



**Aide
au diagnostic
des stations
d'épuration par
l'observation
microscopique
des boues activées**

Jean-Pierre
CANLER

Jean-Marc
PERRET

Philippe
DUCHÈNE

Éric
COTTEUX

éditions
Quæ



**Aide
au diagnostic
des stations
d'épuration
par l'observation
microscopique
des boues activées**

Jean-Pierre
CANLER

Jean-Marc
PERRET

Philippe
DUCHÈNE

Éric
COTTEUX

Ce document est issu d'une étude réalisée grâce au concours financier du Fonds national pour le développement des adductions d'eau (FNDAE) du Ministère de l'Agriculture, de la pêche et de l'alimentation (Direction de l'Espace rural et de la forêt).

Les auteurs suivants ont collaboré à la rédaction de cet ouvrage :

Jean-Pierre CANLER⁽¹⁾, Jean-Marc PERRET⁽¹⁾, Philippe DUCHÈNE⁽²⁾ et Eric COTTEUX⁽²⁾.

Illustrations de : Jean-Marc PERRET, Éric COTTEUX et Jacky VEDRENNE⁽³⁾ et avec nos remerciements pour les emprunts autorisés par M. CURDS⁽⁴⁾

La base du travail est issue d'une accumulation de connaissances acquises par les membres de l'équipe "Épuration" du Cemagref :

MM. DRAKIDES⁽⁵⁾, PUJOL⁽⁶⁾, DUCHÈNE, CANLER, PERRET, COTTEUX ainsi que MM. STRADIOT et EMPEREUR, stagiaires au Cemagref.

(1) Cemagref, Groupement de Lyon, Division Qualité des Eaux, CP 220, 3bis, Quai Chauveau, 69336 Lyon Cedex 09, France

(2) Cemagref, Groupement d'Antony, Division Qualité des Eaux, Parc de Tourvoie, BP 121, 92185 Paris Cedex, France

(3) Cemagref, Groupement de Bordeaux, Division Qualité des Eaux, 50, Avenue de Verdun, 33611 Bordeaux Cedex, France

(4) Natural History Museum, London, England

(5) Université de Montpellier II, 99, Avenue d'Occitanie, 34096 Montpellier Cedex 5, France

(6) Centre de Recherche, Lyonnaise des Eaux-Dumez, Degremont, 38, Rue du Président Wilson, 78230 Le Pecq, France

Les dessins des fiches 16, 17, 23, 25, 28, 29, 30, 32, 34, 36, 37, 38, 39, 44, 45, 46, 48, 49, 50, 51 extraits de "An illustrated key to the British freshwater ciliated protozoa commonly found in activated sludge 1969, Water Pollution Res. Tech Paper n° 12" by CURDS C. R. font l'objet d'une autorisation de reproduction de l'éditeur : " Crown copyright is reproduced with the permission of the controller of Her Majesty's Stationery Office".

Crédit photographique : les membres des équipes "Épuration" des eaux résiduaires du Cemagref

© Copyright 1999 Cemagref- Éditions – "Aide au diagnostic par l'observation microscopique des boues activées" par Jean-Pierre Canler, Jean-Marc Perret, Philippe Duchène, Éric Cotteux. Photographie de couverture : pétriches en bouquet (Jean-Marc Perret, Cemagref).

Coordination de l'édition : Julienne Baudel – Infographie : Françoise Peyriguer. Impression et façonnage : Imprimerie France Quercy, 113, rue André-Breton, BP 49, 46001 Cahors Cedex. Dépôt légal : 3^e trimestre 1999, ISBN 978-2-7592-1681-9
Diffusion : Publi-Trans, ZI, Marinière 2 – 91080 Bondoufle, tél. 01 69 10 85 85 – Diffusion aux libraires : Tec et Doc Lavoisier, 14, rue de Provigny, 94236 Cachan Cedex.

Avertissement

L'observation microscopique des boues activées est un outil qui possède de nombreux avantages.

Il est le seul moyen pratique et rapide de diagnostic disponible auprès des intervenants en stations d'épuration. L'exemple type est l'identification d'arrivées de toxiques. Les protozoaires sont touchés avant que le métabolisme bactérien soit affecté, à l'exception des inhibiteurs spécifiques de la nitrification. Un autre exemple est la détection de sous-aération malgré les indications normales affichées par l'oxymètre.

Il met en évidence des difficultés particulières (septicité des effluents, dépôts notables en aération,...).

Il complète les diagnostics établis sur d'autres critères : visuels, olfactifs, analytiques... Par exemple, l'observation d'une boue noire peut se rencontrer sur des installations suffisamment aérées (effluents de tannerie).

Il nécessite un apprentissage personnel que le présent ouvrage vise à aider, mais qui entraîne un investissement en temps que la pratique démontrera utile pour approfondir réellement le fonctionnement des stations d'épuration à boues activées.

Il constitue un outil précieux vis-à-vis de la qualité et de la continuité du traitement lorsque seul est en jeu un couple aération-décantation. Lorsque le process se complique, l'interprétation devient délicate et a ses limites, en particulier lors du passage par des bassins d'anoxie, d'anaérobiose ou des périodes d'anoxie volontairement « longues » (traitement de l'azote) qui rend impossible la vie de la plupart des micro-organismes indicateurs de très bonne qualité de l'eau interstitielle (oxygénation importante, concentration en NH_4^+ très faible).

Une bonne utilisation de cet ouvrage nécessite de relire de temps à autre les généralités plutôt que de n'utiliser que la partie reconnaissance de divers protozoaires afin d'effectuer leur identification.

Sommaire

INTRODUCTION	7
---------------------------	---

ÉLÉMENTS SUR LA BIOLOGIE DES BOUES ACTIVÉES

Principe du traitement biologique	11
Présentation de l'édifice biologique	12
Maillon bactérien	13
– Métabolisme bactérien	14
– Type de croissance	14
Microfaune	16
Nature	17
Activité	17
Classification	17
– Embranchement des protozoaires	18
– Embranchement des métazoaires	18
Principales fonctions	19
Locomotion	19
Respiration	19
Nutrition	19
Caractéristiques morphologiques	20

LA DÉMARCHE DE L'OBSERVATION DES BOUES

Observations macroscopiques	23
– Observations de l'échantillon brut	23
– Observations lors d'une décantation en éprouvette	23
Observations microscopiques	26
– Liquide interstitiel	26
– Flocculation bactérienne	28
– Microfaune	33
– Rappels sur le développement de la microfaune	33
– Interprétation simplifiée des grands groupes	35

CLÉS DE DÉTERMINATION

Protozoaires & Métazoaires	clé A	41
Protozoaires		
– Flagellés	clé B	42
– Sarcodines	clé C	43
– Ciliés	clé D	44
– Holotriches	clé E	45
– Péritriches	clé F	46
– Spirotriches : hétérotriches - hypotriches	clé G	47
– Suctoriens	clé H	48
– Métazoaires	clé I	49
– Rotifères	clé J	50

FICHES DESCRIPTIVES ET INTERPRÉTATIONS

Fiches descriptives de chaque espèce	fiches 1 à 57	51 à 112
Index alphabétique des individus,	fiche 58	113
Systematique simplifiée des individus	fiche 59 à 60	115 à 118

ANNEXES

Prélèvement et préparation avant observation	120
Aspects pratiques	121
Préparation d'une lame	124
Exemple d'une fiche d'observation de la boue	126
Exemples d'interprétation d'une boue à partir de l'observation microscopique	129
Pour aller un peu plus loin avec les flagellés, clés 61 à 64	139
Glossaire	145
Bibliographie	149

Introduction

Les performances et la fiabilité des stations d'épuration biologiques dépendent d'un certain nombre de paramètres comme leur conception et la qualité de leur exploitation, ils retentissent *in fine* sur l'activité des peuplements composant l'édifice biologique et réalisant la dégradation des charges polluantes.

La qualité des effluents, le domaine de charge de l'installation, l'apport de substances particulières vont également influencer très fortement la biologie du système.

L'exploitant dispose d'un certain nombre d'outils, en particulier analytiques, pour évaluer les performances de l'installation. L'analyse écologique de la biomasse présente dans le bassin d'aération vient les compléter en permettant de rendre compte rapidement de l'état de la microfaune qui intègre dans le temps toutes les caractéristiques de fonctionnement de l'installation. Elle peut, par ailleurs, donner des indices de modifications avant même que les paramètres analytiques n'évoluent.

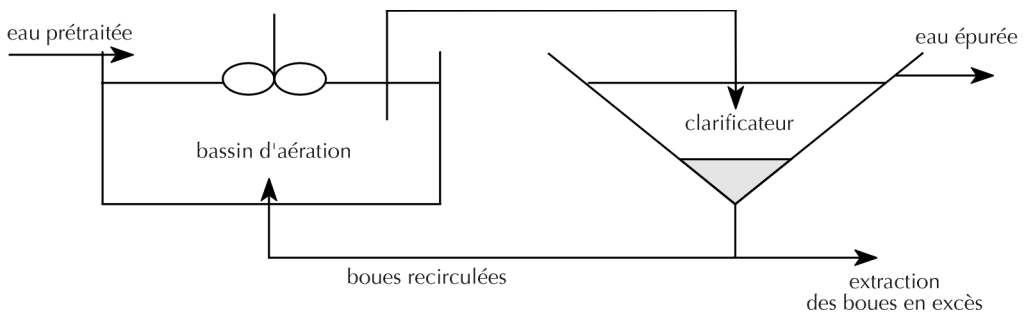
L'objectif de ce document est de mettre à la disposition des exploitants un outil de diagnostic rapide du fonctionnement des traitements par boues activées à partir de l'observation de la microfaune et de l'état des floes, afin de détecter rapidement d'éventuelles anomalies et de faciliter ainsi l'exploitation.



*Éléments sur
la biologie
des boues activées*

PRINCIPE DU TRAITEMENT BIOLOGIQUE

L'épuration biologique des eaux résiduaires par le procédé des boues activées repose sur l'activité d'une culture bactérienne aérobie, maintenue en suspension dans un ouvrage spécifique alimenté par l'effluent à traiter et appelé bassin d'aération.



Cette culture bactérienne se développe à partir des matières organiques biodégradables apportées par les eaux usées qu'elle transforme en corps bactériens. Le rendement de cette opération de transformation de la charge polluante organique est d'environ 50 % puisque les boues produites ne représentent plus que la moitié de la DBO_5 entrante, le reste ayant été transformé principalement en CO_2 et en H_2O . Lorsque les conditions en substrat deviennent limitantes, cette culture peut s'auto-oxyder, entraînant une diminution de la quantité de biomasse présente et une minéralisation de celle-ci.

La séparation de la boue avec l'eau interstitielle traitée est réalisée dans un ouvrage placé à l'aval appelé clarificateur. Afin de permettre cette opération dans des conditions réalistes et simplifiées, la croissance bactérienne devra être de type floculé.

Les performances d'une installation sont dépendantes d'un certain nombre de points que l'on peut schématiser comme ci-dessous.

↓ Paramètres fondamentaux

- **Alimentation** (mode, aspects qualitatifs et quantitatifs),
- **Aération et brassage**,
- **Âge de la boue**,
- **Recirculation**



Peuplement biologique
(bactéries - microfaune)



Performances et fiabilité de l'installation

La présence d'une culture bactérienne dans le bassin d'aération entraîne le développement d'une microfaune composée principalement d'organismes prédateurs et représentée par les protozoaires et les métazoaires. L'ensemble de ces micro-organismes compose ainsi l'édifice biologique de la station d'épuration.

La microfaune, spécifique au fonctionnement de l'installation, varie ainsi entre chaque site. La sélectivité des conditions du milieu limite fortement le nombre d'espèces bien représentées, ce qui simplifie l'exploitation des résultats des observations microscopiques.

PRÉSENTATION DE L'ÉDIFICE BIOLOGIQUE

La suspension prélevée dans le bassin d'aération est un liquide composé de 99 % d'eau. Elle est de couleur marron plus ou moins foncé, cette couleur variant en fonction du type d'effluent à traiter et du degré d'aération de la suspension.

Elle est composée en partie de divers éléments apportés par l'effluent et développés dans le système : micro-organismes vivants ou morts, débris végétaux et/ou minéraux, colloïdes... et d'un peuplement biologique d'espèces de petites tailles (quelques μm au mm) spécifique au site.

À titre d'exemple, le dénombrement d'une population prélevée sur une station boue activée dans le domaine de l'aération prolongée et au fonctionnement stable donne les valeurs typiques suivantes :

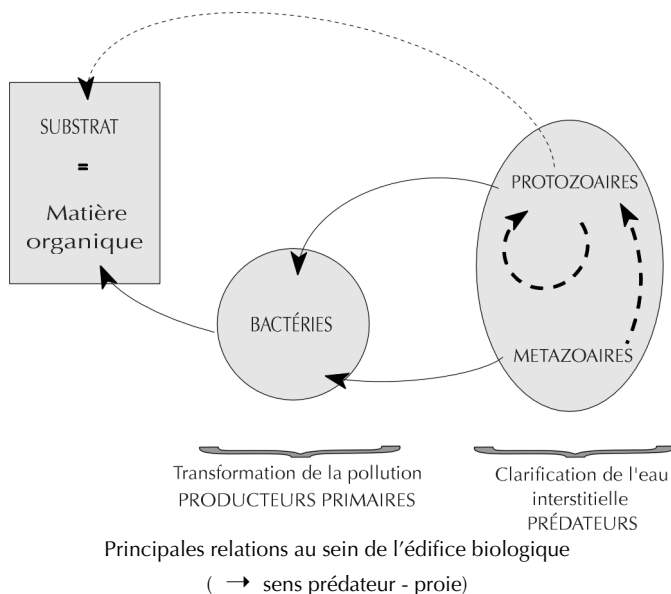
individus / l de boue	1 à $5 \cdot 10^5$ /l	MÉTAZOAIRES Rotifères – Nématodes
	10^7 /l	PROTOZOAIRES Flagellés – Sarcodines – Ciliés
	10^{12} /l	BACTÉRIES floculées – filamenteuses – dispersées

La pression sélective du milieu « boue activée » sur les espèces s'y développant est très forte et illustrée par le tableau suivant indiquant le nombre d'individus recensés :

	Milieu naturel	Ensemble des boues activées		Une station donnée	
Métazoaires	des milliers	une vingtaine		quelques individus de 1 ou 2 espèces	
Protozoaires	40 000	une centaine		12 espèces dont 3 à 4 dominantes	
Bactéries	plusieurs millions	50* souches ordinaires	20* souches filamenteuses	10* souches	quelques filamenteuses

* Ces valeurs tirées de la littérature sont probablement très sous-estimées. Les espèces identifiées sont en effet celles qui se cultivent sur les milieux proposés et l'on sait que les techniques récentes révèlent des populations bactériennes bien plus nombreuses que les dénombrements classiques !

Les principales relations au sein du peuplement biologique sont complexes et basées sur des relations de prédation, de compétition voire de cannibalisme qui peuvent être illustrées de la façon suivante :



Avant d'aborder la détermination de cette faune, il convient de rappeler rapidement l'activité des deux grands groupes présents dans ce système : le maillon bactérien et la microfaune.

LE MAILLON BACTÉRIEN

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires, de différentes formes (sphériques, cylindriques, incurvées...), dont la taille est de l'ordre de quelques microns (de 0,5 à 5 μm), à l'exception des bactéries filamenteuses de tailles souvent supérieures (de 10 à plus de 500 μm) et pouvant être pluricellulaires. La croissance bactérienne s'effectue en deux temps : une phase de croissance cytoplasmique suivie d'une phase de multiplication par division cellulaire.

Dans les boues activées, les bactéries présentes sont pour la plupart aérobies facultatives, gram négatifs *, mobiles et provenant essentiellement du sol ou des eaux. Les bactéries fécales et les bactéries pathogènes ne se développent pas dans ce milieu très sélectif.

Les bactéries jouent un rôle essentiel dans l'épuration biologique, par rapport aux autres organismes. Il est basé essentiellement sur la croissance floculée des bactéries. Ce type de croissance est obtenu dans des conditions bien précises du métabolisme bactérien.

De plus, elles sont caractérisées par :

- une grande surface d'échange avec le milieu extérieur,
- des vitesses de multiplication élevées (une division toutes les 20 minutes dans le cas de souches traitant la pollution carbonée). Les plus lentes (une division par jour) sont les bactéries autotrophes assurant la nitrification de l'azote ammoniacal,
- des richesses enzymatiques importantes,

* Les populations bactériennes gram + deviennent importantes sur certains substrats, par exemple les effluents de l'industrie laitière.

– et d'énormes possibilités d'adaptation aux différents paramètres physico-chimiques (pH, température,...).

Le métabolisme bactérien

Il peut être résumé de la façon suivante :

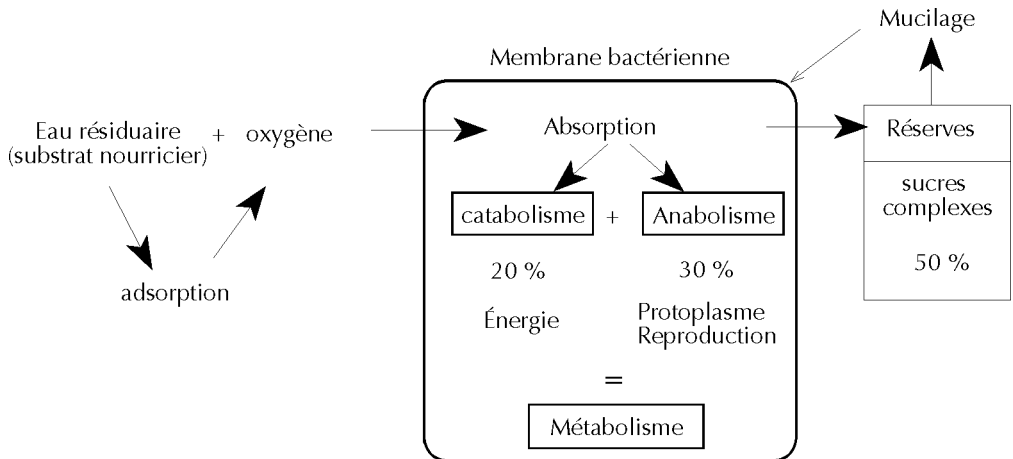


Schéma simplifié de l'utilisation de la pollution organique par les bactéries dans les systèmes à boues activées.

Ainsi, dans des conditions bien précises (charge massique donnée), une partie de la pollution à traiter, de l'ordre de 50 %, est utilisée pour le métabolisme bactérien (synthèse cellulaire), l'excédent étant stocké sous forme de sucres complexes (par exemple, les exopolymères : polysaccharides aminés ou phosphatés au niveau de la paroi bactérienne facilitant ainsi la cohésion des bactéries entre elles).

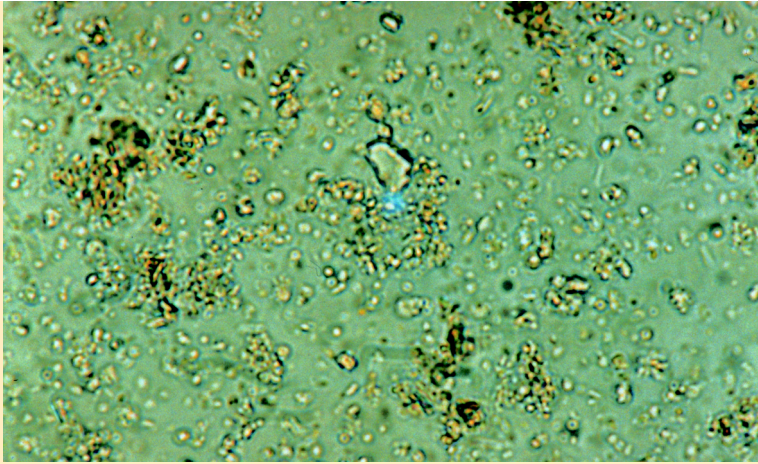
Selon la complexité des molécules présentes dans l'effluent à traiter, l'absorption est plus ou moins rapide, allant de quelques minutes (biosorption) pour des composés facilement assimilables tels que les glucides, à plusieurs heures pour les fractions protéiques ou autres composés complexes.

Ce métabolisme bactérien aura une incidence sur le type de croissance et par conséquent sur la qualité du traitement.

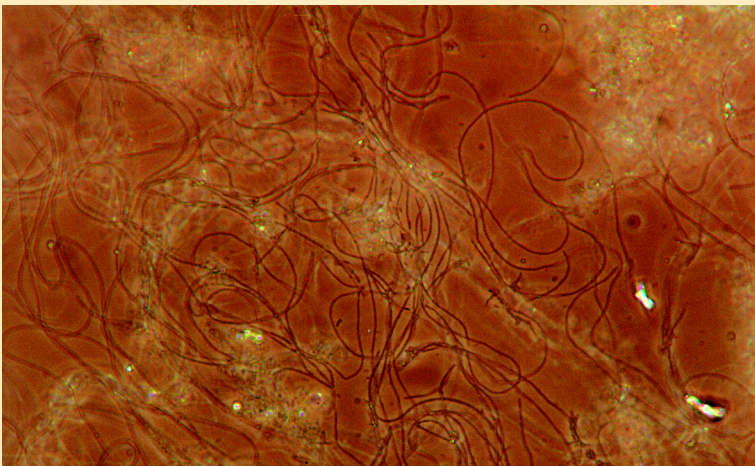
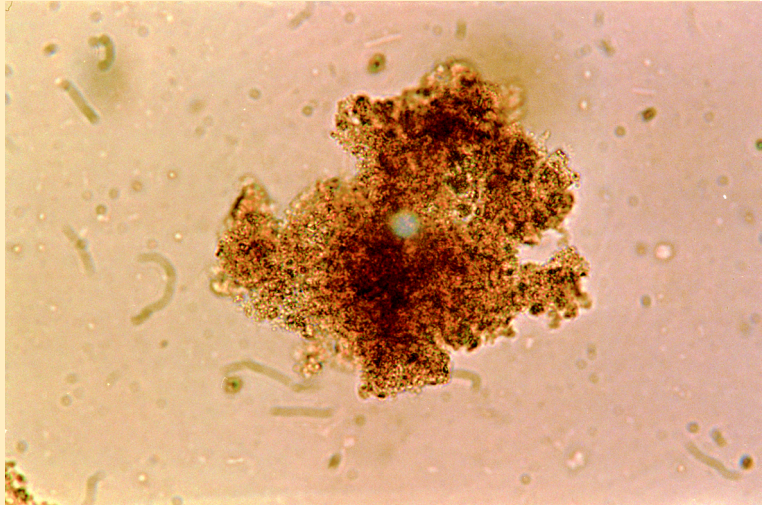
Type de croissance

La population bactérienne possède trois types différents de croissance. Dans une boue activée, ces trois formes cohabitent mais la croissance floculée doit dominer pour faciliter la séparation floc bactérien – eau traitée au niveau du clarificateur et garantir une bonne qualité de l'eau rejetée.

CROISSANCE
DISPERSÉE
X 1000



CROISSANCE
FLOCULÉE
X 400



CROISSANCE
FILAMENTEUSE
X 100

CROISSANCE DISPERSÉE	CROISSANCE FLOCLÉE	CROISSANCE FILAMENTEUSE
Principales conséquences		
Décantation faible ou absente. Épuration limitée	Cas normal $50 \leq IB. \leq 150$ ml/g de MES	Difficultés de décantation (indice de boue élevé, supérieur à 200 ml/g de MES)
	Mécanismes	
Croissance exponentielle de la population bactérienne	Croissance ralentie Formation de floc (agglomération de bactéries)	Croissance particulière* Division cellulaire dans une direction privilégiée ou autres mécanismes complexes.
	Commentaires	
Celle-ci est obtenue lorsque la concentration en nourriture est excédentaire ou, inversement, infime, ou encore lorsque les protozoaires ne peuvent pas se développer ($T^\circ > 40^\circ\text{C}$ par exemple...)	Cette croissance est obtenue lorsque la teneur en substrat disponible pour la biomasse est moyenne, entraînant la formation du mucilage qui permet l'adhésion des bactéries entre elles. Ce mucilage a deux fonctions : – un rôle de cimentation (mécanismes biochimiques) – un rôle de neutralisation des charges électriques superficielles (mécanismes physiques)	Ce développement filamenteux entraîne un foisonnement ou un moussage biologique stable et a plusieurs origines que nous n'aborderons pas dans ce document (Cf. doc. tech. FNDAE N° 8 et un hors série – octobre 1993)

En dehors du rôle des protozoaires sur lequel nous reviendrons, d'autres facteurs participent aussi à la floculation comme les excréments de la microfaune, les réserves lipidiques sécrétées et libérées à la mort des cellules, et/ou la recirculation des boues floclées dans le bassin d'aération.

MICROFAUNE

Cette population intéresse en premier lieu l'observateur par la rapidité de l'analyse microscopique (la taille des individus les rend facilement observables). De plus, par leur observation et identification, ils peuvent nous donner des indications sur la qualité de traitement et révéler d'éventuelles anomalies de fonctionnement.

* Correspondant très souvent à des carences en substrat nécessaire et parfois à des excès de substrats particuliers (soufre réduit, niches favorables aux bactéries hydrophobes, etc.).

Nature

La microfaune est composée d'animaux microscopiques de populations importantes puisque l'on dénombre des populations de l'ordre de 10^7 individus par litre de liqueur aérée, essentiellement représentés par :

- des **protozoaires** qui peuvent composer jusqu'à 5 % du poids sec des matières en suspension, de taille moyenne comprise entre 5 à 300 μm et de formes très variables,
 - des **métazoaires**, animaux multicellulaires de taille pouvant être supérieure au millimètre.
- L'ensemble de ces individus a des temps de génération très différents. Ce facteur intervient dans la sélection des populations par l'intermédiaire de l'âge de boue du système. En effet, l'âge de boue, donc celui de la culture, est très différent selon le domaine de charge de l'installation. Les ordres de grandeur sont les suivants :

Type de boue activée	Charge massique (kg DBO ₅ / kg MVS.j)	Âge de boue
très forte charge	(Cm > 1)	quelques heures
forte charge	(Cm \simeq 1)	quelques heures au jour
moyenne charge	(Cm < 0,5)	quelques jours
faible charge	(Cm < 0,2)	supérieur à 10 jours
aération prolongée	(Cm < 0,1)	supérieur à 20 jours

Activité

La très grande majorité des populations est bactériophage mais certaines peuvent participer à l'assimilation directe de la matière organique (cas de quelques flagellés), ou être prédateurs d'autres protozoaires.

Dans la plupart des cas, les bactéries à ingérer doivent être facilement disponibles donc présentes dans le milieu interstitiel ou à la surface du floc, bien que certains protozoaires ou métazoaires puissent se nourrir des bactéries situées à l'intérieur de celui-ci (holotriches fouisseurs tel que *Trachellophyllum P.*, rotifères brouteurs tel que *Philodina*).

Les principales activités de la microfaune biologique peuvent se résumer en deux points :

- ils participent à l'affinage du processus de traitement des eaux par une ingestion très importante de bactéries libres de l'eau interstitielle (on estime en moyenne qu'un protozoaire peut ingérer la moitié de son poids en bactéries par heure).

- secondairement, ils produisent une grande quantité de mucus. Ces excréments contribuent en partie à la floculation, phase indispensable pour un bon fonctionnement du processus épuratoire.

Classification

Un tableau global présentant la classification des espèces est détaillé aux fiches 59 et 60 du présent document.

Embranchement des protozoaires

Leur classification est basée sur leur mode de locomotion. C'est à dire selon :

- la présence de flagelles pour les flagellés (mastigophorea),
- la présence de pseudopodes pour les sarcodines,
- la présence de cils pour les ciliés.

LES FLAGELLÉS

Leur identification est difficile compte tenu de leur taille souvent inférieure à 20 µm (à l'exception des flagellés coloniaux et de quelques grandes espèces dont les Euglénidés).

Les principaux flagellés sont donc souvent identifiés à partir de leur forme, de leur taille, et à leur mode de déplacement.

On distingue deux sous-classes :

- les *phytomastigophoréa* : ce sont des individus autotrophes, capables d'utiliser la fonction chlorophyllienne, avec la possibilité pour certaines espèces de perdre cette fonction et de devenir dans des milieux non transparents (plus pollués) des individus hétérotrophes.
- les *zoomastigophoréa* : espèces hétérotrophes strictes.

LES SARCODINES

Leur répartition en plusieurs groupes dans la classification repose sur la forme des pseudopodes.

Ils sont représentés par deux classes :

- les *actinopodes* : leurs pseudopodes sont en forme de fils, ils sont très peu présents en station d'épuration.
- les *rhizopodes* : ils sont essentiellement représentés par des amibes libres ou logées à l'intérieur d'une coque appelée «thèque» (thécambiens).

LES CILIÉS

Ils correspondent à la classe dominante lors des observations au microscope (70 % des populations) pour des installations fonctionnant correctement dans le domaine de l'aération prolongée.

La ciliature a un double rôle, elle sert à acheminer la nourriture vers la région buccale et représente aussi pour certains le moyen de locomotion.

On distingue quatre sous-classes :

- **holotriches** : la ciliature est répartie de façon uniforme à la surface du corps. Ces individus sont mobiles et se déplacent dans le liquide interstitiel.
- **péritriches** : ils possèdent une ciliature uniquement au niveau de la cavité buccale et un pédoncule qui leur permet de se fixer au floc bactérien.
- **spirotriches**, avec 2 ordres :

* Hétérotriches : la ciliature est relativement régulière et ils possèdent une zone munie de membranelles.

* Hypotriches : la ciliature est clairsemée avec des groupes de cils plus épais que l'on appelle cirrhes. Ils se déplacent dans le liquide interstitiel et surtout sur la surface du floc bactérien. Ils sont capables d'ingérer les bactéries fixées à la surface du floc et sont de ce fait appelés des brouteurs.

– **suctoriens** : ces protozoaires possèdent une ciliature uniquement à l'état embryonnaire. Le plus grand nombre est fixé au floc par un pédoncule (à l'exception du genre *Sphaerophria*) et leur corps est muni de tentacules pour piquer et sucer d'autres protozoaires.