- Bhaskaran T.R., Ghosh B.K., Sampathkumaran M.A., Radhakrishnan I. & Mukherjee D.B. (1956). Studies on the survival of pathogens in night-soil compost. *Ind. Journ. Agric. Scie.* (27): 91-102
- Boutin P., Belchac J.P., Mercher B. & Nuer P. (1984) Traitements des eaux usées. Edit. Eyrolles. 281 p
- El Hamouri B. & Handoufe A. (1993) Rapport du projet MOR 86/018 "Réutilisation des eaux usées de Ouarzazate à des fins agricoles" FAO, Rome
- Gottaas H.B. (1959). Compostage et assainissement. O.M.S, Genève
- Hawkins P. & Feachem R. (1978) Environmental control of certain helminths. In: Sanitation in developing countries. Ed. Arnold Pacey, 26-31p
- Katakura K., Hamada A. & Kobayashi A. (1986) The fate of *Ascaris* eggs applied to the soil under various conditions. *Japanese Journal of Parasitology* 35 (1): 1-9
- Kiff R.J & Lewis-Jones R. (1984) Factors that govern the survival of selected parasites in sewage sludges. *In Sewage sludge stabilization and disinfection: 452-461*
- O.M.S. (1989) L'utilisation des eaux usées en agriculture: Recommandations à visées sanitaires. *Rapp. Tech.* 666:162
- Soudi B., Jamali A. & Chiang C. (1995) Nitrogen fertilizing value of sewage sludge used in soil amendment (in press)
- Soulsby E.J.L. (1982) Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated Animals. Third Edition, Lea & Febiger Philadelphia
- Stien J.L. (1989). Oeufs d'helminthes et environnement: Le modèle d'œuf d'*Ascaris*. Thèse pour l'obtention du Doctorat de l'Université de Metz
- Stien J.L. & Schwartzbrod J. (1990). Experimental contamination of vegetables with helminth eggs. *Water sciences technology* 22 (9): 51-57
- Thevenot P. (1988). Parasitologie des boues des stations d'épuration: Aspects bibliographiques. Thèse pour l'obtention du Doctorat d'État en Pharmacie, Université de Nancy