

# Quantification des apports de coliformes en Seine par les rejets de stations d'épuration

Isabelle George, Philippe Crop et Pierre Servais (Ecologie des Systèmes Aquatiques, Université Libre de Bruxelles, Belgique)

## 1. Introduction

Les coliformes fécaux constituent l'un des principaux groupes de bactéries indicatrices de contamination fécale des eaux naturelles destinées à la baignade ou à la production d'eau potable. Les méthodes de routine utilisées pour les dénombrer (détermination du nombre le plus probable après incubation en milieu liquide ou solide, incubation sur milieu gélosé après filtration sur membrane) passent toutes par une mise en culture des échantillons, qui nécessite au minimum 18 heures et ne permet pas de détection immédiate des pollutions fécales.

Par conséquent, des méthodes alternatives d'énumération des bactéries fécales sont de plus en plus recherchées à l'heure actuelle. L'une d'entre elles a été développée dans le cadre des programmes scientifiques PIREN-Seine et Seine Aval en 1997 et 1998 (George *et al.*, 1999; George *et al.*, 2000). Elle est basée sur la présence d'une enzyme spécifique (la  $\beta$ -D-glucuronidase) du coliforme fécal le plus abondant, *Escherichia coli*. Le principe de cette méthode est le suivant: après filtration d'un échantillon naturel sur une membrane de porosité 0.2  $\mu$ m et remise en suspension de cette membrane dans un tampon phosphate, un substrat fluorogène de la  $\beta$ -D-glucuronidase (le 4-méthylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide) est ajouté aux bactéries de l'échantillon qui ont été retenues sur la membrane. La fluorescence résultant de l'hydrolyse du substrat par la  $\beta$ -D-glucuronidase des *E.coli* est mesurée au cours du temps. Cette vitesse de production du produit fluorescent (le méthylumbellifère) est proportionnelle à la quantité d'enzyme présent dans l'échantillon et donc au nombre d' *E.coli* si la quantité d'enzymes par cellule d'*E.coli* est constante (George *et al.*, 2000).

En 1997 et 1998, cette méthode avait été comparée à une méthode classique de dénombrement des coliformes fécaux cultivables (CF) sur milieu gélosé spécifique (gélose lactosée au Tergitol et TTC (AFNOR 1994) – incubation 24 h à 44°C) sur des eaux de surface très diversément contaminées en coliformes, la gamme échantillonnée allant de petits ruisseaux forestiers à des rivières réceptrices de rejets urbains parfois non traités. Une bonne corrélation avait été obtenue entre les deux méthodes. La méthode enzymatique avait été appliquée aux eaux du bassin de la Seine lors de plusieurs campagnes déchantillonnage, en parallèle aux méthodes classiques de dénombrement sur milieu gélosé. Ces campagnes ont permis de mettre en évidence l'apport majeur de coliformes par les STEP aux eaux du bassin (George *et al.*, 1999).

Notre travail dans le cadre du programme PIREN-Seine en 1999 a consisté à étudier l'applicabilité de la méthode enzymatique à l'étude des effluents de stations d'épuration (STEP). Celle-ci a été réalisée sur plusieurs stations du bassin de la Seine de taille moyenne à importante (Troyes, Rouen, Seine Amont, Marne Aval, Seine Aval) dans le but de quantifier les apports de coliformes fécaux à la Seine par les rejets des STEP. A terme, les valeurs trouvées serviront de données d'entrée d'un module décrivant le devenir des coliformes en Seine (module "bactéries fécales" couplé au modèle SENEQUE).

## 2. Application de la méthode enzymatique aux effluents de diverses stations d'épuration du bassin de la Seine

Les cinq stations d'épuration du bassin de la Seine qui ont été échantillonnées pendant l'année 1999 sont classées par ordre croissant de capacité nominale dans le Tableau 1.

**Tableau 1.** *Caractéristiques générales des stations d'épuration du bassin de la Seine échantillonnées en 1999 (BA= boues activées, NIT= processus de nitrification, DENIT= processus de dénitrification)*

|             | Capacité nominale (en équivalents-habitants) | Débit nominal (m <sup>3</sup> /j) | Type de traitement   | Date d'échantillonnage  |
|-------------|--|-----------------------------------|----------------------|-------------------------|
| Marne Aval  | 1.1*10 <sup>5</sup>                          | 28000                             | BA + NIT             | 09/04/99                |
| Troyes      | 3*10 <sup>5</sup>                            | 46000                             | BA + NIT             | 26/05/99                |
| Rouen       | 4.5*10 <sup>5</sup>                          | 70000                             | BA<br>+ NIT + DENIT  | 02/04/99                |
| Seine Amont | 1.2*10 <sup>6</sup>                          | 300000                            | BA<br>+ NIT + DENIT  | 09/04/99                |
| Seine Aval  | 8*10 <sup>6</sup>                            | 2100000<br>+ 30000 (pilote)       | BA<br>+ NIT (pilote) | 18/05/99 et<br>16/12/99 |

Il est important de préciser que les STEP ont pour rôle principal d'éliminer la pollution carbonée et les matières en suspension, ainsi que la pollution par l'ammoniacale et parfois les nitrates pour celles équipées de traitement tertiaire. De manière générale, la réduction de la pollution bactérienne dans les effluents urbains reste en Europe un objectif marginal, peu concrétisé par des traitements spécifiques. Pourtant, les effluents urbains sont particulièrement riches en germes fécaux (environ 10<sup>7</sup> à 10<sup>9</sup> coliformes totaux/100 ml, 10<sup>6</sup> à 10<sup>7</sup> streptocoques fécaux/100 ml, 10<sup>6</sup> à 10<sup>8</sup> coliformes fécaux ou *E.coli*/100 ml (Audic, 1990)) et contiennent des quantités non négligeables des germes pathogènes (par ex. 1 à 10<sup>2</sup>-10<sup>4</sup> salmonelles/100 ml (Dupray *et al.*, 1990; Audic, 1990)). Le groupe des coliformes fécaux qui a été étudié dans ce travail représente environ 0.1% de l'abondance bactérienne totale des effluents bruts (Dupray *et al.*, 1990).

### 2.1. Applicabilité de la méthode enzymatique et des dénombrements sur milieu gélosé spécifique aux effluents urbains

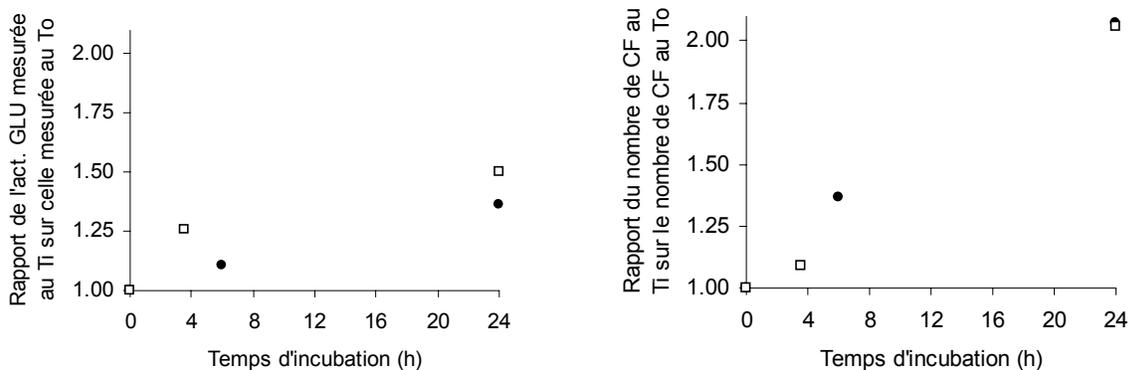
Dans un premier temps, nous avons vérifié que la méthode enzymatique était bien applicable telle quelle aux eaux usées, particulièrement riches en matières en suspension qui peuvent gêner la lecture de fluorescence. Des mesures d'activité  $\beta$ -D-glucuronidase (activité GLU) ont été réalisées suivant le protocole décrit dans le précédent rapport (George *et al.*, 1999), en parallèle avec le même protocole additionné d'une étape visant à retenir une partie des matières en suspension avant la lecture de fluorescence (le volume d'incubation prélevé à intervalle régulier est filtré sur une membrane en polycarbonate de porosité 10  $\mu$ m avant d'être versé dans la cuvette de lecture du fluorimètre). Le gain de fluorescence résultant de cette étape supplémentaire s'est avéré négligeable (en moyenne 9% par rapport au protocole standard, sur 13 eaux usées différentes), c'est pourquoi le protocole défini précédemment a été appliqué aux eaux usées sans modification.

Par ailleurs, une modification du protocole de dénombrement des coliformes fécaux cultivables (CF), consistant à soniquer les échantillons dans un bain à ultrasons avant la filtration des différentes

dilutions sur membrane, a considérablement modifié les résultats. Au temps de sonication optimal (45 sec) (Crop, 1999), cette étape de décrochage des bactéries des matières en suspension a permis, en moyenne, de doubler le nombre d'Unités Formant Colonie sur les 20 eaux usées testées. Par conséquent, les dénombrements de CF dans les eaux usées qui sont présentés dans ce rapport correspondent à des échantillons soniqués.

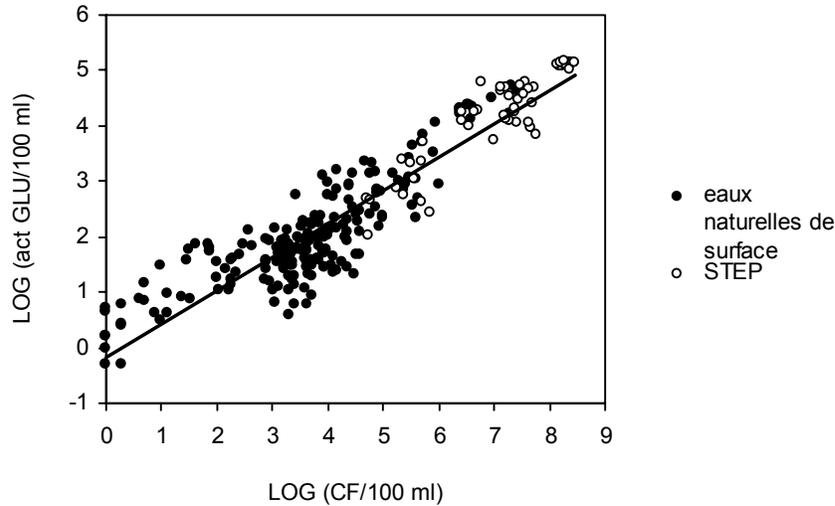
Enfin, tous les échantillonnages en STEP ont été réalisés par temps sec, par des échantillonneurs automatiques réfrigérés prélevant à intervalle régulier pendant 24 heures, l'échantillon analysé résultant du mélange de ces prélèvements. L'analyse d'échantillons moyennés sur 24 heures et non d'échantillons ponctuels se justifie par le fait que la caractérisation des effluents urbains se fait habituellement en termes d'apports journaliers car les débits d'eaux usées domestiques entrant en STEP et leur composition physico-chimique et bactériologique peuvent varier fortement au cours de la journée. L'existence d'un cycle journalier de variations du degré de contamination fécale des effluents bruts, avec un maximum en milieu de matinée, a été précédemment mentionnée dans la littérature (Dupray *et al.*, 1990).

Il est alors logique de se demander si l'échantillon global que l'on analyse est bien le résultat de la simple addition des prélèvements au cours des 24 heures ou si ceux-ci évoluent entre le moment de prélèvement et celui de l'analyse. Pour répondre à cette question, l'activité GLU et l'abondance en CF ont été mesurés au cours du temps dans plusieurs échantillons d'eaux usées réfrigérés. De manière générale, un doublement du nombre de CF et une augmentation de 50 % de l'activité enzymatique ont été observés après 24 heures (Fig.1). Nous avons considéré sur cette croissance était linéaire et, dans le but de simplifier les calculs, nous avons supposé et que l'échantillon évoluait dans sa globalité pendant 12 heures. Un facteur de correction tenant compte de cette évolution a alors été systématiquement appliqué à toutes les mesures d'activité GLU et aux comptages sur milieu gélosé réalisés sur des eaux de STEP. Les valeurs présentées dans ce rapport tiennent également compte de cette deuxième correction.



**Figure 1.** Evolution, pendant 24 heures, du rapport de l'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) ou du nombre de coliformes fécaux cultivables (CF) mesuré(e) au temps  $i$  ( $T_i$ ) sur celle/celui mesuré(e) au temps initial ( $T_0$ ). L'expérience a été répétée sur 2 eaux usées brutes réfrigérées (● et □).

Sur la Figure 2 sont repris les dénombrements de CF et les mesures d'activité GLU réalisés sur les eaux brutes et partiellement ou totalement traitées des cinq STEP échantillonnées dans le bassin de la Seine, ainsi que de plusieurs STEP hors du bassin. Les valeurs trouvées sont tout-à-fait en accord avec la corrélation précédemment trouvée entre ces deux méthodes d'analyse sur les eaux douces naturelles. On peut donc considérer que dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus, la méthode de mesure de l'activité enzymatique est applicable à l'étude de la contamination fécale des eaux usées.

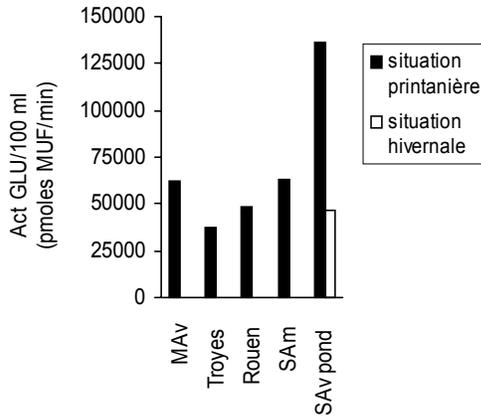


**Figure 2.** Relation entre l'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act GLU) et le nombre de coliformes fécaux cultivables (CF) dans des échantillons d'eaux naturelles et dans les rejets urbains bruts et partiellement ou totalement traités de STEP.  $LOG (act.GLU/100 ml) = 0.60 * LOG (CF/100 ml) - 0.16$  ( $r^2 = 0.86$ ,  $n = 253$ ) (régression linéaire sur l'ensemble des valeurs)

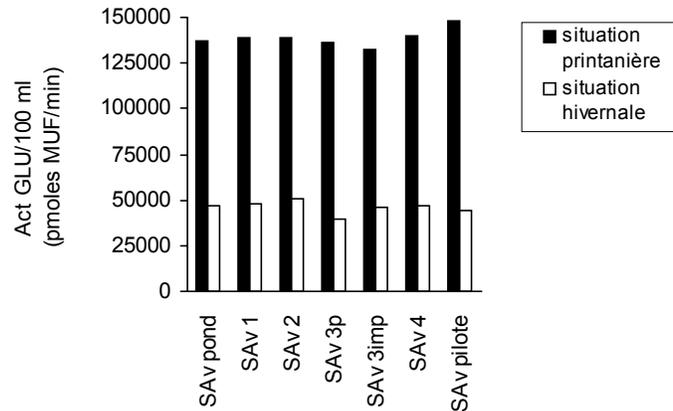
## 2.2. Caractérisation des effluents bruts des STEP du bassin de la Seine

Les campagnes de mesures précitées ont été effectuées au printemps 1999 à l'exception d'une campagne sur la STEP Seine Aval réalisée en décembre 1999. Les mesures d'activités GLU et les dénombrements de CF dans les eaux brutes en entrée de STEP sont présentés respectivement dans les Figures 3 et 5. Sur ces deux figures, les STEP sont classées par ordre croissant de capacité nominale. Dans les Figures 4 et 6, sont détaillés les résultats obtenus sur les différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAv). L'échantillon "SAv pond" résulte d'une pondération en fonction des débits respectifs des cinq tranches "classiques" (boues activées) et de la tranche comprenant les biofiltres de nitrification ("SAv pilote"). Les filières de traitement des 5 STEP sont schématisées en détail à la Figure 13.

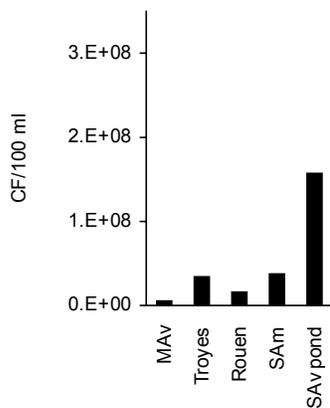
En entrée des cinq stations, l'abondance en coliformes varie en fonction de la STEP échantillonnée. En situation printanière, les effluents bruts de la STEP Seine Aval sont nettement plus contaminés en coliformes fécaux que ceux des autres STEP (Fig. 3 et 5 et Tableau 2). Il est possible que la charge microbologique des effluents soit ainsi fonction de la taille de la station d'épuration, donc de la taille du réseau d'assainissement. Une croissance des bactéries fécales dans les réseaux de collecte pourrait expliquer les variations d'abondance en germes indicateurs observées dans les effluents bruts de STEP (Miescher et Cabelli 1982). Elle serait d'autant plus importante que le réseau d'assainissement est grand et donc le temps de séjour moyen des masses d'eaux usées y transitant est grand. Cependant, les activités enzymatiques mesurées en situation hivernale en entrée de Seine Aval étaient environ trois fois moins importantes qu'au printemps et du même ordre de grandeur que celles mesurées au printemps sur les autres STEP. D'autres campagnes seront donc nécessaires afin de déterminer s'il existe une variation saisonnière de la charge en coliformes des effluents bruts ou si les valeurs mesurées en entrée de Seine Aval au printemps 1999 étaient exceptionnellement élevées. En entrée des différentes tranches de traitement de la STEP Seine Aval, l'act. GLU était très constante, bien qu'on puisse observer des variations de concentrations en CF au printemps 1999.



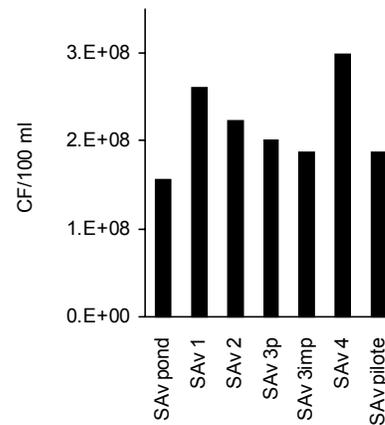
**Figure 3.** *Activité  $\beta$ -D-glucuronidasiq (act GLU) dans les effluents bruts des 5 STEP échantillonnées. MAV = Marne Aval, SAm= Seine Amont, SAV pond= Seine Aval pondéré.*



**Figure 4.** *Activité  $\beta$ -D-glucuronidasiq (act GLU) dans les effluents bruts des différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAV).*



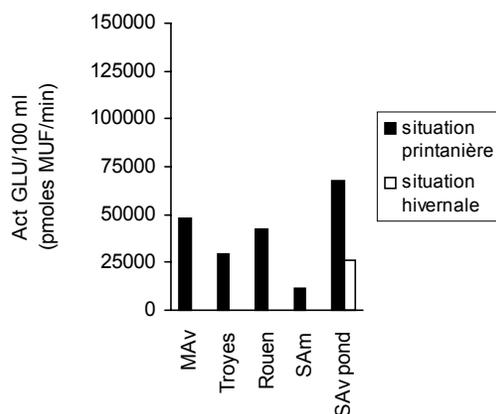
**Figure 5.** *Coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents bruts des 5 STEP échantillonnées au printemps 1999. MAV = Marne Aval, SAm= Seine Amont, SAV pond= Seine Aval pondéré.*



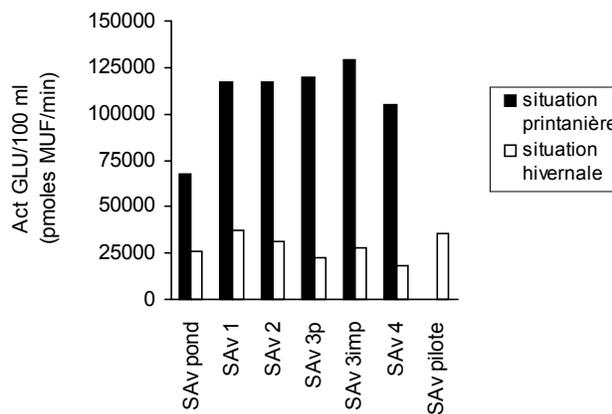
**Figure 6.** *Coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents bruts des différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAV) au printemps 1999.*

### 2.3. Caractérisation des effluents de première décantation

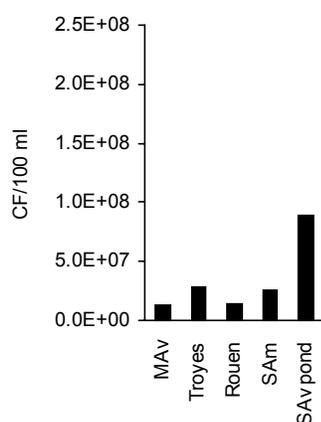
Les mesures d'activité GLU et les dénombrements de CF dans les effluents de décantation primaire des 5 STEP échantillonnées sont présentés respectivement dans les Figures 7 et 9. Dans les Figures 8 et 10, sont détaillés les résultats obtenus sur les différentes tranches de la STEP Seine Aval.



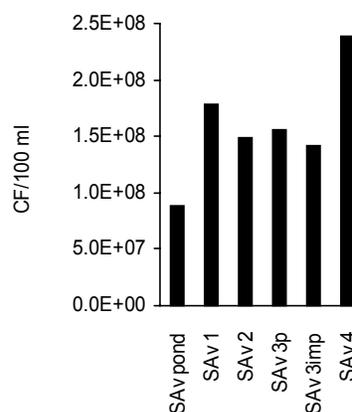
**Figure 7.** Activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) dans les effluents de première décantation des 5 STEP échantillonnées. MAV = Marne Aval, SAm= Seine Amont, SAV pond= Seine Aval pondéré.



**Figure 8.** Activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) dans les effluents de première décantation des différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAv).



**Figure 9.** Coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents de première décantation des 5 STEP échantillonnées au printemps 1999. MAV = Marne Aval, SAm= Seine Amont, SAV pond= Seine Aval pondéré.



**Figure 10.** Coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents de première décantation des différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAv) au printemps 1999.

De manière générale, la décantation est peu efficace pour assurer l'élimination de la pollution microbiologique d'origine fécale (Tableau 2). A une exception près, les taux d'abattement mesurés varient entre 13 et 55%, ce qui est tout-à-fait en accord avec les valeurs citées dans la littérature: 20 à 50% (Dupray et al., 1990) et 10 à 60% (Audic, 1990, Omura *et al.*, 1989). Ces taux sont fonction de l'efficacité des décanteurs à piéger les particules, donc très dépendants de la géométrie de l'ouvrage, de la vitesse de décantation, du temps de séjour des masses d'eaux usées et dépendent également de la qualité de l'eau brute (bactéries libres ou fixées aux particules etc.) (Audic, 1990).

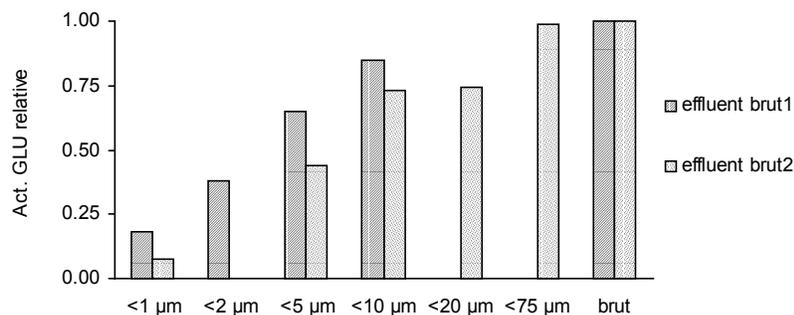
**Tableau 2.** Effet de la décantation primaire sur l'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) et sur l'abondance en coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents des 5 STEP échantillonnées (MAv= Marne Aval, SAm= Seine Amont, SAV= Seine Aval).

|                |            | act. GLU/100 ml | CF/100ml  |
|----------------|------------|-----------------|-----------|
| Printemps 1999 | MAv entrée | 62139           | 5.89E+06  |
|                | MAv déc    | 47895*          | 1.34E+07* |

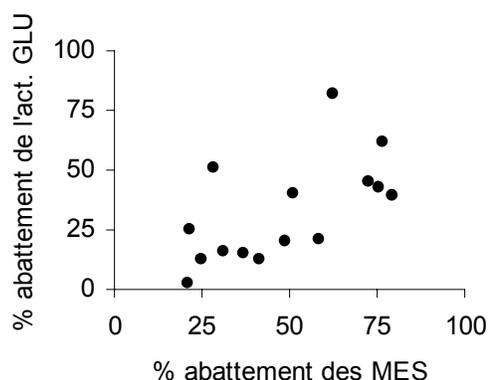
|            |   |            |           |
|------------|---|------------|-----------|
|            | <b><i>Abattement par la décantation (%)</i></b> | <b>23*</b> | <b>/*</b> |
|            | Troyes entrée                                   | 37109      | 3.43E+07  |
|            | Troyes déc                                      | 29664      | 2.83E+07  |
|            | <b><i>Abattement par la décantation(%)</i></b>  | <b>20</b>  | <b>17</b> |
|            | Rouen entrée                                    | 48169      | 1.65E+07  |
|            | Rouen déc                                       | 42069      | 1.35E+07  |
|            | <b><i>Abattement par la décantation (%)</i></b> | <b>13</b>  | <b>18</b> |
|            | SAM entrée                                      | 62906      | 3.80E+07  |
|            | SAM déc   | 11665      | 2.61E+07  |
|            | <b><i>Abattement par la décantation (%)</i></b> | <b>81</b>  | <b>31</b> |
|            | SAv pond entrée                                 | 136727     | 1.57E+08  |
|            | SAv pond déc                                    | 67791      | 8.89E+07  |
|            | <b><i>Abattement par la décantation (%)</i></b> | <b>50</b>  | <b>43</b> |
| Hiver 1999 | SAv pond entrée                                 | 47075      |           |
|            | SAv pond déc                                    | 25895      |           |
|            | <b><i>Abattement par la décantation (%)</i></b> | <b>55</b>  |           |
|            | SAv pilote entrée                               | 44213      |           |
|            | SAv pilote déc                                  | 35514      |           |
|            | <b><i>Abattement par la décantation (%)</i></b> | <b>20</b>  |           |

\*Pendant l'échantillonnage de la STEP Marne Aval, les décanteurs primaires ont été remis en fonctionnement après un arrêt technique. L'importante remise en suspension de la matière décantée résultant de cette opération ne permet pas de calculer une efficacité d'abattement des coliformes fécaux par la décantation qui soit représentative de cette STEP.

L'élimination des germes indicateurs par la décantation primaire résulte essentiellement de l'attachement d'une importante fraction des coliformes aux matières en suspension (MES) dans les effluents bruts. Deux expériences de filtration d'un effluent brut sur des membranes en polycarbonate de porosité de 1 à 75  $\mu\text{m}$  ont montré que 35 à 55% de l'activité  $\beta$ -D-glucuronidase était présente dans la fraction de l'échantillon retenue sur une porosité 5  $\mu\text{m}$ , cette porosité étant considérée comme la limite entre les bactéries libres et celles agrégées ou attachées aux MES (Fig.11). Sur les cinq STEP échantillonnées, on peut d'ailleurs constater que l'abattement de l'activité GLU par la décantation primaire est d'autant plus important que l'élimination des MES est efficace (Fig. 12).



**Figure 11.** Fraction d'activité  $\beta$ -D-glucuronidase (act. GLU) présente dans le filtrat d'effluents bruts filtrés sur des membranes de porosité variable, par rapport à l'effluent brut non filtré.

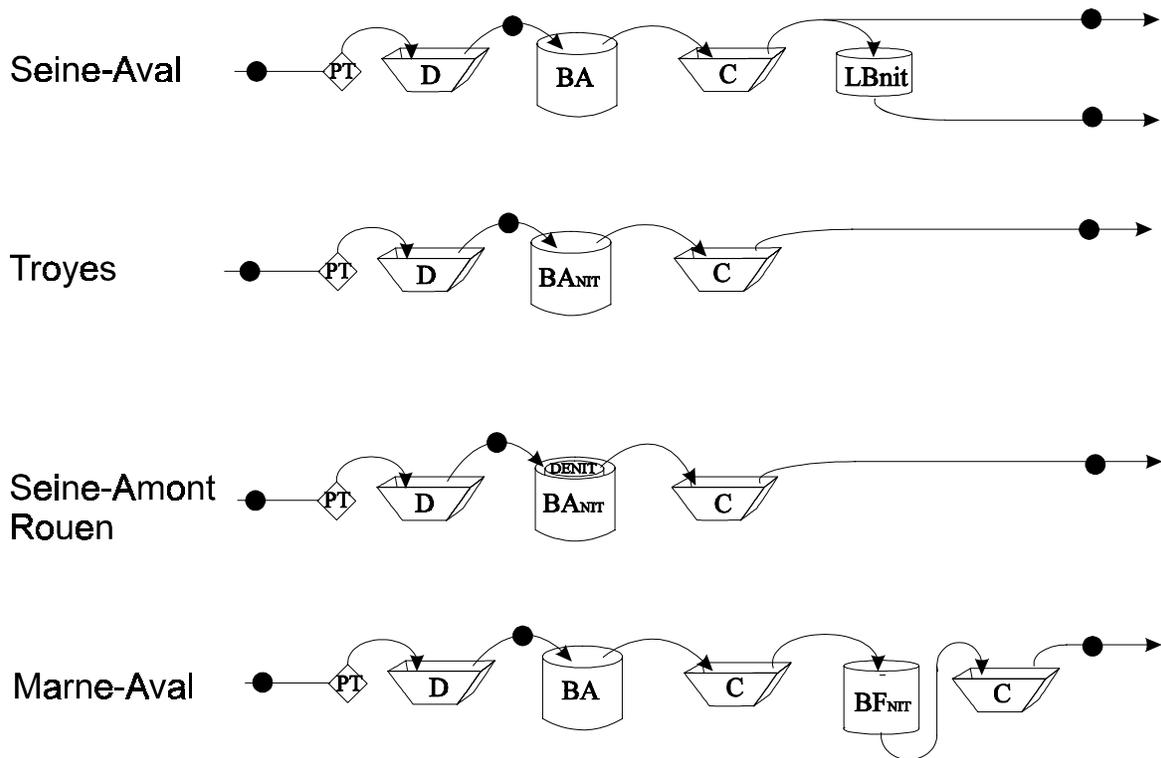


**Figure 12.** Abattement de l'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act.GLU) lors de la décantation primaire des cinq STEP échantillonnées, en fonction de l'abattement des matières en suspension (MES).

#### 2.4. Abattement de la charge en coliformes par le traitement biologique

Les cinq stations d'épuration échantillonnées présentent des modes d'épuration biologique (traitement secondaire éventuellement combiné à un traitement tertiaire) très différents. La filière de traitement complète de chacune des STEP est présentée à la Figure 13. Les taux d'abattement des coliformes fécaux entre la décantation primaire et la sortie des effluents en rivière sont repris dans le Tableau 3.

L'épuration biologique est le traitement qui assure l'essentiel de l'élimination des bactéries indicatrices de contamination fécale (Tableau 3). Les taux d'abattement mesurés concordent avec les valeurs trouvées dans la littérature qui montrent que les procédés biologiques permettent de réduire l'abondance en coliformes de 1 à 2  $\log_{10}$  suivant le type de filière (Audic 1990): 90% pour les boues activées classiques (Omura 1989, Dupray et al. 1990), 99% pour les boues activées en aération prolongée et pour les réacteurs à culture fixée (Audic 1990). La sophistication des filières, dans le but de réduire la pollution azotée, a comme conséquence indirecte d'améliorer l'abattement de la pollution microbienne. En effet, le temps de séjour des masses d'eaux usées est plus important dans les réacteurs assurant aussi le traitement tertiaire de nitrification et/ou dénitrification (Tableau 3). La biofiltration (par ex. le procédé BIOFOR) s'avère également un procédé efficace d'élimination des bactéries fécales (Tableau 3).



**Figure 13.** Schématisation des filières de traitement des cinq STEP du bassin de la Seine échantillonnées en 1999. Les emplacements des prélèvements sont représentés par un cercle. PT= prétraitement, D= décantation primaire, BA= boues activées, BANIT= boues activées à temps de séjour prolongé (nitrification), DENIT= dénitrification en zone anoxique, C= clarification (décantation secondaire), LB<sub>NIT</sub>= lit bactérien de nitrification, BF<sub>NIT</sub>= biomasse fixée sur lamelles (nitrification). La STEP Seine Aval est composée de 6 tranches indépendantes. Le traitement biologique est assuré par des réacteurs à boues activées dans 5 des tranches. Dans la sixième, l'épuration biologique est réalisée par un réacteur combiné (boues activées et clarification dans le même ouvrage) suivi, pour une partie de l'eau épurée, d'un biofiltre BIOSYR ou BIOFOR (LB<sub>NIT</sub>).

**Tableau 3.** Effet des traitements secondaire et tertiaire sur l'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) et sur l'abondance en coliformes fécaux cultivables (CF) et dans les effluents des 5 STEP échantillonnées (MAv= Marne Aval, SAm= Seine Amont, SAv= Seine Aval) au printemps et en décembre 1999. Les STEP sont présentées par ordre croissant de complexité de la filière de traitement biologique. BA= boues activées aérées; BA-NIT= boues activées à temps de séjour prolongé (nitrification); F-NIT= réacteurs à biomasse fixée (nitrification); DENIT = dénitrification en zone anoxique.

|             | Type de traitement biologique                      | act. GLU /100 ml | 2.4.1.1 CF/100ml |
|-------------|--|------------------|------------------|
| Print. 1999 | Sav pond déc                                       | 67791            | 8.89E+07         |
|             | Sav pond sortie                                    | 11607            | 4.17E+07         |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>83</b>        | <b>53</b>        |
| Déc. 1999   | Sav pond déc                                       | 25895            |                  |
|             | Sav pond sortie                                    | 4667             |                  |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>82</b>        |                  |
| Print. 1999 | MAv déc  | 47895*           | 1.34E+07*        |
|             | MAv sortie   | 5161*            | 5.22E+05*        |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>89*</b>       | <b>96*</b>       |
| Print. 1999 | Troyes déc   | 29664            | 2.83E+07         |
|             | Troyes sortie                                      | 2207             | 4.77E+05         |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>93</b>        | <b>98</b>        |
| Déc. 1999   | Sav pilote déc                                     | 35514            |                  |
|             | Sav sortie BIOFOR                                  | 1209             |                  |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>97</b>        |                  |
| Print. 1999 | Rouen déc  | 42069            | 1.35E+07         |
|             | Rouen sortie                                       | 495              | 5.09E+04         |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>99</b>        | <b>100</b>       |
| Print. 1999 | SAm déc  | 11665            | 2.61E+07         |
|             | SAm sortie   | 459              | 5.96E+04         |
|             | <b>Abattement par le traitement biologique (%)</b> | <b>96</b>        | <b>100</b>       |

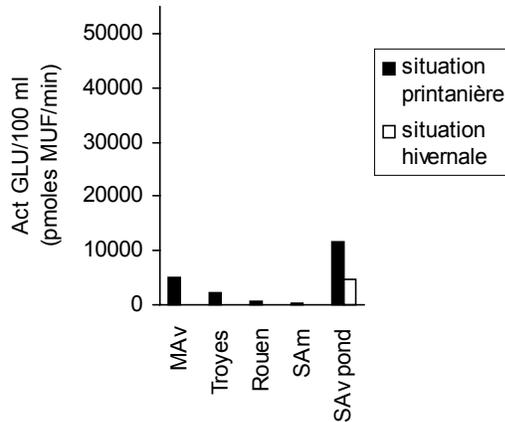
\*Ces valeurs sont à considérer avec prudence en raison d'un problème de fonctionnement des décanteurs primaires au moment de l'échantillonnage.

## 2.5. Caractérisation des eaux traitées

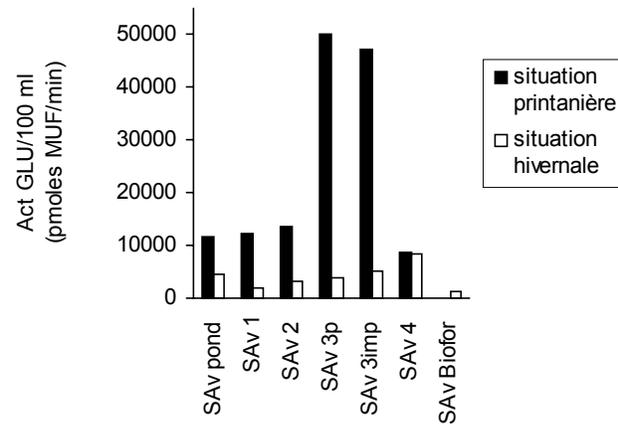
Les mesures d'activités GLU et les dénombrements de CF dans les effluents traités des 5 STEP échantillonnées sont présentés respectivement dans les Figures 14 et 16. Les Figures 15 et 17 présentent en détail les résultats obtenus sur les différentes tranches de la STEP Seine Aval.

En sortie de STEP, les effluents contiennent des quantités très variables de germes indicateurs (Tableau 3 et Fig. 14-17), qui sont fonction de la charge en microorganismes des effluents bruts entrant dans la station et de l'efficacité de la filière de traitement à abattre la pollution microbienne. Au sein de la station Seine Aval, la qualité bactériologique des effluents de sortie est très variable d'une tranche à l'autre:

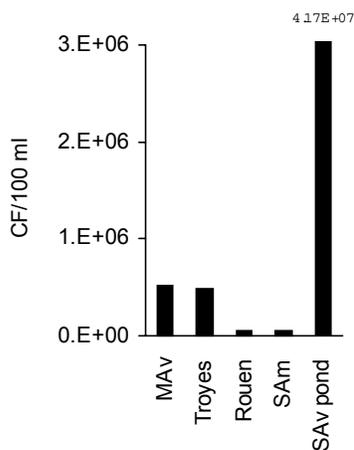
les tranches 3 paire et 3 impaire semblent moins efficaces que les trois autres tranches à boues activées pour éliminer les coliformes fécaux, alors que le pilote de nitrification BIOFOR a visiblement un effet bénéfique sur la qualité microbiologique des effluents qu'il épure (Fig. 15).



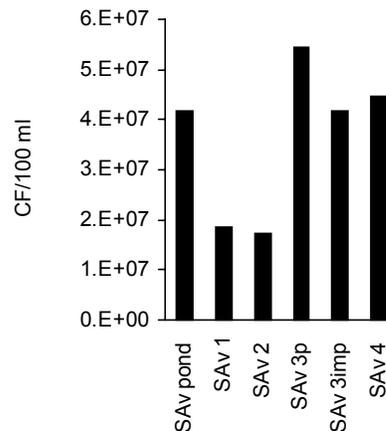
**Figure 14.** Activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) dans les effluents traités des 5 STEP échantillonnées. MAV = Marne Aval, SAm = Seine Amont, SAV pond = Seine Aval pondéré.



**Figure 15.** Activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (act. GLU) dans les effluents traités des différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAV).



**Figure 16.** Coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents traités des 5 STEP échantillonnées au printemps 1999. MAV = Marne Aval, SAm = Seine Amont, SAV pond = Seine Aval pondéré.



**Figure 17.** Coliformes fécaux cultivables (CF) dans les effluents traités des différentes tranches de la STEP Seine Aval (SAV) au printemps 1999.

En résumé, le traitement des eaux usées en STEP réduit globalement de 1 à 3  $\log_{10}$  les concentrations de coliformes fécaux dans les effluents (une exception: l'abattement total des CF mesuré sur la STEP Seine Aval au printemps 1999 ne valait que 73%). Classiquement, l'épuration est jugée satisfaisante quand l'abattement égale ou excède 1  $\log_{10}$  (Dupray et al., 1990). Cependant, les germes indicateurs sont tellement concentrés dans les effluents bruts que même après une réduction de leur abondance de plusieurs ordres de grandeur, les effluents de sortie présentent une qualité bactériologique médiocre (sur les 5 STEP échantillonnées:  $5 \cdot 10^4$  à  $4 \cdot 10^7$  CF/100 ml). L'impact de ces rejets, dans lesquels 25 à 30% des coliformes fécaux sont associés à des particules ou à des amas supérieurs à 3  $\mu\text{m}$

(Dupray et al., 1990), est souvent très marqué sur la qualité du milieu récepteur. A titre de comparaison, les abondances en CF mesurées dans la Seine en 1997 et 1998 ne dépassaient pas  $3 \cdot 10^3$  CF/100 ml en amont des rejets de la STEP Seine Amont et  $3 \cdot 10^4$  CF/100 ml en amont des rejets de la STEP Seine Aval.

Enfin, dans le but de modéliser par la suite la dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine, nous avons calculé des "équivalents-habitants coliformes" (EH-colis) dans les eaux traitées des 5 STEP échantillonnées, qui correspondent au nombre de coliformes fécaux cultivables (EH-colis<sub>CF</sub>) ou à la quantité d'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique (EH-colis<sub>act.GLU</sub>) rejeté(e) par habitant et par jour dans la Seine *via* les eaux usées traitées des STEP. Les EH-colis ont été calculés de la manière suivante:

$$DBO_{\text{brut}} * Q / 54 = EH$$

$$Act.GLU_{\text{traité}} * 10000 * Q / EH = EH\text{-colis}_{act.GLU}$$

$$CF_{\text{traité}} * 10000 * Q / EH = EH\text{-colis}_{CF}$$

- Où
- DBO<sub>brut</sub> = demande biologique en oxygène de l'effluent brut moyenné sur 24h (mg O<sub>2</sub>/l)
  - Q = débit d'eaux usées moyenné sur 24 heures (m<sup>3</sup>/j)
  - 54 = valeur classique de DBO rejetée par habitant et par jour dans les rejets domestiques bruts (en g DBO/hab/j) (OMS, 1982)
  - EH = nombre moyen d'habitants raccordés au réseau d'assainissement pendant les 24 h d'échantillonnage
  - act.GLU<sub>traité</sub> = activité  $\beta$ -D-glucuronidasique mesurée dans 100 ml d'effluent traité moyenné sur 24h (pmoles MUF/min/100 ml)
  - CF<sub>traité</sub> = nombre de coliformes fécaux cultivables dénombrés dans 100 ml d'effluent traité moyenné sur 24h (nombre/100 ml)
  - EH-colis<sub>act.GLU</sub> = activité  $\beta$ -D-glucuronidasique rejetée par habitant et par jour par l'effluent traité ((pmoles MUF/min)/hab/j)
  - EH-colis<sub>CF</sub> = nombre de coliformes fécaux cultivables rejetés par habitant et par jour par l'effluent traité (nombre/hab/j)

En première approximation, pour connaître l'apport ponctuel journalier de coliformes à une rivière via les effluents d'une STEP, il suffit de multiplier la valeur d'EH-colis reprise au tableau 4 pour le type de traitement appliqué dans la STEP considérée, par le nombre d'équivalents-habitants traités par celle-ci.

**Tableau 4.** *Quantité d'activité  $\beta$ -D-glucuronidasique et nombre de coliformes fécaux cultivables rejetés par habitant et par jour (EH-colis<sub>act.GLU</sub> et EH-colis<sub>CF</sub> respectivement) en rivière par l'intermédiaire des effluents traités des 5 STEP échantillonnées. Les STEP sont classées par ordre croissant de complexité de la filière de traitement. BA= boues activées, NIT= nitrification, DENIT= dénitrification.*

| Type de traitement biologique | STEP échantillonnée               | EH-colis <sub>act.GLU</sub><br>(pmoles MUF/min/hab/j) | EH-colis <sub>CF</sub><br>(CF/hab/j) |
|-------------------------------|-----------------------------------|---|--------------------------------------|
| BA                            | Seine Aval pondéré (printemps 99) | 2.34 <sup>E</sup> +07                                 | 8.43E+10                             |
|                               | Seine Aval pondéré (décembre 99)  | 1.38 <sup>E</sup> +07                                 |                                      |
| BA, NIT                       | Marne Aval                        | 8.99E+06*   | 9.09E+08*                            |
|                               | Troyes                            | 4.67 <sup>E</sup> +06                                 | 1.01E+09                             |

|                |   |                       |          |
|----------------|---|-----------------------|----------|
|                | Seine Aval pilote BIOSTYR<br>(printemps 99) | 5.17 <sup>E</sup> +06 | 4.75E+08 |
|                | Seine Aval pilote BIOFOR<br>(décembre 99)   | 4.16 <sup>E</sup> +06 |          |
| BA, NIT, DENIT | Seine Amont                                 | 1.09 <sup>E</sup> +06 | 1.41E+08 |
|                | Rouen                                       | 7.59 <sup>E</sup> +05 | 7.81E+07 |

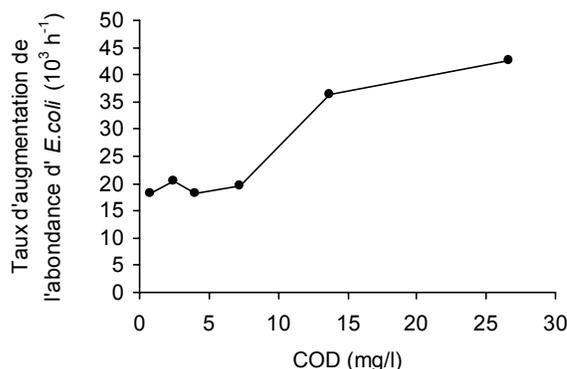
\*Ces nombres sont à considérer avec prudence en raison d'un problème de fonctionnement des décanteurs primaires au moment de la prise des échantillons.

Les valeurs d'EH-colis en sortie des traitements les plus sophistiqués sont 1.5 (EH-colis<sub>act, GLU</sub>) à 3 (EH-colis<sub>CF</sub>) ordres de grandeur inférieures à celles en sortie de la filière la plus simple. Cette grande variabilité reflète bien l'importance de la nature de la filière de traitement dans l'élimination des germes d'origine fécale des effluents urbains.

### 3. Possibilité d'une croissance des coliformes dans les eaux de surface

Le suivi temporel de l'activité GLU et des CF dans des effluents bruts réfrigérés nous a précédemment montré qu'une croissance de coliformes fécaux était possible dans les eaux d'entrée de STEP (Fig.1).

Afin d'évaluer quelle concentration en matière organique est nécessaire pour supporter une croissance de ces bactéries en eau douce, une autre expérience a été réalisée: une souche d'*E.coli* isolée d'une eau usée a été rejetée dans plusieurs microcosmes constitués d'un mélange en proportions variables d'eau usée brute (riche en carbone organique dissous (COD) hautement biodégradable) et d'eau Evian stérilisées et incubées à 20°C. L'abondance bactérienne a été mesurée en duplicat une fois par jour pendant 4 jours dans chaque microcosme par microscopie à épifluorescence après coloration des bactéries au DAPI. Dans un graphe en coordonnées semi-ln du nombre de cellules dénombrées en microscopie en fonction du temps, la pente de la régression linéaire pour chacun des microcosmes correspond au taux d'accroissement de l'abondance d'*E.coli* (càd un taux qui englobe la multiplication et la lyse des cellules). Les taux mesurés pour chaque concentration en COD hautement biodégradable sont présentés à la Figure 18.



**Figure 18.** Taux d'accroissement de l'abondance d'*E.coli* à 20°C dans des microcosmes de richesse variable en carbone organique dissous (COD) hautement biodégradable. Les microcosmes sont constitués d'un mélange en proportions variables d'eau usée brute et d'eau Evian stérilisées.

Les taux de croissance observés ( $18 - 42 * 10^3 \text{ h}^{-1}$ ) sont du même ordre de grandeur que les taux de mortalité d'*E.coli* en Seine ( $8 - 34 * 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) mesurés par Menon (1993). Dans les microcosmes les plus riches en COD (càd ceux constitués de 50 à 100% d'eau usée), les taux de croissance sont même supérieurs aux taux de mortalité d'*E. coli* en rivière. Bien que nous n'ayons pas de valeurs expérimentales de taux de mortalité d' *E.coli* en eaux usées, il ne semble pas déraisonnable de penser que dans les rejets domestiques, les processus de croissance puissent supplanter les processus de mortalité et mener à une multiplication des coliformes fécaux. Néanmoins, des expériences supplémentaires de ce type seront réalisées avec d'autres souches d'*E.coli* isolées de l'environnement, car il est très probable que la capacité de multiplication des cellules soit très dépendante de la souche testée. Enfin, ces expériences seront répétées sur des eaux de rivière de richesse variable en carbone organique nettement moins biodégradable que celui des rejets urbains, afin de déterminer quelle concentration en carbone organique biodégradable est nécessaire pour supporter une croissance de bactéries fécales en rivière.

#### 4. Conclusion et perspectives

Les campagnes d'échantillonnage réalisées cette année sur cinq STEP du bassin de la Seine nous ont montré que la contamination microbiologique (d'origine fécale) des effluents bruts était très variable d'une STEP à l'autre. La décantation primaire s'avère un processus peu efficace pour éliminer les germes indicateurs des effluents; c'est le traitement biologique (traitement secondaire et/ou tertiaire) qui assure l'essentiel de l'épuration microbiologique. La complexification des filières de traitement, dans le but de réduire la pollution azotée des effluents, a comme conséquence indirecte d'éliminer très efficacement les coliformes fécaux qu'ils contiennent. Cependant, l'abondance en germes fécaux est tellement élevée dans les effluents bruts que, même en sortie des traitements d'épuration les plus poussés (et sans traitement spécifique de la pollution microbienne), les effluents rejetés altèrent de manière évidente la qualité du milieu récepteur.

De plus, sur la seule STEP que nous ayons échantillonnée deux fois en 1999 (Seine Aval, mai et décembre), les abondances en coliformes fécaux étaient très différentes d'une campagne à l'autre. C'est pourquoi, l'année prochaine, une partie du travail sera consacrée à l'étude de la variabilité de la qualité microbiologique des effluents de cette STEP, afin de déterminer si cette variabilité peut expliquer la différence de contamination fécale des effluents observée entre les deux campagnes, ou si les résultats d'une des campagnes n'étaient pas du tout représentatifs de la qualité moyenne des effluents de Seine Aval, pour une raison non déterminée à l'heure actuelle.

Une autre tâche pour l'année 2000 sera de poursuivre les expériences en laboratoire sur la croissance des coliformes fécaux, afin de répondre à la question suivante: les coliformes, habituellement considérés comme des bactéries mal adaptées aux milieux naturels, sont-ils capables de se multiplier dans les réseaux d'assainissement et en rivière, et si oui, dans quelles conditions?

Enfin, les profils longitudinaux de coliformes réalisés sur la Seine, l'Oise et la Marne lors de deux campagnes en 1998 ont montré que les niveaux de contamination de la Marne et de l'Oise étaient non négligeables bien avant leur entrée dans l'agglomération parisienne (de  $10^3$  à  $10^4$  CF/100 ml). Afin d'identifier l'origine de cette contamination, notre travail en 2000 sera d'avantage axé sur les zones amont du bassin de la Seine. L'objectif poursuivi est double: d'une part, quantifier les apports de coliformes par les rejets de diverses STEP de petite taille, nettement plus nombreuses à l'échelle du bassin que les grosses STEP de l'agglomération parisienne, et d'autre part étudier les apports diffus de coliformes à la Seine par des sous-bassins hydrographiques de couverture végétale et d'utilisation par l'homme différentes (bassin agricole, bassin forestier...). Ce travail futur devrait nous apporter des informations précieuses sur l'importance relative dans le temps et dans l'espace des diverses sources de contamination fécale du bassin de la Seine.

## 5. Références bibliographiques

- AFNOR. (1994). Recueil des normes françaises de l'eau. Méthodes d'essai. Vol 1, Agence Française de Normalisation, Paris.
- Audic, J.M. (1990). Evolution des technologies d'élimination des microorganismes. In: *IFREMER - actes de colloques*, vol **11** , 133-148.
- Crop P. (1999). Estimation de l'abondance des bactéries indicatrices de contamination fécale par des méthodes enzymatiques. Application aux effluents urbains. *Travail de fin d'études présenté pour l'obtention du grade d'Ingénieur Chimiste et des Bio-Industries, Université Libre de Bruxelles, Belgique.*
- Dupray, E., B. Baleux, J.L. Bonnefont, C. Guichaoua, M. Pommepuy, and A. Derrien. (1990). Apport en bactéries par les stations d'épuration. In: *IFREMER- actes de colloque*, vol **11**, 81-88.
- George I. , Petit M. et P.Servais. (1999). Nouvelles méthodes pour l'étude des bactéries fécales appliquées au bassin de la Seine. In *Rapport d'activité du programme scientifique PIREN-Seine pour l'année 1998, thème 4 "Dynamique des microorganismes et de la matière organique dans les systèmes urbains"*, Servais P. & Tusseau M.-H., eds), CNRS, pp 4/36 – 4/46.
- George, I., Petit M., and P. Servais. (2000). Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters. *J. Appl. Microbiol.*: in press.
- Menon P. (1993). Mortalité de bactéries allochtones rejetées dans les milieux aquatiques. *Thèse de doctorat, Université Paris VI.*
- Miescer, J.J. and V.J. Cabelli. (1982). Enterococci and other microbial indicators in municipal wastewater effluents. *J. Water Poll. Control. Fed.* **54**(12), 1599-1606.
- Omura T., Onuma M., Aizawa J., Umita T. and T.Yagi. (1989). Removal efficiencies of indicator microorganisms in sewage treatment plants. *Water Science and Technology.* **21**(3), 119-124.
- OMS (1982). Rapid assessment of sources of air, water and land pollution. WHO Offset Publication No **62**, World Health Organisation, Geneva.