

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou bekr Belkaïd Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,
des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de 3^{ème} cycle

DOCTORAT

En sciences biologiques

Option: Biochimie appliquée

Présentée

Par

M^r BENLADGHEM Zakaria

Thème

**Étude du développement des biofilms sur la surface des membranes
d'osmose inverse dans des réacteurs de traitement d'eau de mer
(Cas de la station de Souk Tlata)**

Soutenu le : 31 juillet 2022

Devant le jury :

Président	: M ^r Boucherit Kebir	Professeur	Université de Tlemcen
Directeur de thèse	: M ^r Seddiki Sidi Mohammed Lahbib	Professeur	Centre Universitaire de Nâama
Examineurs	: M ^{me} Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
	M ^{me} Kazi-Tani Baba-Ahmed Zakia Zahira	MCA	Université de Tlemcen
	M ^r Ghellai Lotfi	MCA	Université de Saïda
	M ^r Dergal Fayçal	MRA	CRAPC - Tipaza

Année Universitaire : 2021 – 2022

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux :
"Louange à Allah à qui appartient tout ce qui est dans les cieux et tout ce qui est sur la
terre. Et louange à
lui dans l'au-delà. Et c'est lui le Sage, le Parfaitement Connaisseur"
Seigneur, accorde ta prière, ta paix et tes bénédictions, à notre Prophète Mouhammad,
ainsi qu'à sa famille
et ses compagnons, une prière et une paix permanentes.

Dédicaces

*C'est avec joie que je dédie ce modeste travail aux êtres les
plus chers à mon cœur :*

*Mon père et ma Mère pour leur soutien et leurs
encouragements.*

À mes chers frères et sœurs,

À toute ma famille

*Enfin, à tous ceux que j'aime et qui m'aiment de près ou de
loin.*

Zakaria

Remerciements

Ce travail a été effectué au laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physicochimie, synthèse et activité biologique » (LAPSAB) de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

Je remercie très chaleureusement mon directeur de thèse M^r Seddiki Sidi Mohammed Lahbib, Professeur au département de biologie, Centre Universitaire Salhi Ahmed de Nâama, pour avoir accepté la charge de m'encadrer. Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et ma gratitude pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils et sa compréhension. Veuillez trouver ici, monsieur ma reconnaissance et tout mon respect.

Mes remerciements vont également à M^r Boucherit Kebir, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université de Tlemcen. Je vous remercie pour le grand honneur que vous me faites en acceptant de présider le jury de cette thèse. Veuillez trouver ici monsieur l'expression de mes remerciements les plus chaleureux.

Je tiens aussi à adresser mes remerciements les plus sincères à M^{me} Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université de Tlemcen, d'avoir acceptée d'examiner et de discuter ce travail.

Je tiens à remercier M^{me} Kazi-Tani Baba-Ahmed Zakia Zahira, Maître de Conférence classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, Directrice du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab) », pour l'honneur qu'elle m'a fait d'être examinateur de cette thèse.

Ma profonde reconnaissance et mes remerciements vont également à M^r Ghellai Lotfi, Maître de Conférence classe A au département de biologie de l'université de Saïda, pour avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

Je tiens à remercier M^r Dergal Fayçal, Maître de Recherche classe A au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) - Tipaza. Je lui exprime ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance pour avoir accepté d'examiner cette thèse.

Mes remerciements vont également à M^r Choukchou-Braham Noureddine, professeur au département de chimie, faculté des sciences de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, Directeur du Laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO) de

l'université de Tlemcen, pour avoir accepté de réaliser une partie de ce travail au sein de leur laboratoire. Je tiens à vous exprimer ma sincère reconnaissance et mon plus profond respect.

Mes remerciements s'adressent également à M^{me} Bouali Wafaa, Maître de Conférence classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, pour son aide dans l'envoi des échantillons au laboratoire à l'université Yeditepe, département de génétique et de bio-ingénierie – Istanbul.

Je ne voudrais pas oublier de remercier M^f Dairi Ahmed, directeur de la station de dessalement de l'eau de mer de Souk Tlata – Tlemcen, pour son accueil chaleureux dans la station et de son aide.

Je tiens à remercier également M^f Guermat Ismaïl, ingénieur à la station de dessalement de l'eau de mer de Souk Tlata – Tlemcen, pour son soutien, son aide et sa collaboration. Trouvez ici monsieur l'expression de mon entière reconnaissance et l'assurance de mon amitié sincère.

Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel de la station de dessalement de l'eau de mer de Souk Tlata – Tlemcen, pour leur accueil, leur soutien et leur gentillesse.

Je tiens aussi à mentionner le plaisir que j'ai eu en travaillant au sein du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique » et j'en remercie l'ensemble des doctorants ainsi que les techniciens du laboratoire pour leur aide et leur amitié.

Enfin, mes remerciements s'adressent à tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

ملخص

يعتبر التناضح العكسي من أكثر العمليات الفعالة المستخدمة في معالجة المياه السطحية، فهو يوفر مياه عالية الجودة ويقضي على كمية كبيرة من الكائنات الحية الدقيقة والمواد العضوية والملوثات الدقيقة. لكن، انسداد الأغشية يعتبر العائق الرئيسي لهذه التقنية، حيث يؤدي إلى انخفاض في أدائها، ارتفاع في استهلاك الطاقة، زيادة في استخدام المحاليل المضادة للحشف، وأخيراً، التغيير المتكرر و الغير مرغوب فيه للأغشية المسدودة. أجريت هذه الدراسة في محطة تحلية مياه البحر بسوق الثلاثاء (الجزائر)، وركزت بشكل أساسي على تحديد كمية الكائنات الحية الدقيقة الموجودة على سطح أغشية التناضح العكسي (RO) ، وتحديد الأنواع المسؤولة عن الحشف الحيوي. و تقييم قدرة السلالات المعزولة على تشكيل الأغشية الحيوية. كما تمت دراسة العوامل الميكروبيولوجية التي تحفز التصاق هذه الكائنات الحية مثل التجميع الذاتي، التجميع المشترك ، والخاصية الكارهة للماء. ثانياً، تمحور البحث حول دراسة انسداد أغشية التناضح العكسي باستخدام مطياف رامان و الفحص المجهرى الفلوري (Epi-fluorescent) و الإلكتروني. بناءً على النتائج المتحصل عليها، تم إجراء محاكاة رياضية للتنبؤ بمستوى انسداد الأغشية.

تم احصاء سبعة وثلاثين (37) سلالة بكتيرية تم عزلها من ستة أغشية تناضح عكسي مسدودة، حيث تنتمي هذه السلالات إلى سبعة (7) أجناس موزعة على الفصائل التالية: *Escherichia sp.*، *Raoultella sp.*، *Klebsiella sp.*، *Stenotrophomonas sp.*، *Pseudomonas sp.*، *Staphylococcus sp.*، *Micrococcus sp.*. أظهر تحليل أسطح الأغشية بواسطة مطياف رامان أنواعاً مختلفة من الحشف. كما كشفت خرائط رامان عن مستويات مختلفة من هذا الأخير، فهو يختلف من منطقة إلى أخرى. هذا وأظهرت تقنيات التصوير المجهرى المختلفة عن تراكيب معقدة من الرواسب اللاأحيائية والكائنات الدقيقة المكونة للغشاء الحيوي. في النهاية، و بعد التحليل الرياضي للبيانات المتحصل عليها، تم كشف و تطوير خمسة سيناريوهات محتملة بخصوص انسداد أغشية التناضح العكسي.

الكلمات المفتاحية : غشاء التناضح العكسي ، الحشف الحيوي ، الأغشية الحيوية ، التجميع الذاتي ، التجميع المشترك ، الكراهية للماء ، التحليل الطيفي لرامان ، الفحص المجهرى.

Résumé

L'osmose inverse est l'un des procédés, les plus efficaces, utilisés pour le traitement des eaux de surface. Il fournit une eau de haute qualité et élimine une grande quantité de micro-organismes, de matières organiques et de micropolluants. En revanche, la principale limite contraignante de cette technologie est l'encrassement des membranes. Ce fléau entraîne une diminution des performances des membranes, une augmentation de la consommation d'énergie, une forte utilisation des solutions anti-salissures et, enfin, des changements répétés et indésirables des membranes encrassées. Cette étude a été menée dans la station de dessalement de l'eau de mer de Souk Tlata (Algérie), elle a porté principalement sur la détermination de la charge microbienne présente à la surface des membranes d'osmose inverse (RO), l'identification des espèces responsables de leur bio-encrassement et l'évaluation du pouvoir des souches isolées à former des biofilms. L'auto-agrégation, la co-agrégation et l'hydrophobicité, facteurs microbiologiques induisant l'adhésion microbienne, ont également été étudiées. De plus, cette étude a porté également sur l'étude de l'encrassement des membranes d'osmose inverse par la méthode spectroscopique Raman et la microscopie épifluorescente et électronique à balayage. Sur la base des résultats obtenus, une simulation mathématique a été réalisée afin de prévoir le niveau d'encrassement des membranes.

Trente-sept (37) souches appartenant à sept (7) genres bactériens ont été isolées à partir de six membranes d'osmose inverse encrassées, il s'agit de *Escherichia sp.*, *Raoultella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, et *Micrococcus sp.* L'analyse des surfaces membranaires par spectroscopie Raman a montré différents types d'encrassement. De plus, la cartographie Raman a révélé que le niveau de ce dernier diffère d'une zone à l'autre. Les différentes techniques d'imagerie microscopique ont révélé des structures complexes de dépôts abiotiques et de microorganismes formant des biofilms. Au final, cinq hypothèses possibles ont été divulgués et élaborés concernant l'encrassement des membranes d'osmose inverse, et ce, suite à l'analyse mathématique des données de cette recherche.

Mots clés : Membrane d'osmose inverse, encrassement biologique, biofilms, auto-agrégation, co-agrégation, hydrophobicité, spectroscopie Raman, Microscopie.

Abstract

Reverse osmosis is one of the most effective processes used for surface water treatment ; it provides high quality water and eliminates a large amount of microorganisms, organic matter and micro-pollutants. On the other hand, the main constraint of this technology is the fouling of the membranes. This scourge leads to a decrease in the performance of the membranes, an increase in energy consumption, a high use of antifouling solutions and, finally, repeated and unsatisfactory changes of the fouled membranes. This study was conducted in the seawater desalination plant of Souk Tlata (Algeria), it focused mainly on the determination of the microbial load present on the surface of reverse osmosis membranes (RO), the identification of the species responsible for their biofouling and evaluation of the power of the isolated strains to form biofilms. Auto-aggregation, co-aggregation and hydrophobicity, microbiological factors inducing microbial adhesion, have also been studied. Secondly, research focused on studying the fouling of reverse osmosis membranes using the Raman spectroscopic method and epi-fluorescent and scanning electron microscopy. Based on the results obtained, a mathematical simulation was carried out in order to make the level of membrane fouling predictable.

Thirty-seven (37) strains belonging to seven (7) bacterial genera were isolated from six fouled reverse osmosis membranes. They are *Escherichia sp.*, *Raoultella sp.*, *Klebsiella sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus sp.*, and *Micrococcus sp.* Analysis of membrane surfaces by Raman spectroscopy showed different types of fouling. In addition, Raman mapping revealed the level of the latter, it differs from one area to another. The different microscopic imaging techniques have revealed complex structures of abiotic deposits and biofilm-forming microorganisms. In the end, five possible scenarios were disclosed and developed concerning the fouling of reverse osmosis membranes, following the mathematical analysis of the data from this research.

Key words: Reverse osmosis membrane, biofouling, biofilms, auto-aggregation, co-aggregation, hydrophobicity, Raman spectroscopy, Microscopy.

SOMMAIRE

Première partie : Synthèse bibliographique	1
Deuxième partie : Matériel et méthodes	16
1. Lieu de l'étude et échantillonnage.....	17
2. Estimation du poids sec du matériel colmatant.....	20
3. Autopsie des membranes.....	21
4. Évaluation de la charge microbienne	22
5. Isolement, purification et identification.....	23
6. Évaluation du Potentiel de formation des biofilms.....	23
7. Test d'hydrophobicité	24
8. Agrégation cellulaire.....	25
8.1. Test d'auto-agrégation.....	25
8.2. Test de co-agrégation	26
9. Spectroscopie Raman	27
10. Imagerie microscopique.....	28
10.1. Microscopie optique.....	28
10.2. Microscopie à épi-fluorescence.....	28
10.3. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	28
11. Analyse statistique.....	29
Troisième partie : Résultats et discussion	30
1. Échantillonnage et poids sec du matériel colmatant.....	31
2. Estimation de la durée de vie des membranes.....	32
3. Autopsie des membranes encrassées et charge microbienne.....	36
4. Isolement, purification et identification.....	39
5. Potentiel des souches isolées à former les biofilms.....	43

6. Test d'hydrophobicité.....	46
7. Agrégation cellulaire.....	49
7.1. Auto-agrégation.....	49
7.2. Co-agrégation.....	55
8. Spectroscopie Raman.....	59
8.1. Caractérisation des souches isolées.....	59
8.2. Caractérisation du matériel colmatant des membranes.....	62
8.3. Cartographie Raman.....	64
9. Imagerie microscopique.....	67
9.1. Microscopie optique.....	67
9.2. Microscopie à épi-fluorescence.....	68
9.3. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	69
10. Analyse des correspondances multiples (ACM).....	73
Quatrième partie : Conclusion.....	74
Cinquième partie : Références bibliographiques.....	77
Sixième partie : Annexes.....	94

Liste des tableaux

Tableau N° 1 : Aperçu sur les différents procédés de la filtration membranaire et leurs caractéristiques.....	4
Tableau N° 2 : Facteurs influençant l'adhésion des microorganismes aux surfaces des membranes de filtration.....	12
Tableau N° 3 : Moyennes des poids secs du matériel colmatant des différents types de membranes d'osmose inverse utilisées dans la station de dessalement de Souk Tlata.....	31
Tableau N° 4 : Quantité journalière moyenne des particules retenues par les membranes..	34
Tableau N° 5 : Souches isolées à partir des membranes d'osmose inverse encrassées provenant de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata – Tlemcen (Algérie).....	41
Tableau N° 6 : Source des contributions observées dans les spectres Raman à 633 nm des constituants bactériens.....	60
Tableau N° 7 : Souches isolées de six (6) membranes d'osmose inverse encrassées.....	95
Tableau N° 8 : Poids de 50 membranes avant et après leurs encrassements.....	96
Tableau N° 9 : Qualité de l'eau de mer de la station de dessalement de Souk Tlata.....	97
Tableau N° 10 : Système d'ultrafiltration de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata.....	98
Tableau N° 11 : Système d'osmose inverse de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata.....	98
Tableau N° 12 : Conductivité, turbidité, TDS et TSS de l'eau de mer pendant les trois premières années de fonctionnement de la station de dessalement de Souk Tlata.....	99

Liste des figures

Figure N° 1 : Schéma d'un module de membrane spiralée d'osmose inverse.....	6
Figure N° 2 : Principales étapes de la formation d'un biofilm bactérien, schéma modifié inspiré de celui de (Ghigo, 2003).....	10
Figure N° 3 : A ; Représentation schématique modifiée d'une membrane d'osmose inverse encrassée, inspirée de (Flemming, 1997). B ; Formation de biofilm sur la grille d'espacement prélevé lors de l'autopsie d'une membrane spiralée.....	13
Figure N° 4 : Vue satellitaire de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata. Les chiffres désignent les différentes unités de la station. 1 : Prise d'eau de mer, 2 : Ultrafiltration, 3 : Osmose inverse et 4 : Post-traitement.....	17
Figure N° 5 : Train d'ultrafiltration dans la station de dessalement de Souk Tlata. Les flèches indiquent les membranes d'ultrafiltration (UF).....	18
Figure N° 6 : Train de filtration par osmose inverse dans la station de dessalement de Souk Tlata.....	18
Figure N° 7 : Schéma générale du procédé de dessalement de la station de dessalement de Souk Tlata - Tlemcen.....	19
Figure N° 8 : Forme générale de l'indicateur de santé d'un système donné.....	21
Figure N° 9 : Autopsie et prélèvement d'échantillons à partir d'une membrane d'osmose inverse encrassée.....	22
Figure N° 10 : Variation moyenne de TDS, TSS, conductivité électrique et turbidité de l'eau de mer de la station de dessalement de Souk Tlata durant les différentes saisons de l'année.....	33
Figure N° 11 : Indicateur de santé d'une membrane d'osmose inverse et scénarios possibles de sa durée de vie.....	35
Figure N° 12 : Charges des bactéries faiblement attachées aux différentes régions des trois membranes d'osmose inverse encrassées. Les barres représentent la moyenne de l'erreur standard.....	36

Figure N° 13 : Charges des bactéries fortement attachées aux différentes régions des trois membranes d'osmose inverse encrassées. Les barres représentent la moyenne de l'erreur standard.....	37
Figure N° 14 : Charge des bactéries faiblement et fortement attachées à la surface de trois membranes d'osmose inverse encrassées.....	38
Figure N° 15 : Répartition des souches isolées sur les trois régions étudiées des membranes d'osmose inverse encrassées.....	39
Figure N° 16 : Quantités des biofilms formés <i>in vitro</i> des souches isolées selon la méthode de cristal violet.....	45
Figure N° 17 : Taux d'hydrophobicité de la surface cellulaire des souches isolées.....	48
Figure N° 18 : Observation macroscopique de l'auto-agrégation chez (A) : <i>Pseudomonas luteola</i> (ROi-33) et (B) : <i>Serratia odorifera</i> (ROi-34).....	49
Figure N° 19 : Taux de l'auto-agrégation des souches isolées après 24 et 48 heures d'incubation.....	51
Figure N° 20 : Nuage de points des souches isolées en fonction du taux d'auto-agrégation et du potentiel de formation de biofilm.....	54
Figure N° 21 : Taux de la co-agrégation entre <i>Escherichia coli</i> (ROi-13) et le reste des souches isolées.....	56
Figure N° 22 : Taux de la co-agrégation entre <i>Pseudomonas luteola</i> (ROi-33) et le reste des souches isolées.....	57
Figure N° 23 : Evolution de la co-agrégation, révélée après chaque 15 min pendant 2 heures, entre <i>Escherichia coli</i> (ROi-13) et le reste des souches isolées et entre <i>Pseudomonas luteola</i> (ROi-33) et le reste des souches isolées.....	58
Figure N° 24 : Spectres Raman relatifs aux différentes espèces bactériennes isolées des membranes d'osmose inverse encrassées.....	61
Figure N° 25 : Spectres Raman du matériel colmatant. Bleu : membrane blanche non colmatée. Vert : zone d'entrée et Rouge : zone de sortie des membranes colmatées.....	62

Figure N° 26 : Cartographie Raman des trois zones de la membrane RO colmatée. De l'entrée (A), du milieu (B) et de la sortie (C).....	66
Figure N° 27 : Observation par microscope optique de A : Couche intermédiaire d'une membrane d'osmose inverse, B : Couche supérieure colmatée d'une membrane d'osmose inverse et C : Grille d'espacement entre les couches d'une membrane d'osmose inverse [Grossissement ; A et B \times 400, C \times 100].....	67
Figure N° 28 : Micrographies épi-fluorescentes de ; (A) : Membranes d'osmose inverse blanches, (C et D) : Membranes d'osmose inverse encrassées et (B) : Image sans fluorescence [Grossissement \times 400].....	68
Figure N° 29 : Microscopie électronique à balayage d'un mélange d'agrégation bactérienne et de dépôt abiotique sur trois parties différentes d'une membrane d'osmose inverse encrassée ; (A) : Entrée, (B) : Milieu et (C) : Sortie. Grossissement (A et C, \times 8000 ; Barres = 2 μ m) (B \times 5000 ; Barres =10 μ m).....	69
Figure N° 30 : Microscopie électronique à balayage d'un dépôt hétérogène sur la surface d'une membrane d'osmose inverse encrassée [Grossissement : (A) \times 500 et (B) \times 4000]...	71
Figure N° 31 : Microscopie électronique à balayage des biofilms formés sur la surface d'une membrane d'osmose inverse encrassée [Grossissement : (A) \times 2500 et (B) \times 8000]. Les flèches indiquent des agrégats bactériens de différentes morphologies.....	72
Figure N° 32: Plotellipses basé sur l'analyse des correspondances multiples illustrant les modalités de toutes les variables étudiées.....	73

Liste des abréviations

EPS	Extracellular polymeric substances
HI	Health Indicator (Indicateur de santé)
RO	Reverse Osmosis (Osmose Inverse)
MF	Micro-Filtration
NF	Nano-Filtration
UF	Ultra-Filtration
RUL	Remaining Useful Life (Durée de vie utile restante)
TDS	Total Dissolved Solids
TEP	Particules Exopolymère Transparentes
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
TSS	Total Suspended Solids

Première partie

Synthèse bibliographique

L'eau est indispensable au maintien de la vie sur terre ; c'est une ressource hautement stratégique dont dépendent de nombreuses activités humaines.

Selon le Centre d'Information sur l'Eau (CIE, 2011), les ressources totales en eau (eau douce et eau salée) représentent 1400 millions de milliards de mètres cube, et couvrent trois quarts de la surface de la Terre. Cependant, la grande part (97,5 %) des réserves hydriques sur la planète est une eau salée, tandis que l'eau douce ne représente qu'une infime partie, ou seulement 0,7 % d'eau potable est disponible pour l'utilisation humaine.

Dans les milieux naturels, l'eau peut subir de nombreuses contaminations de nature chimique et/ou biologique, ce qui peut engendrer de graves répercussions sur l'environnement et sur la santé des consommateurs (Levi et al., 2007). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80 % des maladies affectant la population mondiale sont associées à l'eau (Desjardins, 1997).

Une eau potable doit satisfaire les besoins des organismes humains et les exigences correspondantes en matière d'hygiène et de santé. Elle doit être exempte de microorganismes pathogènes (virus, bactéries, champignons) et/ou de parasites. De plus, l'eau potable ne doit pas contenir certaines substances minérales considérées comme toxiques, tels que les nitrates, les phosphates et les métaux lourds ; ni des composés organiques comme les hydrocarbures et les pesticides [(Houari et Di Martino., 2007) ; (De Vries et al., 2019)].

Pour la plupart des pays du Moyen-Orient et d'Afrique du Nord, la disponibilité de l'eau douce est devenue problématique [(Al-Ahmad et al., 2000) ; (Al-Suleimani et Nair, 2000) ; (Hamrouni et Dhahbi, 2001)]. L'Algérie est confrontée à ce problème en raison de la rareté des pluies ainsi que leur fréquence disparate et irrégulière. Ceci impose des limites à la politique hydraulique basée sur la mobilisation de ces ressources naturelles par voie de captage (barrages, retenues...) (Kehal, 2001).

En revanche, le littoral maritime de 1622 km offre à l'Algérie une autre alternative qui consiste à dessaler l'eau de mer. Toutefois, cette dernière reste non propre à la consommation compte tenu de sa grande teneur en électrolytes, en matière organique, en microorganismes, en algues et en certains polluants tel que le pétrole et les déchets industriels toxiques (kettab, 2001).

Comparativement aux autres méthodes utilisées dans la production de l'eau potable, la technologie de filtration sur des membranes est largement utilisée (De Vries et al., 2019). Ces

procédés sont appliqués pour purifier ou dessaler l'eau vu leur haute efficacité pour séparer cette dernière de ses solutés, ce qui offre la possibilité d'éliminer la plupart des contaminants d'une manière relativement rentable (**Shannon et al., 2008**).

Par définition, une membrane est une barrière entre deux milieux, elle permet la séparation sélective d'un certain nombre de composés (**Sheikholeslami, 2007**). Cette séparation résulte toujours de l'existence d'une force motrice, cette dernière est induite par l'existence d'une différence de pression, de potentiel électrique et de concentration entre les deux milieux séparés par la membrane (**Houari, 2009**).

Selon la taille des pores des membranes, quatre procédés de filtration se distinguent (**Tableau N° 1**) ; la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse (**Sheikholeslami, 2007**).

La microfiltration (MF) est une technique de séparation sur membrane avec une pression basse (0.1 -2 bar), elle est principalement utilisée pour réduire la turbidité du liquide à filtrer (**Houari, 2009**). Ce procédé de filtration utilise une membrane microporeuse dont la taille des pores varie de 0,1 à 10 μm (**Baker, 2004**). En général, les particules en suspension, de nombreux micro-organismes et les grosses particules colloïdales sont retenus, tandis que les macromolécules, de nombreuses bactéries, virus et solides dissous traversent la membrane [(**van der Bruggen, et al., 2003**) ; (**Scott et Hughes, 1996**)].

L'ultrafiltration (UF) est un procédé de séparation membranaire dont la pression est relativement basse (1-10 bar), ce procédé est plus proche de la microfiltration, mais la filtration est plus sélective [(**Bonnely, 2005**) ; (**Godart, 2000**) ; (**Tamas, 2004**)]. La taille des pores des membranes varie de 0,02 à 0,01 μm , cela donne au mécanisme de séparation un tamisage sélectif. L'ultrafiltration est utilisée pour éliminer les grosses particules, les micro-organismes et les macromolécules solubles telles que les protéines ; elle ne permet que le passage des molécules de faible poids moléculaires et des ions [(**Tansel, et al., 2000**) ; (**Scott, 1996**)].

La nanofiltration (NF) est un procédé plus sélectif que l'ultrafiltration, la pression appliquée est plus importante, elle est comprise entre 10 et 25 bar [(**Bonnely, 2005**) ; (**Godart, 2000**) ; (**Tamas, 2004**)] ; la taille des pores des membranes de la nanofiltration est généralement autour de 1 nm (**Mulder, 1996**). La nanofiltration est un procédé utilisé habituellement pour la décoloration, la déminéralisation ou le dessalement de l'eau (**Houari, 2009**).

Tableau N° 1 : Aperçu sur les différents procédés de la filtration membranaire et leurs caractéristiques [(Van der Bruggen, et al., 2003) ; (Scott et Hughes, 1996)].

	Micro-Filtration (MF)	Ultra-Filtration (UF)	Nano-Filtration (NF)	Osmose Inverse (RO)
Pression (bar)	0.1 - 2	1-10	10-25	15-80
Diamètre des pores (µm)	0.1 - 10	0.01 - 0.02	<0.002	0.0001
Épaisseur de la couche de la membrane (µm)	10 - 150	150	Sous-couche : 150 Couche supérieure : 1	Sous-couche : 150 Couche supérieure : 0.2
Morphologie	Symétrique	Asymétrique	Composite	Composite
Capacité de rejet	Particules	Particules Macromolécules, Bactéries	Particules Macromolécules, Bactéries Ions multivalents,	Particules Macromolécules, Bactéries Ions multivalents, Ions Monovalents
Mécanisme de séparation	Tamissage	Tamissage	Diffusion de la solution	Diffusion de la solution
Matériel	<u>Hydrophobe</u> : Poly-vinylidène fluorure, Polypropylène, Polyéthylène <u>Hydrophile</u> : Poly-sulfone, Polyéther- sulfone, Poly-carbone.	Poly-sulfone, Polyéthersulfone, Poly- acrylonitrile, Acétate de cellulose.	Polyamide aromatique, Poly-sulfone, Polyéther- sulfone, Acétate de cellulose.	Tri-acétate de cellulose, Polyamide aromatique, Matériau composite à couche mince.
Applications	Clarification, Prétraitement, Élimination des bactéries.	Élimination des macromolécules et des bactéries.	Élimination des particules organiques fines.	Eau ultra-pure, Dessalement

L'osmose inverse (RO) est un procédé de séparation membranaire sous haute pression (15-80 bar), il est plutôt utilisé pour le dessalement de l'eau de mer afin d'obtenir une eau ultrapure [(Godart, 2000) ; (Tamas, 2004) ; (Bonnelly, 2005)].

La taille des pores de la membrane RO est d'environ 0,1 nm ; le mécanisme principal de séparation et de transport de l'eau est assuré par diffusion de la solution (Paul, 2004).

La membrane semi-perméable est le composant central du processus d'osmose inverse. La première génération de membranes RO disponibles sur le marché a été développée dans les années 1960, et ce, en utilisant de l'acétate de cellulose (Lee et al., 2011). Au début des années 1980, une membrane en polyamide avec une structure composite à couche mince a été introduite par la société Filmtech® (Mattson et Lew, 1982).

La membrane d'osmose inverse présente les avantages d'une perméabilité élevée à l'eau, d'un rejet très important de sel (99,7 %), le respect des règles les plus rigoureuses en matière de santé publique, de protection de l'environnement et de processus de séparation (López-Ramírez et al., 2006).

De plus, le procédé d'osmose inverse est actuellement la technologie de dessalement la plus économe en énergie, avec un coût énergétique d'environ 1,8 kWh/m³, ce qui est bien inférieur à celui des autres technologies (Xu et al., 2013).

Le dessalement de l'eau de mer et de l'eau saumâtre reste la plus importante application de l'osmose inverse [(Vetter et al., 2007) ; (Darwish et al., 2009) ; (Monnot et al., 2017)]. Cependant, les technologies d'osmose inverse et de nanofiltration sont largement utilisées pour produire de l'eau potable dans le monde entier. Ces deux procédés de filtration permettent l'élimination des sels et des substances organiques présentes dans les eaux ainsi qu'une partie des bactéries et des virus (Gaid et Treall, 2007).

Les membranes de nanofiltration et d'osmose inverse sont des membranes composites, souvent en polyamide et enroulées en spirale avec la superposition de plusieurs couches de polymères (figure N° 1) [(Sheikholeslami, 2007) ; (Bikai et al., 2015) ; (Escudier et al., 2019)].

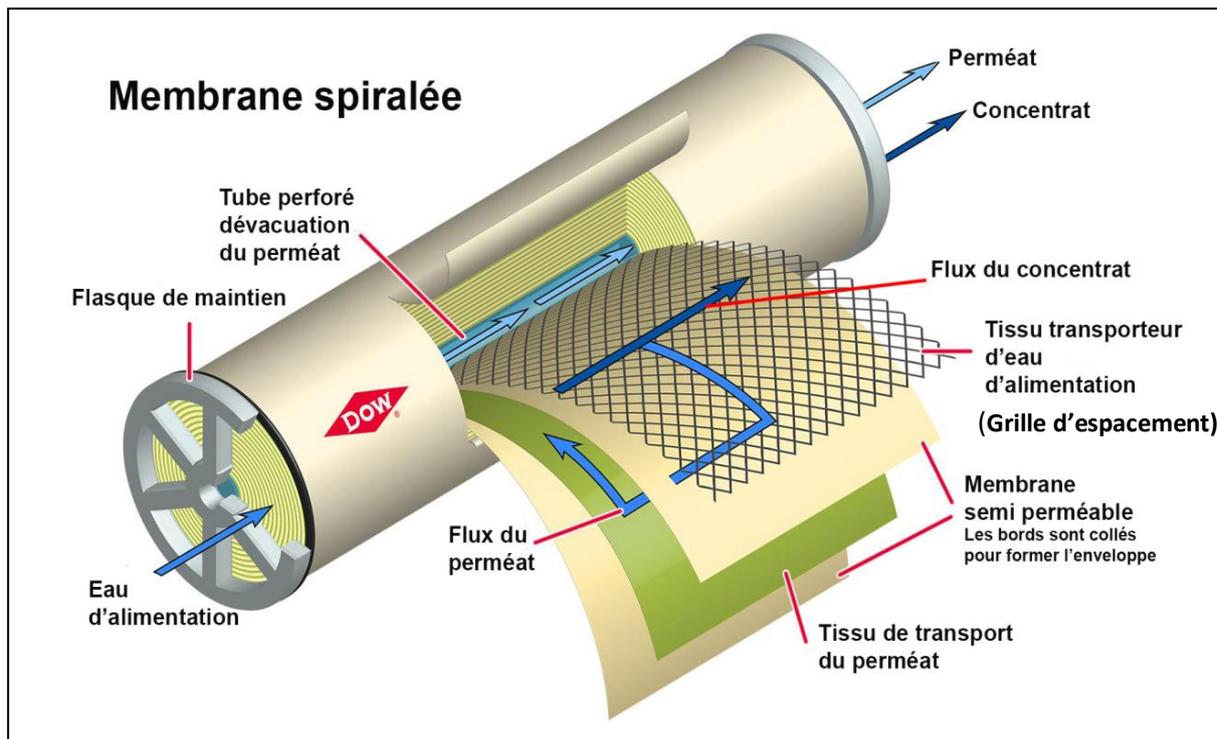


Figure N° 1 : Schéma d'un module de membrane spiralée d'osmose inverse. <http://www.evoqua.com/en/brands/IPS/Pages/what-is-reverse-osmosis.aspx> (2021).

Le processus de dessalement d'eau de mer utilisant des membranes est généralement composé de quatre étapes essentielles, dont la prise d'eau, le prétraitement, la filtration par osmose inverse et le post-traitement.

La prise d'eau de mer doit assurer une quantité et une qualité indépendamment suffisante du type d'usine de dessalement installée en aval. Toutefois, cette étape nécessite un dispositif de pré-filtration immergé dans l'eau de mer pour minimiser la quantité de sable aspirée dans la conduite et s'assurer qu'aucune particule qui pourrait endommager ou bloquer la pompe ne puisse pénétrer. Les prises d'eau de mer à ciel ouvert doivent faire face à des quantités beaucoup plus élevées de débris grossiers ainsi qu'à des micro-organismes (Gille, 2003).

Le prétraitement est un processus indispensable dans la production d'eau potable, car il permet l'élimination de la turbidité, les matières organiques, les matières inorganiques et les colloïdes. Il amplifie l'assurance du bon fonctionnement des membranes d'osmose inverse, car il peut réduire la quantité des substances et des bactéries en suspension (Kumar et al., 2006).

La filtration proprement dite est celle de l'osmose inverse à travers une membrane appropriée, c'est l'étape la plus critique dans le dessalement de l'eau de mer. Au cours de ce processus,

l'eau passe du compartiment le plus concentré vers le moins concentré, ce qui est l'inverse du principe de l'osmose. Ceci est assuré par l'application d'une pression supérieure à la pression osmotique de la solution saline (**Scott et Hughes, 1996**).

L'étape finale du processus est le post-traitement de l'eau filtrée. Cette étape est invariable pour la potabilité de l'eau, elle permet d'ajuster sa stabilité chimique, son pouvoir tampon et sa teneur en minéraux (**Birnhack et Lahav, 2018**).

Bien que ces procédés garantissent une alimentation continue en eau potable, l'inconvénient majeur de la filtration membranaire est l'encrassement des membranes [(**Chen et al., 2006**) ; (**Van den Broek et al., 2010**)]. En effet, l'encrassement peut se produire dans tous les processus membranaires, à savoir l'osmose inverse, la nanofiltration, l'ultrafiltration ou encore la microfiltration (**Guo et al., 2012**).

En général, l'encrassement est l'accumulation de dépôts indésirables dans les pores de la membrane et/ou sur leurs surfaces, entraînant ainsi une diminution du flux d'eau filtrée et du rejet de sel (**Malaeb et Ayoub, 2011**).

Le problème de l'encrassement des membranes résulte des interactions physiques et chimiques complexes entre les constituants des agents colmatants et les surfaces membranaires, conduisant à la fixation, l'accumulation et/ou l'adsorption de ces constituants sur la surface des membranes (**Guo et al., 2012**).

Quatre grands types d'encrassements des membranes sont décrits, à savoir ; l'encrassement inorganique, organique, colloïdal et biologique (**Flemming et al., 1997**).

L'encrassement inorganique figure sous forme d'entartrage (écaillage) des minéraux, c'est le résultat du dépôt de ces derniers en raison de leur excès en solution (**Flemming et al., 1997**). Le sulfate de calcium et le carbonate de calcium sont les détartrants les plus courants ; ils sont souvent la cause principale de l'entartrage des membranes d'osmose inverse (**Ochando-Pulido et al., 2015**).

L'encrassement organique est causé par l'accumulation des substances humiques, de polysaccharides, de protéines, de lipides, d'acides nucléiques, d'acides aminés, d'acides organiques et de composants cellulaires [(**Flemming et al., 1997**) ; (**Cho et al., 1999**) ; (**Jeong et al., 2016**)].

Le troisième type est l'encrassement colloïdal, il s'agit de dépôt d'argile, de substances humiques en particules, de débris et de silice (**Flemming et al., 1997**). Les mécanismes de ce type d'encrassement comprennent le blocage des pores et la formation d'une pâte visqueuse sous forme de gâteau (**Kennedy et al., 2003**).

Enfin, l'encrassement biologique, est l'un des problèmes opérationnels les plus graves dans les applications membranaires. Il est causé par l'adhésion et l'accumulation des microorganismes sur la surface membranaire induisant la formation des biofilms, structures complexes des communautés microbiennes (**Flemming et al., 1997**).

Comparé aux autres types d'encrassement, celui biologique est difficile à prévenir ou à contrôler, car les microorganismes se multiplient et sécrètent des substances de polymères extracellulaires (EPS) qui protègent la communauté microbienne contre les agents chimiques de nettoyage [(**Flemming et al., 1997**) ; (**Vrouwenvelder et Van der Kooij, 2001**)].

Le biofilm est un constituant universel de la biosphère. Cette forme de vie est la plus ancienne et la plus réussie sur terre (**Schopf et al., 1983**). En effet, 90 % des microorganismes vivent dans des biofilms et peuvent s'adapter à des conditions environnementales extrêmes [(**Epp, 1975**) ; (**Costerton et al., 1987**)].

Ce mode de vie correspond à une association de microorganismes sous forme d'agrégats, adhérant les uns aux autres et s'entourant d'une matrice d'exo-polymères. Les biofilms peuvent également se développer sur la plupart des surfaces, notamment les interfaces solide-liquide, tel que les tissus cellulaires, le milieu marin, les conduites d'eau, les matériaux médicaux et industriels, etc...) [(**Characklis, 1990**) ; (**Salta et al., 2013**) ; (**Flemming et al., 2021**)].

Par ailleurs, ces associations de microorganismes ont tendance à former une phase de gel entre l'eau et la surface solide, cette matrice de gel ne permet pas un transport libre de particules. De plus, la surface du biofilm est hydrophile, poreuse, molle, collante et peut piéger des particules qui rentrent dans la constitution de la partie abiotique du biofilm (**Flemming et al., 1997**).

L'adhésion des microorganismes à une surface engendre le changement de certaines de leurs caractéristiques, telles que leurs activités enzymatiques, leurs morphologies cellulaires, leurs concentrations cellulaires, leur mobilité et leur résistance aux substances toxiques (**van Loosdrecht et al., 1990**).

Dans le milieu marin, les biofilms sont constitués essentiellement de bactéries. Leur formation est considérée comme étant la première étape de l'établissement de l'encrassement ou des salissures. Ces bactéries créent des points d'ancrage pour les autres microorganismes, puis pour les larves et ensuite pour les macro-organismes, il s'agit du phénomène d'encrassement biologique ou «biofouling» (**Salta et al., 2013**).

En effet, les biofilms formés sur la surface des membranes de nanofiltration et d'osmose inverse sont organisés en un réseau interpénétré composé principalement de substances de polymères extracellulaires. Cela favorise l'adhésion et la croissance des cellules microbiennes sous forme de microcolonies (**Houari et al., 2008**). Leur structure est très complexe et hétérogène, elle renferme des microcolonies enrobées dans une matrice polymérique extracellulaire (EPS), dont la composition et la nature varient selon l'environnement et les conditions dans lesquels le biofilm s'est formé (**Flemming et al., 2016**).

Cette matrice extracellulaire est constituée généralement de métabolites générées au cours du processus de la croissance microbienne, elle représente la plus grande fraction du biofilm et est composée principalement de polysaccharides, de protéines, de lipides, de substances humiques et d'acides nucléiques [(**Herzberg et al., 2009**) ; (**Guo et al., 2012**)].

Quel que soit l'environnement colonisé, la formation des biofilms est un mécanisme séquentiel qui passe généralement par cinq étapes (**figure N°2**) ; l'adhésion réversible, l'adhésion irréversible, la formation des microcolonies, la maturation du biofilm et la dispersion [(**Ghigo, 2003**) ; (**Tremblay et al., 2014**)].

L'adhésion commence par le conditionnement de la surface et le déplacement des microorganismes, induisant l'adhésion réversible suivie par l'adhésion irréversible. Durant cette étape, les molécules inorganiques et/ou organiques telles que les protéines, les hydrates de carbone ou les lipides commencent à s'agréger pendant plusieurs heures permettant la mise en place d'un film primaire (**Donlan, 2002**). Ce dernier facilite l'adsorption des microorganismes sur la surface solide d'une part et d'autre part, permet aux microorganismes de s'ancrer et d'accéder aux nutriments [(**Garrett et al., 2008**) ; (**Jain et Bhosle, 2009**)].

L'adhésion aux surfaces est suivie de la phase de croissance logarithmique ; les microorganismes commencent à proliférer et à former des microcolonies. À ce stade, le terme «biofilm» peut être utilisé vue l'augmentation de la taille de la nouvelle structure engendrée

par la multiplication microbienne et la synthèse importante des molécules de la matrice extracellulaire [(Ghigo, 2003) ; (Houari, 2009) ; (Tremblay et al., 2014)].

La maturation du biofilm se traduit par la formation des macro-colonies et l'adhésion de nouvelles bactéries. Durant cette phase, la quantité du matériel extracellulaire augmente jusqu'à ce que la population microbienne soit entièrement confinée, un biofilm hétérogène tridimensionnel se forme alors (Seddiki, 2021).

Enfin, les microorganismes peuvent se détacher du biofilm et coloniser d'autres surfaces, c'est l'étape de la dispersion. Le détachement des microorganismes du biofilm peut résulter d'un décrochage physique causé par les forces de flux. Il peut être également déclenché par les bactéries elles-mêmes sous l'action de divers signaux internes ou environnementaux [(Ghigo, 2003) ; (Houari, 2009) ; (Tremblay et al., 2014)].

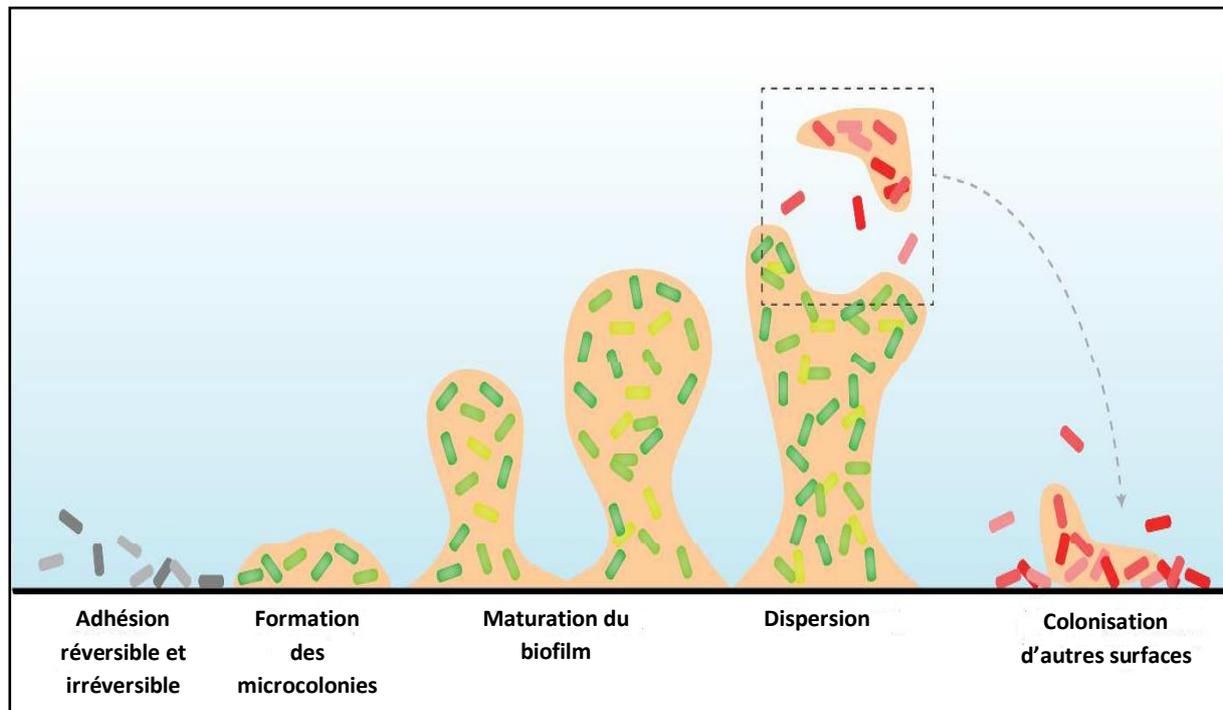


Figure N° 2 : Principales étapes de la formation d'un biofilm bactérien (Guilhen et al., 2017).

Concernant les biofilms formés sur les surfaces membranaires, la composition de la communauté microbienne est complexe et est influencée par divers paramètres, notamment la qualité de l'eau d'alimentation et les étapes de prétraitement de cette dernière. La composition et l'architecture des biofilms sont influencées par les conditions opérationnelles locales telles que la température et les changements saisonniers, la concentration en oxygène dans l'eau

d'alimentation, d'une part et d'autre part, l'organisation des éléments membranaires en cascade dans les récipients et les étages des différents trains et les procédures de nettoyage des membranes [(Flemming *et al.*, 1997) ; (Calderón *et al.*, 2012) ; (Yu *et al.*, 2017)].

L'installation et la formation des biofilms sont tributaires de nombreux facteurs (**Tableau N° 2**). En effet, l'adhésion des microorganismes aux surfaces des membranes est influencée par les propriétés des surfaces microbiennes, les caractéristiques des surfaces des membranes de filtration ainsi que les conditions opérationnelles de la station de dessalement [(Camesano et Logan, 1998) ; (Kang *et al.*, 2004) ; (Walker *et al.*, 2004) ; (Habimana *et al.*, 2014) ; (Nguyen *et al.*, 2016) ; (Tang *et al.*, 2016)].

Les propriétés microbiennes impliquent principalement la charge et la structure de la surface des microorganismes [(Zita et Hermansson, 1997) ; (Krasowska et Sigler, 2014)]. En effet, ces propriétés dépendent de l'architecture de la paroi cellulaire et de la présence des biomolécules sur cette dernière (Habimana *et al.*, 2014). Effectivement, les structures et les charges des surfaces bactériennes sont hétérogènes. De plus, les propriétés de la surface peuvent changer considérablement en réponse aux changements de leur environnement [(O'Toole *et al.*, 2000) ; (Habimana *et al.*, 2009)].

L'hydrophobicité de la surface des cellules bactériennes est l'un des facteurs les plus importants dans l'adhésion des bactéries aux diverses surfaces. Dans le cas des membranes de nanofiltration et d'osmose inverse, l'augmentation des niveaux d'adhésion bactérienne est corrélée à l'augmentation de l'hydrophobicité de leur paroi cellulaire (Pang *et al.*, 2005).

La formation des biofilms est influencée également par les caractéristiques de la membrane de filtration, celles-ci comprennent l'hydrophobicité et la charge, la composition chimique, la rugosité et la morphologie de la surface membranaire. Dans ce contexte, une étude antérieure a démontré que toutes ces propriétés membranaires sont impliquées dans l'adhésion bactérienne et la formation des biofilms (Nguyen *et al.*, 2012).

Les matériaux hydrophiles sont moins favorables à l'adhésion bactérienne [(Fletcher et Loeb, 1979) ; (Li et Logan, 2004)]. En effet, plusieurs études ont montré que plus une membrane est hydrophobe, rugueuse et possède moins de charges négatives, plus la probabilité d'adhésion bactérienne augmente [(Kang *et al.*, 2006) ; (Subramani et Hoek, 2008) ; (Lee *et al.*, 2010b) ; (Myint *et al.*, 2010)].

Les conditions opérationnelles de la station qui influencent la formation des biofilms comprennent, quant à elles, la grille d'espacement, le flux de l'eau d'alimentation, sa vitesse d'écoulement transversal, sa température, sa pression, son pH, sa concentration en sels et la présence de certaines molécules (**Jiang et al., 2017**). En effet, les membranes d'osmose inverse subissent différents degrés de formation de biofilm, cela est éventuellement lié aux caractéristiques de l'eau d'alimentation [(**Vrouwenvelder et al., 2001**) ; (**Xu et al., 2010**)]. De plus, le flux d'alimentation en présence d'une haute pression induit un dépôt de cellules plus important sur la surface de la membrane (**Subramani et Hoek, 2008**).

Tableau N° 2 : Facteurs influençant l'adhésion des microorganismes aux surfaces des membranes de filtration.

	Facteurs
Propriétés microbiennes	Hydrophobicité de la surface des microorganismes Charge de la surface des microorganismes Structure de la surface des microorganismes
Caractéristiques de la membrane	Hydrophobicité de la surface Charge de la surface Composition chimique Rugosité Morphologie
Conditions opératoires	Flux de l'eau d'alimentation Vitesse d'écoulement transversal Température Pression pH Concentration en sels Présence de certaines molécules Grille d'espacement

Par ailleurs, les particules d'exopolymère transparentes (TEP), particules de micro-gel flottantes que l'on trouve couramment dans toutes les eaux, sont connues pour être impliquées dans la colonisation bactérienne et la formation de biofilms aquatiques (**Berman et Holenberg, 2005**). Dans ce contexte, une étude antérieure a montré qu'environ 0,5 à 25 % de toutes les bactéries présentes dans l'eau de mer et l'eau douce sont fixées sur des particules d'exopolymère transparentes (**Figure N° 3**) (**Passow, 2002**).

L'encrassement biologique des membranes de filtration, connu également sous le terme de biofouling ou bio-colmatage, se déroule en deux grandes phases, le microfouling et le

macrofouling (**Figure N° 3**). Le premier correspond à la formation des biofilms bactériens suivie de l'installation des micro-algues, des levures et des protozoaires. Le second est représenté par la colonisation des membranes par des organismes pluricellulaires eucaryotes et des macro-algues (**Doghri et al., 2015**).

En fait, quatre séquences sont observées dans le processus de biofouling membranaire ; le conditionnement chimique de la surface par l'adsorption quasi-instantanée des molécules organiques et inorganiques, la colonisation par les bactéries puis par les organismes eucaryotes unicellulaires et enfin les organismes eucaryotes pluricellulaires (**Wahl, 1989**).

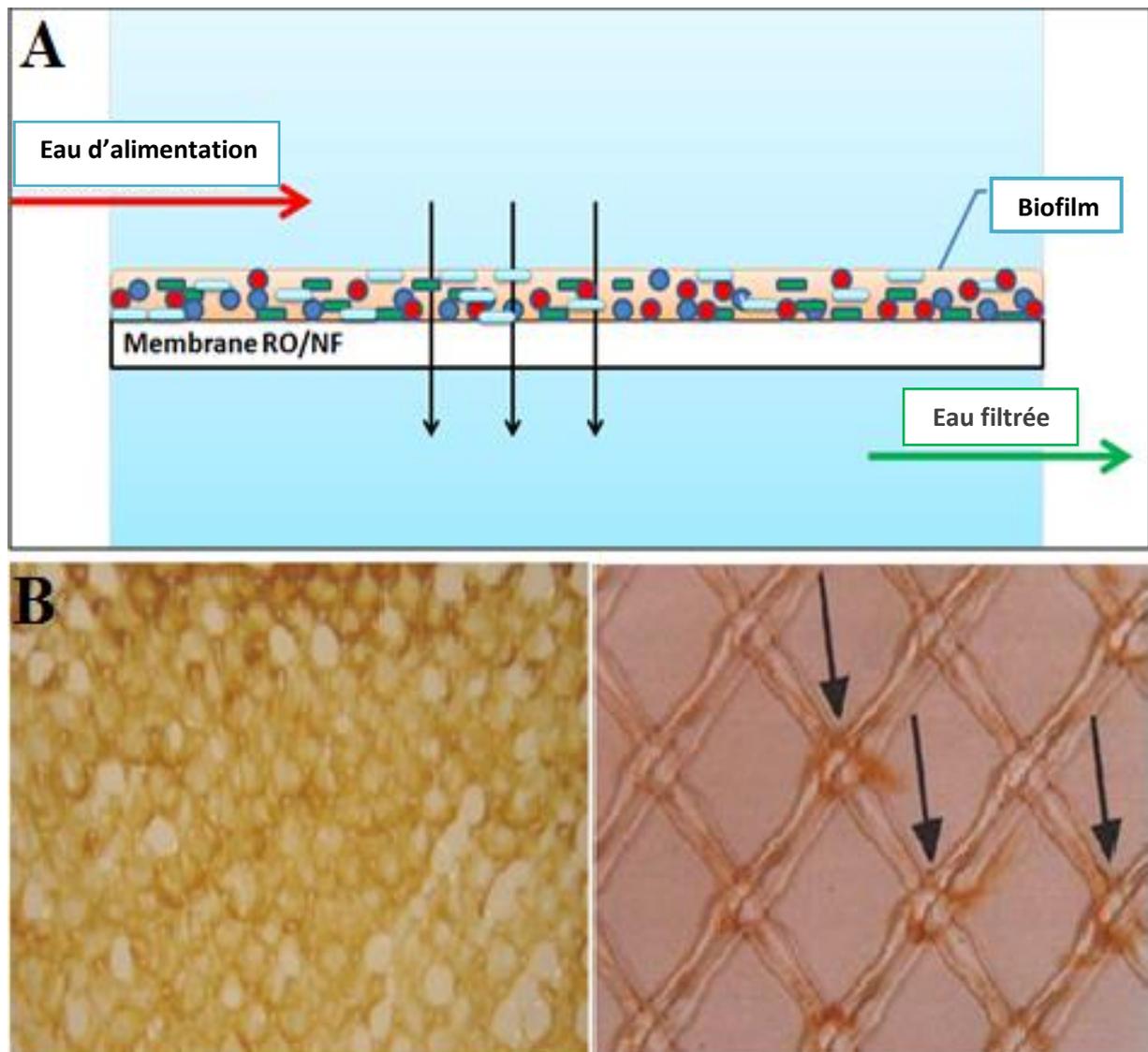


Figure N° 3 : A ; Représentation schématique modifiée d'une membrane d'osmose inverse encrassée. **B ;** Formation de biofilm sur la grille d'espacement prélevé lors de l'autopsie d'une membrane spiralee (**Vrouwenvelder et al., 2009**).

L'encrassement biologique a plusieurs effets négatifs sur les membranes. Il entraîne une diminution du flux membranaire, une biodégradation de la membrane, une diminution du taux de rejet de sel, une augmentation de la pression différentielle et d'alimentation, une dégradation de la qualité d'eau filtrée et la nécessité de nettoyages fréquents. Cela conduit à terme à un coût de traitement élevé et souvent à un échec du processus [(Nguyen et al., 2012) ; (Qureshi et al., 2013)].

De plus, les bactéries peuvent tolérer une large gamme de pH (0,5 - 13), de température (12 - 110 °C), de salinité, d'intensité de rayonnement et de pression. De ce fait, les microorganismes sont capables de coloniser toutes les surfaces membranaires des stations de dessalement dans des conditions variables [(O'Toole et al., 2000) ; (Flemming, 2008) ; (Qureshi et al., 2013)].

Bien que plusieurs approches aient été suivies pour surveiller le développement des biofilms sur la surface des membranes d'osmose inverse, il n'existe actuellement aucune méthode standard pour surveiller et contrôler ce type d'encrassement biologique dans les systèmes de filtration membranaire. De ce fait, un débat est engagé aujourd'hui sur le meilleur moyen de surveillance. Or, peu d'études ont été réalisées en Algérie bien que ce pays enregistre un surcoût considérable induit par l'encrassement répété des membranes RO, d'où leur changement précoce.

Pour répondre à ce verrou scientifique, nous avons entrepris cette étude qui se veut un repère en Algérie et au pays du bassin méditerranéen, et ce, à travers une recherche sur terrain et au laboratoire, permettant de contribuer à la surveillance du biofouling membranaire.

La présente étude a porté sur la station de dessalement de Souk Tlata de la wilaya de Tlemcen, les points suivants définissent les objectifs visés :

- Étude du bio-colmatage des membranes d'osmose inverse (RO).
- Détermination du poids sec du matériel colmatant dans les membranes d'osmose inverse encrassées.
- Évaluation de la charge microbienne présente sur la surface membranaire encrassée.
- Isolement, purification et identification des microorganismes responsables de l'altération des membranes d'osmose inverse.
- Évaluation du potentiel des souches isolées à former des biofilms *in vitro*.
- Détermination de l'auto-agrégation, la co-agrégation et l'hydrophobicité des souches isolées.

- Caractérisation du bio-colmatage par la Spectroscopie Raman.
- Mise en évidence de la structure tridimensionnelle des biofilms formés sur la surface des membranes encrassées par les techniques microscopiques.

Deuxième partie

Matériel et méthodes

L'actuel travail est réalisé au sein de :

- Station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata – Tlemcen – Algeria.
- Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique (LAPSAB) de l'université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen.
- Laboratoire de Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen.

1. Lieu d'étude et échantillonnage

Les membranes de filtration sont récupérées au niveau de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata, celle-ci est située au Nord-Ouest de la wilaya de Tlemcen ($35^{\circ}04'16''N$ $2^{\circ}00'06''W$) (**Figure N° 4**), et est installée sur une superficie de 8,5 hectares. Cette station est composée de deux unités de filtration membranaire, la première concerne l'ultrafiltration tandis que la seconde est consacrée à la filtration par osmose inverse.



Figure N° 4 : Vue satellitaire de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata. Les chiffres désignent les différentes unités de la station. 1 : Prise d'eau de mer, 2 : Ultrafiltration, 3 : Osmose inverse et 4 : Post-traitement.

L'unité de l'ultrafiltration est composée de cinq banques, chacune contient neuf trains et chacun de ces derniers est composé de 144 modules, soit une totale de 6480 modules de membranes d'ultrafiltration dans toute la station (**Figure N° 5**).

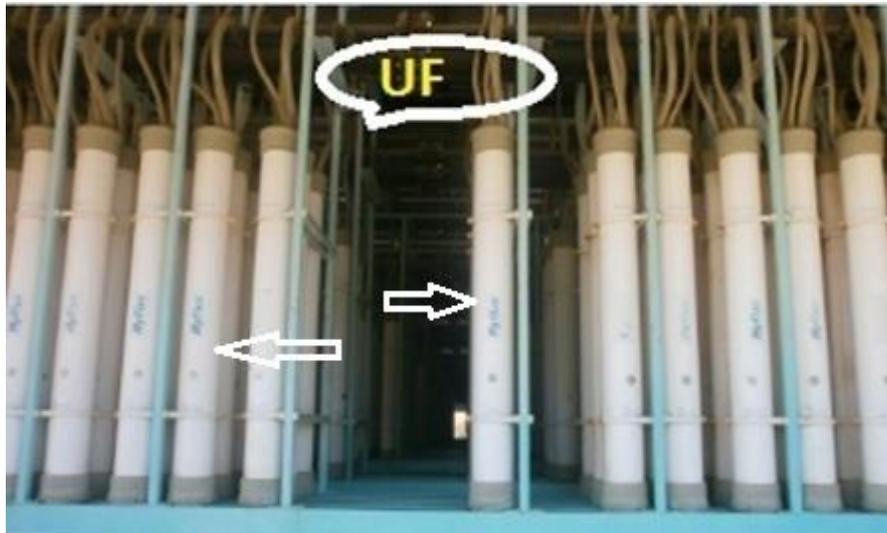


Figure N° 5 : Train d'ultrafiltration dans la station de dessalement de Souk Tlata. Les flèches indiquent les membranes d'ultrafiltration (UF).

La seconde unité est celle de l'osmose inverse, elle est composée de treize trains de filtration identiques, et ce, pour une capacité de production de 200 000 m³/jour. Chaque train dispose de 1344 membranes, soit un total de 17472 membranes sur l'ensemble de la station (**Figure N° 6**).



Figure N° 6 : Train de filtration par osmose inverse dans la station de dessalement de Souk Tlata.

Le processus global de dessalement de l'eau de mer dans la station commence par la prise d'eau, suivi d'un processus de prétraitement, un système d'osmose inverse et enfin un processus de post-traitement.

Primo, la station reçoit l'eau de mer par gravitation ; les canalisations d'alimentation sont immergées dans la mer à une profondeur de 12 m, et ce, à 900 m de la station avec une inclinaison de 30° à sa droite. Lorsque l'eau arrive, elle est stockée dans deux réservoirs. Deux pompes injectent de l'air dans ces réservoirs pour éliminer les poissons, le plancton et d'autres agents biologiques. En parallèle, un système de traitement au chlore permet d'éliminer les microorganismes. Enfin, l'eau est pompée vers un système d'ultrafiltration.

En second lieu, l'eau pré-filtrée subit une étape de dessalement par osmose inverse. Ce processus comprend plusieurs équipements dont un système de dosage antitartre, des pompes d'alimentation, des pompes à haute pression, des pompes turbo, des trains d'osmose inverse, un système de récupération d'énergie, un système de nettoyage en place et un réservoir de stockage de l'eau filtrée.

L'eau produite passe à l'étape de post-traitement, à ce stade, elle subit son traitement final en injectant de l'hypochlorite de sodium et en ajoutant du dioxyde de carbone et des oligo-éléments pour la rendre potable. L'eau est ensuite stockée avant sa distribution (**Figure N° 7**).

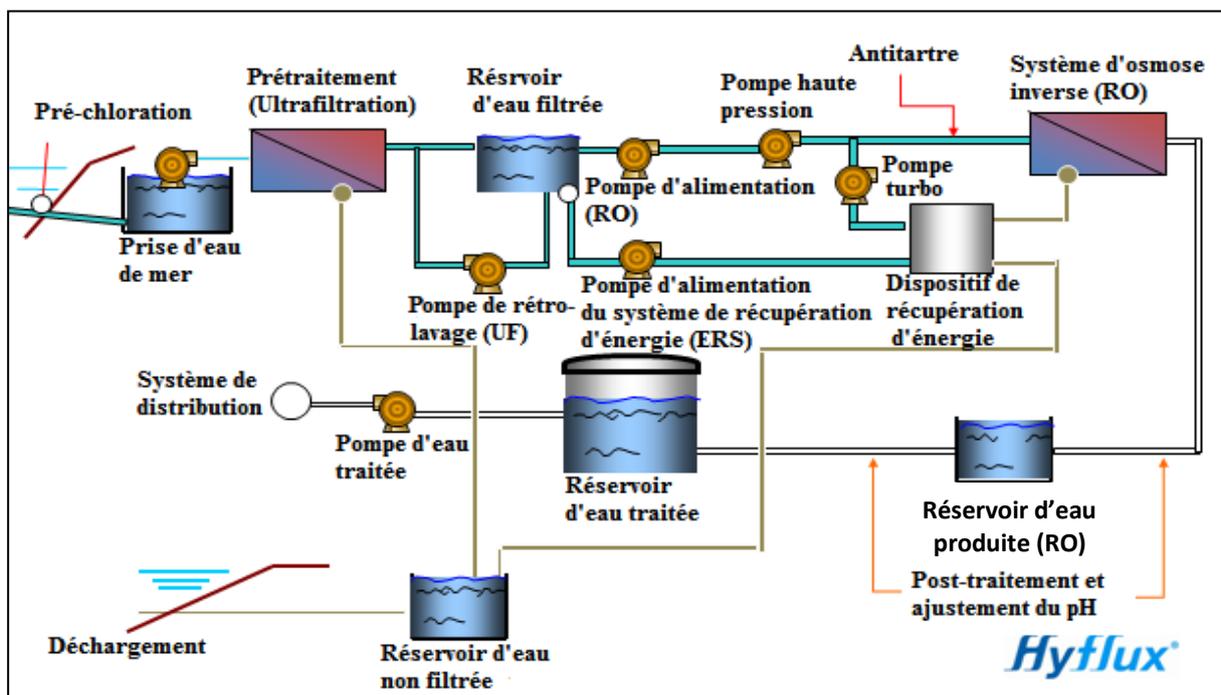


Figure N° 7 : Schéma général du procédé de dessalement de la station de dessalement de Souk Tlata - Tlemcen.

Les prélèvements sont effectués sur une période allant de septembre 2018 à septembre 2019. Les membranes présentant une capacité de filtration réduite sont retirées des trains puis sont acheminées au laboratoire pour effectuer les différentes analyses. Quatre types de membranes sont récupérés, il s'agit des membranes SWC4+, SWC5, SWC5-LD et SWC5 MAX (Hydranautics, Nitto Group Company) ; celles-ci sont confectionnées en polyamide et ont un taux de rejet de sel d'environ 99,7 %.

2. Estimation du poids sec du matériel colmatant

Les membranes soupçonnées d'être colmatées, ayant présenté un rendement de filtration réduit, sont retirées des différents trains de la station. Le poids sec du matériel colmatant est déterminé en se référant à leurs poids avant et après leur utilisation.

Pour ce faire, les membranes retirées des trains sont égouttées et séchées dans un endroit sec pendant un mois, et ce, selon les recommandations des ingénieurs de la station. Le poids de chaque membrane est noté puis comparé au poids initial, la différence est considérée comme étant le poids sec du matériel colmatant.

Afin de compléter les données précédentes, la quantité des particules totales solides dissoutes (TDS) et en suspension (TSS) dans l'eau de mer (**Annexe 6**) est utilisée pour déterminer le taux journalier de particules retenues par la membrane, ce qui correspond au taux journalier de leur dégradation.

Cette estimation, généralisée par l'analyse des données, est réalisée à l'aide du logiciel Matlab R 2014a pour le calcul de l'indicateur de santé (HI, Health Indicator) des membranes. Dans le cas idéal, l'indicateur de santé a une tendance monotone, strictement décroissante de un à zéro (**figure N° 8**), où HI = 1 signifie un nouveau système sain tandis que HI = 0 signifie un système complètement dégradé (arrêt du système) [(**Hong et al., 2014**) ; (**Javed et al., 2015**)]. Dans notre cas, le système de dessalement est représenté par son élément critique ; à savoir les membranes d'osmose inverse utilisées dans la station.

Le taux journalier moyen de la dégradation, en gramme, des membranes est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Taux} = \text{Moyenne (TDS+TSS)} / \text{Débit journalier d'alimentation}$$

On note que 1 ppm = 1g/m³.

Selon le fabricant, le débit journalier d'alimentation est de 408 m³/membrane.

La **figure N° 8** montre la relation entre l'indicateur de santé (HI) et la durée de vie utile restante (RUL, Remaining Useful Life). La RUL représente le temps restant pour qu'une membrane soit utile.

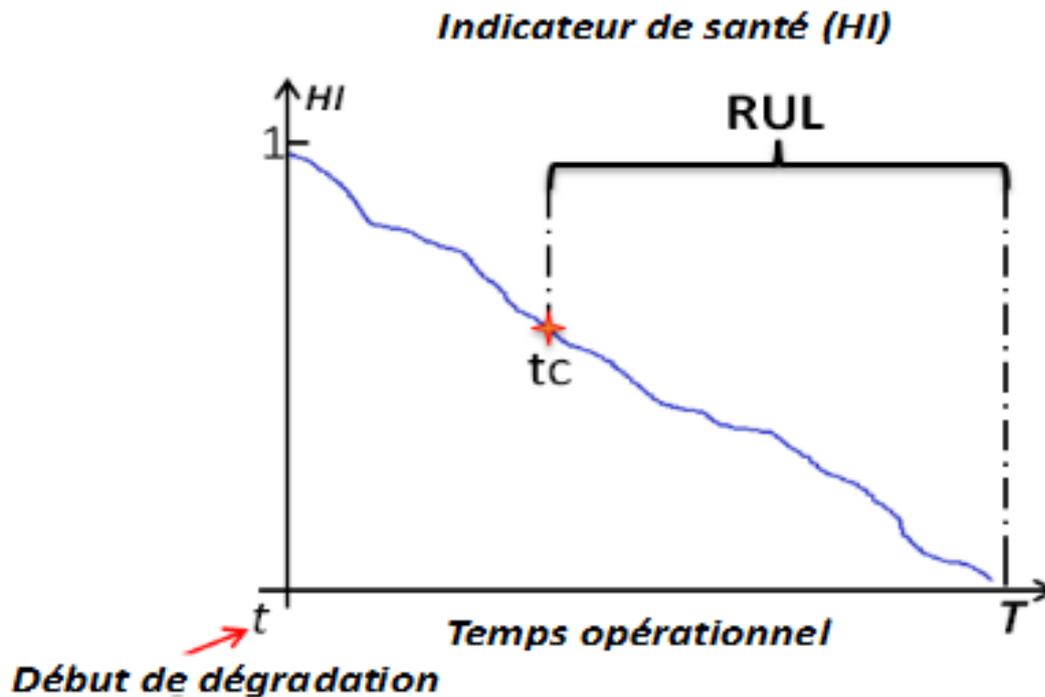


Figure N° 8 : Forme générale de l'indicateur de santé d'un système donné (Sekkal et al., 2016).

T : Variable aléatoire, temps de vie moyen (jusqu'à l'échec du système).

tc : temps actuel.

3. Autopsie des membranes

Six membranes d'osmose inverse encrassées ont fait l'objet de l'autopsie ; celles-ci sont prélevées à différentes périodes de l'année, l'autopsie est réalisée dans une hotte à flux laminaire. Les membranes sont d'abord dérobées de leurs coques externes, puis sont déroulées afin de pouvoir accéder à toutes ses parties. Des échantillons sont prélevés aseptiquement à partir de trois endroits différents (**Figure N° 9**).

Le premier concerne des fragments de 1 cm² prélevés de la partie à travers laquelle entre l'eau salée prétraitée, le second et le dernier comprennent des fragments prélevés, respectivement, du milieu et de la sortie de la membrane. Les fragments prélevés sont placés, chacun, dans un tube contenant 10 mL de tampon phosphate salé stérile (PBS, pH 7,2 10 mM) (Lee et al., 2010a).

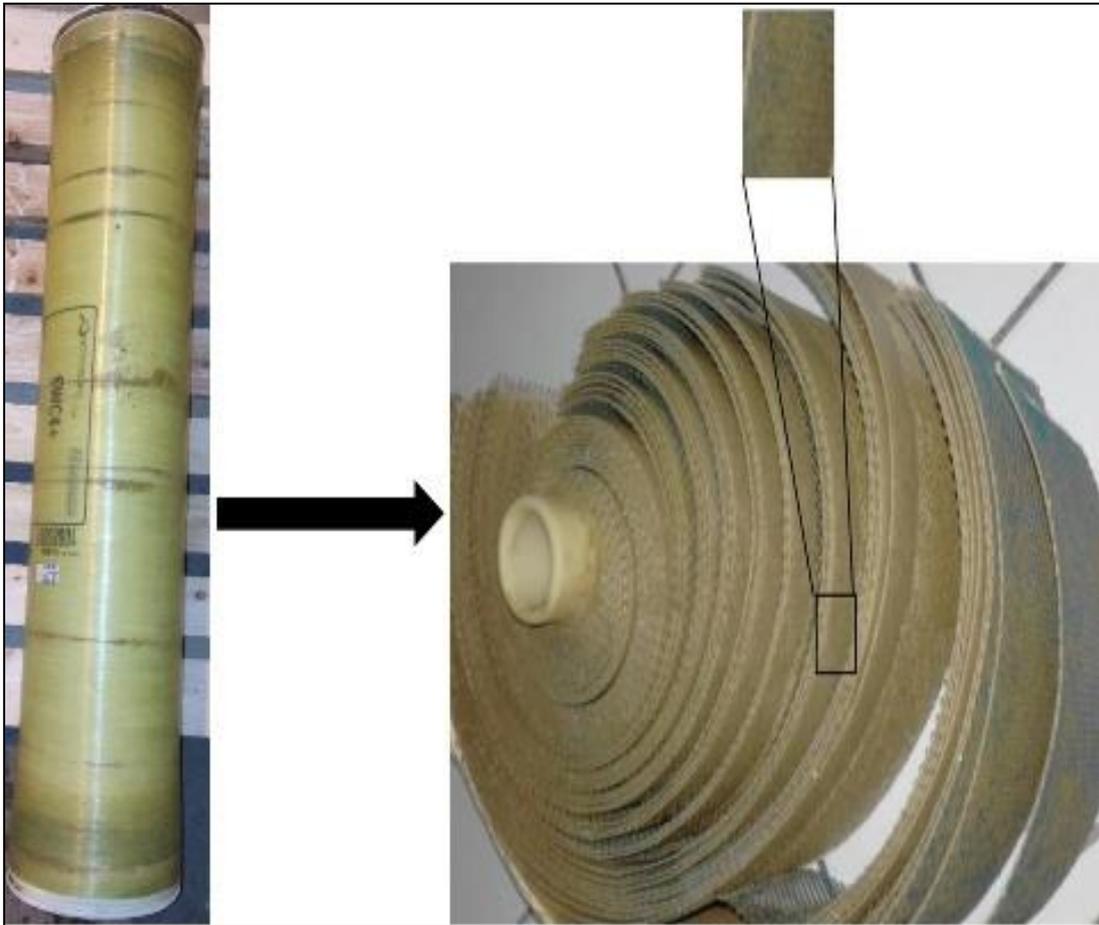


Figure N° 9 : Autopsie et prélèvement d'échantillons à partir d'une membrane d'osmose inverse encrassée.

4. Évaluation de la charge microbienne

La charge des microorganismes adhérant aux surfaces des membranes colmatées est évaluée en rapportant les résultats au nombre d'unités formant colonies par m² de membrane (UFC/m²) (Jett et al., 1997). Le comptage est réalisé dans les différentes parties des membranes ; l'entrée, le milieu et la sortie.

Chaque échantillon est soumis à deux dénombrements successifs. Le premier concerne l'évaluation de la charge microbienne faiblement attachée à la membrane ; celui-ci est réalisé

suite à l'agitation au vortex pendant une minute, les microorganismes sessiles ne peuvent pas être détachés totalement par ce procédé (**Boucherit-Atmani et al., 2011**). Le second concerne le nombre de cellules fortement attachées aux surfaces ; les microorganismes sont détachés par sonication pendant une minute (**Nady et al., 2020**).

Après agitation, 100 µL des suspensions sont étalés sur la gélose TSA (Tryptic Soja Agar, pH 7,2), préalablement coulée dans des boîtes de Petri. Celles-ci sont ensuite incubées pendant 24 heures à 37 °C et le nombre d'UFC/m² est évalué par le comptage des colonies formées.

Des dilutions sont réalisées pour les échantillons à charge microbienne élevée. Pour chaque échantillon, deux répétitions sont effectuées.

5. Isolement, purification et identification

L'isolement et la purification des souches sont réalisés par des repiquages successifs sur des milieux sélectifs. Les géloses MacConkey et Chapman sont utilisées pour sélectionner les bactéries Gram-négatives et Gram-positives, respectivement.

Les galeries API[®] 20 E, API[®] 20 NE et API[®] Staph (Biomerieux, France) sont utilisées pour identifier les souches isolées. Une suspension bactérienne équivalente à 0,5 McFarland est distribuée dans les puits, les galeries sont ensuite incubées à 37° C pendant 24 heures. Les souches sont identifiées en se référant au tableau d'identification du catalogue analytique ainsi qu'aux logiciels d'identification API (API 20 E+ V 4.1, API 20 NE V 7.0 et API Staph V 4.1).

Les tests d'identification des souches sont réalisés en double. Les souches isolées sont conservées au froid (4-6 °C).

6. Evaluation du potentiel de formation des biofilms

La technique de coloration au cristal violet permet d'estimer la biomasse des biofilms microbiens (**Christensen et al., 1985**). La technique modifiée de O'Tool (**2011**) est utilisée pour évaluer et quantifier les biofilms formés par les souches isolées. Le cristal violet, de charges positives, se lie aux molécules extracellulaires chargées négativement, notamment les polysaccharides de la matrice exo-polymérique des biofilms.

Les suspensions bactériennes jeunes sont centrifugées (1000 g, 15 min, 4 °C) et les culots sont ensuite lavés deux fois avec du tampon PBS stérile (10 mM, pH 7,4). Les cellules

bactériennes sont remises en suspension dans du bouillon Tryptic Soja (TSB, pH 7,3), puis les concentrations des inocula sont ajustées à 10^7 cellules/mL. À partir de chaque suspension, 100 μ L sont introduits dans les puits d'une microplaque stérile à 96 puits ; des puits remplis de milieu de culture stérile sont utilisés pour le contrôle négatif. Les microplaques sont scellées puis incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Une fois le milieu retiré des puits, ces derniers sont lavés trois fois avec du tampon PBS stérile afin d'éliminer les cellules planctoniques et/ou les cellules non-adhérentes. Ensuite, 100 μ L de méthanol (99 %) sont ajoutés dans chaque puits et laissés agir pendant 15 min à température ambiante, ceci permet la fixation des biofilms formés. Les puits sont ensuite lavés et remplis par 100 μ L d'une solution de cristal violet (0,1 % p/v) puis laissés agir pendant 20 minutes à température ambiante avant d'être lavées une fois de plus. Le cristal violet lié aux biofilms est libéré par l'ajout de 150 μ L d'acide acétique (33 %) dans chaque puits, l'absorbance est lue à 570 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Rayto, RT-2100C) ; cette opération permet l'évaluation de la biomasse des biofilms formés. L'expérimentation est répétée deux fois pour toutes les souches.

L'absorbance seuil (A_s) est définie comme étant trois écart-types au-dessus de l'absorbance moyenne du témoin négatif (A). Selon (Stepanović et al., 2000), le potentiel de formation des biofilms, est classé dans les catégories suivantes :

Absorbance (A_s)	Classification des bactéries
$A < A_s$	Non adhérentes
$A_s < A \leq 2A_s$	Faiblement adhérentes
$2A_s < A \leq 4A_s$	Moyennement adhérentes
$4A_s < A$	Fortement adhérentes

7. Test d'hydrophobicité

La capacité de formation des biofilms est proportionnellement influencée par le caractère hydrophobe de la surface des microorganismes. Le test d'hydrophobicité consiste à évaluer le degré d'affinité des microorganismes isolés vis-à-vis d'un solvant organique, l'hexane. Plus cette affinité est importante, plus la surface microbienne est hydrophobe (Krepesky et al., 2003).

À partir d'une culture jeune, des colonies sont suspendues dans 4 mL de tampon PBS (pH 7,2 10 mM), pour avoir une concentration finale de 3×10^8 cellules/mL. Ensuite, 400 μ L d'hexane (95 %) sont ajouté aux suspensions bactériennes qui sont incubées dans un bain-marie à 37 °C pendant 10 minutes. Celles-ci sont ensuite agitées au vortex pendant une minute, puis laissées décanter pendant 15 minutes à température ambiante, et ce, pour permettre la séparation des deux phases.

L'absorbance de la phase aqueuse est mesurée à 570 nm (A1). Le pourcentage d'adhésion des bactéries isolées au solvant est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Adhésion} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

A₀ : absorbance de la suspension bactérienne originale,

A₁ : absorbance de la phase aqueuse.

Selon le pourcentage d'hydrophobicité obtenu, les souches isolées sont classées en trois catégories selon le tableau suivant :

Pourcentage d'adhésion (%)	Propriété de surface des bactéries
Supérieure à 50	Hydrophobe
entre 20 et 50	Relativement hydrophobe
Inférieure à 20	Hydrophile

8. Agrégation cellulaire

8.1. Test d'auto-agrégation

La formation des biofilms est souvent le résultat de l'agrégation des microorganismes. Le test d'auto-agrégation est effectué pour détecter la capacité des souches isolées à former des agrégats cellulaires. Un tel phénomène augmente le potentiel de former les biofilms (Seddiki, 2021).

Dans un premier temps, un test visuel à l'œil nu est réalisé afin de révéler la formation d'agrégats au fond des tubes, et ce, après leur incubation pendant 24 heures à température ambiante (Rupani et al., 2008).

Dans un deuxième temps, la méthode quantitative spectrophotométrique de Karched et ses collaborateurs (2015) est utilisée, cette méthode est effectuée en mesurant l'absorbance à 600 nm. La suspension cellulaire cultivée pendant 24 heures à 37 °C dans un bouillon nutritif est centrifugée à 5000 g pendant 15 min à 4 °C, puis lavée deux fois avec du tampon KCl (pH 6 ; 50 mM KCl ; 1 mM CaCl₂ ; 1 mM KH₂PO₄ ; 0,1 mM MgCl₂).

Le taux d'auto-agrégation est mesuré par la diminution des absorbances des suspensions bactériennes après 24 heures d'incubation. La turbidité est ajustée à 1 (600 nm) ; celle-ci correspond à la valeur de l'absorbance au temps zéro. Après 24 heures d'incubation à température ambiante, une aliquote de 1 mL de la suspension est introduite dans une micro-cuve pour la mesure de l'absorbance des suspensions bactériennes. Le taux d'auto-agrégation est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ auto-agrégation} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

A₀ : absorbance au temps zéro,

A₁ : absorbance de l'échantillon au temps t.

8.2. Test de co-agrégation

Ce test est réalisé afin de mesurer la co-agrégation des souches co-isolées des mêmes surfaces membranaires suivant le même protocole utilisé pour le test d'auto-agrégation (Karched et al., 2015).

Deux souches sont sélectionnées pour tester leurs co-agrégations avec le reste des souches isolées, et ce, selon les résultats de l'identification des souches isolées et du test de formation des biofilms. La première souche correspond à celle qui présente le meilleur potentiel à former le biofilm, la seconde souche est l'espèce fréquemment isolée.

Après 24 heures d'incubation à 37 °C, les colonies bactériennes sont mises en suspension dans le tampon KCl stérile. L'absorbance de chaque suspension bactérienne est ajustée à 1 (600 nm). Ensuite, 500 µL de la suspension cellulaire de chacune des deux espèces à tester sont introduits dans une cuvette, puis incubés à la température ambiante du laboratoire.

La co-agrégation est évaluée toutes les 15 minutes pendant 2 heures, puis après 24 heures d'incubation à température ambiante. L'absorbance mesurée à 600 nm permet de calculer le

pourcentage de la co-agrégation à intervalle de temps ; ce qui révèle l'évolution de la co-agrégation au cours du temps. Le pourcentage de la co-agrégation est calculé par l'équation suivante :

$$\% \text{ co-agrégation} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

A_0 : absorbance au temps zéro,

A_1 : absorbance de l'échantillon au temps t.

9. Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est un outil très utile dans la caractérisation et l'identification des systèmes biologiques [(Samek et al., 2010) ; (Pahlow et al., 2015)].

La spectroscopie Raman permet de connaître les états transitoires de vibrations et de rotations d'une molécule excitée par une puissance source lumineuse monochromatique du type laser. C'est donc une technique complémentaire à la Spectroscopie Infrarouge. Dans le cadre de la Spectroscopie Raman, on s'intéresse aux énergies de vibration et de rotation très faibles en comparaison à celle des photons incidents (lasers UV, vert 530 nm, rouge 630 nm et IR 800 - 2000 nm).

Dans cette étude, des investigations spectroscopiques Raman sont réalisées à l'aide d'un spectromètre HORIBA LABRAM HR Raman fonctionnant en mode spectrographe unique avec un réseau dispersif holographique de 600 rainures/mm équipé d'une fréquence (633, 785 et 325 nm).

Les échantillons sont analysés en mode rétrodiffusion sur la platine d'un microscope confocal Olympus fixé au spectromètre à l'aide d'un objectif x50. Le détecteur utilisé est un Symphony IGA à dispositif couplé de charge refroidi à l'azote liquide. Des filtres, coupe-bande holographiques à 633 et 785 nm sont utilisés pour éliminer la lumière diffusée par Rayleigh.

La largeur de la fente d'entrée est de 100 μm donnant une résolution de 2 cm^{-1} dans la gamme comprise entre 100 et 5000 cm^{-1} . Des acquisitions répétées utilisant les grossissements les plus élevés sont accumulées pour améliorer le rapport signal sur bruit dans les spectres. Les spectres sont calibrés en utilisant la raie 520,5 cm^{-1} d'une plaquette de silicium.

Dans un premier temps, la composition chimique des différentes espèces isolées des membranes d'osmose inverse encrassées est analysée et caractérisée. En second lieu, nous avons analysé trois zones différentes d'une même membrane encrassée, relatives à l'entrée, le milieu et la sortie de la membrane. Finalement, des cartographies Raman sont réalisées pour la caractérisation des couches d'encrassement formées sur les surfaces membranaires. Cette procédure permet d'évaluer également les biofilms microbiens, du point de vue qualitatif et structurale.

10. Imagerie microscopique

10.1. Microscopie optique

Des morceaux d'environ 1 cm² sont prélevés à partir d'une membrane d'osmose inverse encrassée. Ensuite, les différentes couches de la membrane sont séparées et fixées sur une lame et visualiser par le microscope optique ; il s'agit de la partie supérieure, la partie inférieure et la partie intermédiaire, en plus de la grille d'espacement.

10.2. Microscopie à épi-fluorescence

Afin d'illustrer le biofouling, les membranes colmatées sont observées par microscopie à épi-fluorescence. Un fragment de membrane blanche (non colmatée) ainsi qu'un autre, provenant d'une membrane d'osmose inverse encrassée, sont examinés au microscope à fluorescence (Euromex iScope, IS.3152-PLi/3).

10.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

En raison de son fort grossissement et de sa résolution, la microscopie électronique à balayage (MEB) est utilisée pour mettre en évidence les détails des biofilms qui sont formés à la surface de la membrane d'osmose inverse encrassée. Les échantillons destinés à l'observation MEB sont prélevés à partir de l'entrée, le milieu et la sortie de la membrane, puis placés dans du tampon phosphate salé stérile (PBS, pH 7,2 10 mM).

Avant leurs examens, les fragments choisis sont rincés avec du PBS, puis fixés avec une solution de glutaraldehyde (2,5 % v/v). Les échantillons sont envoyés au laboratoire à l'université Yeditepe, département de génétique et de bio-ingénierie – Istanbul pour leur observation au microscope électronique à l'aide d'un microscope de marque ZEISS EVO 10, Germany.

11. Analyse statistique

L'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS STATISTICS (version 23). La signification (ANOVA) est déterminée à $p \leq 0,05$.

Une analyse des correspondances multiples (ACM) a été effectuée pour déterminer les relations qui existent entre trois variables de l'étude, à savoir la charge microbienne, l'imagerie électronique des biofilms et la cartographie Raman.

L'ACM a été réalisée à l'aide du programme R-Studio (v. 1.3.1093). Pour cela, les trois variables ont été transformées en modalités qualitatives.

Troisième partie

Résultats et discussion

1. Échantillonnage et poids sec du matériel colmatant

Au total, cinquante-six (56) membranes encrassées ont fait l'objet de cette étude. Cinquante (50) d'entre elles sont utilisées pour l'estimation du poids sec du matériel biologique et non-biologique ayant causé leur encrassement. Six (6) membranes ont été acheminées au laboratoire pour la réalisation des analyses microbiologiques, spectrales et microscopiques.

Le **tableau N° 3** regroupe les résultats enregistrés relatifs aux moyennes du poids sec du matériel colmatant pour chaque type de membranes encrassées. Sur un total de 50 membranes, appartenant aux types SWC4+, SWC5, SWC5-LD et SWC5 Max, le poids sec du matériel colmatant dans les membranes de type SWC5-LD et SWC5 est de $4,86 \pm 2,03$ Kg et $4,14 \pm 2,51$ Kg, respectivement. Vient ensuite celui de type SWC4+ puis SWC5 Max, avec $3,2 \pm 2,37$ Kg et $1,55 \pm 1,23$ Kg, respectivement.

En général, le poids sec moyen du matériel colmatant des membranes d'osmose inverse, tous types confondus, est de $3,44 \pm 2,38$ Kg. En effet, l'encrassement biologique des membranes dans les usines de dessalement via le procédé d'osmose inverse est inévitable ; l'eau de mer contient des quantités importantes de substances organiques, de nutriments et de micro-organismes (**Anwar et al., 2020**). Ceci conduit à penser que le dépôt de différents matériaux sur ces membranes peut expliquer le colmatage de leurs pores, et par conséquent la diminution du rendement du processus de filtration.

Tableau N° 3 : Moyennes des poids secs du matériel colmatant des différents types de membranes d'osmose inverse utilisées dans la station de dessalement de Souk Tlata.

Types de membranes	Nombre de membranes	Poids initial (kg)	Poids moyen après retrait (kg)	Poids moyen du matériel colmatant (Kg)
SWC 4+	13	16.4	19.60 ± 2.37	3.2 ± 2.37
SWC5	13	16.4	20.54 ± 2.51	4.14 ± 2.51
SWC5-LD	12	15	19.86 ± 2.03	4.86 ± 2.03
SWC5 Max	12	16.4	17.95 ± 1.23	1.55 ± 1.23
Tout types	50	/	19.51 ± 2.25	$3,44 \pm 2.38$

2. Estimation de la durée de vie des membranes

Il est important de noter que l'augmentation du poids des membranes au cours du processus de dessalement jusqu'à leur encrassement total est proportionnelle aux particules contenues dans l'eau d'alimentation. Ces particules sont entièrement bloquées, une partie d'entre elles est retenue par la membrane tandis que l'autre est éliminée dans le rejet.

L'analyse des données fournies par la direction de la station de dessalement, relatives aux matières totales solides dissoutes (TDS) et en suspension (TSS) (**Annexe 6**), sont utilisées pour déterminer l'indicateur de santé des membranes d'osmose inverse. Selon ces données, la durée de vie moyenne des membranes, durant laquelle celles-ci passent d'un état neuf jusqu'à leur encrassement total, est de 738 jours.

Les membranes d'osmose inverse sont l'élément critique du processus de dessalement, leur encrassement engendre dans la plupart des cas la défaillance du système entier. Selon les techniciens de maintenance de la station, la durée de vie effective des membranes varie de 2 à 3 ans, bien loin de la garantie de 5 ans promise par le fabricant.

La **figure N° 10** représente les variations moyennes respectives du TDS, du TSS, de la conductivité électrique et de la turbidité, et ce, selon les différentes saisons de l'année. Il ressort de ces résultats que la quantité de la matière totale solide dissoute (TDS) dans l'eau d'alimentation est plus importante durant l'automne. En revanche, celle-ci diminue progressivement durant l'hiver, le printemps puis l'été. Cette observation est constatée également quant à la conductivité électrique de l'eau ; cela montre que cette dernière est proportionnelle à la quantité de la matière totale solide dissoute (TDS).

La même figure montre que la quantité de la matière totale solide en suspension (TSS) de l'eau d'alimentation de la station enregistre un pic durant l'hiver. De plus, un pic est constaté également pour la turbidité de l'eau, et ce, durant la même saison. Cela, montre que la variation de la turbidité est proportionnelle à celle de la matière totale solide en suspension (TSS).

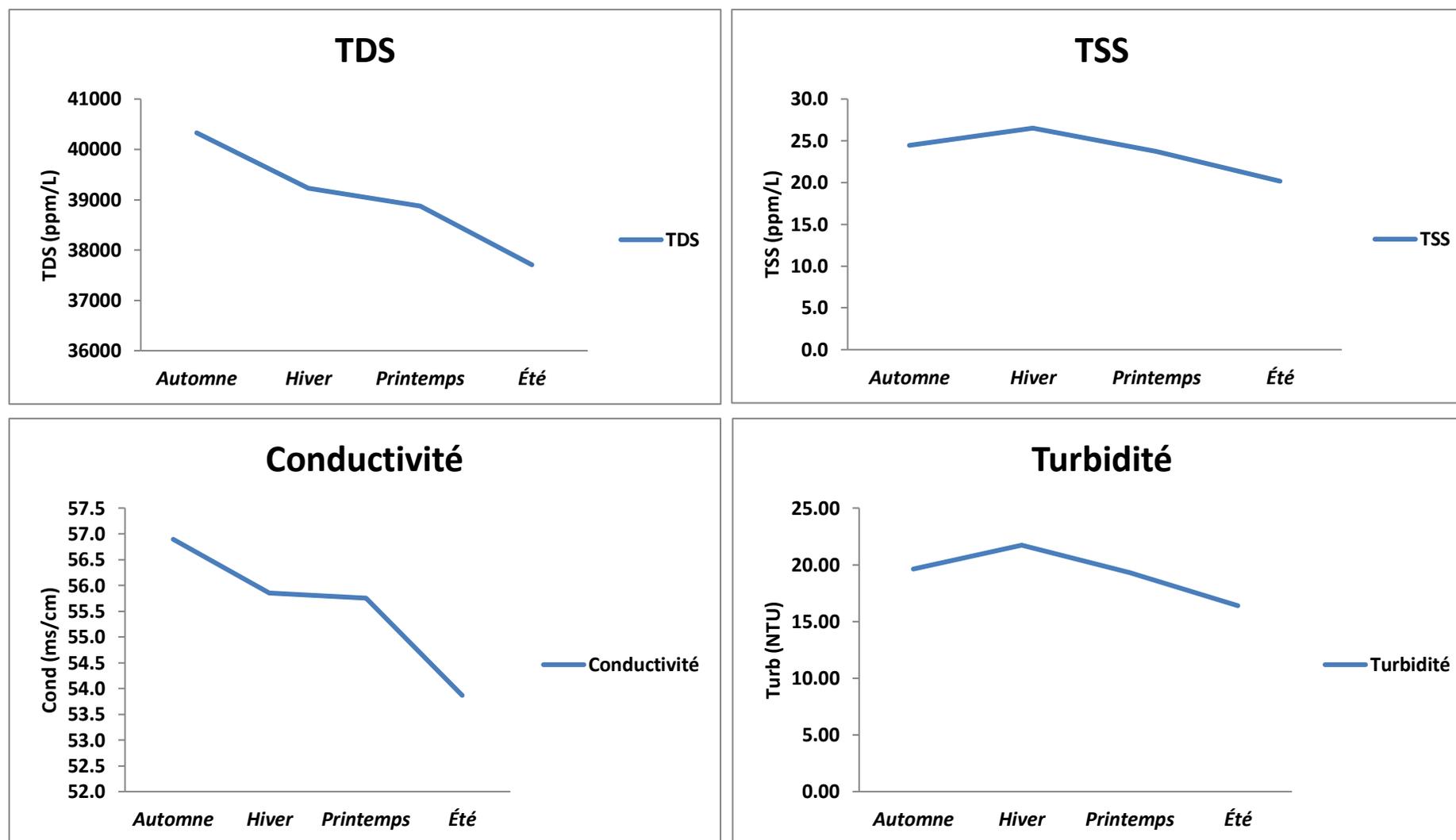


Figure N° 10 : Variation moyenne de TDS, TSS, conductivité électrique et turbidité de l'eau de mer de la station de dessalement de Souk Tlata durant les différentes saisons de l'année.

Ces résultats permettent de constater que le colmatage des membranes d'osmose inverse enregistre le niveau le plus important entre l'automne et l'hiver. Ceci suggère que l'abondance de ces particules, TDS et TSS, est plus remarquable durant cette période de précipitations abondantes, d'où l'augmentation de la turbidité et de la conductivité électrique de l'eau. La position géographique de la station de dessalement à proximité de l'oued Kouârdâ (**Figure N° 4**) joue un rôle dans l'augmentation de la concentration de ces particules. De plus, l'eau non filtrée dans la station, au caractère trop salin, est rejetée dans la mer via cet oued.

Par ailleurs, les résultats précédents permettent de déterminer l'indicateur de santé (HI) des membranes ; c'est un indice décroissant partant d'un système sain vers l'arrêt de celui-ci. Ceci permet de prévoir les scénarios possibles du colmatage relatif à la durée de vie moyenne des membranes.

Dans ce contexte, la quantité journalière des particules retenues par la membrane, regroupée dans le **tableau N° 4**, fournit des données permettant la détermination des différents scénarios.

Tableau N° 4 : Quantité journalière moyenne des particules retenues par les membranes selon les différents scénarios.

Quantité journalière des particules retenues par les membranes (ppm)					
Scénarios	Très Pessimiste	Pessimiste	Normal	Optimiste	Très Optimiste
Une membrane	0.050	0.200	0.160	0.133	0.259
Systeme entier (17472 membranes)	888.986	3501.614	2799.757	2334.409	4536.109

La quantité journalière moyenne des particules TDS et TSS retenue par les membranes, calculée selon le débit journalier d'alimentation a révélé un taux journalier de 2 799,76 ppm avec une durée de vie moyenne de 913 jours.

Selon les niveaux du colmatage des membranes, cinq scénarios sont possibles. Il s'agit d'un scénario optimiste, indiquant un indicateur de santé (HI) proche de 1, signifiant un niveau de colmatage membranaire réduit. Cet indicateur tend vers 0 pour un scénario pessimiste, indiquant un système défaillant. Ce dernier révèle que la durée de vie de la membrane lors de la phase d'apprentissage est de 738 jours.

La **figure N° 11** représente les différents scénarios de l'estimation de l'indicateur de santé d'une membrane d'osmose inverse utilisée dans la station de dessalement de Souk Tlata.

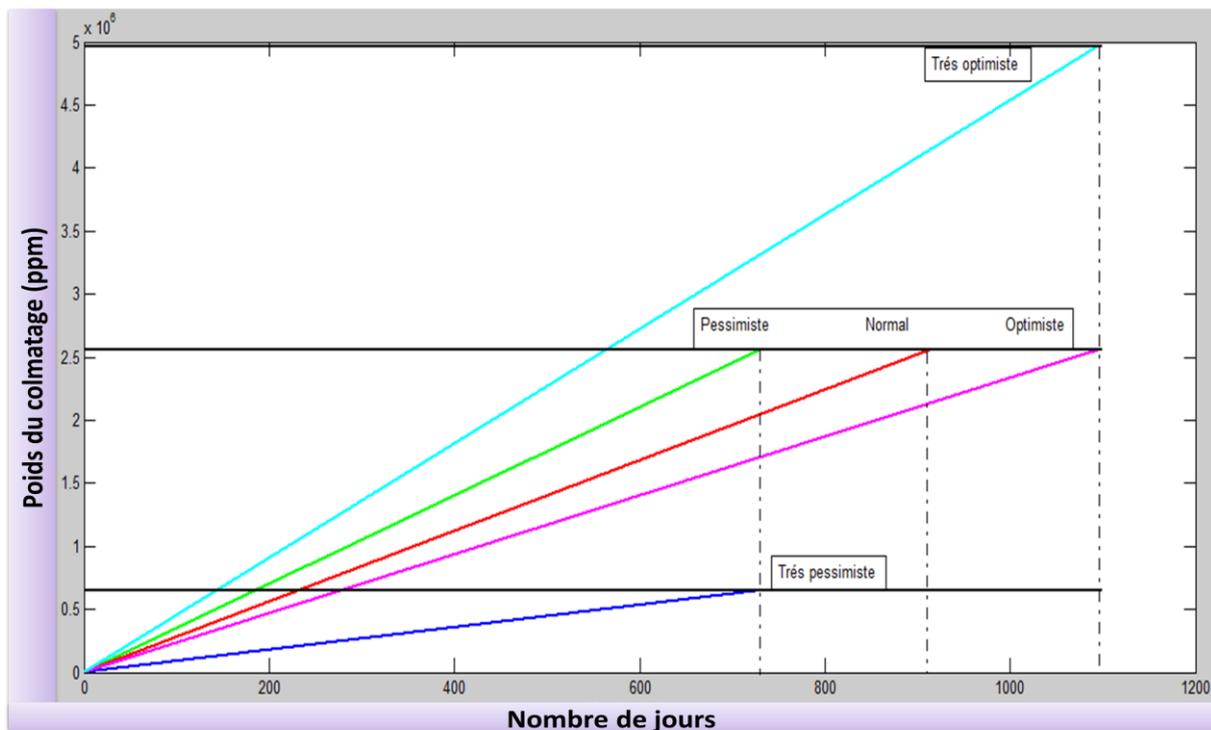


Figure N° 11 : Indicateur de santé d'une membrane d'osmose inverse et scénarios possibles de sa durée de vie.

Le premier scénario, très pessimiste, est relatif à une durée de vie minimale de 730 jours (2 ans) d'une membrane colmatée dans laquelle une quantité minimale de particules est filtrée. Le deuxième scénario, pessimiste, relatif à une durée de vie minimale similaire au premier, mais avec quantité modérée de particules filtrées. Cependant, le troisième scénario, dit normal, correspond à une durée de vie moyenne de 913 jours (2,5 ans) et une quantité modérée de particules filtrées par membrane. Le quatrième scénario est optimiste, celui-ci correspond à une durée de vie maximale de 1095 jours (3 ans) et une quantité modérée de particules filtrées par membrane. Le dernier scénario est qualifié de très optimiste, il

correspond une durée de vie similaire au précédent (3 ans), mais une quantité de particules filtrées maximale.

3. Autopsie des membranes encrassées et charge microbienne

Six (6) membranes d'osmose inverse encrassées sont soumises à l'autopsie, cette opération a permis de réaliser dix-huit (18) prélèvements de fragments membranaires de 1 cm² à partir de trois zones différentes de chaque membrane, celle de l'entrée, du milieu et de la sortie de l'eau.

Le comptage effectué pour déterminer la charge microbienne sur les différentes parties de trois (3) membranes d'osmose inverse encrassées a révélé une différence dans le potentiel d'adhésion des microorganismes. Les bactéries faiblement attachées sont celles qui se détachent après une agitation au vortex pendant une minute ; cependant l'ultra-sonication a permis le détachement des bactéries fortement adhérentes aux membranes. Les résultats obtenus sont représentés sur les **figures N° 12** et **13**, correspondant respectivement à une adhésion faible et forte, exprimés en nombre d'unités formant colonies par mètre carré de la surface membranaire (UFC/m²) vis-à-vis des régions d'entrée, du milieu et de la sortie de l'eau.

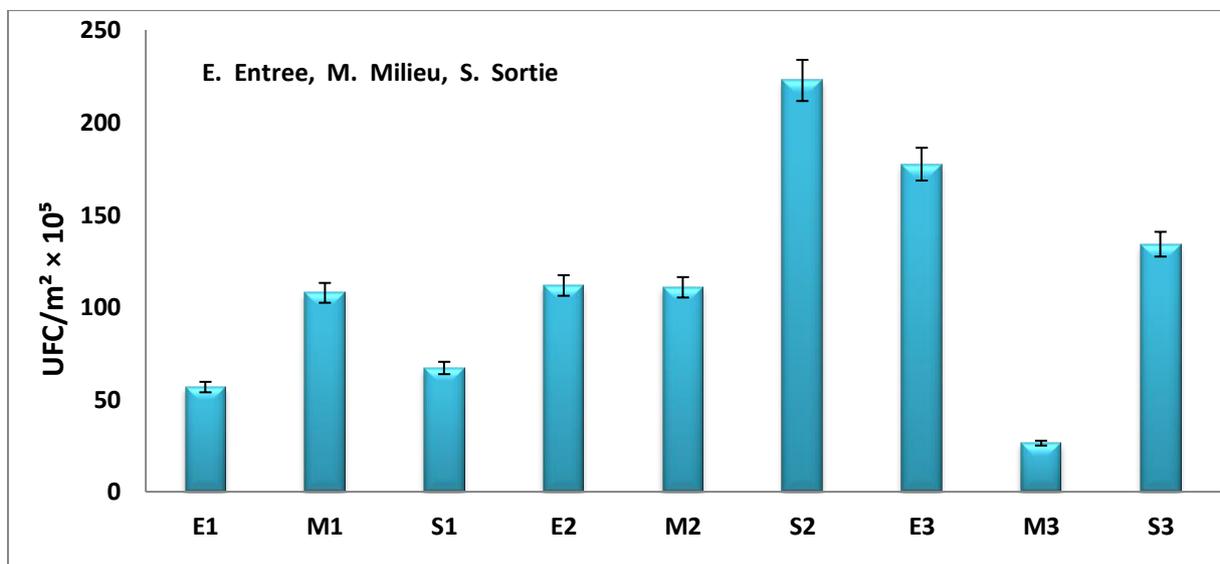


Figure N° 12 : Charges des bactéries faiblement attachées aux différentes régions des trois membranes d'osmose inverse encrassées. Les barres représentent la moyenne de l'erreur standard.

Selon les résultats obtenus, la charge microbienne diffère significativement ($P < 0,05$) d'une membrane encrassée à une autre, voire d'une région à une autre de la même membrane. Dans

l'ensemble, la charge bactérienne faiblement attachée aux membranes varie de $26 \pm 1 \times 10^5$ UFC/m² à $222 \pm 8 \times 10^5$ UFC/m². Cette charge est plus élevée dans la partie du milieu de la première membrane (M1), elle est de $107 \pm 7 \times 10^5$ UFC/m². Celles de la sortie (S1) et de l'entrée (E1) ont enregistré $67 \pm 6 \times 10^5$ UFC/m² et $56 \pm 6 \times 10^5$ UFC/m², respectivement.

En ce qui concerne la deuxième membrane, la sortie (S2) s'est révélée plus altérée par les bactéries avec une charge de $222 \pm 8 \times 10^5$ UFC/m², suivie par celle de l'entrée (E2) et du milieu (M2) avec $111 \pm 12 \times 10^5$ UFC/m² et $110 \pm 9 \times 10^5$ UFC/m², respectivement.

Par ailleurs, la charge la plus importante dans la troisième membrane est enregistrée à l'entrée (E3) avec $134 \pm 15 \times 10^5$ UFC/m². Celles des régions de la sortie (S3) et du milieu (M3) ont révélé des charges respectives de $177 \pm 2 \times 10^5$ UFC/m² et $26 \pm 1 \times 10^5$ UFC/m².

Concernant les bactéries fortement attachées à la surface des membranes d'osmose inverse encrassées, les résultats obtenus sont représentés dans la **figure N° 13**.

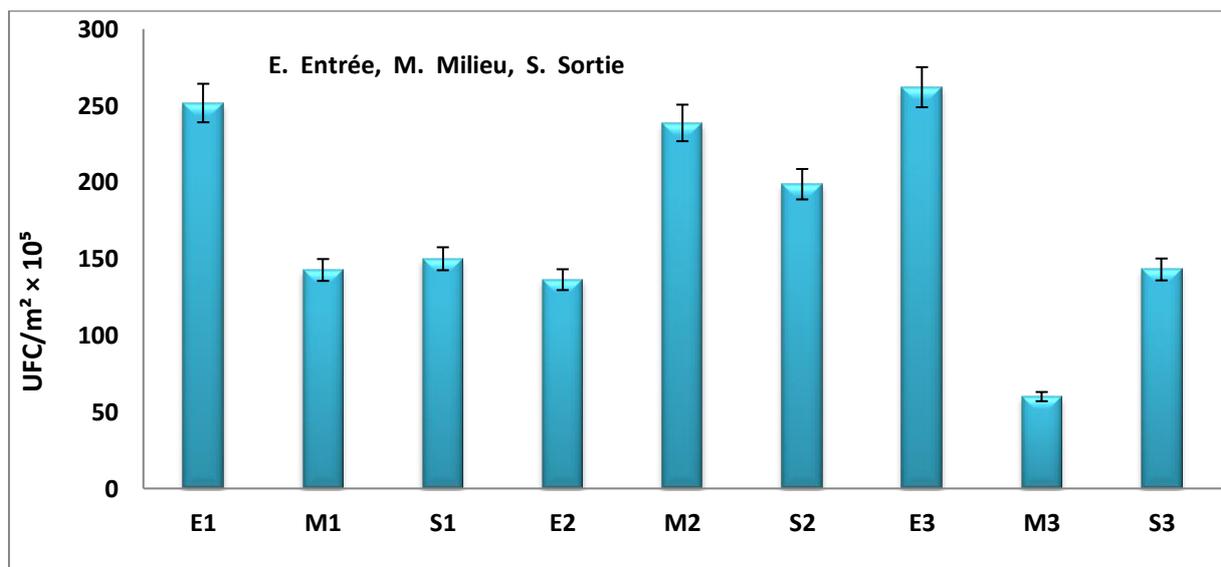


Figure N° 13 : Charges des bactéries fortement attachées aux différentes régions des trois membranes d'osmose inverse encrassées. Les barres représentent la moyenne de l'erreur standard.

Pour la première et la troisième membrane, la région de l'entrée est celle qui a présenté la charge la plus élevée avec $251 \pm 10 \times 10^5$ UFC/m² et $262 \pm 42 \times 10^5$ UFC/m², respectivement. D'autre part, la région du milieu de la deuxième membrane s'est montrée la plus altérée avec une charge microbienne de $238 \pm 11 \times 10^5$ UFC/m², suivie par celle de la sortie et de l'entrée, respectivement.

Par ailleurs, il est à noter que la charge des bactéries fortement attachées à la surface des membranes d'osmose inverse encrassées est nettement supérieure par rapport à celle des bactéries faiblement attachées à cette dernière ($P < 0.05$) (**Figure N° 14**). Cela montre que la majorité des bactéries qui sont à la surface des membranes d'osmose inverse encrassées sont fortement adhérentes, ce qui suggère que ces microorganismes sont séquestrés dans des biofilms.

Selon l'analyse de la variance (ANOVA), la charge microbienne n'est pas influencée par la zone membranaire ni par la position de la membrane au niveau du train de filtration de la station de dessalement. De plus, il n'y a pas d'interactions significatives entre ces deux facteurs.

En effet, les biofilms microbiens sont fortement impliqués dans le colmatage des membranes d'osmose inverse utilisées dans la production de l'eau potable (**Chiellini et al., 2012**). Selon Anwar et ses collaborateurs (**2020**), l'eau de mer contient des microorganismes, en particulier les bactéries. En outre, une étude antérieure a montré que les microorganismes incorporés dans des biofilms sont adhérents d'une façon covalente et ne se détachent pas totalement suite à leur agitation au vortex (**Boucherit-Atmani et al., 2011**).

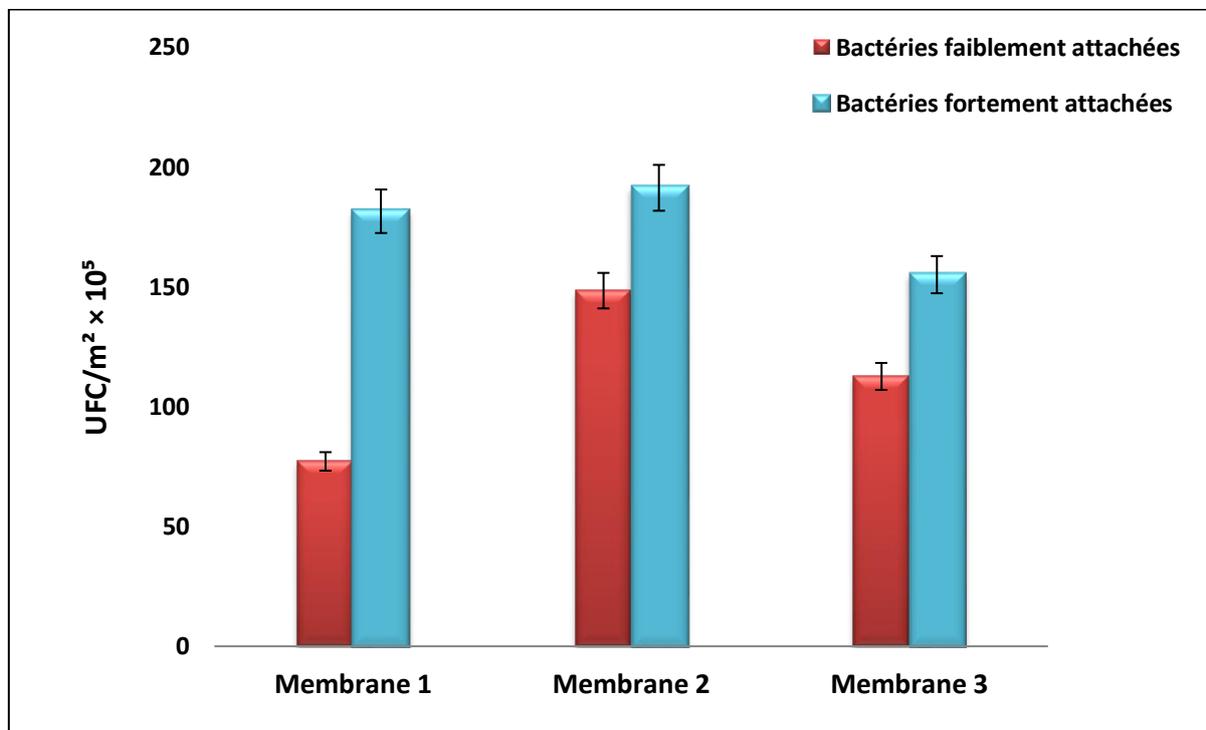


Figure N° 14 : Charge des bactéries faiblement et fortement attachées à la surface de trois membranes d'osmose inverse encrassées.

4. Isolement, purification et identification

Cette étude vise à mettre en évidence le colmatage des membranes d'osmose inverse utilisées dans la station de dessalement de l'eau de mer de Souk Tlata - Tlemcen (Algérie). Les résultats obtenus ont montré que ce colmatage est causé par des substances abiotiques et des substances biotiques, en particulier les bactéries. La répartition des souches isolées sur les trois régions des membranes étudiées est représentée sur la **figure N° 15**.

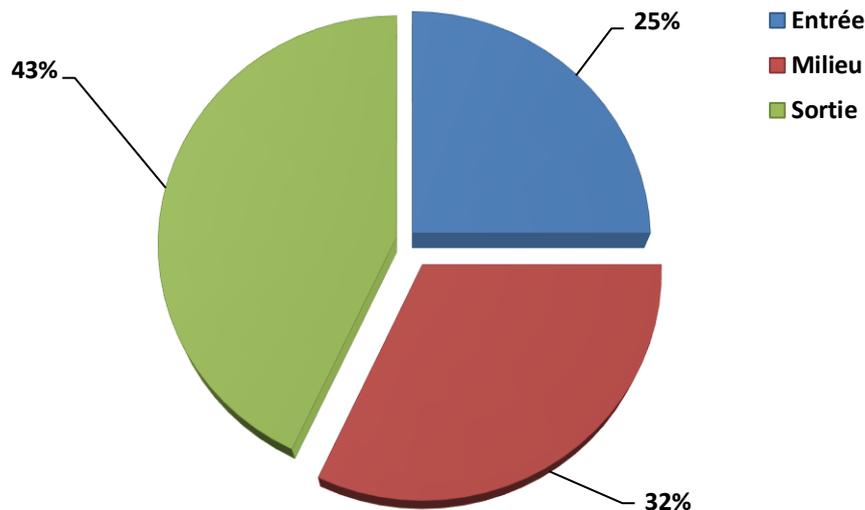


Figure N° 15 : Répartition des souches isolées sur les trois régions étudiées des membranes d'osmose inverse encrassées.

Il ressort de cette figure que la sortie des membranes est la région qui occupe la première place du taux d'encrassement biologique avec 43 %. La zone du milieu vient au second rang (32 %) suivie par celle de l'entrée (25 %).

Il semble que les bactéries, probablement structurées dans des biofilms, situées à l'extrémité de la sortie des membranes d'osmose inverse se sont adaptées aux différentes conditions oligotrophes en comparaison à celles des autres régions. Cela revient au flux de l'eau d'alimentation qui est rendu moins puissant par la force de la couche d'encrassement lorsque cette eau circule le long de la membrane.

Selon cette étude, 37 souches bactériennes sont obtenues au total ; les souches isolées et purifiées ont révélé 22 souches (59 %) Gram négatives et 15 (41 %) Gram positives. Les souches identifiées sont regroupées dans le **tableau N° 5**.

Ces résultats montrent la dominance des bactéries Gram négatives ; ce qui va dans le même sens avec ceux de Ivnitsky et ses collaborateurs (2007). Ces auteurs ont montré que les espèces bactériennes isolées des membranes de nanofiltration utilisées pour le traitement des eaux sont majoritairement Gram négatives.

Toutes les bactéries Gram négatives isolées appartiennent à la classe des gammaprotéobactéries. Il s'agit de 18 (82 %) souches de la famille *Enterobacteriaceae* et de 4 (18 %) bactéries non fermentaires, dont trois *Stenotrophomonas maltophilia* et une *Pseudomonas luteola*. Ce résultat va dans le même sens avec ceux de Dang et ses collaborateurs (2008). D'après eux, les gammaprotéobactéries forment l'une des classes pionnières de l'assemblage bactérien le plus représentatif dans les écosystèmes marins. Nagaraj et ses collaborateurs (2017) font le même constat, ils ont montré que cette classe de bactérie domine à la surface des membranes d'osmose inverse encrassées. Ces mêmes auteurs ont révélé en 2018 que le nombre important des gammaprotéobactéries augmente proportionnellement avec le temps de filtration sur les surfaces des membranes dans les usines de dessalement.

Par ailleurs, l'eau d'alimentation du système d'osmose inverse, provenant de l'ultrafiltration sur cartouche, contient une grande variété de phylotypes typiques de l'eau pure, parmi lesquels les gammaprotéobactéries [(Bereschenko et al., 2007) ; (Bereschenko et al., 2008)]. En effet, Horsch et ses collaborateurs (2005), ont révélé que ce groupe de bactéries est le principal colonisateur des membranes de nanofiltration sur lesquelles elles forment des biofilms.

En revanche, dans une étude antérieure, réalisée dans la mer rouge à l'ouest du royaume de l'Arabie Saoudite, Belila et ses collaborateurs (2016) ont découvert que les gammaprotéobactéries sont le deuxième colonisateur des membranes d'osmose inverse encrassées.

Selon la présente étude, l'identification de sept (7) souches isolées s'est avérée être *Escherichia coli*, c'est une gammaprotéobactérie appartenant à la famille *Enterobacteriaceae*. Cette espèce représentait 19 % de l'ensemble des souches isolées (tableau N° 5). Dans ce concept, Alves et ses collaborateurs (2014) ont montré que l'eau de mer représente un réservoir pertinent de souches de *Escherichia coli* adaptées au milieu marin. De même, Nagaraj et ses collaborateurs (2017) ont révélé la forte abondance des entérobactéries, dont

Escherichia spp. dans leurs échantillons de filtres à cartouche utilisés pour le dessalement de l'eau de mer.

Selon le **tableau N° 5**, trois souches de *Raoultella ornithinolytica* et une souche de *Raoultella terrigena* sont isolées dans cette étude. Des travaux de recherches antérieurs ont montré que *Raoultella ornithinolytica* est connue pour son habitat dans les milieux aquatiques [(Kanki et al., 2002) ; (Seng et al., 2016)].

Tableau N° 5 : Souches isolées à partir des membranes d'osmose inverse encrassées provenant de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata – Tlemcen (Algérie).

Souches isolées	Nombre (%)	Gram	Pourcentage de précision de l'identification
<i>Escherichia coli</i>	7 (19)	-	95-99
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	3 (8)	-	81-89
<i>Raoultella terrigena</i>	1 (2.7)	-	70
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4 (11)	-	94-97
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (2.7)	-	98
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1 (2.7)	-	97
<i>Serratia odorifera</i>	1 (2.7)	-	99
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3 (8)	-	99-100
<i>Pseudomonas luteola</i>	1 (2.7)	-	98
<i>Micrococcus spp</i>	5 (13)	+	97-99
<i>Staphylococcus xylosum</i>	4 (11)	+	52-77
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	3 (8)	+	95-99
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 (2.7)	+	97
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 (2.7)	+	64
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1 (2.7)	+	56
Total	37 (100)	/	/

Selon ce tableau, *Stenotrophomonas maltophilia* est une autre espèce isolée dans cette étude, elle représente un taux de 8 %. Pang et Liu (2007) qui ont rapporté que le phylotype *Stenotrophomonas* représente environ 10 % de la communauté de biofilm formée sur les membranes de filtration.

Cette étude a mis en évidence une seule souche de *Pseudomonas luteola*. Contrairement, Al Ashhab et ses collaborateurs (2017) ont constaté que les bactéries de la famille *Pseudomonadaceae* sont très courantes dans tous leurs échantillons des membranes d'osmose inverse encrassées. En fait, dans les environnements marins, l'abondance relative des taxons bactériens est affectée par les changements saisonniers, tels que les différences de température, la durée du jour, la composition et la concentration des éléments nutritifs (Fuhrman et al., 2015).

Pour les bactéries Gram positives, deux genres sont identifiés ; il s'agit de *Micrococcus spp.* et *Staphylococcus spp.* (Tableau N° 5). Cette dernière représente 27 % du total des souches isolées ; tandis que *Micrococcus spp.* a été retrouvée dans 13 % des cas.

Selon des recherches antérieures, *Staphylococcus spp.* [(Fang et al., 2006) ; (Harakeh et al., 2006)] et *Micrococcus spp.* [(Wood, 1952) ; (Mohapatra et Bapuji 1997) ; (Umadevi et Krishnaveni, 2013)] sont souvent retrouvés dans des échantillons marins ; ceci indique leur capacité à survivre dans des conditions environnementales extrêmes. Ces mêmes auteurs ont signalé que la mer est considérée comme un réservoir riche en microorganismes ; y compris *Staphylococcus spp.* et *Micrococcus spp.*

À la lumière des résultats obtenus, l'encrassement des membranes d'osmose inverse est dû en partie à l'adhésion des bactéries marines, Gram positives ainsi que Gram négatives. En effet, la surface des membranes est très souvent colonisée par des bactéries transportées par l'eau d'alimentation marine. Dans ce contexte, les travaux de Nagaraj et ses collaborateurs (2017) et ceux de de Vries et ses collaborateurs (2020) ont montré que cette source constitue l'origine de l'encrassement bactérien des membranes d'osmose inverse, tandis que les membranes neuves ont été exemptes de ces germes. En revanche, la communauté bactérienne adhérente à la surface de ces membranes représente une très faible proportion par rapport à celle contenue dans l'eau de mer (Nagaraj et al., 2017). de Vries et ses collaborateurs (2019 et 2020) ont suggéré que les conditions environnementales à la surface des membranes contribuent à la

sélection bactérienne ; par conséquent, l'abondance de certains microorganismes par rapport à d'autres.

5. Potentiel des souches isolées à former les biofilms

Le biofilm constitue un mode de vie dans lequel les microorganismes adoptent un comportement multicellulaire [(Flemming *et al.*, 1996) ; (Stewart *et al.*, 2001)].

Le potentiel de formation des biofilms varie d'une espèce à l'autre, il est tributaire de plusieurs paramètres relatifs aux conditions environnementales et de cultures [(Van der Veen *et Abee*, 2011) ; (Ren *et al.*, 2015) ; (Seddiki, 2021)].

Dans cette étude, les résultats se sont montrés également variables (**figure N° 16**). Toutes les souches isolées ont présenté la capacité de former les biofilms, cependant avec des quantités variables. En effet, des études antérieures ont signalé que ce potentiel varie selon les espèces [(Van der Veen *et Abee*, 2011) ; (Giaouris *et al.*, 2013) ; (Burmølle *et al.*, 2014) ; (Liu *et al.*, 2018)].

Par ailleurs, la communauté bactérienne des biofilms formés à la surface des membranes d'osmose inverse cachent une importante diversité microbienne contenue dans l'eau de mer [(Nagaraj *et al.*, 2017) ; (Zhang *et al.*, 2019)].

Le test de formation des biofilms, évalué selon l'absorbance de la lumière à 570 nm, a révélé que la majorité des souches isolées ont présenté un potentiel significatif à former les biofilms ($P < 0,05$). Vingt trois souches (62 %) sont classées fortement formatrices des biofilms (DO_{570} allant de $0,42 \pm 0,09$ à $2,22 \pm 0,03$). En revanche, ce potentiel est considéré comme moyen chez huit souches (22 %) alors qu'il s'est révélé faible chez six autres souches (16 %).

Il est important de noter que la transition des cellules planctoniques vers les communautés sessiles est un processus de développement hautement régulé [(Pratt *et Kolter*, 1999) ; (Hall-Stoodley *et Stoodley*, 2002) ; (Burmølle *et al.*, 2014)] ; la biologie contrôle grandement la formation des biofilms, et ce, dans différentes conditions (Rendueles *et Ghigo*, 2012).

Ce processus commence par le transport bactérien vers le support suivi de l'adhésion cellulaire, puis d'une agrégation en microcolonies et finalement d'une maturation du biofilm [(Heydorn *et al.*, 2000) ; (Tolker-Nielsen *et al.*, 2000)].

Il s'est révélé de cette étude que *Pseudomonas luteola* (ROi-33) est la souche ayant le plus grand pouvoir de formation des biofilms ($DO_{570} = 2,22 \pm 0,03$). Au contraire, *Staphylococcus xylosus* (ROi-37) est la souche qui a enregistré le plus faible potentiel de former un biofilm ($DO_{570} = 0,05 \pm 0,003$). L'étude antérieure de Belgini et ses collaborateurs (2014) ont montré que *Pseudomonas spp.* est dotée d'un potentiel élevé de formation de biofilm sur les membranes d'osmose inverse ; ce qui lui rend le principal agent responsable de leur encrassement dans les stations de dessalement d'eau de mer (Belila et al., 2016). En fait, deux ans plus tard, Casillo et ses collaborateurs (2018) ont signalé que les espèces de *Pseudomonas* sont couramment associées à l'encrassement de ces membranes.

En effet, au sein des membranes RO, les conditions sont sélectives pour les populations microbiennes sessiles et, par conséquent, les cellules incorporées dans les biofilms et la matrice extracellulaire deviennent plus difficiles à éliminer avec le temps (de Vries et al., 2019).

D'une manière générale, l'adhésion cellulaire aux surfaces abiotiques et la formation des biofilms sont tributaires de la charge et de l'hydrophobicité de la surface cellulaire, de la présence de polymères extracellulaires et du conditionnement primaire du support [(Dunne Jr, 2002) ; (Giaouris et al., 2013) ; (Ren et al., 2015) ; (Liu et al., 2018)].

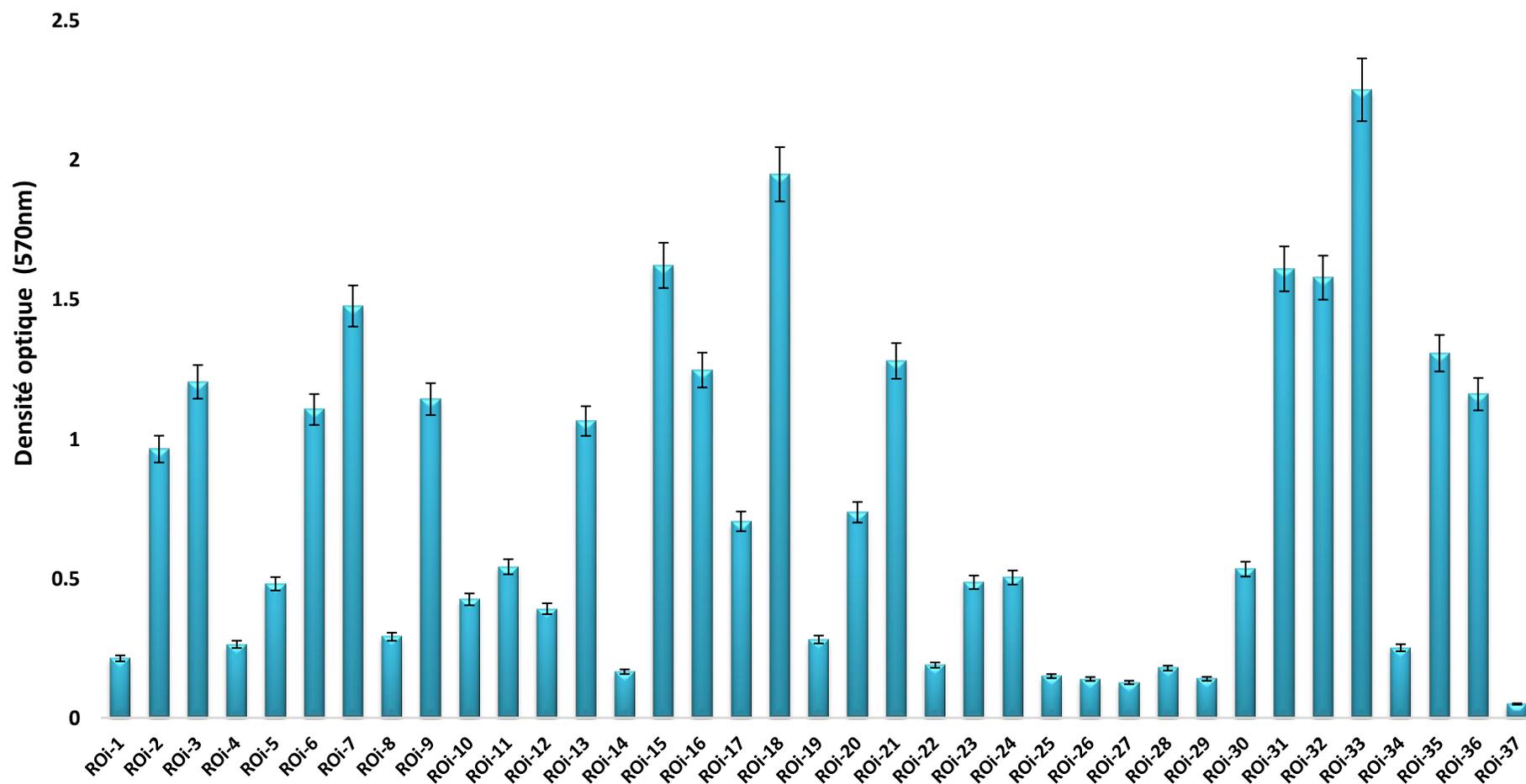


Figure N° 16 : Quantités des biofilms formés *in vitro* des souches isolées selon la méthode de cristal violet.

6. Test d'hydrophobicité

L'adhésion des bactéries aux surfaces des membranes d'osmose inverse est une étape critique dans le développement des biofilms, elle dépend initialement de l'hydrophobicité de la surface cellulaire ainsi que des interactions électrostatiques [(Pasmore et al., 2001) ; (Krepky et al., 2003) ; (Redman et al., 2004) ; (Jang et al., 2006)]. L'hydrophobicité de cette surface est, en effet, l'un des facteurs les plus importants dans l'adhésion ou le détachement des bactéries [(Zita et Hermansson, 1997) ; (Krasowska et Sigler, 2014)] ; elle est souvent médiée par des événements non spécifiques qui dépendent principalement de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (Dunne Jr, 2002).

Il ressort des résultats obtenus un pourcentage d'hydrophobicité inférieur à 20 % chez 26 souches isolées ; la majorité d'entre elles sont Gram négatif. Ceci indique, selon Krepky et ses collaborateurs (2003), qu'elles sont totalement hydrophiles (Figure N° 17).

Par ailleurs, l'hydrophobicité enregistrée chez le reste des souches (11) est comprise entre 20 et 35 %, signifiant ainsi qu'elles sont relativement hydrophiles. Cependant, ces souches sont majoritairement Gram positif.

Dans cette optique, une étude antérieure (Torres et al., 2011) a montré que certaines bactéries Gram positives réduisent l'hydrophobicité de leurs surfaces cellulaires en présence de solvants organiques, l'hexane dans cette étude.

En outre, aucune souche n'a présenté le caractère hydrophobe ; ce résultat correspond, en effet, à l'origine aquatique des souches isolées. En revanche, le caractère hydrophile ou hydrophobe du matériau qui constitue la membrane RO joue un rôle important dans leur encrassement.

Dans ce contexte, les membranes hydrophiles étant préférées aux hydrophobes en raison de leurs faibles capacités d'adsorption, c'est pour cela que les manufacturiers cherchent à rendre leurs membranes plus hydrophiles et donc, moins susceptibles d'être colmatées par les microorganismes hydrophobes présentes dans l'eau (Bouchard et al., 2000).

De plus, l'hydrophobicité des cellules augmente l'affinité des microorganismes à l'adhésion aux supports également hydrophobes, et vice-versa [(Kochkodan et al., 2008) ; (Giaouris et al., 2009)].

Cependant, les microorganismes peuvent basculer entre les phénotypes hydrophobes et hydrophiles en réponse aux changements des conditions environnementales tels que la température, la composition en nutriments et les phases de croissance [(**Borecka-Melkusova et Bujdakova, 2008**) ; (**Bujdakova et al., 2013**)].

Plusieurs études antérieures ont signalé l'importance du caractère hydrophobe ; la formation des biofilms est, effectivement, déclenchée par les micro-organismes qui présentent une hydrophobicité cellulaire élevée [(**Bullitt et al., 1995**) ; (**Pasmore et al., 2001**) ; (**sorroche et al., 2018**)].

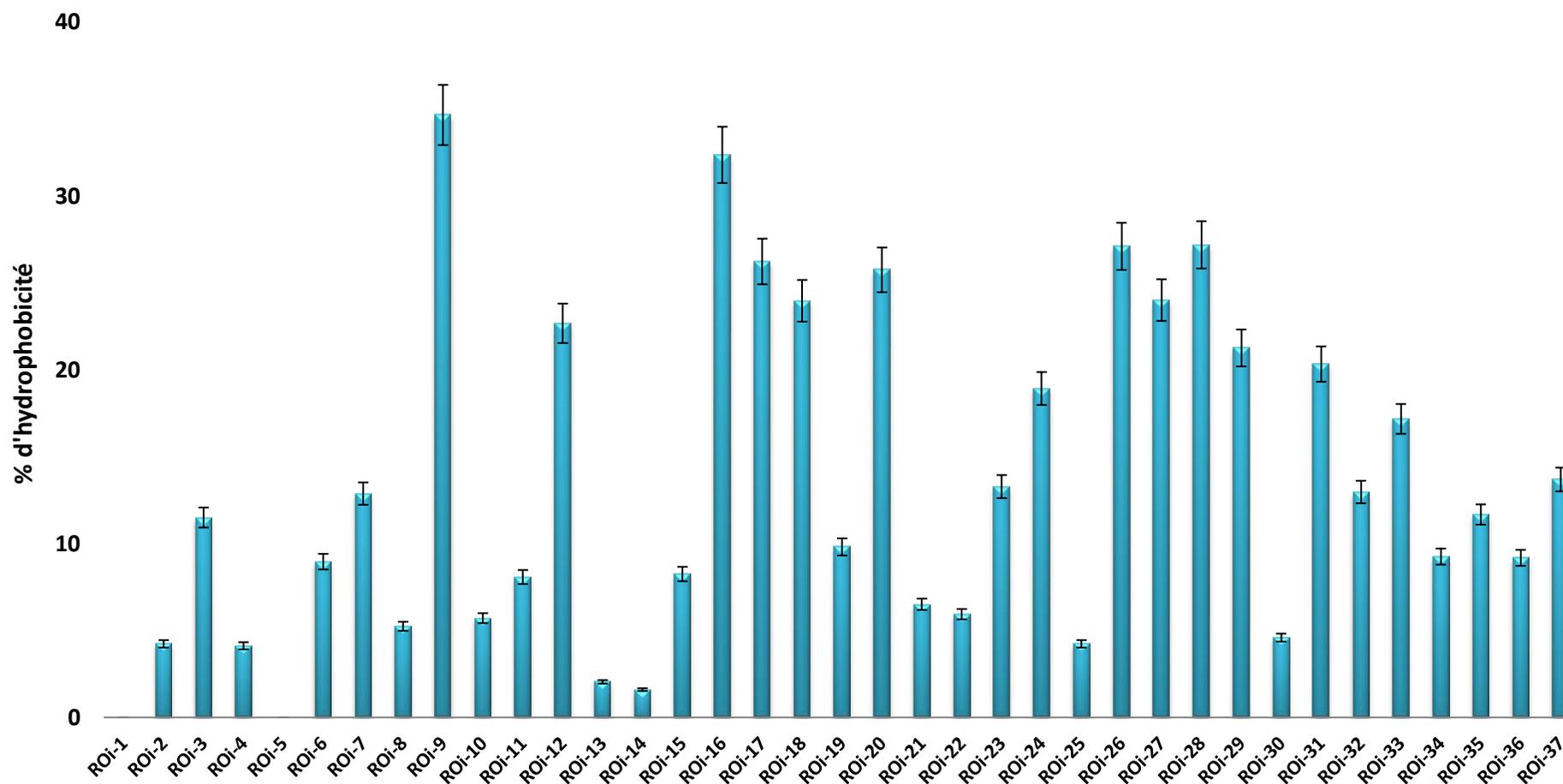


Figure N° 17 : Taux d'hydrophobicité de la surface cellulaire des souches isolées.

7. Agrégation cellulaire

7.1. Auto-agrégation

L'auto-agrégation est un phénomène cellulaire permettant d'accélérer la formation des biofilms microbiens [(Seddiki, 2021) ; (Sorroche et al., 2012)]. Ce phénomène est largement observé chez les espèces environnementales et pathogènes (Trunk et al., 2018).

Dans ce contexte, le test d'auto-agrégation est réalisé afin d'évaluer la capacité des souches isolées à former des agrégats cellulaires.

Selon les résultats obtenus, toutes les souches isolées avaient présenté cette capacité. L'observation macroscopique de l'auto-agrégation a révélé des dépôts aux fonds des tubes. Après 24 heures d'incubation à température ambiante, les tubes où les souches à faible potentiel d'auto-agrégation sont incubées ont gardé un trouble visible (Figure N° 18).

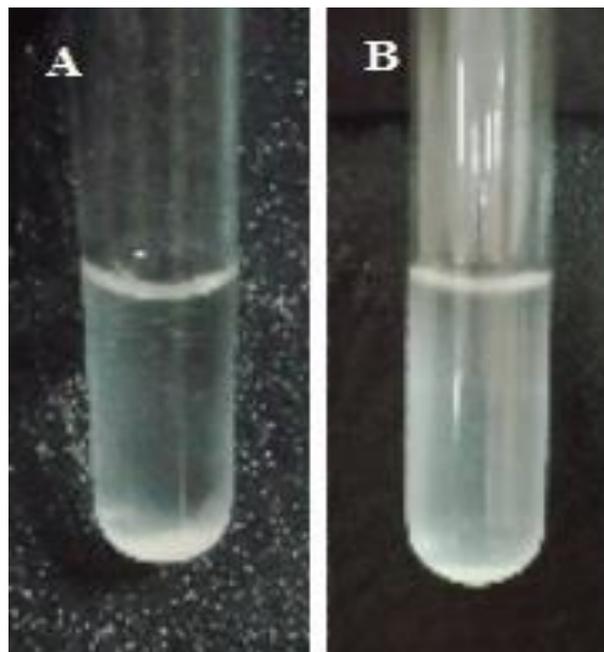


Figure N° 18 : Observation macroscopique de l'auto-agrégation chez (A) : *Pseudomonas luteola* (ROi-33) et (B) : *Serratia odorifera* (ROi-34).

La méthode spectrophotométrique a révélé des résultats variables d'une souche à l'autre (Figure N° 19). Après 24 heures d'incubation, le taux d'auto-agrégation était supérieur à 50 % chez 6 (16 %) souches, avec la prédominance de *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-26), *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-27), *Staphylococcus xylosus* (ROi-28) et

Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae (ROi-2), avec des taux respectifs de 80, 77, 66 et 63 %.

D'autre part, 31 (84 %) souches ont enregistré un taux d'auto-agrégation inférieur à 50 %. *Micrococcus spp* (ROi-25), *Klebsiella oxytoca* (ROi-8) et *Micrococcus spp* (ROi-19) ont présenté le plus faible taux d'auto-agrégation, inférieur à 20 %.

Par ailleurs, en prolongeant le temps d'incubation à 48 heures, l'auto-agrégation s'est accentuée remarquablement, et ce, pour la majorité des souches. Celle-ci a pu atteindre un taux voisin de 90 % chez *Raoultella ornithinolytica* (ROi-6) et *Micrococcus spp* (ROi-20).

Au contraire, l'auto-agrégation chez *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* (ROi-2) s'est curieusement diminuée de 63,61 % à 58,53 %.

Dans l'environnement, les microorganismes vivent rarement sous forme planctonique et préfèrent se développer sous forme d'agrégats cellulaires (**Liu et al., 2004**). Cependant, Trunk et ses collaborateurs (**2018**), ont souligné ce phénomène comme étant l'une des premières étapes de la formation d'un biofilm.

En fait, l'agrégation est généralement médiée par des interactions des protéines de surfaces microbiennes, notamment les agglutinines de charge opposée [(**Sorroche et al., 2012**) ; (**Trunk et al., 2018**) ; (**Seddiki, 2021**)].

L'auto-agrégation est un phénomène étroitement lié à la formation des microcolonies et des biofilms microbiens [(**Sorroche et al., 2012**) ; (**Trunk et al., 2018**)]. Ceci est généralisé par des interactions des auto-agglutinines entre les cellules bactériennes dans la suspension [(**Dunne Jr, 2002**) ; (**Beloin et al., 2008**)]. Dans cette même optique, les résultats de l'actuelle étude renforcent ce constat.

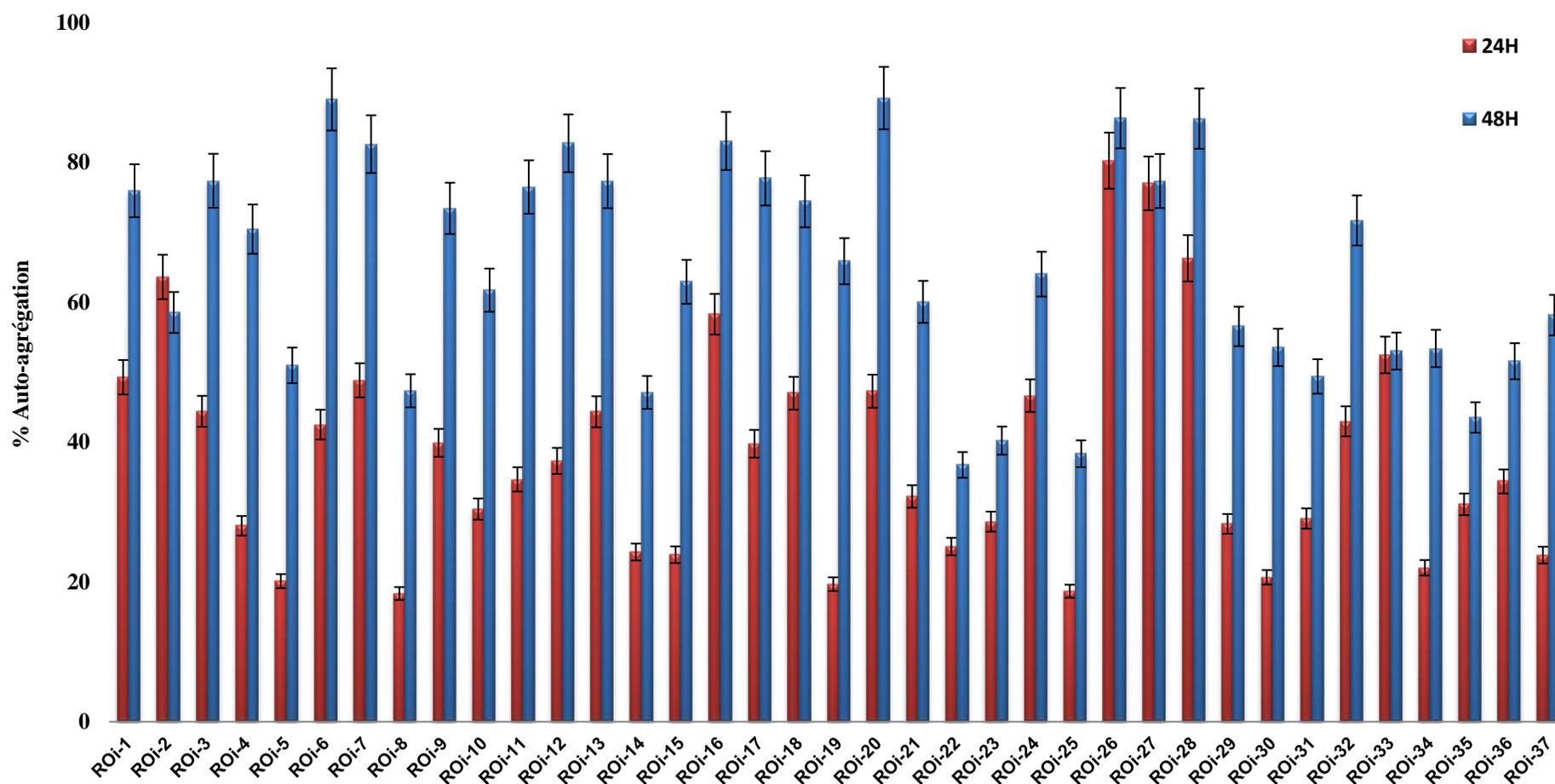


Figure N° 19 : Taux de l'auto-agrégation des souches isolées après 24 et 48 heures d'incubation.

La **figure N° 20** présente le potentiel de formation des biofilms des souches isolées en fonction de leurs taux d'auto-agrégation. Il ressort de cette figure que la majorité (56 %) des souches, ayant un fort potentiel de formation des biofilms, présentent un taux d'auto-agrégation également élevé. En effet, les souches suivantes ont présenté à la fois ces deux caractères ; il s'agit de *Pseudomonas luteola* (ROi-33), *Micrococcus spp.* (ROi-18), *Raoultella ornithinolytica* (ROi-32), *Klebsiella oxytoca* (ROi-7), *Raoultella terrigena* (ROi-3), *Staphylococcus haemolyticus* (ROi-16), *Enterobacter amnigenus* (ROi-9), *Raoultella ornithinolytica* (ROi-6), *Escherichia coli* (ROi-13), *Klebsiella pneumoniae* (ROi-2), *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-17) et *Micrococcus spp.* (ROi-20).

Ce résultat montre que l'auto-agrégation est un phénomène qui favorise la formation des biofilms. Dans ce contexte, une étude antérieure a montré, effectivement, qu'il y a une corrélation positive entre l'auto-agrégation et la formation des biofilms, puisqu'il s'agit des mêmes forces d'adhésions agissant sur ses deux phénomènes (**Sorroche et al., 2012**).

Cependant, chez d'autres souches, l'auto-agrégation et le potentiel de formation des biofilms ont enregistré des taux variables et varié d'une souche à l'autre. En effet, le test de la formation des biofilms, ainsi que celui de l'auto-agrégation ont révélé des résultats non-similaires. Ceci dit que, une souche bonne formatrice de biofilm n'implique pas forcément un taux élevé d'auto-agrégation, et vice-versa (**Figure N° 20**). Ce constat est en accord avec celui de Trunk et ses collaborateurs (**2018**) qui ont montré que l'auto-agrégation ne favorise pas forcément la formation des biofilms.

En fait, *Stenotrophomonas maltophilia* (ROi-15), *Klebsiella oxytoca* (ROi-31), *Staphylococcus scuri* (ROi-35), *Klebsiella oxytoca* (ROi-21), *Micrococcus spp* (ROi-36) et *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-17) ont présenté un potentiel à former des biofilms fort, mais un faible taux d'auto-agrégation.

A l'inverse, *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-26), *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-27), *Staphylococcus xylosus* (ROi-28), sont faiblement formatrices des biofilms, mais ont présenté un taux élevé d'auto-agrégation. Le reste des souches présentent de faibles potentiels de formation des biofilms et d'auto-agrégation.

La structure de surface et des polysaccharides extracellulaires des microorganismes et les conditions environnementales sont des facteurs influençant l'auto-agrégation et le

développement du biofilm chez la plupart des espèces bactériennes [(Fujishige et *al.*, 2006) ; (sorroche et *al.*, 2010)].

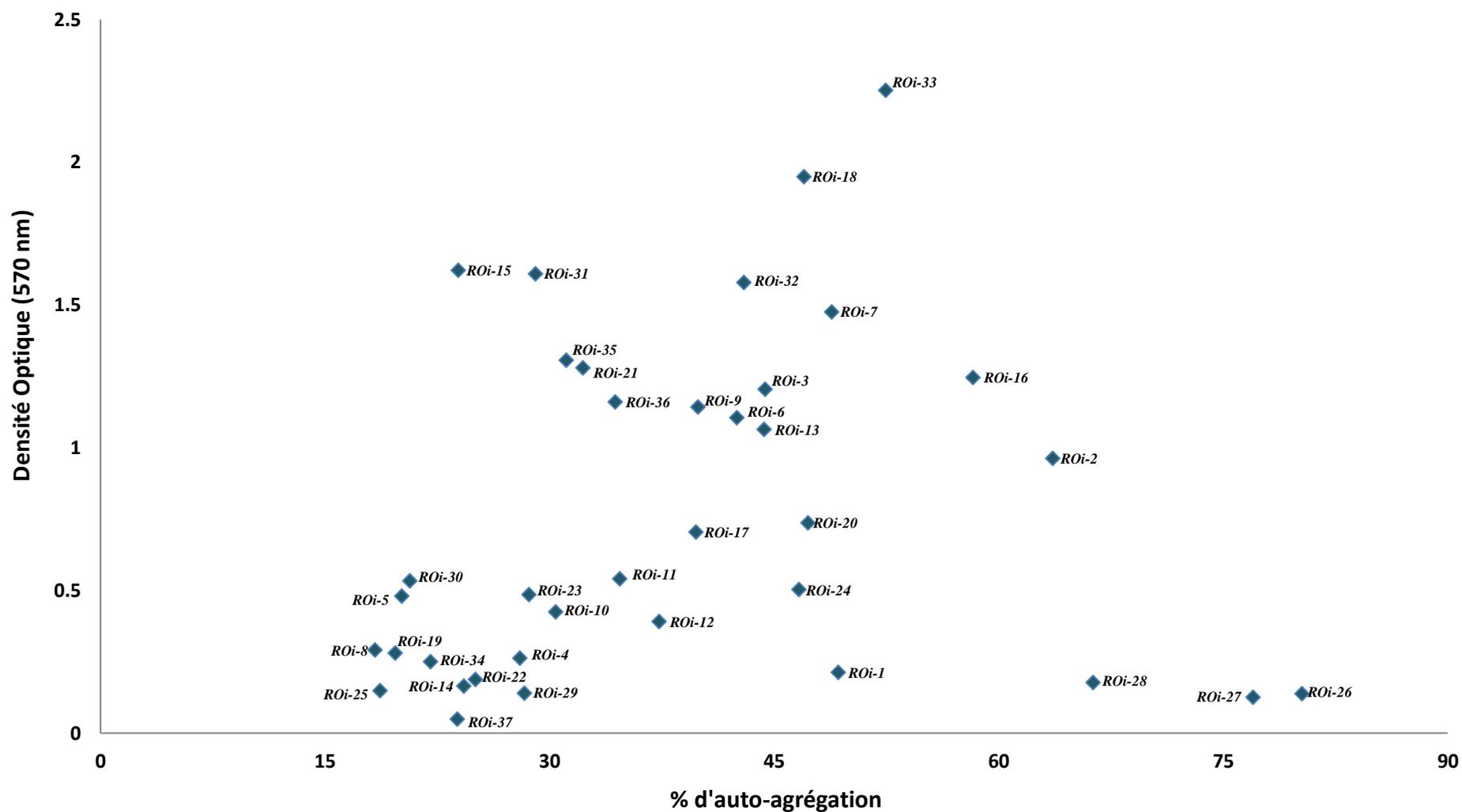


Figure N° 20 : Nuage de points des souches isolées en fonction du taux d'auto-agrégation et du potentiel de formation de biofilm.

7.2. Co-agrégation

Les micro-organismes de différentes espèces en suspension peuvent former des agrégats qui adhèrent ensuite aux surfaces (**Bos et al., 1999**). L'établissement d'une communauté sessile peut se produire suite au processus de co-agrégation, où les bactéries génétiquement distinctes peuvent se lier entre elles via des molécules spécifiques. Ce phénomène correspond à la formation d'agrégats cellulaires d'espèces bactériennes apparentées (**Trunk et al., 2018**).

Dans cette étude, la co-agrégation est testée séparément entre *Escherichia coli* (ROi-13), *Pseudomonas luteola* (ROi-33) et le reste des souches isolées. Étant donné que *E. coli* est l'espèce la plus isolée, tandis que la seconde est la souche qui a présenté le potentiel de formation des biofilms le plus élevé, celles-ci ont été sélectionnées pour la réalisation du test de co-agrégation.

Selon les résultats obtenus, des taux variables sont enregistrés quant à la co-agrégation cellulaire, en présence de *Escherichia coli* (ROi-13) ou de *Pseudomonas luteola* (ROi-33) (**Figures N° 21 et N° 22**, respectivement).

En effet, inférieur à un taux de co-agrégation de 10 %, les suspensions cellulaires ont gardé inchangée de leur turbidité. L'agrégation cellulaire s'est rendue discrètement visible lorsque ce taux enregistre un pourcentage compris entre 10 % et 30 %. Une apparente co-agrégation au fond des tubes est, cependant, observée lorsque le taux de celle-ci est compris entre 30 % et 40 % ; au de là, la co-agrégation est devenue très visible avec l'apparition de volumineux agrégats aux fonds des tubes.

Les taux de co-agrégation les plus importants de *Escherichia coli* (ROi-13) et *Pseudomonas luteola* (ROi-33) ont été enregistrés vis-à-vis des mêmes souches ; il s'agit de *Staphylococcus haemolyticus* (ROi-16), *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-17), *Micrococcus spp* (ROi-18) et *Staphylococcus saprophyticus* (ROi-24). Notons que l'agrégation auto de ces souches, préalablement testée, était supérieure ou égale à 40 %.

Par ailleurs, *Klebsiella oxytoca* (ROi-7) et *Klebsiella oxytoca* (ROi-31) ont présenté un taux de co-agrégation inférieur à 10 % (**Figure N°21**). Cependant, la co-agrégation entre *Escherichia coli* (ROi-13) et *Pseudomonas luteola* (ROi-33) a enregistré, curieusement, un faible taux (11,73 %). En tenant en compte ce résultat ainsi que ceux de l'auto-agrégation de

ces deux souches (44,33 % et 52,46 %, respectivement) ; un taux élevé de l'agrégation auto n'implique point un taux similaire de co-agrégation.

D'après **Trunk et al., (2018)**, l'auto-agrégation et la co-agrégation aident les cellules bactériennes à l'adaptation rapide à l'environnement.

Dans ce contexte, plusieurs études ont montré que le processus de co-agrégation est médié par des interactions stéréochimiques entre des composants des surfaces cellulaires des microorganismes en interaction [(**Cisar et al., 1979**) ; (**Kolenbrander, 1989**) ; (**Kolenbrander et London, 1992**)]. De plus, chaque souche ou espèce microbienne a son propre partenaire spécifique de co-agrégation (**Kolenbrander, 1989**). C'est un phénomène interspécifique qui dépend de la capacité de la souche à exprimer des molécules de surface cellulaire spécifiques (**Afonso et al., 2021**).

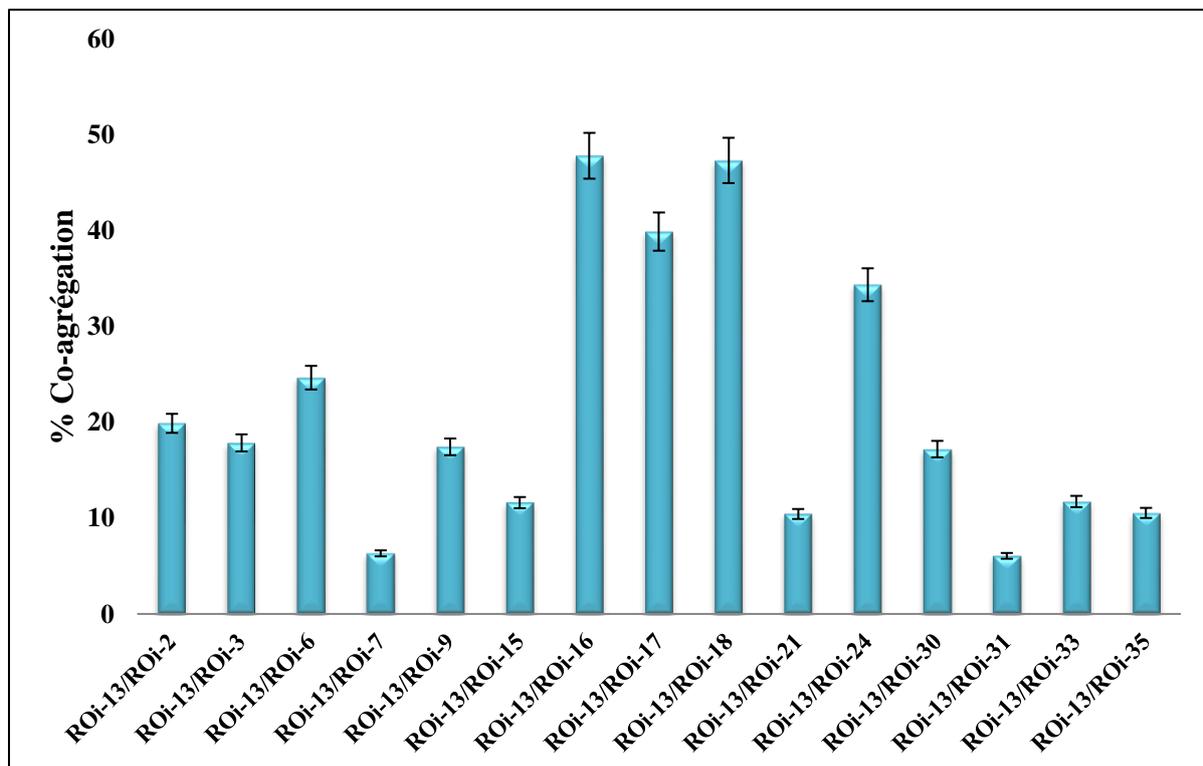


Figure N° 21 : Taux de la co-agrégation entre *Escherichia coli* (ROi-13) et le reste des souches isolées.

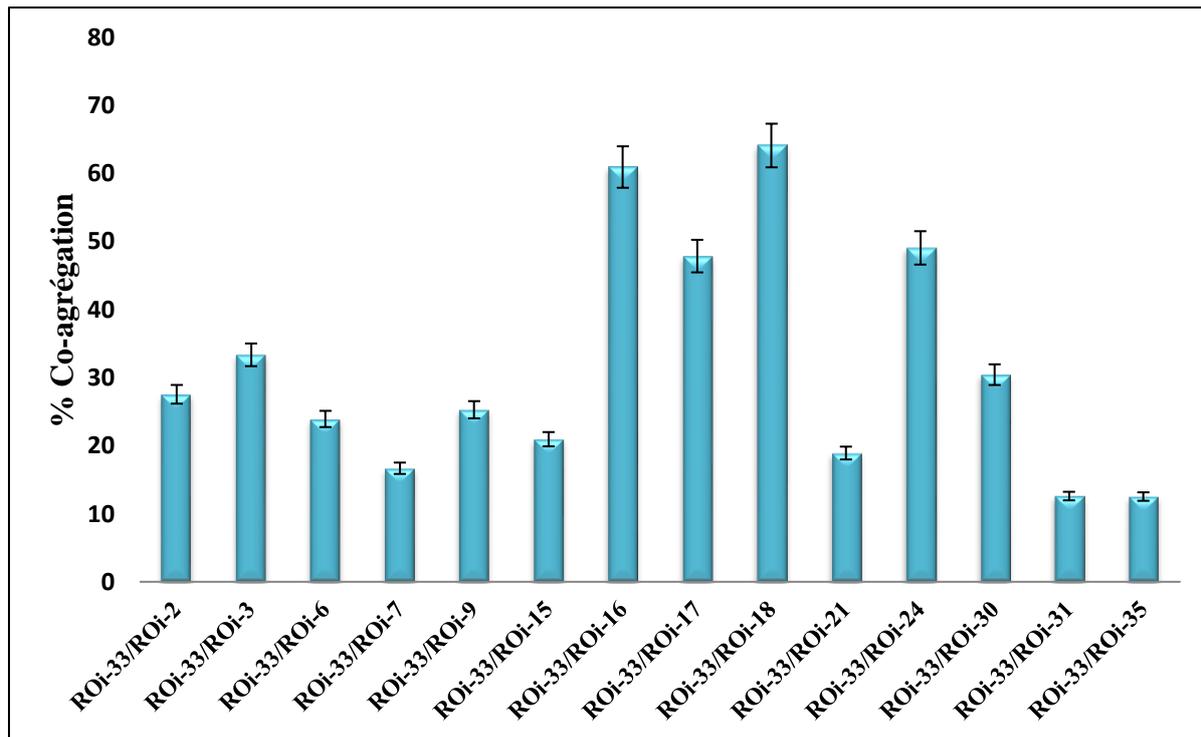


Figure N° 22 : Taux de la co-agrégation entre *Pseudomonas luteola* (ROi-33) et le reste des souches isolées.

L'évolution de la co-agrégation montre que certaines souches se sont engagées dans ce phénomène dès leur premier contact avec la souche partenaire, *Escherichia coli* (ROi-13) ou *Pseudomonas luteola* (ROi-33). Cependant, d'autres ont pris 15 à 120 minutes pour présenter les premiers dépôts de la co-agrégation (**Figure N° 23**). De plus, cette évolution d'agrégation vis-à-vis de *Pseudomonas luteola* (ROi-33) s'est avérée similaire à celle enregistrée avec *Escherichia coli* (ROi-13).

Il ressort de cette figure que l'évolution de la co-agrégation observée chez *Staphylococcus haemolyticus* (ROi-16), *Staphylococcus cohnii ssp cohnii* (ROi-17) et *Micrococcus spp.* (ROi-18) a enregistré d'importante tendance avec les souches partenaires. Il est important de noter que ces mêmes souches ont enregistré les taux de co-agrégation les plus importants.

Dans ce contexte, Gibbons et Nygaard (1970) ont montré que la co-agrégation chez certaines paires de microorganismes est rapide et étendue alors que d'autres non. En effet, la co-agrégation est spécifique à la souche (Afonso et al., 2021) ; les cellules co-agrégées possèdent un avantage métabolique par rapport aux cellules individuelles (Rickard et al., 2003). Ceci mène à penser à la nécessité d'explorer les mécanismes moléculaires de la co-agrégation (Afonso et al., 2021).

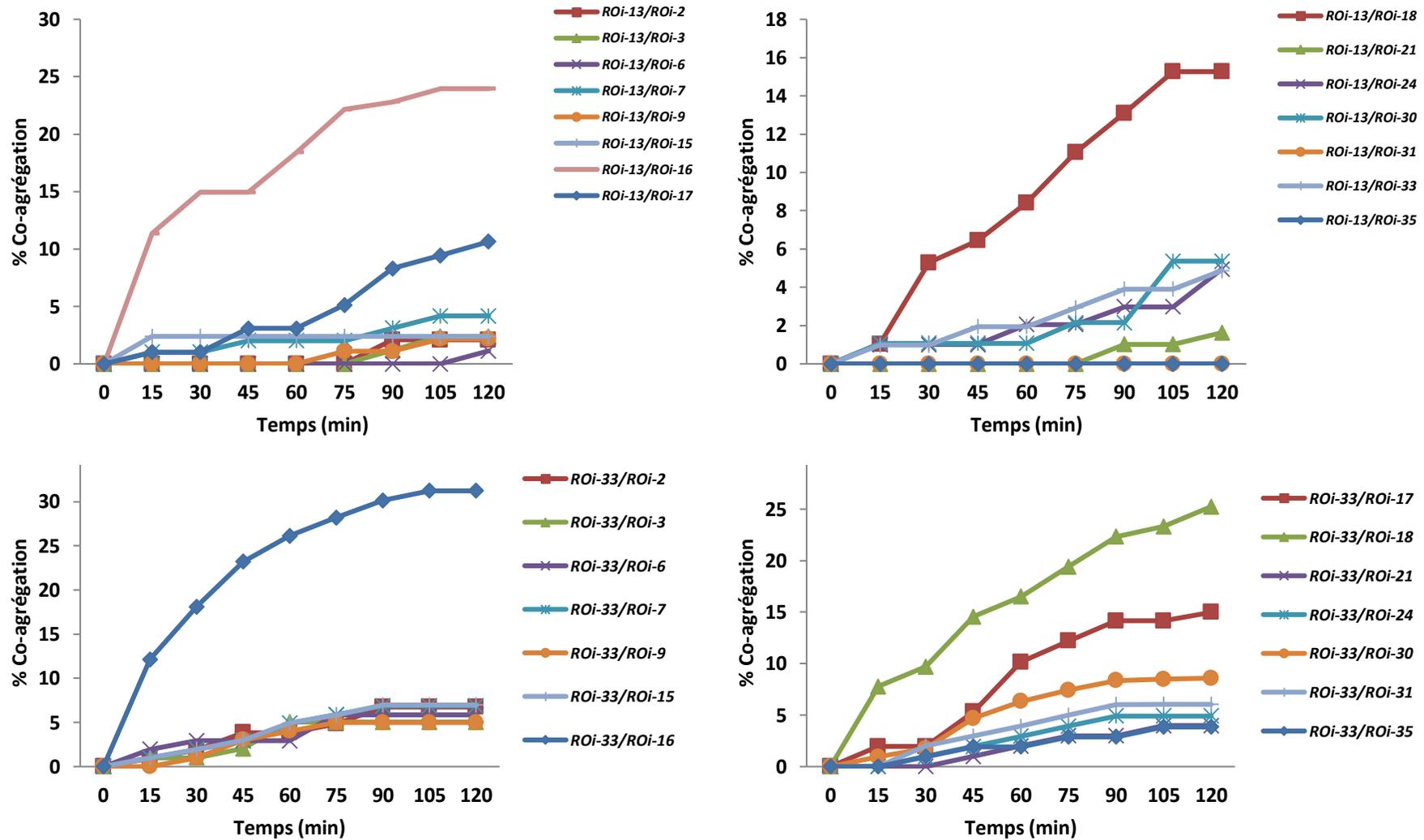


Figure N° 23 : Evolution de la co-agrégation, révélée après chaque 15 min pendant 2 heures, entre *Escherichia coli* (ROi-13) et le reste des souches isolées et entre *Pseudomonas luteola* (ROi-33) et le reste des souches isolées.

8. Spectroscopie Raman

8.1. Caractérisation des souches isolées

La spectroscopie Raman est un outil très utile dans la caractérisation et l'identification des systèmes biologiques [(Zimba *et al.*, 1989) ; (Samek *et al.*, 2010) ; (Pahlow *et al.*, 2015)]. Globalement, chaque spectre Raman correspond à une espèce bien déterminée, il présente des pics typiques relatifs à l'espèce en question.

La **figure N° 24** révèle des spectres Raman typiques à treize (13) espèces bactériennes isolées à partir des membranes d'osmose inverse encrassées, ce qui correspond à l'identité des souches antérieurement identifiées par les méthodes biochimiques.

Les spectres Raman obtenus montrent des pics relatifs aux élongations et bandes qui représentent différents constituants bactériens. Ces pics, indiquent, en effet, l'élongation C-H à 2936 cm^{-1} , l'amide I des protéines à 1663 cm^{-1} , l'ADN à 1584 cm^{-1} , les protéines à 1444 cm^{-1} , l'amide III des protéines à 1251 cm^{-1} et la phénylalanine à $1004,18\text{ cm}^{-1}$. Le **tableau N° 6** regroupe l'ensemble des sources de contribution, relatives aux constituants bactériens observés dans les spectres Raman à 633 nm. Selon leurs intensités faibles, moyennes ou fortes, il ressort des spectres obtenus, des déplacements Raman divers qui sont relatifs aux constituants des bactéries, notamment, l'ADN, les amides protéiques et les protéines.

Le déplacement Raman à $1332,63\text{ cm}^{-1}$ donne un pic de moyenne intensité, révélant la présence d'acides nucléiques. Cependant, des pics à faibles intensités avec les déplacements, de 642 , 668 et $722,47\text{ cm}^{-1}$, correspondent à la tyrosine, la guanine et l'adénine, respectivement.

En revanche, à $1444,57\text{ cm}^{-1}$, un pic de forte intensité est enregistré, celui-ci est relatif aux protéines. Cependant, la phénylalanine est révélée avec deux intensités différentes, la première faible à 620 cm^{-1} et la seconde forte à $1004,18\text{ cm}^{-1}$. Un troisième pic à 780 cm^{-1} révèle la phénylalanine, mais également la cytosine et l'uracile. De plus, les amides III et I des protéines sont révélés par deux pics respectifs, moyen à 1251 cm^{-1} et fort à $1663,05\text{ cm}^{-1}$; ce dernier est représentatif aux lipides insaturés, également.

Ces résultats montrent que la spectroscopie Raman peut être utilisée dans la caractérisation et l'identification des bactéries [(Schuster *et al.*, 2000) ; (Huang *et al.*, 2004) ; (Ramesh *et al.*, 2018)]. En fait, il est possible d'identifier efficacement les bactéries en utilisant cette méthode

spectroscopique. Ceci est en accord avec des études précédentes qui ont identifié les espèces bactériennes grâce à la spectroscopie Raman [(Kotanen et al., 2016) ; (Pahlow et al., 2015) ; (Rebrošová et al., 2017) ; (Tien et al., 2016)]. Dans ce contexte, des études récentes ont montré que cette technique fournit des méthodes simples pour analyser et identifier les cellules bactériennes [(Akanny et al., 2021) ; (Cilogluet al., 2021) ; (He et al., 2020) ; (Kim et al., 2020) ; (Wang et al., 2021)].

Tableau N° 6 : Source des contributions observées dans les spectres Raman à 633 nm des constituants bactériens [(Huang et al., 2010) ; (Strola et al., 2014) ; (Wichmann et al., 2021)].

Déplacement Raman	Source de la contribution (constituant cellulaire)	Intensité du spectre
540 cm ⁻¹	Déformation COC glycosidique	Faible
620 cm ⁻¹	Phénylalanine	Faible
642 cm ⁻¹	Tyrosine	Faible
668 cm ⁻¹	Guanine	Faible
722,47 cm ⁻¹	Adénine	Faible
780 cm ⁻¹	Phénylalanine, Cytosine, Uracile	Faible
1004,18 cm ⁻¹	Phénylalanine	Forte
1103,96 cm ⁻¹	Phosphate	Moyenne
1251,06 cm ⁻¹	Amide III des protéines	Moyenne
1332,63 cm ⁻¹	Adénine, Guanine, Tyrosine, Tryptophane	Moyenne
1444,57 cm ⁻¹	Protéines	Forte
1584,14 cm ⁻¹	ADN	Faible
1663,05 cm ⁻¹	Lipides insaturés, Amide I des protéines	Forte
2936,13 cm ⁻¹	Elongation C-H	Forte

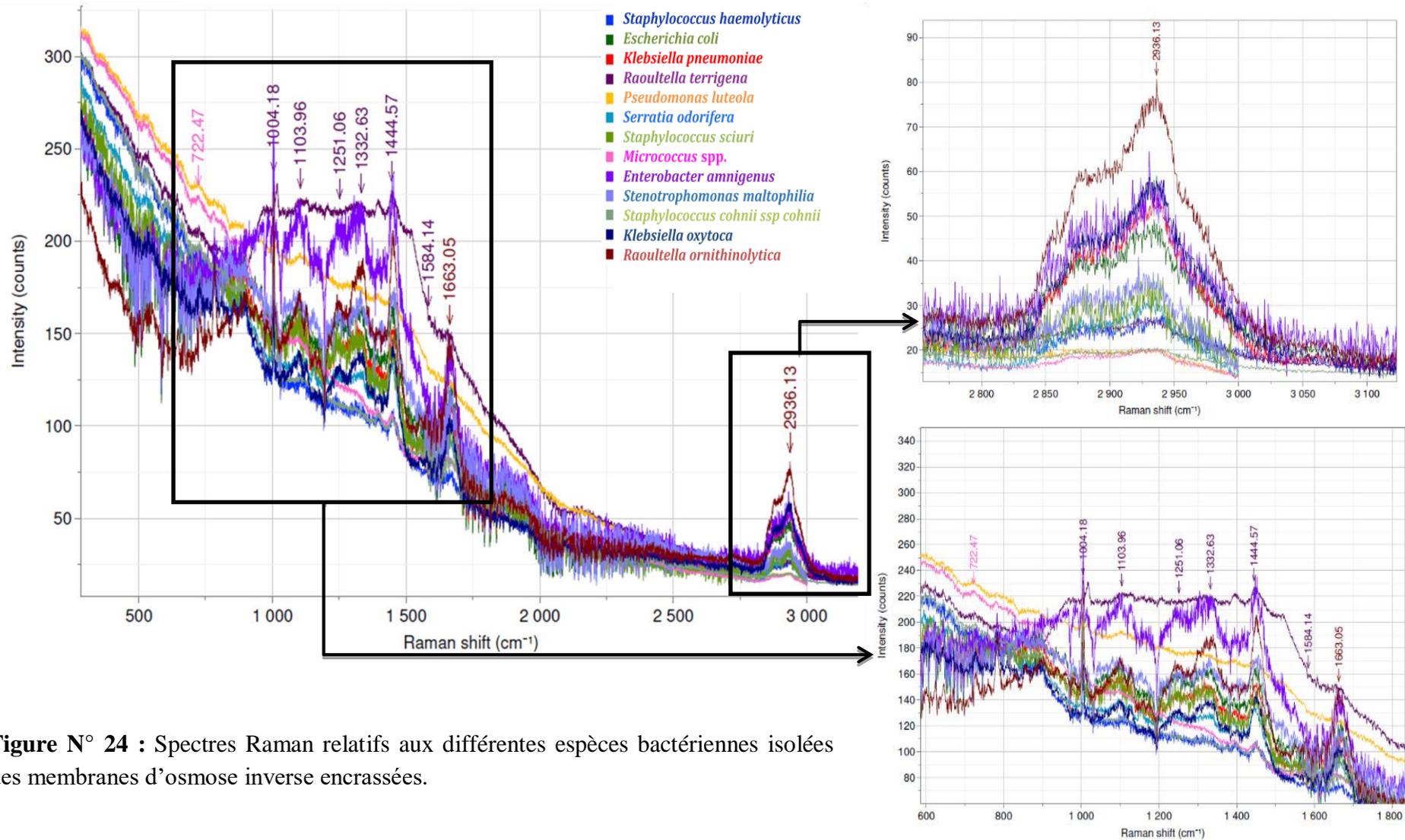


Figure N° 24 : Spectres Raman relatifs aux différentes espèces bactériennes isolées des membranes d'osmose inverse encrassées.

8.2. Caractérisation du matériel colmatant des membranes

Selon Wagner et ses collaborateurs (2009), la microscopie Raman peut être utilisée pour l'analyse de la matrice exo-polymérique des biofilms.

La **figure N° 25** montre des spectres Raman d'une membrane non colmatée, dite blanche et ceux correspondant à deux membranes colmatées, prélevés respectivement de la zone d'entrée et de sortie.

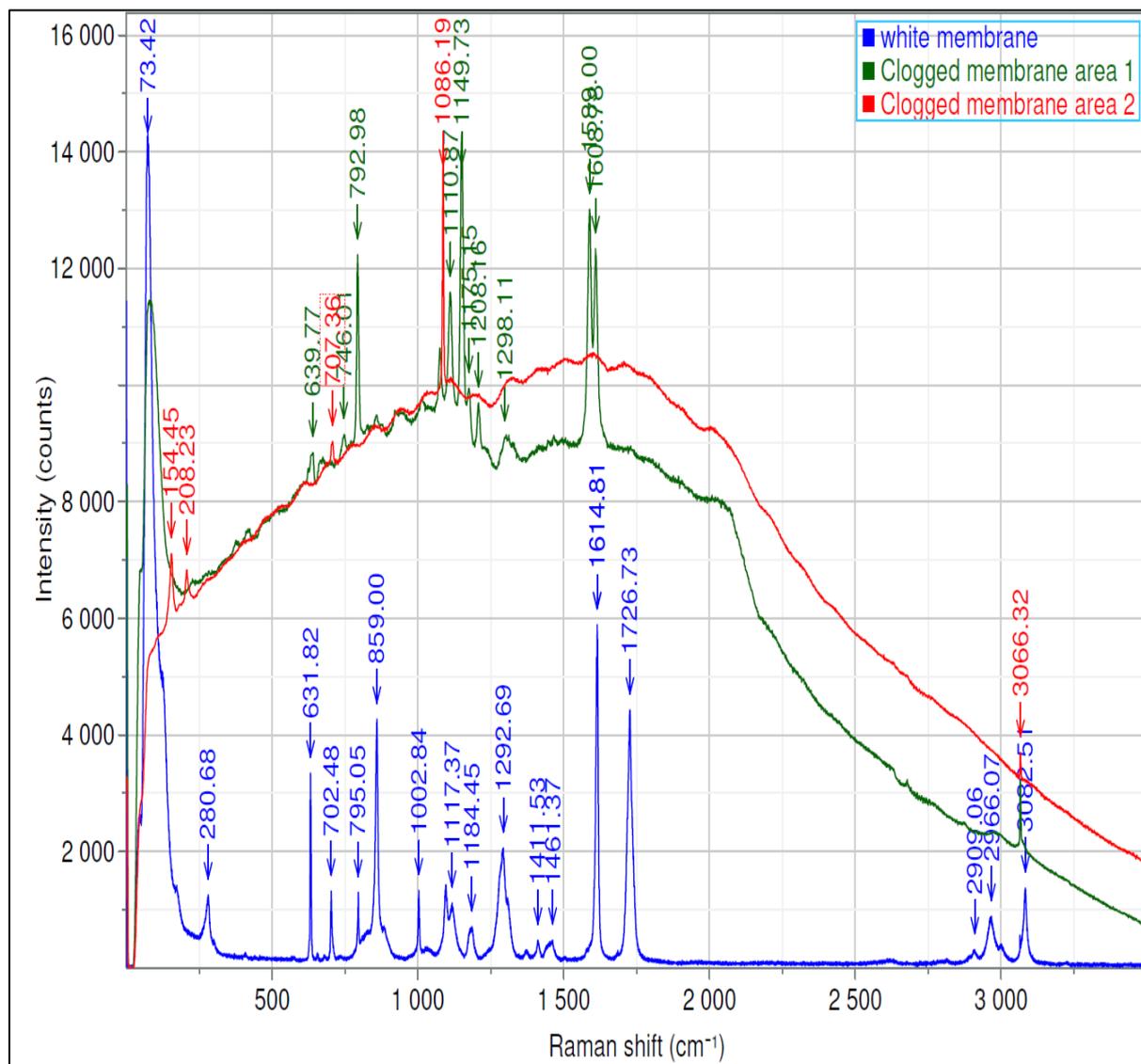


Figure N° 25 : Spectres Raman du matériel colmatant. Bleu : membrane blanche non colmatée. Vert : zone d'entrée et Rouge : zone de sortie des membranes colmatées.

La figure précédente révèle le spectre typique de polyamide (spectre bleu), constituant majeur de la membrane d'osmose inverse. Plusieurs pics représentatifs sont observés, Tong et ses

collaborateurs (2016) ont, en effet, bien discuté le spectre typique de polyamide en précisant les pics correspondants ; ces variations sont essentiellement liées aux liaisons chimiques et aux structures moléculaires.

En plus des pics représentant le matériel colmatant ; il ressort des spectres de la **figure N° 25** quelques pics relatifs aux polyamides sur la surface de la zone d'entrée de la membrane colmatée, notamment le pic des étirements NH à 3300 cm^{-1} pour le polyamide. En revanche, peu de pics de polyamide sont observés au niveau de la sortie de la même membrane ; ce qui indique que la surface de cette dernière est quasiment recouverte par le matériel colmatant.

Par comparaison des spectres obtenus, des différences sont observées entre les trois spécimens. Celles-ci dévoilent des pics correspondant au matériel colmatant couvrant le polyamide des surfaces membranaires.

En effet, le spectre obtenu vis-à-vis de la zone d'entrée (vert) de la membrane colmatée montre un pic très caractéristique de l'acide humique à 1608 cm^{-1} . Ce résultat va dans le même sens avec celui discerné par Sánchez-Cortés et ses collaborateurs (2006). Cependant, la présence de substances humiques sur les surfaces des membranes d'osmose inverse est attribuée à un encrassement organique (Flemming, 1997).

De plus, des pics caractéristiques des hydrates de carbone sont observés au niveau de la zone de sortie de la membrane colmatée (rouge) à $\approx 160, 210, 710$ et 1100 cm^{-1} ; ces pics sont représentatifs des polysaccharides. Cette constatation est enregistrée au niveau de la zone d'entrée de la membrane encrassée à $746,01$ et $639,77\text{ cm}^{-1}$.

Ce résultat évoque la possibilité de la présence de la matrice extracellulaire des biofilms bactériens formés sur la membrane encrassée. Marin et ses collaborateurs (2011) stipulent en effet que la matrice extracellulaire des biofilms se compose principalement de polysaccharides et d'autres macromolécules d'origine microbienne.

En plus de ceux des polysaccharides, d'autres pics caractéristiques des acides nucléiques sont enregistrés entre 650 cm^{-1} et 800 cm^{-1} , ces macromolécules bactériennes peuvent être présentes dans la matrice des biofilms [(Zhang et al., 2015) ; (Seddiki, 2021)].

Ces résultats appuient le fait qu'un biofilm bactérien s'est formé sur ces zones, ce qui a empêché Raman de détecter l'élément composant de la membrane [(Schuster et al., 2000) ; (Szymańska-Chargot et al., 2016)].

8.3. Cartographie Raman

Dans le but de déterminer la répartition du matériel colmatant sur les surfaces membranaires, des cartographies Raman ont été réalisées. La **figure N° 26** représente trois cartographies Raman effectuées pour trois zones différentes d'une membrane encrassée ; celles de l'entrée, du milieu et de la sortie de l'eau. La cartographie Raman fournit des informations relatives aux spectres ponctuels des zones membranaires étudiées.

Dans cette étude, les bandes spectrales caractéristiques ont été utilisées afin de tracer la cartographie des trois zones membranaires concernées. Ces bandes correspondent aux spectres du polyamide, de l'acide humique ainsi que ceux de l'élongation C-H, respectivement caractéristiques du constituant des membranes RO, de la matière organique et des cellules bactériennes (**Figure N° 26**). Par rapport aux pics caractéristiques, cette figure présente une cartographie avec 250 spectres Raman des zones colmatées, avec une taille de $17 \times 15 \mu\text{m}$ pour la zone d'entrée et celle du milieu (**Figure N° 26A et B**, respectivement) et de $17 \times 15 \times 5 \mu\text{m}$ pour la zone de sortie (**Figure N° 26C**).

Les résultats obtenus montrent que la répartition du colmatage diffère entre les trois zones de la membrane d'osmose inverse colmatée ; ceci montre que le colmatage n'est pas totalement homogène sur la même membrane affectée.

La cartographie Raman dévoile, en effet, un tapis plus condensé dans certains endroits par rapport à d'autres ; selon les pics caractéristiques des bactéries, de l'acide humique et du polyamide, la cartographie se présente sous forme de plusieurs points de couleurs différentes. Ce qui correspond aux différents types de dépôts à la surface des membranes colmatées.

Pour une meilleure évaluation, la zone de sortie est représentée avec une cartographie Raman en trois dimensions (3D) ; l'axe Z donne une idée sur l'épaisseur de la couche d'encrassement formée à la surface de la membrane d'osmose inverse encrassée (**Figure N° 26C**).

Selon cette cartographie, l'épaisseur de la couche d'encrassement est de $5 \mu\text{m}$ à cet endroit. C'est une couche relativement fine par rapport à la taille des biofilms matures (**Seddiki, 2021**). Cependant, la cartographie réalisée ici n'a tenu en compte que les bandes caractéristiques de deux constituants, l'acide humique et les élongations C-H, ce qui ne correspond point à la totale constitution d'un biofilm bactérien.

De plus, l'hélice résultant du super-enroulement des membranes d'osmose inverse ne laisse pas assez d'espace entre les différentes couches de celle-ci. Il en résulte la diminution des possibilités pour l'installation de grosses structures des biofilms.

D'autre part ; ce résultat a montré que cette couche d'encrassement est probablement la couche basale formant le biofilm. Celle-ci est liée de manière covalente à la surface de la membrane ; elle résiste au flux de l'eau d'alimentation à haute pression, ainsi qu'au nettoyage chimique fréquemment appliqué.

Ce résultat semble être en accord avec ceux de Paul et ses collaborateurs (2012), ces auteurs stipulent que la présence d'une couche basale compacte sur les membranes résiste aux contraintes de cisaillement lors du développement du biofilm. Selon ces mêmes auteurs, au-dessus de cette couche basale, la cohésion devient plus faible et dépend de la contrainte de cisaillement appliquée ; qui a prévalu un détachement pour la partie supérieure des biofilms et une compression pour les couches basales.

Pour l'analyse des biofilms, la microscopie Raman peut être utilisée en combinaison avec les techniques microscopiques (Wagner *et al.*, 2009).

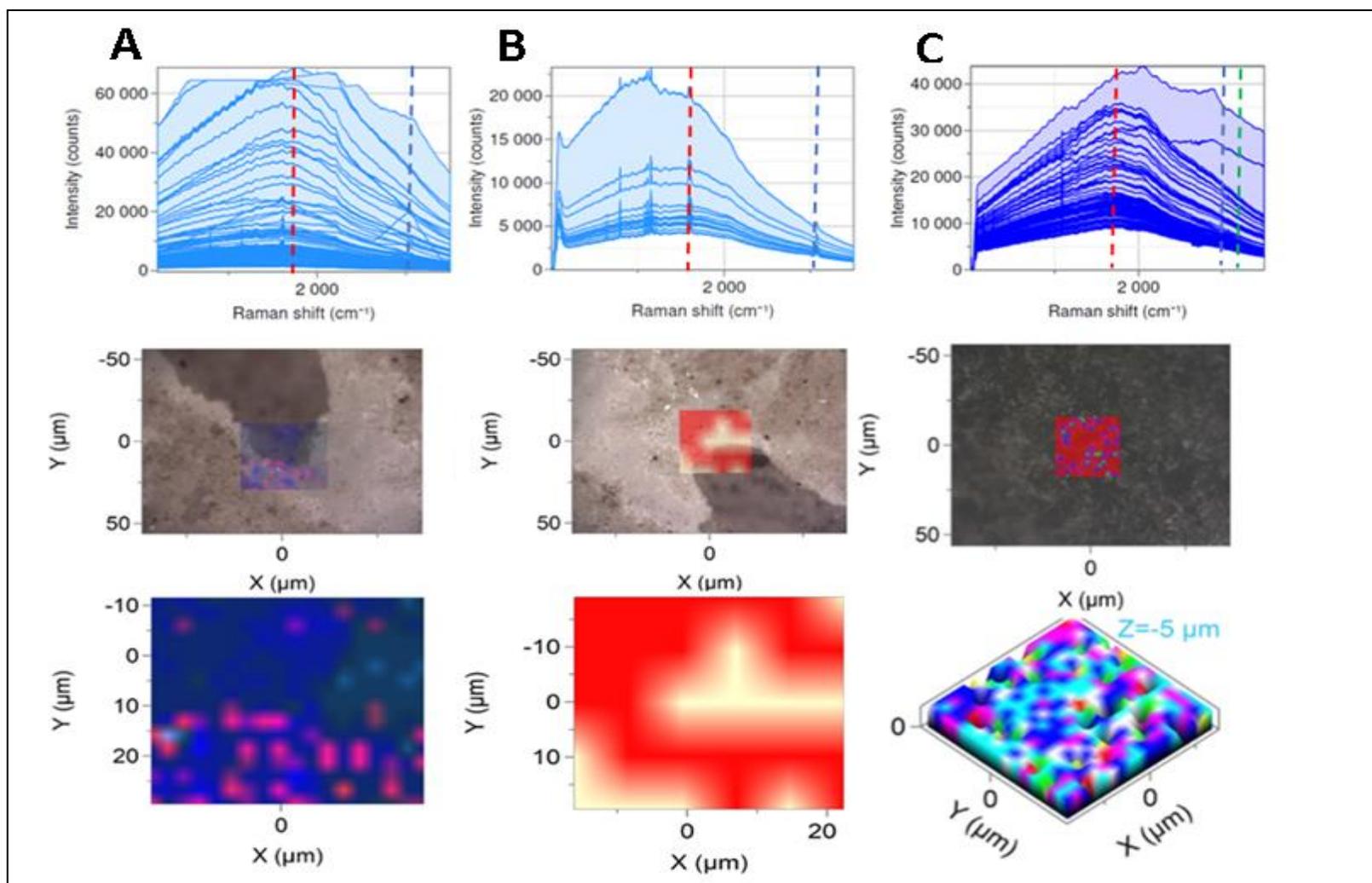


Figure N° 26 : Cartographie Raman des trois zones de la membrane RO colmatée. De l'entrée (A), du milieu (B) et de la sortie (C).

9. Imagerie microscopique

Les membranes d'osmose inverse utilisées dans la station de dessalement d'eau de mer sont conçues de trois couches superposées. Il s'agit de la partie supérieure, la partie inférieure et la partie intermédiaire plus la grille d'espacement.

9.1. Microscope optique

La microscopie optique est utilisée pour visualiser les différentes couches d'une membrane d'osmose inverse encrassée. La micrographie obtenue montre une structure symétrique de la couche intermédiaire de la membrane d'osmose inverse dans laquelle les pores sont visibles (**Figure N° 27A**). Cependant, la **figure N° 27B** montre clairement le biofouling de la surface de la couche supérieure de la membrane RO. En effet, au grossissement $\times 400$, l'encrassement se révèle sous forme d'énormes taches brunes tapissant la surface membranaire. De plus, la grille d'espacement qui sépare les feuilles super-enroulées dans un module de la membrane d'osmose inverse est également affectée par le dépôt des matériaux colmatants (**Figure N° 27C**).

Selon Vrouwenvelder et ses collaborateurs (2009), le biofouling affecte les différentes parties des membranes RO. Ceci conduit à la diminution de leur performance, d'où l'échec du processus de dessalement [(Nguyen et al., 2012) ; (Qureshi et al., 2013)].

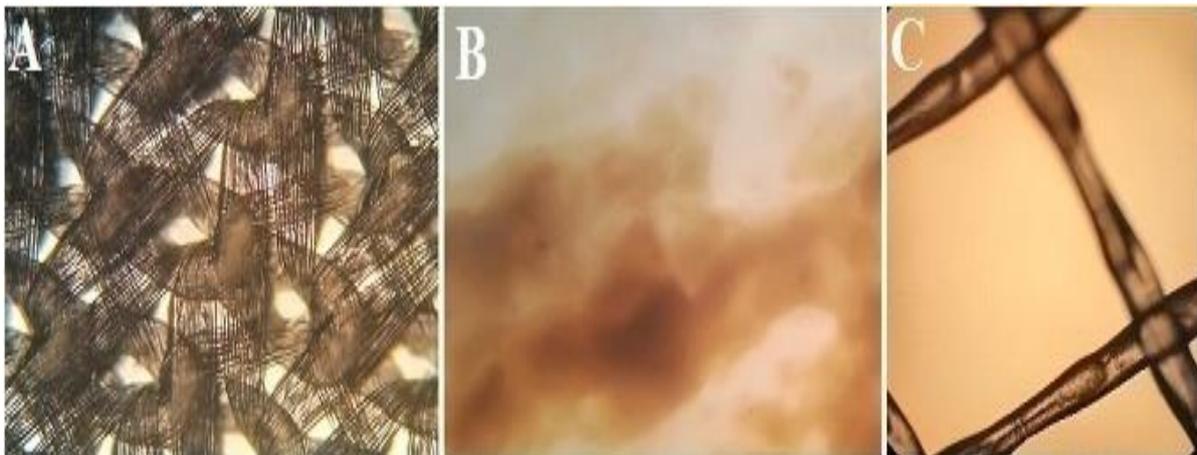


Figure N° 27 : Observation par microscope optique de A : Couche intermédiaire d'une membrane d'osmose inverse, B : Couche supérieure colmatée d'une membrane d'osmose inverse et C : Grille d'espacement entre les couches d'une membrane d'osmose inverse [Grossissement ; A et B $\times 400$, C $\times 100$].

9.2. Microscope à épi-fluorescence

Les micrographies à épi-fluorescence montrent un chevauchement des fibres constituant la membrane non colmatée, dite blanche (**Figure N° 28A**). Toutefois, les surfaces encrassées des membranes d'osmose inverse sont recouvertes de dépôts organiques et inorganiques (**Figure N° 28B, C et D**) ; les taches brunes dans la **figure N° 28C** révèlent, en effet, leur encrassement biologique. Cependant, la **figure N° 28D** dévoile des zones claires et denses, respectivement relatives aux petites et grandes quantités de dépôts des produits colmatant, y compris les biofilms.

Ce nuisible biofouling peut être dû à la formation des biofilms sur les surfaces de ces membranes, ce qui est considéré comme un défi crucial pour le dessalement de l'eau de mer (**Podar et al., 2021**).

La microscopie à épi-fluorescence est utilisée pour investiguer le bio-colmatage des surfaces membranaires encrassées. En effet, cette technique microscopique peut être utilisée pour évaluer les biofilms bactériens [(**Montañez-Izquierdo et al., 2012**) ; (**Bogachev et al., 2018**)]. De plus, Hassan et ses collaborateurs (**2010**) ont pu observer les biofilms formés sur la surface des membranes d'osmose inverse utilisées dans la concentration de lactosérum en utilisant la microscopie à fluorescence.

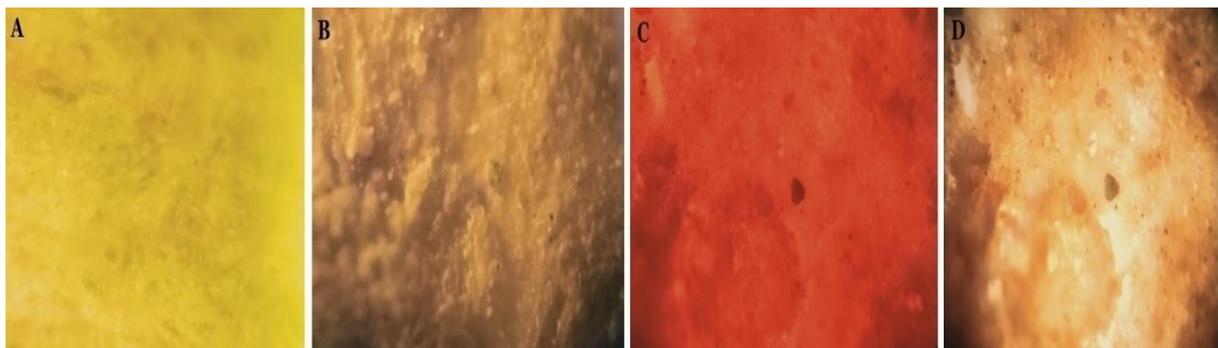


Figure N° 28 : Micrographies épi-fluorescentes de ; (A) : Membranes d'osmose inverse blanches, (C et D) : Membranes d'osmose inverse encrassées et (B) : Image sans fluorescence [Grossissement $\times 400$].

9.3. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les échantillons soumis à l'observation de la microscopie électronique à balayage ont exposé des surfaces membranaires d'osmose inverse encrassées qui étaient recouvertes d'un mélange de dépôt biotique et abiotique.

La **figure N° 29** montre les biofilms formés sur les trois différentes parties d'une membrane d'osmose inverse encrassée, à savoir l'entrée, le milieu et la sortie. Ce résultat montre que la taille des biofilms et la charge des microorganismes diffèrent entre les trois parties étudiées. L'entrée et la sortie de la membrane ont présenté des biofilms avec une charge de microorganismes très importante (**Figure N° 29 A et C**, respectivement). Contrairement, la partie du milieu de la membrane (**Figure N° 29 B**) a révélé un biofilm avec une charge microbienne réduite comparativement aux autres parties étudiées.

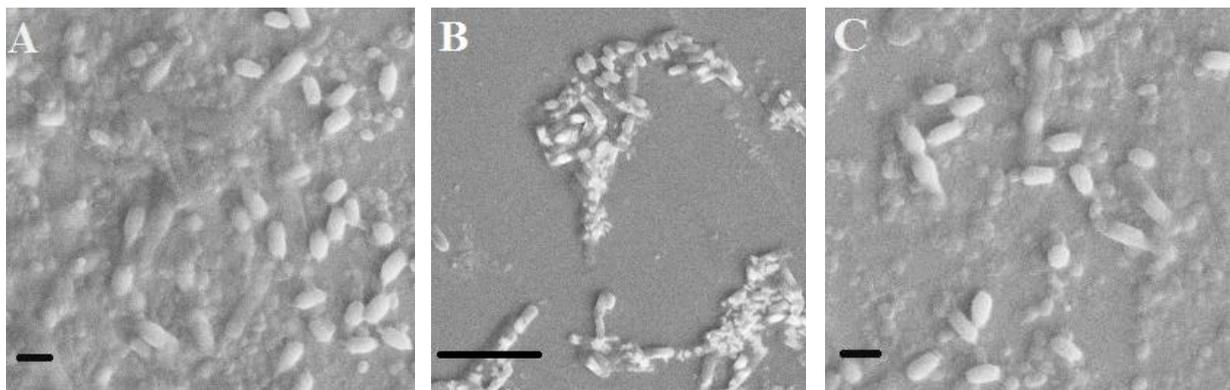


Figure N°29 : Microscopie électronique à balayage d'un mélange d'agrégation bactérienne et de dépôt abiotique sur trois parties différentes d'une membrane d'osmose inverse encrassée ; (A) : Entrée, (B) : Milieu et (C) : Sortie. Grossissement (A et C, $\times 8000$; Barres = $2 \mu\text{m}$) (B $\times 5000$; Barres = $10 \mu\text{m}$).

Par ailleurs, la **figure N° 30** montre une structure complexe qui couvre uniformément toute la surface de la zone d'entrée d'une membrane encrassée, il s'agit d'un dépôt, formé en particulier de cristaux.

Cette figure divulgue un colmatage vigoureux, formé par des particules non biologiques ; en effet, peu de matière extracellulaire est observée à cet endroit.

De plus, au grossissement élevé ($\times 8000$) (**Figure N° 31A et B**), de nombreuses bactéries se sont montrées dispersées de manière irrégulière sur toute la surface de la membrane.

Cependant, la présence de cellules bactériennes de formes et de tailles différentes au sein d'une matrice révèle la notion du biofilm mixte.

En outre, certaines cellules sont dispersées individuellement sur la surface membranaire, néanmoins d'autres ont formé des agrégats compacts (**Figure N° 31B**). Dans ce contexte, une étude récente a montré que les biofilms sont des associations et des agrégats de microorganismes, adhérant les uns aux autres ; ceux-ci peuvent se développer à l'interface solide-liquide (**Flemming et al., 2021**). Dans la présente étude, les microorganismes mis en évidence ont développé une vie sessile sur des membranes RO, un environnement équivalent à l'interface solide-liquide.

De plus, différentes morphologies bactériennes sont observées à la surface de la membrane, à savoir cocci, bacilles et gros bâtonnets. Toutes ces formes microbiennes semblent baigner dans la matrice extracellulaire du biofilm formé sur la membrane RO. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Bereschenko et ses collaborateurs (**2010**) qui ont montré que les biofilms matures formés sur les surfaces des membranes d'osmose inverse encrassées présentent une structure hétérogène complexe et s'étalent sur toute la surface de la membrane.

Au contraire, Kwan et ses collaborateurs (**2015**), ont révélé que les biofilms formés à la surface des membranes d'osmose inverse sont étroitement organisés en raison de la pression hydraulique appliquée. De plus, il est constaté que les biofilms formés sur la surface de ces membranes sont composés d'une communauté microbienne hétérogène (**Cuevas et al., 2020**).

Les résultats obtenus ont montré que les dépôts d'encrassement diffèrent d'une zone membranaire à l'autre. Ce résultat corrobore ceux enregistrés suite à la détermination de la charge microbienne et à la cartographie Raman. En conséquence, les résultats des techniques microscopiques, combinés à ceux de la spectroscopie Raman et des méthodes de culture microbiologique, peuvent fournir un aperçu général et complémentaire de l'état d'encrassement des membranes d'osmose inverse.

Dans ce contexte, Wagner et ses collaborateurs (**2009**) ont suggéré la combinaison de la microscopie Raman aux techniques microscopiques pour l'analyse des biofilms.

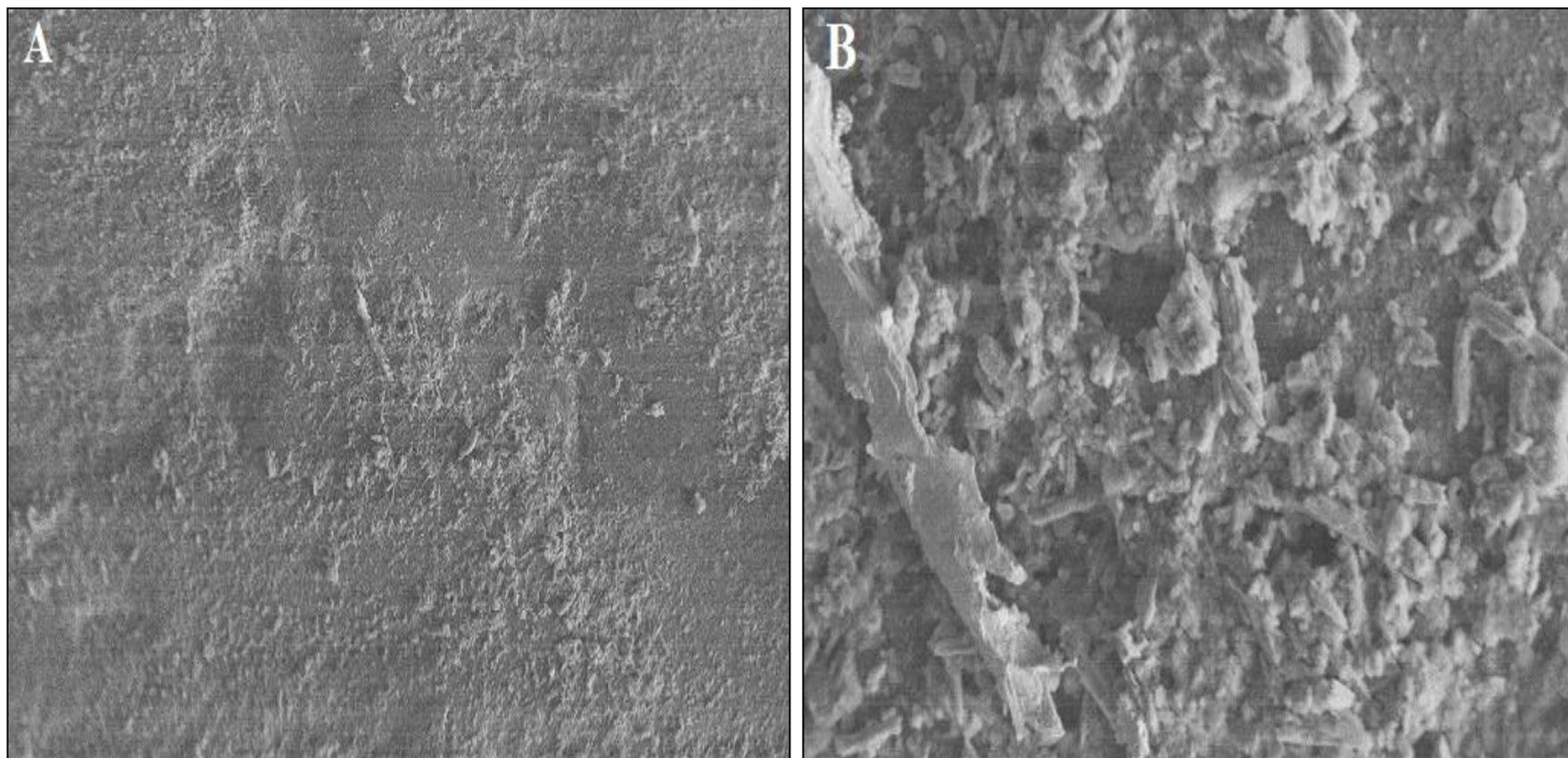


Figure N° 29 : Microscopie électronique à balayage d'un dépôt hétérogène sur la surface de la sortie d'une membrane d'osmose inverse encrassée [Grossissement : (A) $\times 500$ et (B) $\times 4000$].

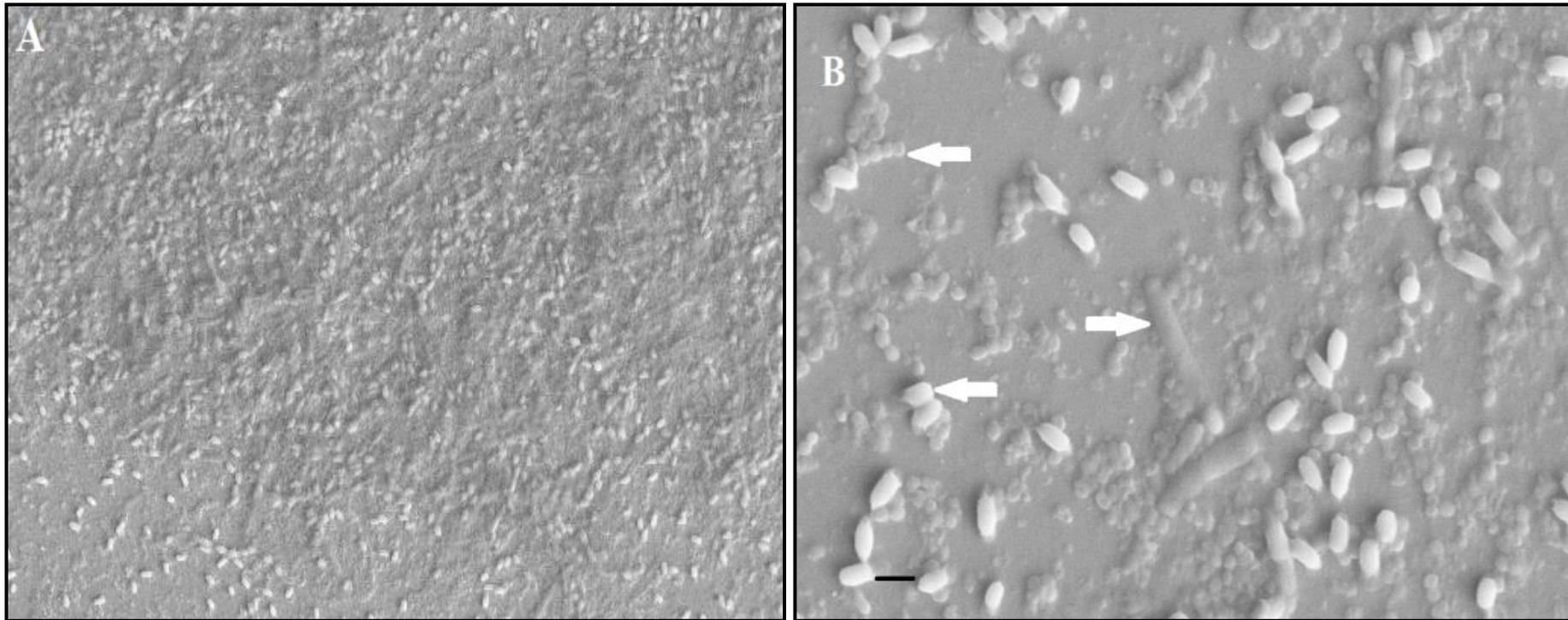


Figure N° 30 : Microscopie électronique à balayage des biofilms formés sur la surface de la sortie d'une membrane d'osmose inverse encrassée [Grossissement : (A) $\times 2500$ et (B) $\times 8000$]. Les flèches indiquent des agrégats bactériens de différentes morphologies.

10. Analyse des correspondances multiples (ACM)

Le plotellipse (**Figure N° 32**), basé sur l'analyse des correspondances multiples (ACM), illustre les modalités des variables étudiées (charge microbienne, imagerie électronique des biofilms et la cartographie Raman). L'ACM a regroupé les modalités en trois groupes selon la région étudiée de la membrane RO colmatée. Ainsi, l'entrée de la membrane présente une grande formation de biofilm selon l'imagerie électronique (**Figure N° 29 A**), une charge microbienne élevée et un fort colmatage selon la spectroscopie Raman (**Figure N° 26 A**). Cependant, la région du milieu de la membrane a montré un petit biofilm selon l'imagerie électronique (**Figure N° 29 B**), une charge microbienne faible et un colmatage également faible selon la spectroscopie Raman (**Figure N° 26 B**). Concernant la sortie de la membrane, l'imagerie électronique a montré un biofilm modéré (**Figure N° 29 C**), le comptage des microorganismes a donné une charge microbienne moyenne et la spectroscopie Raman a présenté un niveau de colmatage moyen (**Figure N° 26 C**).

Ces résultats statistiques corroborent ceux discutés ci-dessus, il semble que le colmatage des membranes d'osmose inverse soit mieux étudié en combinant les trois variables précédentes.

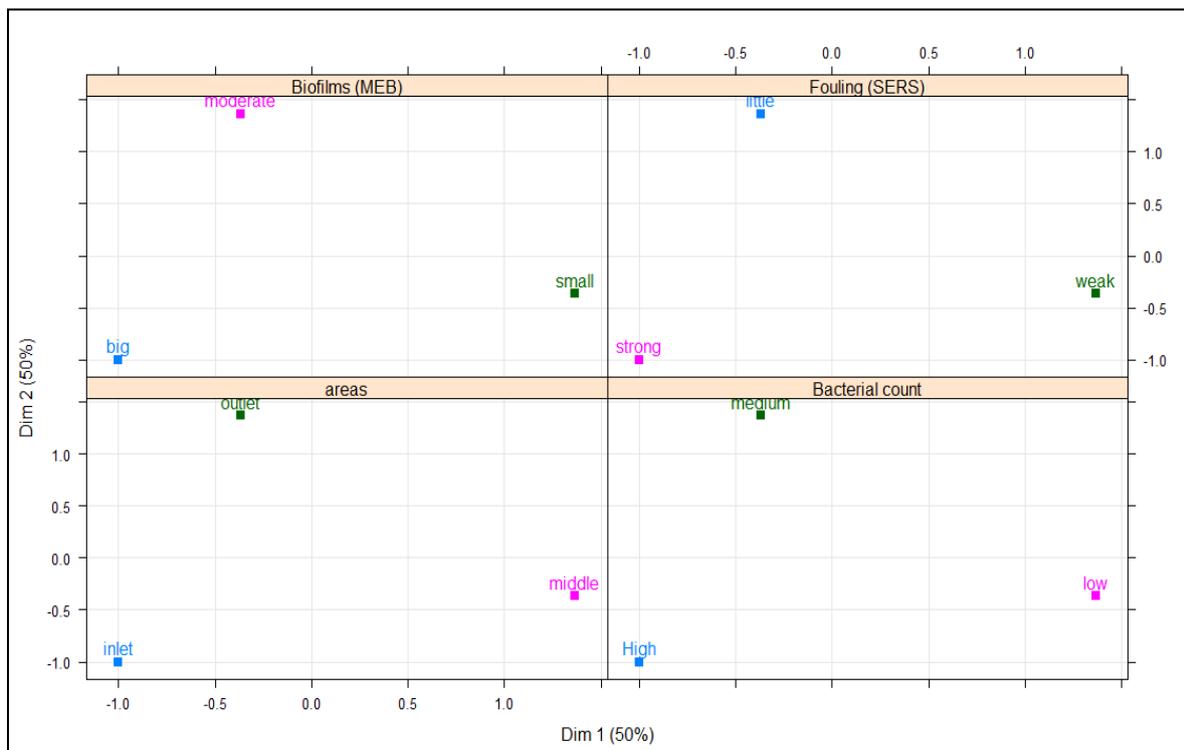


Figure N° 32 : Plotellipses basé sur l'analyse des correspondances multiples illustrant les modalités de toutes les variables étudiées.

Quatrième partie

Conclusion

Le colmatage des membranes d'osmose inverse, utilisées dans les systèmes de filtration de la production d'eau potable, constitue le principal verrou technologique. Cependant, ce colmatage pose de sérieux problèmes dans les usines de dessalement d'eau de mer, car il réduit la durée de vie des membranes et augmente les coûts d'exploitation.

Dans ce contexte, la présente étude a porté sur l'étude des produits de colmatage ainsi que sur le développement des biofilms à la surface des membranes d'osmose inverse utilisées dans le procédé de dessalement de l'eau de mer de la station souk Tlata.

À la lumière des résultats obtenus, les points suivants ressortent de ce travail :

- Les produits de colmatage induisent un poids supplémentaire significatif vis-à-vis des membranes d'osmose inverse encrassées.
- Le dénombrement des microorganismes présents sur les différentes parties des membranes d'osmose inverse montre que la charge microbienne diffère d'une membrane colmatée à l'autre et entre les zones d'entrée d'eau et celles de sa sortie.
- Sur dix-huit (18) échantillons prélevés à partir de six (6) membranes d'osmose inverse encrassées, un total de trente-sept (37) souches sont isolées, dont vingt-deux (22) Gram négatives et 15 Gram positives.
- La répartition des souches isolées entre les zones appartenant aux trois parties étudiées dans chaque membrane colmatée a montré que celle d'où sort l'eau est la plus colonisée par les microorganismes.
- Les entérobactéries et certaines bactéries à Gram positif étaient prédominantes sur les surfaces encrassées des membranes d'osmose inverse.
- Les souches isolées ont toutes le pouvoir de former des biofilms *in vitro*, avec une biomasse importante.
- Le test d'hydrophobicité a montré que la majorité des souches isolées ont une paroi hydrophile alors qu'aucune souche n'est classée comme hydrophobe, ce qui est cohérent avec le milieu aquatique des souches isolées.

- L'analyse des parties colmatées par spectroscopie Raman a révélé, d'une part, des spectres caractéristiques de substances organiques et, d'autre part, des spectres caractéristiques de biofilms formés à la surface de la membrane.
- La cartographie Raman a montré que le colmatage n'est pas homogène sur toute la surface de la membrane, l'épaisseur de la couche d'encrassement étant différente d'une zone à l'autre.
- Les observations microscopiques ont révélé des dépôts biotiques et abiotiques sur les surfaces membranaires dont différentes morphologies bactériennes ont été observées.
- Enfin, la combinaison des méthodes microscopiques, spectroscopie Raman et méthodes microbiologiques conventionnelles, permet l'examen complémentaire des membranes d'osmose inverse encrassées.

Une compréhension approfondie du mécanisme d'encrassement et de ses principes scientifiques sous-jacents est essentielle pour un fonctionnement optimisé du processus de nettoyage. Il est donc important de procéder à l'avenir à une description de l'agent de nettoyage des membranes d'osmose inverse, de la fréquence de nettoyage et de la température de l'eau d'alimentation.

Il est crucial de décrire également où l'élément membranaire doit être placé dans le récipient, sous pression.

Par ailleurs, la formation des biofilms sur les surfaces membranaires est complexe ; il faut s'intéresser aux différentes stratégies de lutte existantes pour éliminer ou limiter le développement des biofilms sur les surfaces membranaires et développer des recherches pour améliorer l'efficacité de la lutte contre ces biofilms.

Cinquième partie

Références bibliographiques

1. Afonso, A. C., Gomes, I. B., Saavedra, M. J., Giaouris, E., Simões, L. C., & Simões, M. (2021). Bacterial coaggregation in aquatic systems. *Water Research*, 117037.
2. Al-Ahmad, M., Aleem, F. A., Mutiri, A., & Ubaisy, A. (2000). Biofouling in RO membrane systems Part 1: Fundamentals and control. *Desalination*, 132(1-3), 173-179.
3. Al Ashhab, A., Sweity, A., Bayramoglu, B., Herzberg, M., & Gillor, O., (2017). Biofouling of reverse osmosis membranes: effects of cleaning on biofilm microbial communities, membrane performance, and adherence of extracellular polymeric substances. *Biofouling*, 33(5), 397-409.
4. Al Suleimani, Z., & Nair, V. R. (2000). Desalination by solar-powered reverse osmosis in a remote area of the Sultanate of Oman. *Applied Energy*, 65(1-4), 367-380.
5. Alves, M. S., Pereira, A., Araújo, S. M., Castro, B. B., Correia, A., & Henriques, I., (2014). Seawater is a reservoir of multi-resistant *Escherichia coli*, including strains hosting plasmid-mediated quinolones resistance and extended-spectrum beta-lactamases genes. *Frontiers in microbiology*, 5, 426.
6. Anwar, N., Yang, L., Ma, W., Usman, H. S., & Rahaman, M. S. (2020) Biofouling in RO Desalination Membranes. In *Corrosion and Fouling Control in Desalination Industry* (pp. 269-283). Springer, Cham.
7. Baker, R. W. (2004). Membrane technology and applications, *Wiley publication*, Second edition.
8. Belgini, D. R. B., Dias, R. S., Siqueira, V. M., Albanese, J. M., Souza, R. S., Torres, A. P. R., ... & Oliveira, V. M. (2014). Culturable bacterial diversity from a feed water of a reverse osmosis system, evaluation of biofilm formation and biocontrol using phages. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(10), 2689-2700.
9. Belila, A., El-Chakhtoura, J., Otaibi, N., Muyzer, G., Gonzalez-Gil, G., Saikaly, P. E., ... & Vrouwenvelder, J. S., (2016). Bacterial community structure and variation in a full-scale seawater desalination plant for drinking water production. *Water research*, 94, 62-72.
10. Beloin, C., Houry, A., Froment, M., Ghigo, J. M., & Henry, N. (2008). A short-time scale colloidal system reveals early bacterial adhesion dynamics. *PLoS biology*, 6(7), e167.
11. Bereschenko, L. A., Stams, A. J. M., Euverink, G. J. W., & Van Loosdrecht, M. C. M., (2010). Biofilm formation on reverse osmosis membranes is initiated and dominated by *Sphingomonas* spp. *Applied and environmental microbiology*, 76(8), 2623-2632.
12. Bereschenko, L. A., Stams, A. J. M., Heilig, G. H. J., Euverink, G. J. W., Nederlof, M. M., & Van Loosdrecht, M. C. M., (2007). Investigation of microbial communities on reverse

osmosis membranes used for process water production. *Water science and technology*, 55(8-9), 181-190.

13. Berman, T., & Holenberg, M. (2005). Don't fall foul of biofilm through high TEP levels. *Filtration & separation*, 42(4), 30-32.

14. Bikai, J., Limousy, L., Dutournié, P., Josien, L. & Blel, W., (2015). Stabilisation of the water permeability of mineral ultrafiltration membranes: An empirical modelling of surface and pore hydration. *Comptes Rendus Chimie*, 18(1), 56-62.

15. Birnhack, L., & Lahav, O. (2018). Post-Treatment of Desalinated Water—Chemistry, Design, Engineering, and Implementation. *Sustainable Desalination Handbook*, 305-350.

16. Bogachev, M. I., Volkov, V. Y., Markelov, O. A., Trizna, E. Y., Baydamshina, D. R., Melnikov, V., ... & Kayumov, A. R. (2018) Fast and simple tool for the quantification of biofilm-embedded cells sub-populations from fluorescent microscopic images. *PLoS One* 13(5), e0193267.

17. Bonnelly, M. (Thèse) (2005) Étude pilote d'affinage par nanofiltration pour la production d'eau potable. *Université Laval, Faculté Des Sciences et de Génie*.

18. Borecká-Melkusová, S., and Bujdaková, H. (2008). Variation of cell surface hydrophobicity and biofilm formation among genotypes of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* under antifungal treatment. *Can. J. Microbiol.* 54, 718–724.

19. Bos, R., Van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions—its mechanisms and methods for study. *FEMS microbiology reviews*, 23(2), 179-230.

20. Bouchard, C., Kouadio, P., Ellis, D., Rahni, M., & Lebrun, R. E. (2000). Les procédés à membranes et leurs applications en production d'eau potable. *Vecteur environnement*, 33(4), 28-38.

21. Boucherit-Atmani, Z., Seddiki, S. M. L., Boucherit, K., Sari-Belkharoubi, L., & Kunkel, D. (2011) *Candida albicans* biofilms formed into catheters and probes and their resistance to amphotericin B. *Journal de mycologie médicale* 21(3), 182-187.

22. Bullitt, E., & Makowski, L. (1995). Structural polymorphism of bacterial adhesion pili. *Nature*, 373(6510), 164-167.

23. Burmølle, M., Ren, D., Bjarnsholt, T., & Sørensen, S. J. (2014). Interactions in multispecies biofilms: do they actually matter?. *Trends in microbiology*, 22(2), 84-91.

24. Calderón, K., González-Martínez, A., Montero-Puente, C., Reboleiro-Rivas, P., Poyatos, J. M., Juárez-Jiménez, B., .. & Rodelas, B. (2012). Bacterial community structure and enzyme activities in a membrane bioreactor (MBR) using pure oxygen as an aeration source. *Bioresource technology*, 103(1), 87-94.
25. Camesano, T.A., Logan, B.E., 1998. Influence of fluid velocity and cell concentration on the transport of motile and nonmotile bacteria in porous media. *Environ. Sci. Technol.* 32: 1699–1708.
26. Casillo, A., Lanzetta, R., Parrilli, M., & Corsaro, M. M. (2018). Exopolysaccharides from marine and marine extremophilic bacteria: structures, properties, ecological roles and applications. *Marine drugs*, 16(2), 69.
27. Characklis, W. G. (1990). A basis for an interdisciplinary approach. *Biofilms*, 3-16.
28. Centre de l'information sur l'eau, BRGM. (2011). Quelles sont les ressources en eau dans le monde? France.
29. Chen, J. P., Mou, H., Wang, L. K., & Matsuura, T. (2006). Membrane filtration. In *Advanced physicochemical treatment processes* (pp. 203-259). Humana Press.
30. Cho, J., Amy, G., Pellegrino, J., 1999. Membrane filtration of natural organic matter: initial comparison of rejection and flux decline characteristics with ultrafiltration and nanofiltration membranes. *Water Res.* 33:2517–2526.
31. Chiellini, C., Iannelli, R., Modeo, L., Bianchi, V., & Petroni, G. (2012) Biofouling of reverse osmosis membranes used in river water purification for drinking purposes: analysis of microbial populations. *Biofouling* 28(9), 969-984
32. Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), 996-1006.
33. Cisar, J. O., Kolenbrander, P. E., & McIntire, F. C. (1979). Specificity of coaggregation reactions between human oral streptococci and strains of *Actinomyces viscosus* or *Actinomyces naeslundii*. *Infection and immunity*, 24(3), 742-752.
34. Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., and Marrie, T. J. (1987). Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*, 41(1), 435-464.

35. Cuevas, J. P., Moraga, R., Sánchez-Alonzo, K., Valenzuela, C., Aguayo, P., Smith, C. T., ... & Campos, V. L. (2020). Characterization of the Bacterial Biofilm Communities Present in Reverse-Osmosis Water Systems for Haemodialysis. *Microorganisms*, 8(9), 1418.
36. Dang, H., Li, T., Chen, M., & Huang, G., (2008). Cross-ocean distribution of Rhodobacterales bacteria as primary surface colonizers in temperate coastal marine waters. *Applied and environmental microbiology*, 74(1), 52-60.
37. Dang, H., & Lovell, C. R. (2016). Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(1), 91-138.
38. Darwish, M. A., Al-Najem, N. M., & Lior, N. (2009). Towards sustainable seawater desalting in the Gulf area. *Desalination*, 235(1-3), 58-87.
39. Desjardins, R. (1997). *Le traitement des eaux*. Presses inter Polytechnique.
40. Doghri I., Rodrigues S., Bazire A., Dufour A., Akbar D., Sopena V. and Lanneluc, I. (2015). Marine bacteria from the French Atlantic coast displaying high forming-biofilm abilities and different biofilm 3D architectures. *BMC microbiology*, 15(1), 231.
41. Dunne Jr, W. M. (2002). Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 155-166.
42. Epp, C. (1975). Experience with a pilot plant for the irradiation of sewage sludge: Experiments on the inactivation of viruses in sewage sludge after radiation treatment. In *Radiation for a clean environment*.
43. Escudier, J. L., Gillery, B., Ojeda, H., & Etchebarne, F. (2019). Maîtrise de la salinité des eaux d'irrigation pour la viticulture. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 12, p. 01010). EDP Sciences.
44. Fang, Y., Lu, Z., Lv, F., Bie, X., Liu, S., Ding, Z., & Xu, W., (2006). A newly isolated organic solvent tolerant *Staphylococcus saprophyticus* M36 produced organic solvent-stable lipase. *Current microbiology*, 53(6), 510-515.
45. Flemming, H. C., Griebe, T., & Schaule, G. (1996). Antifouling strategies in technical systems—a short review. *Water Science and Technology*, 34(5-6), 517-524.
46. Flemming, H. C. (1997). Reverse osmosis membrane biofouling. *Experimental thermal and fluid science*, 14(4), 382-391.
47. Flemming, H. C., Schaule, G., Griebe, T., Schmitt, J. & Tamachkiarowa, A. (1997). Biofouling —the Achilles heel of membrane processes. *Desalination* 113, 215–225.

48. Flemming, H. C. (2008). Biofilms. In: Encyclopedia of life sciences. John Wiley, Chichester. *eLS*.
49. Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A. & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563.
50. Fletcher, M., & Loeb, G. (1979). Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. *Applied and environmental microbiology*, 37(1), 67-72.
51. Fuhrman, J. A., Cram, J. A., & Needham, D. M. (2015). Marine microbial community dynamics and their ecological interpretation. *Nature Reviews Microbiology*, 13(3), 133-146.
52. Fujishige, N. A., Kapadia, N. N., De Hoff, P. L., & Hirsch, A. M. (2006). Investigations of *Rhizobium* biofilm formation. *FEMS Microbiology and Ecology*. 56: 195-206.
53. Gaid, K., & Treal, Y. (2007). Le dessalement des eaux par osmose inverse: l'expérience de Véolia Water. *Desalination*, 203(1-3), 1-14.
54. Ghigo, J.M. (2003). Are there biofilm-specific physiological pathways beyond a reasonable doubt? *Research in Microbiology*, 154(1), 1-8.
55. Giaouris, E., Chapot-Chartier, M. P., & Briandet, R. (2009). Surface physicochemical analysis of natural *Lactococcus lactis* strains reveals the existence of hydrophobic and low charged strains with altered adhesive properties. *International journal of food microbiology*, 131(1), 2-9.
56. Giaouris, E., Chorianopoulos, N., Doulgeraki, A., & Nychas, G. J. (2013). Co-culture with *Listeria monocytogenes* within a dual-species biofilm community strongly increases resistance of *Pseudomonas putida* to benzalkonium chloride. *PLoS One*, 8(10), e77276.
57. Gibbons, R. J., & Nygaard, M. (1970). Interbacterial aggregation of plaque bacteria. *Archives of oral biology*, 15(12), 1397-IN39.
58. Gille, D. (2003). Seawater intakes for desalination plants. *Desalination*, 156(1-3), 249-256.
59. Godart, H. (2000). Eaux de distribution: Traitements unitaires. *Techniques de l'ingénieur. Technologies de l'eau*, 1(C5200).
60. Guilhen, C., Forestier, C., & Balestrino, D. (2017). Biofilm dispersal: multiple elaborate strategies for dissemination of bacteria with unique properties. *Molecular microbiology*, 105(2), 188-210.

61. Guo, W., Ngo, H. H., & Li, J. (2012). A mini-review on membrane fouling. *Bioresource technology*, 122, 27-34.
62. Habimana, O., Meyrand, M., Meylheuc, T., Kulakauskas, S., & Briandet, R. (2009). Genetic features of resident biofilms determine attachment of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(24), 7814-7821.
63. Habimana, O., Semião, A. J. C., & Casey, E. (2014). The role of cell-surface interactions in bacterial initial adhesion and consequent biofilm formation on nanofiltration/reverse osmosis membranes. *Journal of Membrane Science*, 454, 82-96.
64. Hall-Stoodley, L., & Stoodley, P. (2002). Developmental regulation of microbial biofilms. *Current opinion in biotechnology*, 13(3), 228-233.
65. Hamrouni, B., & Dhahbi, M. (2001). Analytical aspects of silica in saline water—application to desalination of brackish waters. *Desalination*, 136(1-3), 225-232.
66. Harakeh, S., Yassine, H., Hajjar, S., & El-Fadel, M. (2006). Isolates of *Staphylococcus aureus* and *saprophyticus* resistant to antimicrobials isolated from the Lebanese aquatic environment. *Marine pollution bulletin*, 52(8), 912-919.
67. Herzberg, M., Kang, S., & Elimelech, M. (2009). Role of extracellular polymeric substances (EPS) in biofouling of reverse osmosis membranes. *Environmental science & technology*, 43(12), 4393-4398.
68. Heydorn, A., Nielsen, A. T., Hentzer, M., Sternberg, C., Givskov, M., Ersbøll, B. K., & Molin, S. (2000). Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT. *Microbiology*, 146(10), 2395-2407.
69. Hong, S., Zhou, Z., Zioc, E., Wang, W. (2014). An adaptive method for health trend prediction of rotating bearings. *Digital Signal Processing*, 35, 117–123.
70. Hörsch, P., Gorenflo, A., Fuder, C., Deleage, A., & Frimmel, F. H. (2005). Biofouling of ultra-and nanofiltration membranes for drinking water treatment characterized by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Desalination*, 172(1), 41-52.
71. Houari A. and Di Martino, P. (2007). Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. *Letters in Applied Microbiology* 45(6), 652-656.
72. Houari, A., Picard, J., Habarou, H., Galas, L., Vaudry, H., Heim, V., & Di Martino, P. (2008). Rheology of biofilms formed at the surface of NF membranes in a drinking water production unit. *Biofouling*, 24(4), 235-240.

- 73.** Houari, A. (2009). Caractérisation de biofilms formés à la surface de membranes de nanofiltration dans un processus de production d'eau potable et stratégies de lutte anti-biofilm (Doctoral dissertation, Cergy-Pontoise).
- 74.** Huang, W. E., Griffiths, R. I., Thompson, I. P., Bailey, M. J., & Whiteley, A. S. (2004) Raman microscopic analysis of single microbial cells. *Analytical chemistry* 76(15), 4452-4458.
- 75.** Huang, W. E., Li, M., Jarvis, R. M., Goodacre, R., & Banwart, S. A. (2010). Shining light on the microbial world: the application of Raman microspectroscopy. *Advances in applied microbiology*, 70, 153-186.
- 76.** Ivnitsky, H., Katz, I., Minz, D., Volvovic, G., Shimoni, E., Kesselman, E., ... & Dosoretz, C. G., (2007). Bacterial community composition and structure of biofilms developing on nanofiltration membranes applied to wastewater treatment. *Water Research*, 41(17), 3924-3935.
- 77.** Jang, N., Ren, X., Choi, K., & Kim, I. S. (2006). Comparison of membrane biofouling in nitrification and denitrification for the membrane bioreactor (MBR). *Water science and technology*, 53(6), 43-49.
- 78.** Javed, K., Gouriveau, R., Zerhouni, N., Hissel, D. (2015). Improving Accuracy of Long-term Prognostics of PEMFC stack to Estimate Remaining Useful Life. *Proceeding of International Conference of Industrial Technologies (ICIT'15), Seville – Spain*.
- 79.** Jeong, S., Naidu, G., Vollprecht, R., Leiknes, T., & Vigneswaran, S. (2016). In-depth analyses of organic matters in a full-scale seawater desalination plant and an autopsy of reverse osmosis membrane. *Separation and Purification Technology*, 162, 171-179.
- 80.** Jett, B. D., Hatter, K. L., Huycke, M. M., & Gilmore, M. S. (1997). Simplified agar plate method for quantifying viable bacteria. *Biotechniques*, 23(4), 648-650.
- 81.** Jiang, S., Li, Y., & Ladewig, B. P. (2017). A review of reverse osmosis membrane fouling and control strategies. *Science of the Total Environment*, 595, 567-583.
- 82.** Kang, S., Hoek, E. M., Choi, H., & Shin, H. (2006). Effect of membrane surface properties during the fast evaluation of cell attachment. *Separation Science and Technology*, 41(7), 1475-1487.
- 83.** Kang, S. T., Subramani, A., Hoek, E. M., Deshusses, M. A., & Matsumoto, M. R. (2004). Direct observation of biofouling in cross-flow microfiltration: mechanisms of deposition and release. *Journal of Membrane Science*, 244(1-2), 151-165.

- 84.** Kanki, M., Yoda, T., Tsukamoto, T., & Shibata, T. (2002). *Klebsiella pneumoniae* produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* strains are histamine producers. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3462-3466.
- 85.** Karched, M., Bhardwaj, R. G., & Asikainen, S. E. (2015). Coaggregation and biofilm growth of *Granulicatella* spp. with *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *BMC microbiology*, 15(1), 1-10.
- 86.** Kehal S., (2001). Rétrospective et perspective du dessalement en Algérie. *Desalination*, 136 (1-3), 35-42.
- 87.** Kennedy, M., Zhizhong, L., Febrina, E., Van Hoof, S., & Shippers, J. (2003). Effects of coagulation on filtration mechanisms in dead-end ultrafiltration. *Water Science and Technology: Water Supply*, 3(5-6), 109-116.
- 88.** Kettab A., (2001). Les ressources en eau en Algérie: stratégies, enjeux et vision. *Desalination*, 136(1-3), 25-33.
- 89.** Kochkodan, V., Tsarenko, S., Potapchenko, N., Kosinova, V., & Goncharuk, V. (2008). Adhesion of microorganisms to polymer membranes: a photobactericidal effect of surface treatment with TiO₂. *Desalination*, 220(1-3), 380-385.
- 90.** Kolenbrander, P. E. (1989). Surface recognition among oral bacteria: multigeneric coaggregations and their mediators. *Critical reviews in microbiology*, 17(2), 137-159.
- 91.** Kolenbrander, P. E., & London, J. (1992). Ecological significance of coaggregation among oral bacteria. In *Advances in microbial ecology* (pp. 183-217). Springer, Boston, MA.
- 92.** Krasowska, A., & Sigler, K., (2014). How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 112.
- 93.** Krepsky, N., Ferreira, R. B. R., Nunes, A. P. F., Lins, U. G. C., e Silva Filho, F. C., de Mattos-Guaraldi, A. L., & Netto-dosSantos, K. R., (2003). Cell surface hydrophobicity and slime production of *Staphylococcus epidermidis* Brazilian isolates. *Current microbiology*, 46(4), 0280-0286.
- 94.** Kumar, M., Adham, S. S., & Pearce, W. R. (2006). Investigation of seawater reverse osmosis fouling and its relationship to pretreatment type. *Environmental science & technology*, 40(6), 2037-2044.

- 95.** Kwan, S. E., Bar-Zeev, E., & Elimelech, M. (2015). Biofouling in forward osmosis and reverse osmosis: Measurements and mechanisms. *Journal of Membrane Science*, *493*, 703-708.
- 96.** Lee, J. W., Ren, X., Yu, H. W., Kim, S. J., & Kim, I. S. (2010a). Membrane biofouling of seawater reverse osmosis initiated by sporogenic Bacillus strain. *Environmental Engineering Research*, *15*(3), 141-147.
- 97.** Lee, K. P., Arnot, T. C., & Mattia, D. (2011). A review of reverse osmosis membrane materials for desalination—development to date and future potential. *Journal of Membrane Science*, *370* (1-2), 1-22.
- 98.** Lee, W., Ahn, C. H., Hong, S., Kim, S., Lee, S., Baek, Y., & Yoon, J. (2010b). Evaluation of surface properties of reverse osmosis membranes on the initial biofouling stages under no filtration condition. *Journal of Membrane Science*, *351*(1-2), 112-122.
- 99.** Levi, Y., Germon, J. C., Legube, B., Block, J. C., Abbayes, H., Houzelot, J., Reynaud, A., & Humbert A. (2007). L'eau, enjeux et perspectives de recherche. Mission scientifique et pédagogique. *Ministère de l'éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche*.
- 100.** Li, B., & Logan, B. E. (2004). Bacterial adhesion to glass and metal-oxide surfaces. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, *36*(2), 81-90.
- 101.** Liu, W., Russel, J., Burmølle, M., Sørensen, S. J., & Madsen, J. S. (2018). Micro-scale intermixing: a requisite for stable and synergistic co-establishment in a four-species biofilm. *The ISME journal*, *12*(8), 1940-1951.
- 102.** Liu, Y., Yang, S. F., Qin, L., & Tay, J. H. (2004). A thermodynamic interpretation of cell hydrophobicity in aerobic granulation. *Applied microbiology and biotechnology*, *64*(3), 410-415.
- 103.** López-Ramírez, J. A., Oviedo, M. C., & Alonso, J. Q., (2006). Comparative studies of reverse osmosis membranes for wastewater reclamation. *Desalination*, *191* (1-3), 137-147.
- 104.** Malaeb, L., & Ayoub, G. M. (2011). Reverse osmosis technology for water treatment: State of the art review. *Desalination*, *267*(1), 1-8.
- 105.** Matin, A., Khan, Z., Zaidi, S. M. J., & Boyce, M. C. (2011). Biofouling in reverse osmosis membranes for seawater desalination: phenomena and prevention. *Desalination*, *281*, 1-16.
- 106.** Mattson, M. E., & Lew, M. (1982). Recent advances in reverse osmosis and electro dialysis membrane desalting technology. *Desalination*, *41*(1), 1-24.

- 107.** Mohapatra, B. R., & Bapuji, M., (1997). Characterization of urethanase from *Micrococcus* species associated with the marine sponge (*Spirasfrella species*). *Letters in Applied Microbiology*, 25(6), 393-396.
- 108.** Monnot, M., Nguyễn, H. T. K., Laborie, S., & Cabassud, C. (2017). Seawater reverse osmosis desalination plant at community-scale: Role of an innovative pretreatment on process performances and intensification. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 113, 42-55.
- 109.** Montañez-Izquierdo, V. Y., Salas-Vázquez, D. I., & Rodríguez-Jerez, J. J. (2012). Use of epifluorescence microscopy to assess the effectiveness of phage P100 in controlling *Listeria monocytogenes* biofilms on stainless steel surfaces. *Food Control*, 23(2), 470-477.
- 110.** Mulder, M., & Mulder, J. (1996). Basic principles of membrane technology. *Springer Science & Business Media*.
- 111.** Myint, A. A., Lee, W., Mun, S., Ahn, C. H., Lee, S., & Yoon, J. (2010). Influence of membrane surface properties on the behavior of initial bacterial adhesion and biofilm development onto nanofiltration membranes. *Biofouling*, 26(3), 313-321.
- 112.** Nady, N., Salem, N., Amer, R., El-Shazly, A., Kandil, S. H., & Hassouna, M. S. E. D. (2020). Comparison between a conventional anti-biofouling compound and a novel modified low-fouling polyethersulfone ultrafiltration membrane: Bacterial anti-attachment, water quality and productivity. *Membranes*, 10(9), 227.
- 113.** Nagaraj, V., Skillman, L., Ho, G., Li, D., & Gofton, A. (2017). Characterisation and comparison of bacterial communities on reverse osmosis membranes of a full-scale desalination plant by bacterial 16S rRNA gene metabarcoding. *NPJ biofilms and microbiomes*, 3(1), 1-14.
- 114.** Nagaraj, V., Skillman, L., Li, D., & Ho, G. (2018). Review—Bacteria and their extracellular polymeric substances causing biofouling on seawater reverse osmosis desalination membranes. *Journal of environmental management*, 223, 586-599.
- 115.** Nguyen, T., Roddick, F., Fan, L. (2012). Biofouling of water treatment membranes: A review of the underlying causes, monitoring techniques and control measures. *Membranes*, 2, 804–840.
- 116.** Nguyen, V., Karunakaran, E., Collins, G., & Biggs, C. A. (2016). Physicochemical analysis of initial adhesion and biofilm formation of *Methanosarcina barkeri* on polymer support material. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 143, 518-525.

- 117.** Ochando-Pulido, J. M., Víctor-Ortega, M. D., Martínez-Ferez, A. (2016). Membrane fouling insight during reverse osmosis purification of pretreated olive mill wastewater. *Sep. Purif. Technol.* 168, 177–187.
- 118.** O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (47).
- 119.** O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 49-79.
- 120.** Pahlow, S., Meisel, S., Cialla-May, D., Weber, K., Rösch, P., & Popp, J. (2015) Isolation and identification of bacteria by means of Raman spectroscopy. *Advanced drug delivery reviews*, 89, 105-120.
- 121.** Pang, C. M., Hong, P., Guo, H., & Liu, W. T. (2005). Biofilm formation characteristics of bacterial isolates retrieved from a reverse osmosis membrane. *Environmental science & technology*, 39(19), 7541-7550.
- 122.** Pang, C. M., & Liu, W. T. (2007). Community structure analysis of reverse osmosis membrane biofilms and the significance of Rhizobiales bacteria in biofouling. *Environmental science & technology*, 41(13), 4728-4734.
- 123.** Passow, U. (2002). Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Progress in oceanography*, 55(3-4), 287-333.
- 124.** Pasmore, M., Todd, P., Smith, S., Baker, D., Silverstein, J., Coons, D., & Bowman, C. N. (2001). Effects of ultrafiltration membrane surface properties on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm initiation for the purpose of reducing biofouling. *Journal of Membrane Science*, 194(1), 15-32.
- 125.** Paul, D. R. (2004). Reformulation of the solution-diffusion theory of reverse osmosis. *Journal of membrane science*, 241 (2), 371-386.
- 126.** Paul, E., Ochoa, J. C., Pechaud, Y., Liu, Y., & Liné, A. (2012). Effect of shear stress and growth conditions on detachment and physical properties of biofilms. *Water research*, 46(17), 5499-5508.
- 127.** Podar, M., May, A. L., Bai, W., Peyton, K., Klingeman, D. M., Swift, C. M., ... & Kumar, M. (2021) Microbial diversity analysis of two full-scale seawater desalination treatment trains provides insights into detrimental biofilm formation. *Journal of Membrane Science Letters* 1(1), 100001.
- 128.** Pratt, L. A., & Kolter, R. (1999). Genetic analyses of bacterial biofilm formation. *Current opinion in microbiology*, 2(6), 598-603.

- 129.** Qureshi, B. A., Zubair, S. M., Sheikh, A. K. Bhujle, A., Dubowsky, S. (2013). Design and performance evaluation of reverse osmosis desalination systems: An emphasis on fouling modeling. *Appl. Therm. Eng. Appl. Therm, Eng.* 60, 208–217.
- 130.** Ramesh, K., Melzner, F., Griffith, A. W., Gobler, C. J., Rouger, C., Tasdemir, D., & Nehrke, G. (2018) In vivo characterization of bivalve larval shells: a confocal Raman microscopy study. *Journal of the Royal Society Interface* 15(141), 20170723.
- 131.** Redman, J. A., Walker, S. L., & Elimelech, M. (2004). Bacterial adhesion and transport in porous media: Role of the secondary energy minimum. *Environmental science & technology*, 38(6), 1777-1785.
- 132.** Ren, D., Madsen, J. S., Sørensen, S. J., & Burmølle, M. (2015). High prevalence of biofilm synergy among bacterial soil isolates in cocultures indicates bacterial interspecific cooperation. *The ISME journal*, 9(1), 81-89.
- 133.** Rendueles, O., & Ghigo, J. M. (2012). Multi-species biofilms: how to avoid unfriendly neighbors. *FEMS microbiology reviews*, 36(5), 972-989.
- 134.** Rupani, D., Izano, E. A., Schreiner, H. C., Fine, D. H., & Kaplan, J. B. (2008). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotype f O-polysaccharide mediates coaggregation with *Fusobacterium nucleatum*. *Oral microbiology and immunology*, 23(2), 127-130.
- 135.** Salta, M., Wharton, J. A., Blache, Y., Stokes, K. R., and Briand, J. F. (2013). Marine biofilms on artificial surfaces: structure and dynamics. *Environmental microbiology*, 15(11), 2879-2893.
- 136.** Samek, O., Al-Marashi, J. F. M., & Telle, H. H. (2010). The potential of Raman spectroscopy for the identification of biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. *Laser Physics Letters*, 7(5), 378-383.
- 137.** Sánchez-Cortés, S., Corrado, G., Trubetskaya, O. E., Trubetskoj, O. A., Hermosin, B., & Saiz-Jimenez, C. (2006). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Chernozem Humic Acid and Their Fractions Obtained by Coupled Size Exclusion Chromatography—Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SEC-PAGE). *Applied spectroscopy* 60(1), 48-53.
- 138.** Schopf, J. W. (1983). Earth's earliest biosphere: its origin and evolution. In: Schopf JW (ed) Earth's earliest biosphere. *Princeton University Press, New Jersey*, pp 361–384.
- 139.** Schuster, K. C., Reese, I., Urlaub, E., Gapes, J. R., & Lendl, B. (2000). Multidimensional information on the chemical composition of single bacterial cells by confocal Raman microspectroscopy. *Analytical chemistry*, 72(22), 5529-5534.

- 140.** Scott, K., Hughes, R., & Hughes, R. (Eds.). (1996). *Industrial membrane separation technology*. Springer Science & Business Media.
- 141.** Seddiki, S. M. L. (2021). Introduction aux biofilms microbiens. *Éditions Connaissances et Savoirs*, Paris. ISBN: 9782342356847.
- 142.** Sekkal, M. C., Berrached, N., Medjaher, K., Varnier, C. (2016). Skeleton of a Cost-Effective Approach for Health Indicators Construction. *In proceeding of the 4th IEEE International Colloquium on Information Science and Technology (CiSt'16)*. Tanger – MORROCO.
- 143.** Seng, P., Boushab, B. M., Romain, F., Gouriet, F., Bruder, N., Martin, C., ... & Stein, A., (2016). Emerging role of *Raoultella ornithinolytica* in human infections: a series of cases and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*, 45, 65-71.
- 144.** Shannon, M. A., Bohn, P. W., Elimelech, M., Georgiadis, J. G., Marinas, B. J., and Mayes, A. M., (2008). Science and technology for water purification in the coming decades. *Nature*, 452, 301-310.
- 145.** Sheikholeslami, R., (2007). Fouling in membranes and thermal units. *L'Aquila: Balaban Desalination Publications*.
- 146.** Shi, J., Su, Y., Du, C., & Xie, B. (2019). Biofouling characteristics of reverse osmosis membranes during dyeing wastewater desalination. *Desalination and Water Treatment*, 147, 31-37.
- 147.** Sorroche, F., Bogino, P., Russo, D. M., Zorreguieta, A., Nievas, F., Morales, G. M., ... & Giordano, W. (2018). Cell autoaggregation, biofilm formation, and plant attachment in a *Sinorhizobium meliloti* lpsB mutant. *Molecular plant-microbe interactions*, 31(10), 1075-1082.
- 148.** Sorroche, F. G., Rinaudi, L. V., Zorreguieta, Á., & Giordano, W. (2010). EPS II-dependent autoaggregation of *Sinorhizobium meliloti* planktonic cells. *Current microbiology*, 61(5), 465-470.
- 149.** Sorroche, F. G., Spesia, M. B., Zorreguieta, Á. & Giordano, W. (2012). A positive correlation between bacterial autoaggregation and biofilm formation in *native Sinorhizobium meliloti* isolates from Argentina. *Applied and environmental microbiology*, 78(12), 4092-4101.
- 150.** Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., Švabić-Vlahović, M., (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J of Microbiol Methods*, 40(2), 175-179.

- 151.** Stewart, P. S., Rayner, J., Roe, F., & Rees, W. M. (2001). Biofilm penetration and disinfection efficacy of alkaline hypochlorite and chlorosulfamates. *Journal of applied microbiology*, *91*(3), 525-532.
- 152.** Strola, S. A., Baritoux, J. C., Schultz, E., Simon, A. C., Allier, C., Espagnon, I., ... & Dinten, J. M. (2014). Single bacteria identification by Raman spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, *19*(11), 111610.
- 153.** Subramani, A., & Hoek, E. M. (2008). Direct observation of initial microbial deposition onto reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, *319*(1-2), 111-125.
- 154.** Szymańska-Chargot, M., Chylińska, M., Pieczywek, P. M., Rösch, P., Schmitt, M., Popp, J., & Zdunek, A. (2016). Raman imaging of changes in the polysaccharides distribution in the cell wall during apple fruit development and senescence. *Planta*, *243*(4), 935-945.
- 155.** Tamas, A.P. (2004). Etude comparée du colmatage en nanofiltration et en ultrafiltration d'eau de surface. (Mémoire). *Faculté des sciences et de génie, Université Laval, Québec*.
- 156.** Tang, B., Yu, C., Bin, L., Zhao, Y., Feng, X., Huang, S., ... & Chen, Q. (2016). Essential factors of an integrated moving bed biofilm reactor–membrane bioreactor: Adhesion characteristics and microbial community of the biofilm. *Bioresource technology*, *211*, 574-583.
- 157.** Tansel, B., Bao, W. Y., & Tansel, I. N. (2000). Characterization of fouling kinetics in ultrafiltration systems by resistances in series model. *Desalination*, *129*(1), 7-14.
- 158.** Tolker-Nielsen, T., Brinch, U. C., Ragas, P. C., Andersen, J. B., Jacobsen, C. S., & Molin, S. (2000). Development and dynamics of *Pseudomonas sp.* biofilms. *Journal of bacteriology*, *182*(22), 6482-6489.
- 159.** Tong, N., Zhu, C., Zhang, C., & Zhang, Y. (2016). Study on Raman spectra of aliphatic polyamide fibers. *Optik*, *127*(1), 21-24.
- 160.** Torres, S., Pandey, A., & Castro, G. R. (2011). Organic solvent adaptation of Gram positive bacteria: applications and biotechnological potentials. *Biotechnology advances*, *29*(4), 442-452.
- 161.** Tremblay, Y. D., Hathroubi, S. & Jacques M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, *78*(2), 110-116.

- 162.** Trunk, T., Khalil, H. S., Leo, J. C. (2018). Bacterial autoaggregation. *AIMS Microbiol.* 4(1):140–164.
- 163.** Umadevi, K., & Krishnaveni, M. (2013). Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949. *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 4(3), 149-152.
- 164.** Van den Broek, W. B. P., Boorsma, M. J., Huiting, H., Dusamos, M. G., & van Agtmaal, S. (2010). Prevention of biofouling in industrial RO Systems: Experiences with peracetic acid. *Water Practice and Technology*, 5(2).
- 165.** Van der Bruggen, B., Vandecasteele, C., Van Gestel, T., Doyen, W., & Leysen, R. (2003). A review of pressure-driven membrane processes in wastewater treatment and drinking water production. *Environmental progress*, 22(1), 46-56.
- 166.** Van der Veen, S., & Abee, T. (2011). Mixed species biofilms of *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus plantarum* show enhanced resistance to benzalkonium chloride and peracetic acid. *International journal of food microbiology*, 144(3), 421-431.
- 167.** Van Loosdrecht, M. C., Lyklema, J., Norde, W., & Zehnder, A. J. (1990). Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiological reviews*, 54(1), 75.
- 168.** Vetter, T. A., Perdue, E. M., Ingall, E., Koprivnjak, J. F., & Pfromm, P. H. (2007). Combining reverse osmosis and electrodialysis for more complete recovery of dissolved organic matter from seawater. *Separation and purification Technology*, 56(3), 383-387.
- 169.** de Vries, H. J., Stams, A. J., & Plugge, C. M. (2020). Biodiversity and ecology of microorganisms in high pressure membrane filtration systems. *Water Research*, 172, 115511.
- 170.** de Vries H. J., Beyer F., Jarzembowska M., Lipińska J., van den Brink P., Zwijnenburg A. & Plugge C. M. (2019). Isolation and characterization of *Sphingomonadaceae* from fouled membranes. *NPJ biofilms and microbiomes*, 5(1), 6.
- 171.** Vrouwenvelder, J. S. & Van der Kooij, D. (2001). Diagnosis, prediction and prevention of biofouling of NF and RO membranes. *Desalination*, 139, 65–71.
- 172.** Vrouwenvelder, J. S., Von Der Schulenburg, D. G., Kruithof, J. C., Johns, M. L., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2009). Biofouling of spiral-wound nanofiltration and reverse osmosis membranes: a feed spacer problem. *water research*, 43(3), 583-594.
- 173.** Wagner, M., Ivleva, N. P., Haisch, C., Niessner, R., & Horn, H. (2009). Combined use of confocal laser scanning microscopy (CLSM) and Raman microscopy (RM): investigations on EPS–matrix. *Water Research*, 43(1), 63-76.

- 174.** Wahl, M., (1989). « Marine epibiosis .I. Fouling and antifouling: some basic aspects », *Marine Ecology Progress Series*, 58, 175-189.
- 175.** Walker, S. L., Redman, J. A., Elimelech, M. (2004). Role of cell surface lipopolysaccharides in *Escherichia coli* K12 adhesion and transport. *Langmuir*, 20, 7736–7746.
- 176.** Wichmann, C., Rösch, P., & Popp, J. (2021). Isolation of bacteria from artificial bronchoalveolar lavage fluid using density gradient centrifugation and their accessibility by Raman spectroscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 413(20), 5193-5200.
- 177.** WOOD, E. F. (1952). The micrococci in a marine environment. *Microbiology*, 6(3-4), 205-210.
- 178.** Xu, G. R., Wang, J. N., & Li, C. J. (2013). Strategies for improving the performance of the polyamide thin film composite (PA-TFC) reverse osmosis (RO) membranes: Surface modifications and nanoparticles incorporations. *Desalination*, 328, 83-100.
- 179.** Xu, P., Bellona, C., & Drewes, J. E. (2010). Fouling of nanofiltration and reverse osmosis membranes during municipal wastewater reclamation: membrane autopsy results from pilot-scale investigations. *Journal of Membrane Science*, 353(1-2), 111-121.
- 180.** Yu, T., Meng, L., Zhao, Q. B., Shi, Y., Hu, H. Y., & Lu, Y. (2017). Effects of chemical cleaning on RO membrane inorganic, organic and microbial foulant removal in a full-scale plant for municipal wastewater reclamation. *Water research*, 113, 1-10.
- 181.** Zhang, P., Shen, Y., Guo, J. S., Li, C., Wang, H., Chen, Y. P., ... & Fang, F. (2015). Extracellular protein analysis of activated sludge and their functions in wastewater treatment plant by shotgun proteomics. *Scientific reports*, 5(1), 1-11.
- 182.** Zimba, C. G., Rabolt, J. F., & English, A. D. (1989). Raman spectroscopic characterization and molecular force field development of a synthetic polyamide: Nylon 66. *Macromolecules*, 22(6), 2863-2867.
- 183.** Zita, A., & Hermansson, M. (1997). Determination of bacterial cell surface hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ. *FEMS Microbiology Letters*, 152(2), 299-306.

Sixième partie

Annexes

Annexe 1

Tableau N°7 : Souches isolées de six (6) membranes d'osmose inverse encrassées.

Matricules	Nom des souches isolées
ROi-1	<i>Escherichia coli</i>
ROi-2	<i>Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae</i>
ROi-3	<i>Raoultella terrigena</i>
ROi-4	<i>Escherichia coli</i>
ROi-5	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
ROi-6	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
ROi-7	<i>Klebsiella oxytoca</i>
ROi-8	<i>Klebsiella oxytoca</i>
ROi-9	<i>Enterobacter amnigenus</i>
ROi-10	<i>Escherichia coli</i>
ROi-11	<i>Escherichia coli</i>
ROi-12	<i>Escherichia coli</i>
ROi-13	<i>Escherichia coli</i>
ROi-14	<i>Escherichia coli</i>
ROi-15	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
ROi-16	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
ROi-17	<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>
ROi-18	<i>Micrococcus spp</i>
ROi-19	<i>Micrococcus spp</i>
ROi-20	<i>Micrococcus spp</i>
ROi-21	<i>Klebsiella oxytoca</i>
ROi-22	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
ROi-23	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
ROi-24	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
ROi-25	<i>Micrococcus spp</i>
ROi-26	<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>
ROi-27	<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>
ROi-28	<i>Staphylococcus xylosus</i>
ROi-29	<i>Staphylococcus xylosus</i>
ROi-30	<i>Staphylococcus xylosus</i>
ROi-31	<i>Klebsiella oxytoca</i>
ROi-32	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
ROi-33	<i>Pseudomonas luteola</i>
ROi-34	<i>Serratia odorifera</i>
ROi-35	<i>Staphylococcus sciuri</i>
ROi-36	<i>Micrococcus spp</i>
ROi-37	<i>Staphylococcus xylosus</i>

Annexe 2**Tableau N°8 : Poids de 50 membranes avant et après leurs encrassements.**

Types de membranes	Poids initial (KG)	Poids final (KG)	Poids du colmatant (KG)
SWC 4+	16,4	16,9	0,5
SWC 4+	16,4	22,6	6,2
SWC 4+	16,4	18,43	2,03
SWC 4+	16,4	21,45	5,05
SWC 4+	16,4	22,1	5,7
SWC 4+	16,4	21,9	5,5
SWC 4+	16,4	20,02	3,62
SWC 4+	16,4	22,32	5,92
SWC 4+	16,4	16,97	0,57
SWC 4+	16,4	16,95	0,55
SWC 4+	16,4	19,65	3,25
SWC 4+	16,4	18,21	1,81
SWC 4+	16,4	19,15	2,75
SWC5	16,4	18,3	1,9
SWC5	16,4	20,78	4,38
SWC5	16,4	17,6	1,2
SWC5	16,4	18,46	2,06
SWC5	16,4	23,69	7,29
SWC5	16,4	19,12	2,72
SWC5	16,4	18,93	2,53
SWC5	16,4	18,52	2,12
SWC5	16,4	19,58	3,18
SWC5	16,4	25,33	8,93
SWC5	16,4	23,4	7
SWC5	16,4	20,13	3,73
SWC5	16,4	23,19	6,79
SWC5-LD	15	16,64	1,64
SWC5-LD	15	19,01	4,01
SWC5-LD	15	21,58	6,58
SWC5-LD	15	21,17	6,17
SWC5-LD	15	19,45	4,45
SWC5-LD	15	21	6
SWC5-LD	15	20,39	5,39
SWC5-LD	15	20,54	5,54
SWC5-LD	15	17,99	2,99
SWC5-LD	15	20,65	5,65
SWC5-LD	15	23,37	8,37
SWC5-LD	15	16,54	1,54
SWC5 Max	16,4	16,75	0,35
SWC5 Max	16,4	16,81	0,41
SWC5 Max	16,4	20,76	4,36

SWC5 Max	16,4	18,57	2,17
SWC5 Max	16,4	17,76	1,36
SWC5 Max	16,4	17,23	0,83
SWC5 Max	16,4	16,75	0,35
SWC5 Max	16,4	18	1,6
SWC5 Max	16,4	19,1	2,7
SWC5 Max	16,4	18,5	2,1
SWC5 Max	16,4	19	2,6
SWC5 Max	16,4	19,4	3

Annexe 3

Tableau N°9 : Qualité de l'eau de mer de la station de dessalement de Souk Tlata.

Paramètres	unité	Minimum	Maximum
Température	° C	18	28
pH	/	7,8	8,2
Total des matières solides dissoutes (TDS)	mg/L	36500	38000
total des matières solides en suspension (TSS)	mg/L	2	8
Chlorure	mg/L	19677	20391
Calcium	mg/L	416	429
Sulfate	mg/L	2710	3400
Strontium	mg/L	9	10
Magnésium	mg/L	1325	1381
Sodium	mg/L	11631	12384
Bicarbonate	mg/L	130	135
Bore	mg/L	4,8	5
Composé organique total	mg/L	0,1	0,5

Annexe 4**Tableau N°10** : Système d'ultrafiltration de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata.

Localisation	Prétraitement
Débit	631100 m ³ /Jour
Pression	3,5 bars
Type	Fibre creuse
Diamètre des pores des membranes	0,015 – 0,020 µm
Surface membranaire (par module)	70 m ²
Dimension du module membranaire	Diamètre : 20,32 cm / Longueur : 203,2 cm
Nombre de module / train	144
Type de rétro-lavage	Air et eau
Nombre de train	40 trains en service, 5 trains en attente

Annexe 5**Tableau N°11** : Système d'osmose inverse de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tlata.

Localisation	Osмосe inverse
Débit / Module	16833 m ³ / Jour
Récupération	45 %
Total des matières solides dissoutes (TDS)	37000 mg / L
Température	18 – 27 °C
Nombre de trains	12 en service, 1 en attente
Nombre de tubes/Train	192
Nombre de modules membranaires/Train	1344
Nombre Totale des modules membranaires	17472
Membrane configuration	Enroulée en spirale
Rejet de sel/Élément	99,8 %
Dimensions	Diamètre : 20,32 cm / Longueur : 101,6 cm
Surface/Élément	37,1612 m ²
Pression	68 bars

Annexe 6**Tableau N°12 :** Conductivité, turbidité, TDS et TSS de l'eau de mer pendant les trois premières années de fonctionnement de la station de dessalement de Souk Tlata.

Date	Conductivité (ms/cm)	TDS (ppm)	TSS (ppm)	Turbidité (NTU)
30/10/2011, 01:15	59,5	41650	80,5	62,10
30/10/2011, 03:00	59,5	41650	58,5	36,40
30/10/2011, 05:45	59,1	41370	56,5	34,50
30/10/2011, 07:30	59,5	41650	43,5	33,00
30/10/2011, 09:00	59,4	41580	114,5	37,80
30/10/2011, 13:00	59,1	41370	34,5	29,1
30/10/2011, 18:00	59,1	41370	43,0	39,3
30/10/2011, 20:30	59,3	41510	30,0	33,2
30/10/2011, 12:00	59,4	41580	39	18
31/10/2011, 04:45	59,4	41580	27,0	13,60
31/10/2011, 07:30	59,7	41790	39,5	32,20
31/10/2011, 10:45	59,6	41720	37,0	38,80
31/10/2011, 12:45	59,4	41580	33,0	34,90
31/10/2011, 15:00	59,5	41650	20,0	22,60
31/10/2011, 17:00	59,4	41580	4,5	10,16
31/10/2011, 19:00	59,0	41300	3,5	8,13
01/11/2011, 05:00	60,2	42140	8,5	9,12
01/11/2011, 08:30	59,5	41650	31,5	7,53
01/11/2011, 11:00	59,8	41860	50,0	16,50
01/11/2011, 14:30	59,4	41580	25,5	19,90
01/11/2011, 18:30	59,6	41720	20,0	18,56
01/11/2011, 20:40	59,8	41860	59,5	59,0
02/11/2011, 01:00	59,0	41300	16,0	19,3
02/11/2011, 05:00	57,8	40460	16,5	7,3
25/11/2011, 09:00	59	41300	5,3	6,63
25/11/2011, 13:00	59,2	41440	14,5	10,12
26/11/2011, 13:00	58,9	41230	6,5	9,50
27/11/2011, 13:00	59,0	41300	36,0	10,68
28/11/2011, 01:00	58,9	41230	11,5	9,91
28/11/2011, 22:00	58,0	40600	57,0	56,00
29/11/2011, 01:00	58,8	41160	61,0	38,70
29/11/2011, 05:00	58,5	40950	67,0	66,20
29/11/2011, 09:00	58,3	40810	31,0	46,80
29/11/2011, 13:00	58,3	40810	17,5	30,70
29/11/2011, 18:00	58,5	40950	14,0	23,2
29/11/2011, 21:00	58,4	40800	3,00	9,91

30/11/2011, 02:00	58,6	41020	8,50	8,61
30/11/2011, 09:00	58,5	40950	6,75	6,22
30/11/2011, 14:00	58,6	41020	6,50	8,61
01/12/2011, 01:00	58,0	40600	8,75	6,51
01/12/2011, 09:00	59,0	41300	18,50	3,62
01/12/2011, 15:00	58,7	41090	8,75	7,37
02/12/2011, 01:00	58,0	40600	3,00	2,36
02/12/2011, 17:00	58,2	40740	16,25	3,63
03/12/2011, 17:00	58,0	40600	13,75	10,01
04/12/2011, 02:00	57,8	40460	16,50	11,65
04/12/2011, 17:00	58,0	40600	33,50	13,40
05/12/2011, 05:00	58,2	40740	6,50	6,15
05/12/2011, 17:00	58,1	40670	4,50	2,59
06/12/2011, 01:00	58,2	40740	5,00	3,20
06/12/2011, 05:00	57,9	40530	2,00	2,54
16/12/2011, 09:00	58,3	40810	10,00	3,45
17/12/2011, 01:00	57,7	40390	27,00	29,60
17/12/2011, 09:00	57,2	40040	33,50	21,90
17/12/2011, 13:00	58,2	40740	28,00	20,00
17/12/2011, 17:00	58,3	40810	29,00	23,60
17/12/2011, 22:30	57,2	40040	33,50	21,90
18/12/2011, 01:00	58,2	40740	28,00	20,00
18/12/2011, 05:00	58,3	40810	29,00	23,60
18/12/2011, 09:00	57,8	40460	89,50	83,20
18/12/2011, 13:00	57,7	40390	31,50	35,10
18/12/2011, 17:00	57,8	40460	25,50	30,00
18/12/2011, 21:00	57,6	40320	25,50	24,20
19/12/2011, 05:00	57,4	40180	14,50	13,54
19/12/2011, 09:00	58,1	40670	9,50	7,55
02/02/2012, 9:00	57,9	40530	4,75	6,12
02/02/2012, 9:00	58,4	40880	7,25	6,22
03/02/2012, 9:00	57,7	40390	4,25	4,68
03/02/2012, 9:00	56,6	39620	41,00	38,80
04/02/2012, 4:00	56,4	39480	17,50	14,55
04/02/2012, 10:00	57,8	40460	35,00	26,70
4/2/2012, 4:00	57,9	40530	17,00	11,49
02/04/2012 21:00	58,2	40740	27,30	7,96
02/05/2012 05:00	57,2	40040	16,20	6,53
02/05/2012 10:00	57,7	40390	17,50	14,61
02/05/2012 16:00	58,0	40600	9,30	6,91
02/05/2012 21:00	57,3	40110	16,50	3,57
02/06/2012 05:00	57,7	40390	51,00	34,30
02/06/2012 15:00	56,7	39690	56,00	62,40
02/06/2012 21:30	57,7	40390	17,00	20,30
02/07/2012 04:30	57,6	40320	7,50	8,130
02/07/2012 11:00	57,4	40180	31,00	11,23
14/01/2013, 09:00	55,2	38640	8,00	9,42

14/01/2013, 11:00	55,0	38500	8,00	7,14
19/01/2013, 15:00	54,1	37870	79,00	63,10
21/01/2013, 11:30	54,1	37870	78,00	60,60
23/01/2013, 17:30	54,7	38290	31,00	31,40
24/01/2013, 10:20	54,9	38430	28,00	22,00
25/01/2013, 13:00	54,4	38080	17,00	11,89
26/01/2013, 07:50	54,2	37940	38,00	32,40
27/01/2013, 12:30	55,1	38570	16,00	12,65
28/01/2013, 09:00	55,1	38570	11,00	10,20
25/04/2013, 09:00	53,7	37590	24,00	18,41
25/04/2013, 17:00	53,6	37520	38,00	32,40
25/04/2013, 21:00	53,7	37590	26,00	27,90
26/04/2013, 05:00	53,4	37380	17,00	18,71
26/04/2013, 09:00	53,4	37380	8,00	8,11
23/05/2013, 12:30	52,2	36540	10,00	8,46
13/09/2013, 09:00	51,8	36260	39,00	30,20
14/09/2013, 13:00	52,2	36540	14,00	10,90
14/09/2013, 22:00	52,4	36680	10,00	9,69
15/09/2013, 09:00	52,5	36750	19,00	15,96
16/09/2013, 21:00	52,9	37030	31,00	35,40
17/09/2013, 09:00	55,5	38850	17,00	15,42
18/09/2013, 09:00	52,5	36750	13,00	10,60
08/10/2013, 09:00	52,4	38776	4,00	3,09
08/10/2013, 21:00	52,1	38554	17,00	17,51
09/10/2013, 01:00	52,1	38554	14,00	10,32
09/10/2013, 05:00	52,4	38776	16,00	12,91
09/10/2013, 09:00	52,4	38776	28,00	25,70
09/10/2013, 21:30	52	38480	10,00	8,38
10/10/2013, 05:00	52,3	38702	13,00	10,19
10/10/2013, 09:00	52,5	38850	21,00	15,16
11/10/2013, 09:00	52,3	38702	6,00	3,94
11/10/2013, 21:00	51,8	38332	4,00	4,22
30/10/2013, 20:00	50,4	37296	18,00	11,83
30/10/2013, 21:00	50,7	37518	12,00	16,1
31/10/2013, 01:00	50,7	37518	14,00	154
31/10/2013, 05:00	50,7	37518	16,00	13,57
31/10/2013, 09:00	51,0	37740	22,00	16,99
01/11/2013, 09:00	51,0	37740	9,00	8,36
02/11/2013, 09:00	50,8	37592	8,00	7,26
03/11/2013, 09:00	50,8	37592	10,00	4,36
04/11/2013, 21:00	50,8	37592	18,00	17,51
05/11/2013, 05:00	50,8	37592	31,00	31,10
05/11/2013, 17:00	50,7	37518	21,00	20,80