

Techniques de dépistage des sources de pollution microbiennes : méthodologies, application et retour d'expériences concernant l'identification des pollutions en zones littorales en France et au Royaume- Uni

GOURMELON Michèle¹, CAPRAIS Marie-Paule¹ et KAY David²

- ¹ IFREMER, Laboratoire de Microbiologie, Environnement, Microbiologie et Phycotoxines, BP 70 29280 Plouzané, France – Tel 02 98 22 45 76, email: Michele.Gourmelon@ifremer.fr
- ² CREH, Catchment and Coastal Research Centre, River Basin Dynamics and Hydrology Research Group, IGES, University of Aberystwyth, Ceredigion, SY23 3DB, UK. <http://www.ies.aber.ac.uk/en/staff/subpages/research/101>

Afin d'améliorer la qualité sanitaire des eaux côtières, il est indispensable de mettre en place des mesures préventives et/ou correctives permettant de diminuer les apports d'origine fécale en amont du littoral. Pour cela, les sources potentielles doivent être identifiées. Une approche consiste à appliquer des méthodes permettant d'identifier l'origine humaine ou animale de la contamination (Microbial Source Tracking, MST ; Traceurs de Sources Microbiennes) dans les eaux ou les coquillages. Ces méthodes sont basées sur la recherche de cibles microbiennes ou chimiques présentes dans les fèces ou les effluents.

Partie A : Expérience en France

A Ifremer, au laboratoire de microbiologie EMP, des marqueurs bactériens et viraux ont été ainsi sélectionnés : i) les *Bacteroidales*, bactéries anaérobies majoritaires de la flore intestinale, spécifiques de l'homme, des porcs ou des ruminants, ii) un marqueur bactérien spécifique des oiseaux de bord de mer : *Catelicoccus marimammalium* ; iii) des virus, les bactériophages F ARN spécifiques, comportant des génogroupes humains et animaux.

Tout d'abord, des développements méthodologiques ont été réalisés afin de disposer de marqueurs *Bacteroidales* spécifiques de l'homme, des porcs et des ruminants. Ces marqueurs bactériens ont été validés en déterminant leur sensibilité et leur spécificité sur des échantillons de fèces de diverses origines et d'effluents provenant de différents sites en France. Puis, la pertinence de ces marqueurs a été évaluée lors de simulations d'épandage de fumier de bovins et de lisier de porcs sur des parcelles expérimentales et de suivis de rejets dans des cours d'eau.

Les marqueurs bactériens et viraux sélectionnés au laboratoire ont été appliqués de Juin 2006 à Octobre 2008 sur des eaux et des coquillages de la péninsule Guérande-Atlantique afin de tester ces marqueurs à l'échelle du bassin versant et de zones littorales. Un total de 63 échantillons d'eau et 80 lots de coquillages (moules et coques) a été collecté de Juin 2006 à Octobre 2008 au niveau de 7 affluents et de 3 zones conchylicoles de cette péninsule. Les marqueurs bactériens ont été recherchés par PCR en temps réel et les génogroupes humains (II et III, prédominants dans les effluents d'origine humaine) et animaux (I et IV, prédominants dans les fèces et effluents d'origine animale) des bactériophages F ARN spécifiques par culture/génotypage.

Cette étude a permis d'apporter des éléments importants pour identifier l'origine humaine ou animale des pollutions fécales dans des affluents de cette péninsule. Elle a permis, entre autres, de mettre en évidence que la contamination au niveau des coquillages de l'îlot des Evens pouvait être attribuée, au moins en partie, aux oiseaux de mer nichant sur cet îlot.

Elle a montré également i) l'intérêt d'associer au moins deux méthodes MST pour identifier de façon satisfaisante l'origine de la contamination (tels que des marqueurs

bactériens et viraux, par exemple), ii) l'utilité de réaliser plusieurs prélèvements au cours du temps sur un même site (et non seulement une analyse ponctuelle pour un site donné) afin d'obtenir une caractérisation satisfaisante des sources de contamination, et iii) la nécessité de poursuivre les développements concernant l'analyse directe des marqueurs bactériens dans les coquillages. En effet, très peu de résultats concernant les marqueurs *Bacteroidales* spécifiques des ruminants ou de l'homme ont été obtenus dans les coquillages au cours de cette étude.

Aussi, les développements méthodologiques concernant ces marqueurs se poursuivent actuellement au laboratoire et concernent principalement l'adaptation de ces méthodes à des eaux faiblement contaminées et la détection des marqueurs bactériens dans les coquillages. De plus, ces marqueurs bactériens et viraux sont également actuellement confrontés à d'autres marqueurs MST, bactériens et chimiques, développés par nos partenaires français et anglais dans le cadre des projets « Marquopoleau » et « AquaManche ». Enfin, des données complémentaires concernant les relations entre ces marqueurs et les indicateurs de contamination fécale classiques et les pathogènes sont encore à acquérir.

Partie B : Expérience au Royaume-Uni

Les méthodes MST ont commencé à être utilisées afin de fournir de solides données scientifiques permettant de guider la prise de décisions sur les principales dépenses et/ou sur les actions correctives concernant les rejets des eaux usées au Royaume-Uni. Par conséquent, il est indispensable que les données des techniques appliquées puissent être indexées, de façon robuste, aux indicateurs classiques de contamination fécale qui sont les paramètres suivis au niveau de la réglementation concernant les zones de baignades et les zones conchylicoles. Cette étude présente une évaluation des méthodes d'identification de l'origine de la contamination fécale basées sur l'analyse génétique des microorganismes du groupe *Bacteroidales* par PCR en temps réel à l'échelle du bassin versant.

Ce projet a permis d'acquérir des données de terrain afin d'évaluer l'intérêt opérationnel des données quantitatives concernant les marqueurs *Bacteroidales*, en les comparant avec les concentrations des indicateurs de contaminations fécales classiques dans les cours d'eau, les effluents et les eaux de baignades. De manière générale, les résultats obtenus par les marqueurs *Bacteroidales* suggèrent une contamination des eaux de baignades principalement par des sources d'origine humaine, résultats globalement en accord avec les données acquises sur les répartitions des sources lors d'une précédente étude. Cependant, il n'a pas été mis en évidence de corrélations significatives entre les marqueurs *Bacteroidales* et les indicateurs fécaux au sein des différentes matrices étudiées (soient les eaux de rivières, les eaux de baignades et/ou les effluents).

Par conséquent, les résultats acquis dans cette étude ne permettent pas de montrer que les proportions et/ou les pourcentages des contributions humaines et/ou des ruminants (basés sur la détermination du nombre de copie de gènes de *Bacteroidales*) apportent des données fiables pour décrire les contributions des indicateurs fécaux dans les non-conformités des eaux. L'étude a montré également (i) qu'il n'y avait pas de diminution significative du nombre de copies des gènes de *Bacteroidales* lors du processus de désinfection par les UV, (ii) que l'analyse d'un seul ou d'un faible nombre d'échantillons d'eaux de baignades non-conformes, de cours d'eau ou d'effluents par les marqueurs *Bacteroidales* n'était pas suffisante pour caractériser l'importante variabilité du signal MST observé au cours de cette étude, (iii) que la présence de décharges industrielles pouvait interférer avec l'interprétation des données MST ; et (iv) qu'il n'y avait pas de corrélations significatives entre les marqueurs *Bacteroidales* et les indicateurs de contamination fécale au sein des différentes matrices étudiées.

À cette étape du développement de cet outil au Royaume-Uni, il apparaît imprudent d'utiliser les pourcentages des contributions humaines et/ou des ruminants (c'est-à-dire les résultats obtenus par les méthodes TSM acquises au niveau d'une eau de baignade) comme le seul ou principal élément constituant les données établies permettant de guider les décisions des principales dépenses majeures et/ou des actions correctives.