

# Importance des sédiments et de la végétation aquatique en tant que réservoir d'indicateurs de contaminations fécales et de bactéries pathogènes

Période : novembre 2010 à mars 2011

**Stéphanie PETIT\* et Benoît COURNOYER\*\***

\* Université Claude Bernard Lyon 1 – UMR CNRS 5557 Écologie Microbienne – Eq Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement – Villeurbanne

\*\* CNRS – UMR CNRS 5557 Écologie Microbienne – Eq Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement – Villeurbanne

**Mots clés : Bactéries pathogènes, Germes témoins de contamination fécale, Milieu aquatique, Sédiments, Taux de survie, Transport bactérien, Végétation aquatique**

Plusieurs travaux de recherche font aujourd'hui état d'une colonisation des milieux aquatiques par les bactéries indicatrices de contaminations fécales. Ces indicateurs bactériens ont été initialement développés pour simplifier les procédures d'évaluation des risques de contraction de gastro-entérite suite à une exposition humaine (fécale-orale) à des eaux de baignade contaminées par les agents étiologiques d'origine fécale (Prüss, 1998; Zmirou *et al.*, 2003; Wade *et al.*, 2003). Selon les données récentes de la littérature, ces bactéries indicatrices (*Escherichia coli* et entérocoques intestinaux) semblent pouvoir persister dans les cours d'eau sur des supports tels que les sédiments (Ishii *et al.*, 2006) et les végétaux aquatiques (Byappanahalli *et al.*, 2003).

Si les sédiments peuvent constituer un habitat pour les bactéries indicatrices de contaminations fécales, il apparaît très probable que certaines formes pathogènes, principalement bactériennes, puissent également s'y développer, augmentant les risques d'infection pour l'homme lors de perturbations du lit d'un cours d'eau. Nous pouvons citer entre autre des bactéries adaptées aux milieux hydriques telles que les *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, mycobactéries non-tuberculeuses, et les *Burkholderia* du *cepacia* complexe. Cependant, peu d'études ont décrit d'une part la présence de bactéries pathogènes dans ces substrats et d'autre part, les expositions humaines associées (par ex. Donovan *et al.*, 2008). Lors d'une forte crue, le lit d'une rivière est fortement modifié conduisant, entre autre, à une remise en suspension des micro-organismes associés aux sédiments ou se développant sous la forme de biofilm<sup>(1)</sup> (George Anzil et Servais, 2004; Reeves *et al.*, 2004; Ishii *et al.*, 2006; Ksoll *et al.*, 2007). Les publications analysées dans cette note présentent diverses approches et résultats permettant de préciser les conditions de survie des bactéries (pathogènes ou non) dans les sédiments et matrices végétales associées (Chandran *et al.*, 2011) ainsi que leur dynamique spatio-temporelle en fonction de divers paramètres abiotiques (Badgley *et al.*, 2010).

## Évaluation des risques potentiels pour la santé publique liés à la survie prolongée des bactéries indicatrices et pathogènes dans les sédiments d'eau douce

Chandran A, Varghese S, Kandler E, Thomas A, Hatha M, Mazumder A. An assessment of potential public health risk associated with the extended survival of indicator and pathogenic bacteria in freshwater lake sediments. *Int J Hyg Environ Health*. 2011; doi: 10.1016/j.ijheh.2011.01.002

### Analyse

Chandran *et al.* (2011) présente des données concernant la survie de la bactérie *E. coli* mais aussi des espèces pathogènes *Vibrio parahaemolyticus*<sup>(2)</sup> et *Salmonella paratyphi*<sup>(3)</sup> dans les eaux et sédiments du lac Vembanadu, sur la côte ouest de l'Inde. Trois zones de la partie sud du lac, soumises à des perturbations hydrologiques liées au fonctionnement d'un barrage salin,

ont été analysées. Les données ont été produites, en partie, par étude en microcosme composé de carottes de sédiment benthique<sup>(4)</sup> (0 - 10 cm) additionnée d'eau de surface, et inoculé de 10<sup>8</sup> cellules bactériennes par mL, pour chacune des trois espèces *V. parahaemolyticus*, *S. paratyphi* et *E. coli*. Elles ont également été produites en utilisant des mélanges artificiels de sédiments (100 g), dont la composition en sable, argile, limon, et matière organique a été estimée, et de cellules bactériennes. Ces approches sont peu représentatives des contextes naturels où des concentrations beaucoup plus faibles (environ 1-100 UFC. mL<sup>-1</sup>) de ces bactéries ont été observées. Les souches pathogènes utilisées ont par contre été isolées du lac Vembanadu par Abhirosh, Hatha et Sherin (2008) et permis de limiter une partie des effets d'une acclimatation au milieu. La survie des bactéries a été étudiée en effectuant des dénombrements sur milieux gélosés électifs pendant une période de 27 jours. Une valeur Tgo<sup>(5)</sup>, temps (en jours) pour obtenir une diminution

d'un log de la concentration bactérienne, a été mesurée. Des tendances T<sub>90</sub> similaires ont été observées pour les 3 espèces bactériennes étudiées. Des T<sub>90</sub> supérieures par un facteur deux ont été observés pour les sédiments par comparaison avec les valeurs obtenues pour les eaux de surface. D'autres études avaient également observé cette meilleure survie dans les sédiments (par ex. Craig, Fallowfield et Cromar, 2004) mais des valeurs T<sub>90</sub> distinctes avaient été obtenues. Le type d'environnement, la nature des sédiments, les souches utilisées seraient responsables de ces divergences entre études. Les analyses avec carottes de sédiment et eaux de surface stériles mais inoculées avec les espèces bactériennes ciblées ont suggéré un effet de la composante biologique dans les abattements observés précédemment. De plus, la prédation par les protozoaires et l'activité lytique des bactériophages pourraient expliquer les abattements plus élevés des formes bactériennes libres des eaux de surface que ceux obtenus pour les formes adsorbées aux particules de sédiments. Le sédiment conférerait une protection contre les prédateurs. Il serait également un support permettant un développement sous la forme de biofilm et permettant une meilleure résistance à certains stress physico-chimiques. Les microcosmes constitués d'un mélange homogène de sédiments et bactéries ont confirmé les observations avec carottes de sédiment. Une des originalités de cet article réside dans l'étude de l'impact de la charge en carbone organique et de la taille des particules sédimentaires sur la survie bactérienne. Il s'avère que les environnements constitués de fines particules comme l'argile et fortement chargés en carbone organique contribueraient à augmenter la survie des espèces étudiées. Sur le site expérimental, lorsque le barrage est fermé, les flux hydrologiques naturels sont bloqués ce qui conduirait à une accumulation de matière organique et serait favorable à la survie voire la multiplication bactérienne.

#### Commentaire

Dans leur article précédent, les auteurs ont pu observer une forte prévalence des bactéries pathogènes *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* et des sérotypes pathogènes d'*Escherichia coli* dans les sédiments du lac Vembanadu (Abhirosh *et al.*, 2008). Cette observation suggère des entrées importantes de bactéries pathogènes *via* des déversements d'eaux usées, un ruissellement urbain ou d'autres sources comme les mollusques. Les travaux de l'article étudié dans cette note de synthèse suggèrent une persistance élevée des espèces pathogènes citées dans les sédiments, avec une possible remise en suspension suite à certaines activités comme le dragage ou encore les activités de baignade. Les dangers de cette remise en suspension *via* les sédiments mériteraient cependant d'être comparés aux rejets de ces formes pathogènes par les mollusques. Des études complémentaires reliant concentrations en bactéries pathogènes ou bactéries indicatrices de la présence d'entéro-pathogènes dans les sédiments et la déclaration de certaines infections seraient également souhaitables. Toutefois, cette étude montre clairement qu'il est essentiel de s'intéresser aux cellules pathogènes adsorbées aux particules et se déposant sur les fonds

lacustres (et autres contextes similaires). Ces particules peuvent être remises en suspension par certaines pratiques comme les activités récréatives, la pêche ou encore l'utilisation de l'eau à des fins d'irrigation et indiquant un dragage du lac Vembanadu pour en extraire les coquilles de mollusques. Des procédés pourraient être envisagés pour empêcher la stagnation des eaux et l'accumulation des particules favorables à l'installation, la survie et la croissance bactérienne. Cependant, il est à noter que des changements significatifs de régimes hydrologiques pourraient conduire également à des remises en suspension des formes pathogènes.

#### Importance des sédiments et de la végétation aquatique comme habitats potentiels de souches d'entérocoques persistantes dans un bassin-versant subtropical

Badgley BD, Nayak BS, Harwood VJ. The importance of sediment and submerged aquatic vegetation as potential habitats for persistent strains of enterococci in a subtropical watershed. *Water Res.* 2010; 44: 5857-5866

#### Analyse

Cette étude avait comme objectif d'étudier les dynamiques spatio-temporelles des populations d'entérocoques dans le bassin-versant de Tempa Bay en Floride sur une période d'un an. Pour cela, la concentration en entérocoques a été estimée mensuellement (selon la méthode normalisée pour les entérocoques intestinaux) dans les sédiments, la végétation aquatique et les eaux de surface de 6 sites de ce bassin-versant, représentant une diversité de conditions hydrodynamiques, géomorphologiques, salines, et un gradient d'urbanisation. La structure génétique des entérocoques de ce bassin-versant a par la suite été analysée en effectuant des études d'épidémiologie moléculaire basées sur la méthode des PCR « box »<sup>(6)</sup> ciblant des séquences d'ADN retrouvées en plusieurs copies dans les génomes bactériens. Cette méthodologie n'est pas très résolutive mais permet une première estimation de la diversité à l'échelle de groupes complexes comme celui des entérocoques. Les génotypes les plus abondants ont fait l'objet d'une analyse phylogénétique par séquençage de leur gène codant l'ARNr 16S. Cette approche permet une classification au niveau de l'espèce. De façon générale, les auteurs ont pu constater que la concentration en entérocoques était significativement plus élevée dans les sédiments et la végétation aquatique que dans les eaux de surface et cela pour l'ensemble des sites étudiés. En 2010, Balzer *et al.* avaient observé une situation similaire pour plusieurs rivières allemandes. Les auteurs ont également montré que les eaux douces (lac, petits cours d'eaux et rivière) présentaient des concentrations en entérocoques plus abondantes chez les végétaux aquatiques que dans les sédiments. Pour les estuaires, des concentrations similaires ont été observées pour ces deux matrices. Les différences d'entérocoques de ces milieux peuvent s'expliquer 1) par une diversité végétale distincte modifiant les interactions, 2) une sensibilité au taux de salinité, et 3) un effet dilution augmentant depuis la source, le petit cours d'eau, la

rivière jusqu'à l'estuaire. Les fortes densités en entérocoques observées au niveau de la végétation aquatique, ainsi qu'au niveau des sédiments confortent l'idée que ces matrices peuvent constituer un réservoir de ces bactéries (George, Anzil et Servais, 2004; Byappanahalli *et al.*, 2003). Ces habitats constituent une niche riche en nutriments, une protection contre la prédation ainsi qu'une protection contre la dessiccation et les radiations UV, autant de paramètres favorables à la persistance et à la croissance bactérienne.

La structure génétique « box » de la population d'entérocoques a été étudiée par analyse de 277 isolats. Les isolats ont été sélectionnés aléatoirement. 227 (81 %) isolats ont été trouvés spécifiques d'un même échantillon, suggérant une faible redondance entre sites. Certains génotypes « box » ont cependant été retrouvés sur plusieurs sites, matrices et sur plusieurs saisons. La proportion de souches uniques a varié selon les saisons. Elle a été plus grande en automne et hiver. Une plus grande diversité a été observée (65 % de souches uniques) dans les sédiments que chez les végétaux aquatiques et dans les eaux de surface (33 % et 28 %, respectivement). Globalement, la population d'entérocoques étudiée dans cet article a donc présenté une structure génétique « box » variable et une dynamique complexe. Certaines souches semblent cependant adaptées à cet environnement hydrique, comme les souches du groupe « box » J45 de l'espèce *Enterococcus hirae* (selon la séquence 16S rDNA). Les souches de type J45 sont nettement moins abondantes que celles des autres groupes dominants mais elles ont été retrouvées dans chaque type de matrice, sur chaque site et à chaque saison. Le groupe de souches J35 d'*Enterococcus faecium*, espèce typiquement associée aux fèces et eaux usées, a été retrouvé dans plus de 20 % des échantillons et est particulièrement abondant. La faune sauvage, les pratiques agricoles ou l'urbanisation du bassin-versant peuvent constituer les sources directes ou indirectes en entérocoques de ce bassin-versant. Un apport régulier de cette bactérie expliquerait la diversité de population observée mais certaines espèces, voire certaines souches, aux configurations génétiques particulières pourraient s'adapter aux différents environnements hydriques de ce bassin-versant expliquant la détection de génotypes « box » dominants ou récurrents.

#### Commentaire

L'originalité de cet article réside dans le fait que le suivi de population de la bactérie indicatrice de contamination fécale *Enterococcus* a été réalisé sur plusieurs types de matrices et sites recouvrant une grande partie du bassin-versant de Tempa Bay. Néanmoins, la méthode utilisée par les auteurs pour l'étude de la structure génétique de populations peut entraîner des biais dans l'interprétation de la diversité observée. En effet, la PCR « box » permet uniquement une étude des formes cultivables et nécessite de limiter le nombre d'isolats analysés à quelques représentants pour chaque type de prélèvements.

Cette étude renforce l'idée que les sédiments et la végétation aquatique peuvent concentrer les bactéries indicatrices de la contamination fécale. Ces formes bactériennes pourraient

représenter des quantités significatives après remises en suspension dans l'eau de surface, lors de fortes crues ou suite à certaines pratiques, et créer une certaine confusion dans l'appréciation de la qualité des eaux. La forte prévalence des entérocoques chez la végétation aquatique suggère que ce type de support peut constituer un biofiltre permettant la rétention de contaminants exogènes mais aussi une niche favorable au maintien et à l'adaptation de populations bactériennes dont les formes pathogènes.

#### CONCLUSION GÉNÉRALE

À travers les deux études présentées dans cette note, nous pouvons constater que les sédiments et les végétaux aquatiques, tels que les algues et les mousses, peuvent concentrer les indicateurs bactériens de la contamination fécale et constituer un réservoir probable de micro-organismes pathogènes de l'Homme. Des études approfondies doivent désormais être réalisées sur les conditions de remise en suspension de ces agents bactériens à partir de ces deux supports, et sur les risques sanitaires d'une exposition humaine aux formes libérées. Ces micro-organismes peuvent s'être adaptés aux milieux colonisés et avoir contre-sélectionné des propriétés de virulence importantes pour une colonisation humaine, et ainsi évolué vers une virulence réduite. A contrario, ces milieux peuvent également avoir favorisé les échanges génétiques entre formes pathogènes et conduit à l'émergence de nouvelles formes potentiellement plus virulentes. Ces deux possibilités doivent être étudiées pour permettre une meilleure appréciation des risques sanitaires liés aux rejets d'organismes pathogènes dans l'environnement *via* diverses sources dont les eaux usées. Les articles sélectionnés montrent clairement que nous sommes encore loin d'avoir cerné et identifié l'ensemble des répercussions que peuvent avoir certaines pratiques sur l'évolution des agents infectieux et les expositions humaines à ces organismes.

#### Lexique

- (1) Biofilm : ici le terme biofilm fait particulièrement référence au biofilm épilithique se développant sur les surfaces submergées, constitué d'algues, de diatomées, de champignons, de protozoaires et de bactéries.
- (2) *Vibrio parahaemolyticus* : bactérie faisant partie de la microflore aquatique et responsable d'une grande partie des maladies hydriques *via* la consommation de mollusques.
- (3) *Salmonella paratyphi* : *Salmonella* responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes ayant l'homme pour seul réservoir, la contamination se fait par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale d'origine humaine.

- (4) Sédiment benthique: sédiment constituant le fond du milieu aquatique considéré (lac, rivière, océan), se situant entre 0 et 10 cm de profondeur.
- (5) T<sub>90</sub>: temps correspondant à une diminution d'un log de la concentration bactérienne.
- (6) BOX-PCR: les éléments BOX sont des séquences répétées dans le génome bactérien. L'amplification, par un couple d'amorces, de ces éléments répétés permet d'obtenir des profils du génome, utilisés comme outil de typage bactérien.

## Publications de référence

**Abhirosh C, Hatha AAM, Sherin V.** Increased prevalence of indicator and pathogenic bacteria in Vembanadu lake: a function of salt water regulator, along south west coast India. *J Water Health.* 2008; 06: 539-546.

**Balzer M, Witt N, Flemming HC and Wingender J.** Faecal indicator bacteria in river biofilms. *Water Sci and Technol.* 2010; 61: 1105-1111.

**Byappanahalli MN, Shively DA, Nevers MB et al.** Growth and survival of *E. coli* and enterococci populations in the macro-alga *Cladophora*. *FEMS Microbiol Ecology.* 2003; 46: 203-211.

**Craig DL, Fallowfield HJ, Cromar NJ.** Use of microcosms to determine persistence of *Escherichia coli* in recreational coastal water and sediment and validation with *in situ* measurements. *J Appl Microbiol.* 2004; 96: 922-930.

**Donovan EP, Staskal DF, Unice KM et al.** Risk of gastrointestinal disease associated with exposure to pathogens in the sediments of the lower passaic river. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74: 1004-1018.

**George I, Anzil A, Servais P.** Quantification of fecal coliform input to aquatic systems through soil leaching. *Water Res.* 2004; 38: 611-618.

**Ishii S, Ksoll WB, Hicks RE et al.** Presence and growth of naturalized *E. coli* in temperate soils from lake superior watersheds. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 612-621.

**Ksoll WB, Ishii S, Sadowsky MJ et al.** Presence and sources of fecal coliform bacteria in epilithic periphyton communities of Lake Superior. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73: 3771-3778.

**Reeves RL, Grant SB, Mrse RB et al.** Scaling and management of fecal indicator bacteria in runoff from a coastal urban watershed in southern California. *Environ Sci Technol.* 2004; 38: 2637-2648.

**Prüss A.** Review of epidemiological studies on health effects from exposure to recreational water. *Int J Epidemiol.* 1998; 27: 1-9

**Wade TJ, Pai N, Eisenberg JN et al.** Do US EPA water guidelines for recreational waters prevent gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect.* 2003; 111: 1102-1109.

**Zmirou D, Pena L, Ledrans M et al.** Risks associated with the microbiological quality of bodies of fresh and marien water used for recreational purposes: summary estimates based on published epidemiological studies. *Arch Environ Health.* 2003; 58: 703-711.

## Autres publications identifiées

**Quattara NK, Passerat J, Servais P.** Faecal contamination of water and sediment in the rivers of the Scheldt drainage network. *Environ Monit Assess.* 2011. Sous presse

*Les auteurs ont suivi sur un an les niveaux de contamination en E. coli et en entérocoques intestinaux dans les eaux de surface, les sédiments et les sources de pollution diffuse ou ponctuelle du bassin-versant de Scheldt. Ce bassin-versant a pour caractéristique de recouvrir une zone géographique de 22 000 km<sup>2</sup> de part et d'autre de la frontière franco-belge où les activités industrielles et agricoles sont très développées. La comparaison des abondances respectives de chacun des systèmes étudiés, a permis d'identifier les causes significatives de pollution microbiologique des différents cours d'eau du bassin-versant.*

**Gao G, Falconer RA, Lin B.** Numerical modeling of sediment-bacteria interaction processes in surface waters. *Water Res.* 2011; 45: 1951-1960

*L'étude du transport des sédiments est aujourd'hui un facteur important dans la compréhension et la prédiction des niveaux de contamination bactérienne des eaux de surface. Les auteurs ont développé un modèle numérique visant à modéliser cette interaction sédiment-bactérie. Si la modélisation de telles interactions reste minimale, des efforts dans ce domaine sont à encourager.*

**Badgley BD, Thomas FIM, Harwood VJ.** Quantifying environmental reservoirs of fecal indicator bacteria associated with sediment and submerged aquatic vegetation. *Environ Microbiol.* 2011; doi: 10.1111/j.1462.2920.2010.02397.x.

*L'objectif de cette étude est d'identifier et d'examiner la contribution relative de différents réservoirs, tels que les sédiments, la végétation aquatique submergée et l'eau, dans la contamination en entérocoques des milieux aquatiques. Bien que la modélisation du transport et du devenir des germes témoins de contaminations fécales reste complexe, les auteurs présentent dans cet article un modèle simple permettant de définir les conditions sous lesquelles le réservoir benthique peut affecter la qualité microbiologique de la colonne d'eau. Ainsi cette publication souligne l'importance du suivi des sédiments mais aussi du système végétal submergé dans la surveillance des environnements aquatiques.*

**Halliday E, Gast RJ.** Bacteria in beach sands: an emerging challenge in protecting coastal water quality and bather health. *Environ Sci Technol.* 2011; 45: 2730-2739.

*Cet article recense les données concernant l'abondance et la distribution des germes témoins de contamination fécale et des organismes pathogènes détectés dans le sable sous différentes conditions climatiques et anthropiques. Les auteurs identifient ainsi les points clés et les démarches scientifiques à mettre en œuvre pour améliorer les programmes de surveillance sanitaire des plages.*

## Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Bacteria, Pathogens, Sediments, Transport.