

**DEVENIR DES ANTIBIOTIQUES LORS DU TRAITEMENT
AÉROBIE ET ANAÉROBIE DES BOUES DE STEPS
POUR UNE VALORISATION AGRONOMIQUE**

Thèse de **Amine EZZARIAI**¹

Analysée par **Arlette LAVAL**²

Directeur de thèse :

Eric Pinelli, Professeur des Universités, Institut National Polytechnique de Toulouse

Co-directeur de thèse :

Mohamed Hafidi, Professeur d'enseignement supérieur, Université Cadi Ayyad de Marrakech

Du fait de la très large utilisation des antibiotiques en médecine humaine, leur élimination dans les stations d'épuration conduit à une contamination des eaux usées dans lesquelles on peut les retrouver, car ces stations ne sont pas conçues pour leur élimination. On les retrouve donc au moins en partie sous une forme active dans les boues résiduaires ou les eaux traitées. Ce sujet est considéré avec le plus grand intérêt depuis une quinzaine d'années. Ce travail concerne le devenir des antibiotiques dans les boues, au Maroc, en étudiant deux types de procédé de minéralisation : aérobie avec le compostage, anaérobie avec la méthanisation.

Ce travail est divisé en cinq chapitres. Il est présenté sous forme de publications acceptées ou soumises. Cette présentation complique la compréhension de l'ensemble du travail, d'autant que les liens manquent parfois entre les publications. Cette lacune est cependant compensée par la discussion générale qui termine la thèse.

Dans le premier chapitre, l'auteur présente le sujet, précisant que 30 à 90% des doses d'antibiotiques administrées se retrouvent dans les urines et les fèces, conduisant à une dissémination importante sur les sols amendés et contribuant au développement de l'antibiorésistance. Deux publications sous forme de synthèses bibliographiques étayent le sujet. La première est publiée dans *Journal of hazardous materials*, disponible en ligne depuis juillet 2018. Elle est centrée sur le devenir de quatre groupes d'antibiotiques : tétracyclines, fluoroquinolones, macrolides et sulfamides, et souligne le manque de données sur leur devenir dans les boues ainsi que les lacunes fréquentes des protocoles mis en place. Elle souligne aussi la nécessité de comprendre les interactions des résidus d'antibiotiques avec la matrice organique.

La seconde publication, porte sur les méthodes analytiques qui peuvent être utilisées et conclut sur l'intérêt de la méthode des ajouts dosés (Standard Addition Method : SAM) qui semble la mieux à même d'améliorer la fiabilité des analyses dans la matrice organique des boues.

¹Thèse présentée à l'Université de Toulouse, Institut National Polytechnique de Toulouse, en co-tutelle avec l'Université Cadi Ayyad de Marrakech, Unité de recherches ECOLAB, Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Environnement.

²Membre de l'Académie d'agriculture de France, Sciences de la vie (section 6).

Le deuxième chapitre consiste en une publication, acceptée dans *Waste Management*. Elle présente les effets des antibiotiques sur le co-compostage de boues d'épuration mélangées à des déchets de palmier. Cette méthode fait l'objet d'un brevet. Elle permet de discriminer l'effet des antibiotiques. Les essais ont porté sur cinq molécules antibiotiques (CTC, OTC, RXY, ENR et CIP) utilisées à des concentrations faible, moyenne ou forte, justifiées sur des bases bibliographiques. Les résultats portent sur la comparaison des courbes de température. La courbe des témoins montre un rebond très net qui n'est pas retrouvé dans les échantillons traités. Cette piste est intéressante car elle établit que la dégradation de la matière organique est retardée dans le temps et que le rapport C/N est significativement affecté : l'efficacité du processus de compostage et la qualité finale du compost sont impactés par la présence des antibiotiques. Elle doit évidemment être confirmée, ainsi que l'interprétation qui en est donnée.

Le troisième chapitre se présente aussi sous la forme d'une publication, soumise au journal *Chemosphere*. Monsieur Ezzariai décrit et valide une méthode analytique non sélective et multi-classe, adaptée à ses conditions expérimentales. Elle a permis d'extraire et de quantifier les antibiotiques dans les boues et les composts à différents stades de compostage. Les antibiotiques étudiés appartiennent à trois familles ayant différentes propriétés physiques et chimiques (macrolides, fluoroquinolones et tétracyclines). La méthode multi-résidus choisie est rapide à mettre en œuvre et celle des ajouts dosés permet de pallier la complexité de la matrice. Les résultats montrent la reproductibilité de la méthode d'extraction et la stabilité du système d'analyse a été vérifié.

Le devenir des antibiotiques au cours du procédé de compostage est étudié **dans le chapitre 4**. L'approche analytique précédemment décrite a été mise à profit dans des essais portant sur le compostage. Ce dernier contribue à l'élimination de la roxithromycine, la chlortétracycline et l'oxytétracycline en abaissant leurs taux de 52 à 100%. En revanche, la ciprofloxacine (fluoroquinolone) persiste après maturation et son élimination n'est pas significative quels que soient les essais. La phase thermophile est responsable de l'élimination de la roxithromycine, tandis que l'élimination de la chlortétracycline relève de la phase de maturation. En revanche, la ciprofloxacine résiste bien au traitement, constituant une préoccupation environnementale importante.

Dans le chapitre 5, M. Ezzariai s'intéresse à la digestion anaérobie (méthanisation). Il commence par une synthèse bibliographique, puis présente une partie expérimentale. Les résultats sont présentés sous forme de publication sur les potentialités de la digestion anaérobie en mode semi-continu vis-à-vis de l'élimination des antibiotiques dans les boues. Ils suggèrent que les antibiotiques n'ont pas d'effets notables sur le déroulement normal de la digestion anaérobie à l'échelle industrielle. L'élimination de la roxithromycine, la chlortétracycline et l'oxytétracycline est respectivement de 50, 100 et 59%. Celle de l'enrofloxacine, par contre, n'est que de 30%.

La digestion anaérobie peut éliminer partiellement les molécules mères des antibiotiques, mais donne lieu à l'apparition des métabolites dont les propriétés doivent être étudiées.

Une discussion finale intéressante rappelle les différents résultats et compare compostage et méthanisation, permettant de proposer un couplage des deux méthodes, associée à un fractionnement de la matière organique pour localiser la fraction prédominante des antibiotiques.

Toutes les publications comportent une bibliographie abondante, pertinente et bien répertoriée, apportant un soutien solide à l'ensemble de travaux, mais le document n'est pas très agréable à lire car les parties sont séparées de façon abrupte : une page de transition aurait facilité la lecture et la compréhension du manuscrit.

Ce travail présente des aspects innovants sur le plan analytique et permet de faire avancer les connaissances sur un sujet mal documenté. Il est fort bien valorisé (ou le sera dans un proche avenir) par six publications, un brevet et six communications. La partie analytique personnelle est intéressante et fournit des données sur un sujet encore très mal exploré du fait de sa complexité, en s'intéressant à la fois à la méthanisation et au compostage, les deux méthodes de traitement les plus utilisées. Le travail est bien écrit en dépit de la présentation sous forme d'une succession de publications. Il mérite d'être valorisé par la mise sur le site de l'Académie d'agriculture de France.

Valorisation de la thèse

Publications

Ezzari, A., Barret, M., Merlina, G., Pinelli, E., Hafidi, M., 2017. Evaluation of the antibiotics effects on the physical and chemical parameters during the co-composting of sewage sludge with palm wastes in a bioreactor. *Waste Manag.* 68, 388–397. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.036>.

Ezzari, A., Hafidi, M., Khadra, A., Aemig, Q., El fels, L., Barret, M., Merlina, G., Patureau, D., Pinelli, E., 2018. Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure : Global perspectives on persistence, degradation , and resistance genes. *J. Hazard. Mater.* 359, 465–481. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.092>

Ezzari, A., Riboul, D., Lacroix, Z.L., Barret, M., El Fels, L., Merlina, G., Bousquet-melou, A., Patureau, D., Pinelli, E., Hafidi, M., 2018. A pressurized liquid extraction approach followed by standard addition method and UPLC-MS / MS for a fast multiclass determination of antibiotics in a complex matrix. *Chemosphere* 211, 893–902. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.021>.

Khadra, K., Ezzari, A., Hafidi, M., Merlina, G., Capdeville, M.J., Budzinski, H., Hamdi, H., Pinelli, E., Hafidi, M., (2018). Fate of antibiotics present in a primary sludge of WWTP during their co-composting with palm wastes. *Waste Manag.* 84, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.11.009>

Ezzari, A., Pinelli, E., Riboul, D., Lacroix, M.Z., Barret, M., Merlina, G., Bousquet-Melou, A., Patureau, D., Hafidi, M., (2018). Sequential removal of antibiotics as a function of sludge composting stages. (Submitted).

Ezzari, A., Barret, M., Riboul, D., Lacroix, M.Z., Bousquet-Melou, A., Pinelli, E., Hafidi, M., Patureau, D., (2018). Potentialities of semi-continuous anaerobic digestion for mitigating antibiotics in sludge (En préparation).

Brevet :

Hafidi Mohamed, Ezzari Amine, Georges Merlina, Pinelli Eric, (2017). Optimisation du co-compostage de boues résiduaires de stations d'épuration avec un polymère ligno-cellulosique issu de palmier dattier (Phoenix) en conditions contrôlées dans un bioréacteur. L'Office Marocain de la Propriété Industrielle et Commerciale (OMPIC). N° de publication : MA 40053 A1. Cl. Internationale : B09B 3/00 ; C05F 7/00 ; C05F 17/00 ; C02F 11/12.

Date de publication : 28.09.2018. (<http://patent.ompic.ma/publicationserver/rest/v1.0/publicationdates/20180928/patents/MA40053NWA1/document.html>).

Communications :

Ezzari, A., El Fels, L., Hafidi, M. Optimisation du compostage des boues de Steps-déchets verts par bioréacteur. 1er forum de la recherche scientifique à la Faculté des Sciences Semlali, 26-28 Mai 2015, Marrakech, Maroc.

Ezzari, A., El Fels, L., Hafidi, M. Traitement des boues de STEPs-déchets verts par compostage en bioréacteur The 3rd International Workshop on Waste Management and Sustainable Development, 7-9 Octobre 2016, Tanger, Maroc.

Ezzari, A., El Fels, L., Hafidi, M. Compostage en bioréacteur des boues et des déchets certs. Colloque International Eau, Recyclage et Valorisation des déchets, 28-29 Octobre 2015, Fès, Maroc.

Ezzari, A., Zegzouti, Y., Khadra, A., Barret, M., Merlina, G., Pinelli, E., Hafidi, M. Assessment of the heat release and organic matter degradation by using two mathematical models during sludge co-composting in a bioreactor. International Conference Microbiod 3, 24-26 Octobre 2016, Mohammadia, Maroc.

Khadra, A., Ezzari, A., Hamdi, H., Merlina, G., Pinelli, E., Hafidi, M. Biodegradation des résidus des antibiotiques au cours du co-compostage de boues et l'évaluation de leurs génotoxicité. International Conference Microbiod 3, 24-26 Octobre 2016 Mohammadia, Maroc.

Hafidi, M., Ezzari, A. Sewage sludge composting as a sustainable treatment option : An overview of micropollutants removal. Les 19èmes journées annuelles de la Société Ouest Africaine de Chimie (SOACHIM) sous le thème : Contribution des sciences chimiques à la réalisation des objectifs du développement durable. 7-10 Aout, Lomé, 2018-Togo.