

Les Ateliers DU GIS



Qualité de l'eau



Détecter l'origine des contaminations microbiologiques

Les contaminations microbiologiques fécales de l'eau affectent régulièrement les ressources en eau de montagne et les usages qui s'y rattachent. Pour mieux comprendre et traiter ces problèmes, le GIS Alpes du Nord a mis en œuvre un programme de recherche pour développer des outils d'identification des origines animales ou humaines des contaminations.

► CONTEXTE ET PROBLÉMATIQUE

Déterminer l'origine des contaminations microbiologiques est une question préliminaire fréquemment posée lorsque des dégradations de la qualité de l'eau sont constatées et que l'on cherche à mettre en œuvre des plans de lutte ou des solutions correctives.

Il s'agit en particulier de préciser :

- si les contaminations microbiologiques proviennent de la faune sauvage, de l'activité agricole ou de fuites à partir de l'habitat ;
- quelle est la part de responsabilité des différentes sources de pollution ;
- si les bactéries fécales sont transférées de façon diffuse, c'est à dire provenant de surfaces à partir desquelles elles sont mobilisées via le ruissellement ou le drainage des sols, ou de façon ponctuelle, provenant d'entrées bien localisées et ceci sans relation avec les événements météorologiques.

Les méthodes de détection de l'origine des contaminations microbiologiques reposent sur différentes approches :

- la détection de molécules spécifiques du métabolisme humain ou animal ;
- l'identification d'espèces bactériennes spécifiques ;
- la caractérisation des bactéries par des méthodes génotypiques ;
- le typage phénotypique où différents caractères peuvent être testés, tel des profils biochimiques ou encore les propriétés de résistance aux antibiotiques.

Les approches microbiologiques présentent l'intérêt d'utiliser des traceurs de même nature que ceux impliqués dans les contaminations fécales. Elles demandent la constitution de bibliothèques de référence où des bactéries prélevées depuis les réservoirs potentiels (animaux domestiques ou sauvages, homme) sont typées vis-à-vis de différentes propriétés phénotypiques ou génotypiques.

Dans cette étude, c'est une approche phénotypique portant sur l'analyse de l'antibiorésistance (AAR) des streptocoques fécaux qui a été retenue car :

- dans les conditions environnementales, ces bactéries survivent bien et sont généralement considérées comme de bon traceurs de pollutions fécales anciennes ;

- cette démarche est relativement simple à mettre en œuvre ;
- des travaux préalables ont montré son potentiel discriminant, dans différents contextes de territoires.

L'objectif de notre travail a été de développer cette approche dans les conditions spécifiques des territoires de montagne, où la proximité des sources potentielles de contamination est forte du fait de la péri-urbanisation de l'espace et de la connexion amont-aval des aquifères. On a notamment cherché à tester le potentiel discriminant de l'AAR dans différentes conditions d'occupation de sol, à évaluer la cohérence d'ensemble des résultats avec des suivis sur un cycle annuel, bref à tester différentes hypothèses relatives à la répartition dans l'espace et dans le temps des différentes sources de contamination.

MÉTHODOLOGIE ET HYPOTHÈSES DE TRAVAIL

Pour développer l'AAR et évaluer la sensibilité de cette méthode, plusieurs tâches ont été réalisées :

1. Inventaire des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire ou humaine. Des enquêtes ont été réalisées pour sélectionner des molécules de référence selon la fréquence des prescriptions et les différents modes d'action des antibiotiques.

2. Echantillonnage d'effluents d'élevage, de fécès d'animaux sauvages, d'eaux usées issues de réseaux séparatifs, afin de constituer une collection de souches bactériennes représentative des différentes origines. Pour le réservoir bovin, on a échantillonné des fumiers issus de la diversité de différents lots d'animaux des élevages, avec notamment des vaches allaitantes, des génisses, des vaches laitières, des vaches tarées.

3. Analyse statistique de la résistance aux antibiotiques de ces différentes souches, pour établir un référentiel régional, donnant les profils-type d'antibiorésistance des origines bactériennes ; on a en particulier testé différentes approches pour la classification typologique (l'analyse discriminante, généralement employée dans des études équivalentes, mais aussi les classifications par réseau neuronique).

4. Test du référentiel régional, sur des eaux prélevées dans un territoire du bassin lémanique, contaminé par des apports de bactéries fécales liés à l'activité agricole, la faune sauvage et l'habitat. Le territoire analysé s'étend de 1300 à 500 m d'altitude et comprend une succession de zones d'occupation typique de sols, avec un amont forestier, une portion médiane de prairie et un aval urbanisé. Dans ce but, on a réalisé des prélèvements d'eau, à différentes époques et à l'aval de plusieurs modes d'occupation de sol (forêt, prairies et cultures annuelles, zones d'habitat).

Dans ce territoire, les sources d'origine bovine sont essentiellement diffuses, du fait de la mise aux normes des bâtiments d'élevage. Des surfaces émettrices potentielles des origines bovines diffuses, ainsi que leurs connexions avec le réseau hydrographique ont été identifiées par des parcours de terrain ; il s'agit de zones tassées liées au pâturage, telles les reposoirs, les aires liées aux apports de fourrage dans les parcs, les points d'abreuvement et à l'extrême, de contaminations des berges, suite à des accès directs des troupeaux aux cours d'eau, consécutifs à l'abreuvement ou aux remues. Dans ce contexte, les hypothèses suivantes ont pu être testées :

- les bactéries bovines et celles liées à la faune sauvage ont des modes d'émission diffus, les bactéries humaines ont des modes ponctuels ;
- les contaminations diffuses et donc les origines bovines sont bien révélées durant les périodes de crue, alors que la part humaine est prédominante durant les étiages ;
- les différentes sources sont associées à des organisations spécifiques du territoire : les apports sauvages et bovins sont localisés dans la partie amont du territoire, les entrées humaines sont plutôt situées à l'aval.

Pour tester ces hypothèses, nous avons complété le dispositif d'étude avec des analyses chimiques de l'eau, réalisées dans le but de tracer les modes diffus et ponctuel des contaminations. On a ainsi analysé plusieurs éléments, dont la signification en terme de zones émissives et de dynamique de transfert est assez spécifique :

- Phosphore total (il s'agit de phosphore particulaire, correspondant à un ensemble de molécules très diverses, incluant des formes organiques et des formes minérales cristallines ou amorphes) : du fait de sa nature particulière, c'est un élément très lié au ruissellement et à l'érosion des horizons supérieurs des sols ; on peut donc le considérer comme un traceur des pollutions diffuses, avec toutefois certaines précautions, car il peut aussi résulter d'une évolution, dans le lit des rivières, d'orthophosphates issus

d'apports ponctuels ;

- Orthophosphates : il s'agit de sels solubles, présent dans les horizons de surface des sols mais en très faible quantité ; ils sont par contre fortement émis dans les eaux usées et donc assez caractéristiques des pollutions ponctuelles ;

- NH₄⁺ (azote ammoniacal) : il résulte de la dégradation des matières organiques, notamment de l'urée ; les eaux usées ont de fortes teneurs en NH₄⁺ et cet élément est généralement assez bien lié aux pollutions ponctuelles ;

- MEST (matières en suspension totales) : elles sont émises lors des périodes pluvieuses, et sont un indicateur des pollutions diffuses ; elles peuvent provenir des sols par suite des phénomènes de ruissellement et d'érosion, mais aussi des sédiments et de l'érosion des berges ;

- MESo (fraction organique des matières en suspension) : liées aux pollutions diffuses, elles proviennent essentiellement de l'horizon de surface des sols, riche en matière organique ;

- COD (carbone organique dissous) : dans le contexte étudié, il est assez lié aux pollutions diffuses et issu du lessivage des humus forestiers.

On voit que ces différentes molécules constituent des traceurs non absolus des modes diffus ou ponctuels, telle molécule pouvant être émise ponctuellement, puis stockée dans les sédiments et transférée en période pluvieuse, telle autre associée simultanément aux flux biogéochimiques diffus du bassin versant et aux entrées ponctuelles des eaux usées. C'est la raison pour laquelle notre analyse est basée sur une large gamme de traceurs.

➤ RÉSULTATS

Certaines observations montrent que le référentiel ne permet pas de discriminer de façon satisfaisante les bactéries humaines de celles provenant de la faune sauvage : on détecte des signaux humains à l'aval de zones forestières, ou typiques de la faune sauvage à partir de zones d'habitat dense. Ceci est probablement lié au fait que les échantillons d'eaux usées humaines de référence étaient contaminés par des bactéries issues de la faune sauvage (oiseaux, mammifères,...). On a par la suite limité nos objectifs et cherché à ne distinguer que les souches bovines ou non bovines. Dans cette configuration, le référentiel devient opérant, comme en témoignent les éléments suivants.

- **Origine des bactéries et occupation des sols.** Des origines bovines ont été détectées à l'aval de zones forestières, ce qui n'était pas cohérent avec le mode d'occupation des sols. Sur chacun des sites concernés par ces classifications à priori douteuses, des prospections de terrain complémentaire ont permis de recenser des zones émettrices d'entrée bovine diffuse, correspondant à des parcs à génisse enclavés dans l'environnement forestier amont proche.

- **Evènements météorologiques et entrées diffuses de bactéries bovines.** La nature diffuse des contaminations bovines est bien révélée : sur l'ensemble des échantillons prélevés, on trouve des eaux d'autant plus marquées par les origines bovines que la pluviométrie hebdomadaire préalable aux prélèvements d'eau est forte (*tableau 1*). Durant ces périodes de forte pluviométrie, le ruissellement et les transferts diffus depuis les zones tassées riches en bactéries fécales bovines sont plus intenses, ce qui se traduit par une élévation de la part bovine des contaminations de l'eau.

- **Proportion d'origine et traceurs des modes de transfert de pollution.** Les résultats acquis montrent que l'hypothèse d'une origine diffuse des contaminations bovines est valide, dans la mesure où la quantité de bactéries d'origine bovine est d'autant plus forte que les traceurs des pollutions diffuses sont élevés (*tableau 2*). C'est notamment le cas avec le Phosphore total ou les MESo qui proviennent de zones actives typiquement agricoles. Lorsque la pollution de l'eau est mesurée par des traceurs de transferts diffus affectant un ensemble de surfaces émettrices non exclusivement bovines (MEST, COD), les coefficients de corrélation entre ces traceurs et la part d'origine bovine sont assez forts mais non significatifs. Enfin, les parts d'origine bovines ne sont pas liées aux indicateurs des contaminations ponctuelles (Orthophosphates, NH₄⁺), comme en témoignent les corrélations faibles et non significatives.

➤ **TABLEAU 1 : Origines bovines et pluviométrie.**

	0-5 mm	5-15 mm	> 15 mm
Nombre d'analyses révélant des contaminations bovines	11	20	30
Proportion moyenne de bactéries bovines	15 %	24 %	27 %

➤ **TABLEAU 2 : Corrélations entre part d'origine bovine et traceurs des transferts ponctuels ou diffus.**

	Phosphore total	Ortho-phosphates	NH4+	MES totales	MES organiques	Carbone organique dissous
<i>Compartiment émetteur principal</i>	Sols	Eaux usées	Eaux usées	Sols	Sols + Sédiments	Litières forestières
<i>Indication</i>	Pollutions diffuses	Pollutions ponctuelles	Pollutions ponctuelles	Pollutions diffuses	Pollutions diffuses	Pollutions diffuses
<i>Corrélation avec la part d'origine bovine</i>	$r^2 = 0.92$	$r^2 = 0.23$	$r^2 = 0.26$	$r^2 = 0.40$	$r^2 = 0.51$	$r^2 = 0.40$
<i>Signification statistique de la corrélation</i>	très hautement significative	non significative	non significative	non significative	significative	non significative

➤ PERSPECTIVES

Un faisceau de résultats montre que le référentiel développé permet de bien départager les sources bovines de celles non bovines. Les gestionnaires de l'eau et les services de développement agricoles sont des utilisateurs potentiels de ces résultats. Dans le cadre de la démarche de valorisation des résultats et dans l'objectif de tester le caractère opérationnel du référentiel sur un site sensible, nous proposerons d'identifier l'origine des contaminations microbiologiques et d'en déduire des mesures correctives ou des principes de lutte. L'intérêt est également d'associer l'ensemble des structures interpellées par la dégradation de l'eau pour évaluer les conditions de prise en main et de développement de l'AAR.

Ce projet bénéficie d'un financement spécifique dans le cadre d'Interreg III Alcotra.

Contact

Dominique Trevisan,
Tél. 04 50 26 78 30
trevisan@thonon.inra.fr

Programme de recherche-développement du GIS Alpes du Nord 2001/2006

Les travaux du GIS Alpes du Nord bénéficient du soutien financier de la Région Rhône-Alpes, de la DATAR, du ministère de l'Agriculture, du ministère de l'Écologie et du Développement durable, de l'Union européenne, ainsi que de la participation financière de l'ensemble des membres signataires de la convention du GIS : l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique), le CEMAGREF (Centre National du Machinisme Agricole du Génie Rural et des Eaux et Forêts), l'ITFF (Institut Technique Français des Fromages), l'Université de Savoie, les Conseils généraux de Haute-Savoie, Isère et Savoie, les Chambres d'agriculture de Haute-Savoie, Isère, Savoie et Rhône-Alpes, l'Aftalp (Association des Fromages Traditionnels des Alpes savoyardes) et le SUACI Montagne-Alpes du Nord (Service d'Utilité Agricole à Compétence Interdépartementale).

GIS Alpes du nord
Groupement
d'Intérêt Scientifique
des Alpes du nord

11 rue Métropole
73000 Chambéry
Tél. 33 (0)4 79 70 77 77
Fax 33 (0)4 79 85 07 79
suacigis@suacigis.com

Ateliers
DU GIS