

# Relation entre les bactéries indicatrices de contamination fécale et les pathogènes hydriques

Françoise Lucas<sup>1\*</sup>, Claire Therial<sup>1</sup>, Mohamed Saad<sup>1</sup>, Manel Naloufi<sup>1</sup>, Marion Goulet<sup>2</sup>, Sébastien Wurtzer<sup>2</sup>, Laurent Moulin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Eau, Environnement et Systèmes Urbains, Université Paris-Est Créteil, Ecole des Ponts ParisTech

<sup>2</sup> Laboratoire Recherche Biologie, Eau de Paris

\* lucas@u-pec.fr

## Résumé

*La directive 2006/7/CE, qui a sécurisé la baignade en Europe, s'appuie sur des seuils de contamination en bactéries indicatrices fécales (BIF). Toutefois les corrélations entre BIF et pathogènes hydriques n'ont pas été vérifiées dans différentes conditions météorologiques et hydrologiques. L'objectif est d'évaluer la pertinence de la relation entre BIF et agents pathogènes dans des zones de baignade potentielle. Une première campagne de prélèvement a été réalisée dans le bassin de la Villette. Les résultats préliminaires montrent une faible corrélation entre la présence de BIF et les pathogènes hydriques. Il sera toutefois nécessaire de consolider la conclusion avec des données sur d'autres sites d'hydrologie et niveaux de contamination différents.*

## Points clefs

- ✓ *Asynchronicité entre BIF et virus aquatiques dans les eaux du bassin de la Villette*
- ✓ *Contamination essentiellement d'origine humaine*
- ✓ *Résultats à consolider sur la Seine et la Marne*

## Abstract

The bathing Directive 2006/7/EC, which made swimming safer in Europe, is based on contamination thresholds for fecal indicator bacteria (FIB). However, the correlations between BIF and waterborne pathogens have not been verified in different meteorological and hydrological conditions. The objective of this study is to assess the relevance of the relationship between FIB and waterborne pathogens in potential bathing areas. A first sampling campaign was carried out in the La Villette basin. The first results show a weak correlation, however it will be necessary to consolidate the conclusion with data from other sites with contrasted hydrological characteristics and different contamination levels.

## Key points

- ✓ *Asynchrony between BIF and aquatic viruses in the waters of the Bassin de la Villette*
- ✓ *Contamination mainly of human origin*
- ✓ *Results to be consolidated on the Seine and the Marne rivers*

## Introduction

La directive 2006/7/CE a sécurisé la baignade en Europe en fournissant un cadre réglementaire pour cet enjeu. Sur la base d'un traitement statistique de données épidémiologiques, des valeurs seuils en bactéries indicatrices fécales (BIF) ont été déterminées afin d'estimer la qualité microbiologique de l'eau (risque de présence de pathogènes fécaux). Aujourd'hui, les changements d'usage et de politique de l'eau, dans un contexte de changement climatique (événements pluvieux extrêmes...), auxquels s'ajoute l'émergence de pathogènes, peuvent générer de nouveaux risques pour la population. Ainsi, l'organisation d'activités récréatives et sportives dans les rivières urbaines nécessite de revisiter la pertinence de la directive.

Dans ce contexte, ce projet vise à évaluer la pertinence de la relation entre BIF et agents pathogènes dans des zones de baignade potentielle. Le dénombrement des BIF sera réalisé par culture selon la réglementation. Sur les mêmes échantillons, la recherche des principaux pathogènes hydriques sera menée :

- Virus entériques : norovirus GI et GII, adénovirus, rotavirus, entérovirus ;
- Bactéries : résistantes aux antibiotiques, *Campylobacter jejuni*, *C. lari*.

L'origine des contaminations microbiennes sera confirmée par des approches de « *Microbial Source Tracking* », notamment les indicateurs viraux et bactériens spécifiques de sources et l'approche par comparaison de communautés bactériennes. En outre, les échantillons filtrés seront analysés en spectrofluorescence 3D, afin d'estimer la proportion d'eaux usées traitées dans l'échantillon et ainsi de mieux interpréter les résultats obtenus.

Dans le cadre du programme OPUR, les pathogènes présents dans les rejets pluviaux seront analysés de la même manière. De plus, sur le bassin de la Villette, un couplage entre la station d'alerte mesurant les BIF *in situ* (Fluidion) et un modèle hydrodynamique 3D est en cours de développement en vue de compléter le système d'alerte mis en place pour la baignade de la Villette.

## 1. Actions réalisées en 2021

Afin de pouvoir vérifier la relation entre les BIF et les pathogènes dans différentes conditions, des eaux de surface des rivières franciliennes par temps sec et par temps de pluie seront collectées sur des sites contrastés du point de vue de l'hydrologie et des niveaux de contamination microbiologique. Une première campagne a été réalisée au **Bassin de la Villette** au pont de Crimée de juin à septembre 2021 (trois prélèvements de temps sec et échantillonnage de trois événements pluvieux sur trois jours) en collaboration avec le Service des Canaux de la Ville de Paris. Un nouveau site en Marne est identifié au **club de Voile du quartier la Pie à Saint-Maur-des-Fossés**. Ce site sera visité en novembre 2021. Enfin, le site historique de suivi d'**Eau de Paris à Ivry** pourrait être équipé d'un préleveur automatique.

Pour les campagnes de prélèvement de la Villette, les paramètres mesurés sont les indicateurs de contamination fécale réglementaires (*Escherichia coli* et les entérocoques intestinaux), les indicateurs viraux de contamination fécale (CrAssphages, PMMoV, phages à ARN F spécifiques), les adénovirus, les rotavirus, les entérovirus et les norovirus. L'ADN n'a pas encore été extrait pour les indicateurs de contaminations fécales bactériens spécifiques des sources de contaminations fécales (humaines, canines, aviaires et analyse de communautés). Les densités d'*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux (nombre le plus probable (NPP)/100 mL) ont été mesurés selon les normes NF EN ISO 9308-3 et NF EN ISO 7899-1. Les phages à ARN F spécifiques, les PMMoV (*pepper mild mottle virus*), les *cross-assembly phages* (CrAssPhages), les entérovirus, les adénovirus, les rotavirus A et les norovirus de groupes I et II (GI et GII) ont été mesurés par le laboratoire d'Eau de Paris par PCR quantitative en temps réel (Unité de génome/L ou UG/L).

## 2. Résultats préliminaires

### Caractéristiques des campagnes

Les campagnes de temps sec qui ont été réalisées étaient précédées d'au moins trois jours consécutifs de temps sec. Les campagnes de temps de pluie étaient caractérisées par des précipitations de 7.2, 15.5 et 18.8 mm par 24 h, ce qui offre un gradient de pluviométrie. Elles ont été réalisées sur trois jours d'affilée.

Par temps sec, les concentrations en BIF étaient en moyenne de 136 NPP/100 ml pour *E. coli* et de 75 NPP/100 ml pour les entérocoques intestinaux. Les norovirus GII (2544 unités de génomes/L en moyenne) et les rotavirus (11531 UG/L en moyenne) étaient présents en concentrations notables. Les norovirus GI, adénovirus et entérovirus étaient faiblement présents, voire en dessous de la limite de quantification. Les sources de contamination semblaient essentiellement humaines en temps sec, avec des concentrations moyennes en CrAssphage de 2117 UG/L, et pour les PMMoV de 4985 UG/L. Les phages à ARN F spécifiques étaient faiblement présents.

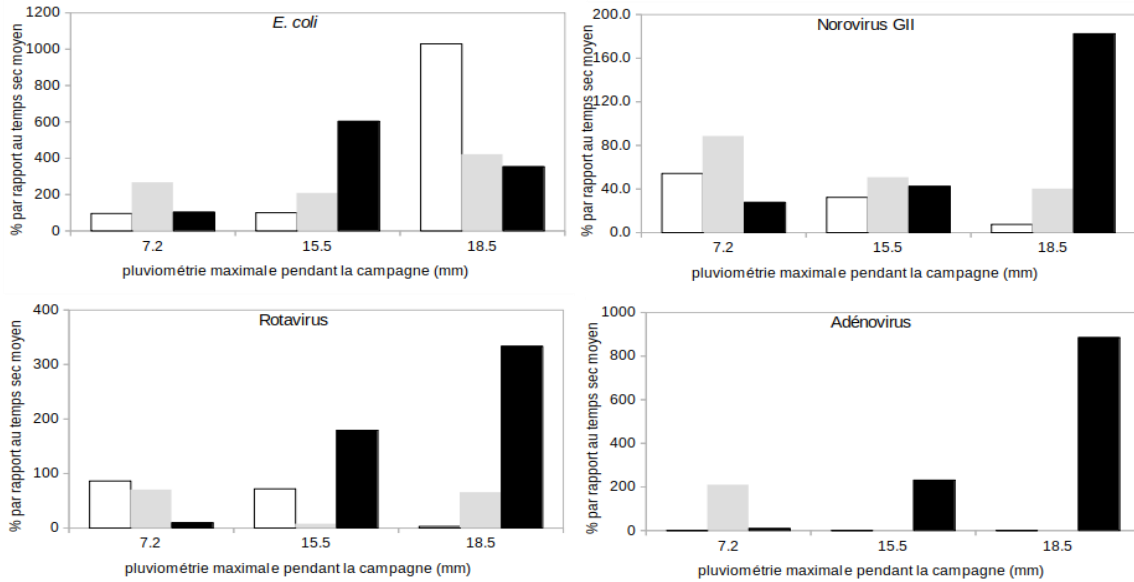


Figure 1. Evolution des paramètres microbiologiques sur 3 jours après une pluie (blanc : J0, gris : J1, noir : J2).

En temps de pluie, la contamination restait majoritairement d'origine humaine. Les CrAssphages ont augmenté jusqu'à 370 % par rapport au temps sec, et les phages à ARN F spécifiques de génotype 2 jusqu'à 184 %. La dynamique sur les deux jours suivant la pluie différait entre les paramètres microbiologiques comme le montre la Figure 1 pour *E. coli* et trois des virus entériques.

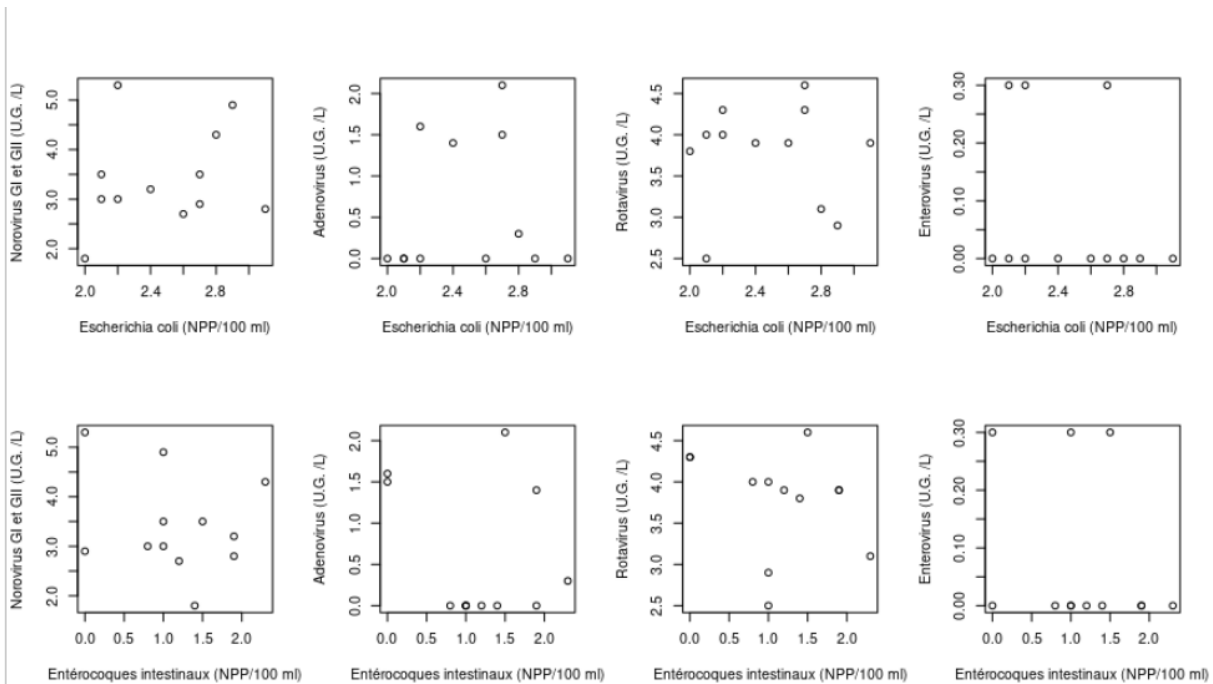


Figure 2. Relation entre les indicateurs réglementaires (*E. coli* et les entérocoques intestinaux) et les pathogènes viraux, au bassin de la Villette par temps sec et temps de pluie.

Cette asynchronie explique pourquoi les relations entre les indicateurs de contamination fécale réglementaires et les virus entériques ne sont pas évidentes (Figure 2). Un manque de relation avait déjà été montré pour les densités d'*E. coli* et celles des virus entériques en Seine en temps sec (Prevost et al. 2015). Toutefois, il faut noter la particularité du bassin de la Villette, qui présente un débit très lent et très régulier (3,4 m<sup>3</sup>/s sur le canal et 2,7m<sup>3</sup>/s sur le bassin de la Villette). A 11 km se situe le rejet du Rouaillé, qui ne surverse que lors d'évènements pluvieux intenses. Les autres rejets sont situés plus en amont, à Sevran et Tremblay (SAFEGE, 2017).

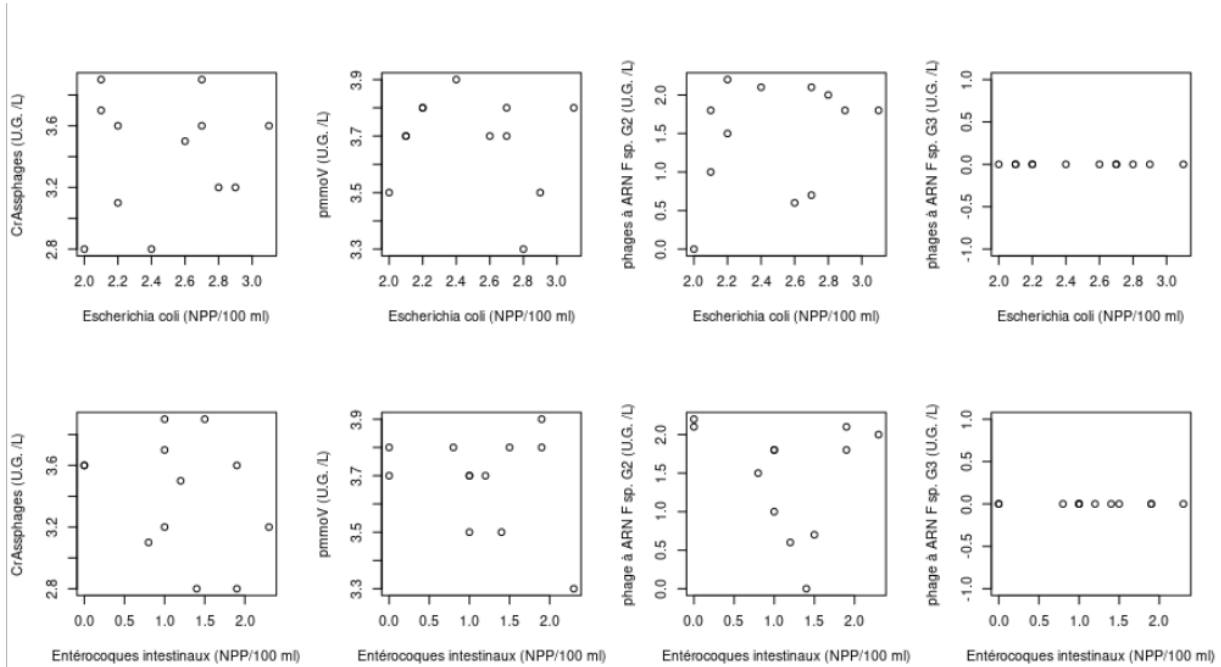


Figure 3. Relation entre les indicateurs réglementaires (*E. coli* et les entérocoques intestinaux) et les indicateurs viraux spécifiques des sources humaines, au bassin de la Villette par temps sec et temps de pluie.

La relation entre les indicateurs de contamination fécale réglementaire et les indicateurs viraux spécifiques des sources de contamination humaine (CrAssphage, PMMoV et phages à ARN F spécifiques de génotypes 2 et 3 n'est pas non plus évidente (Figure 3), ceux-ci ayant également des dynamiques différentes durant les trois campagnes de temps de pluie. Généralement, les CrAssphages et les PMMoV sont abondants et hautement associés avec les rejets des réseaux d'assainissement (Bivins et al. 2020). Ils corréleraient plutôt bien avec les indicateurs de contamination fécale réglementaires dans les eaux de surface après un évènement polluant ou un évènement pluvial (Ahmed et al. 2019, Ballest et al. 2019, Saeidi et al. 2018).

## Conclusion

Cette première campagne sur le bassin de la Villette au pont de Crimée a permis de montrer la présence de virus entériques en concentrations élevées en été, même hors période épidémique. Elle montre également que la contamination est essentiellement d'origine humaine. Ce résultat sera affiné avec l'analyse des indicateurs bactériens spécifiques de sources humaines, canines, et aviaires. La dynamique temporelle des différents paramètres microbiens semble différer lors des évènements pluvieux et durant les deux jours suivants. Toutefois, l'hydrodynamique et le réseau d'assainissement impactant le bassin de la Villette sont assez particuliers, de plus les eaux du bassin présentent des concentrations en *E. coli* et entérocoques intestinaux relativement faibles. Ces premiers résultats seront donc à consolider avec des campagnes sur la Marne et la Seine.

## Bibliographie

- Ahmed W., Payyappat S., Cassidy M., and C. Besley (2019). Enhanced in-sights from human and animal host-associated molecular marker genes in a freshwater lake receiving wet weather overflows. *Sci Rep* 9, 1-13.
- Balleste E., Pascual-Benito M., Martin-Diaz J., Blanch A.R., Lucena F., Muniesa M., Jofre J., and C. Garcia-Aljaro (2019). Dynamics of crAssphage as a human source tracking marker in potentially faecally polluted environments. *Water Res* 55, 233-244.
- Bivins A., Crank K., Greaves J., North D., Wu Z., and K. Bibby (2020). Cross-assembly phage and pepper mild mottle virus as viral water quality monitoring tools—potential, research gaps, and way forward. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 16, 54-61
- Communauté Européenne (2016). Directive 2006/7/CE du Parlement Européen et du Conseil du 15 février 2016 concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE, Journal officiel de l'Union Européenne (4 mars 2016)
- Prevost B., Lucas F.S., Goncalves A., Richard F., Moulin L., and S. Wurtzer (2015). Large scale survey of enteric viruses in river and waste water underlines the health status of the local population. *Environ Int.* 79, 42-50.
- Saeidi N., Gu X., Tran N.H., Goh S.G., Kitajima M., Kushmaro A., Schmitz B.W., Gin K.Y. (2018). Occurrence of traditional and alternative fecal indicators in tropical urban environments under different land use patterns. *Appl Environ Microbiol* 84, e00287-18.
- SAFEGE (2017). Elaboration d'un profil de baignade pour une baignade publique sur le bassin de la Villette à Paris, Rapport de phase 1 : Etat des lieux, Suez Consulting, pp 143