Identification des sources de contamination fécale dans un espace littoral connaissant des pratiques de tourisme et de loisir ; Utilisation combinée de marqueurs biologiques, chimiques : Exemple de la baie d'Aytré.

Méry Ndione (doctorante La Rochelle Université)

Direction de thèse:
Hélène Agogué (Ecologie microbienne, Laboratoire LIENSs)
Luc Vacher (Géographie, Laboratoire LIENSs)

Responsables scientifiques :
Tony Agion (Directeur Eaux Environnement, QUALYSE)
Michaël Treilles (Directeur R & D Biologie, QUALYSE)

Présentation des résultats du projet ICOMABIO

Plan de la présentation

- Présentation du programme ICOMABIO
- Rappel des premiers résultats de la thèse
- Présentation des résultats sur la caractérisation de l'origine de la contamination fécale
- Résultats de l'enquête réalisée en 2020 sur l'évolution des pratiques au niveau de la plage

Contexte scientifique

La baie d'Aytré

- Contamination fécale persistante (20taine d'années) avec des pics très marqués en *E. coli* et en entérocoques en été
- Plusieurs travaux d'aménagement pour améliorer la qualité microbiologique de cette plage
- Origine inconnue de la contamination

2018

Normes européennes 2006/7/CE

Impacts sur le développement touristique et l'économie locale

Programme ICOMABIO

Approche pluridisciplinaire et intégrative

- Microbiologie
- Ecologie microbienne
- Géographie, sciences humaines
- Approches physiques (courantologie, vents)
- et biologiques (avifaune)

- nouveaux outils de détection (MALDI-TOF)
- perception de la contamination par les populations
- nouvel indicateur intégré de la qualité de l'eau

Thèse (2018-2021)

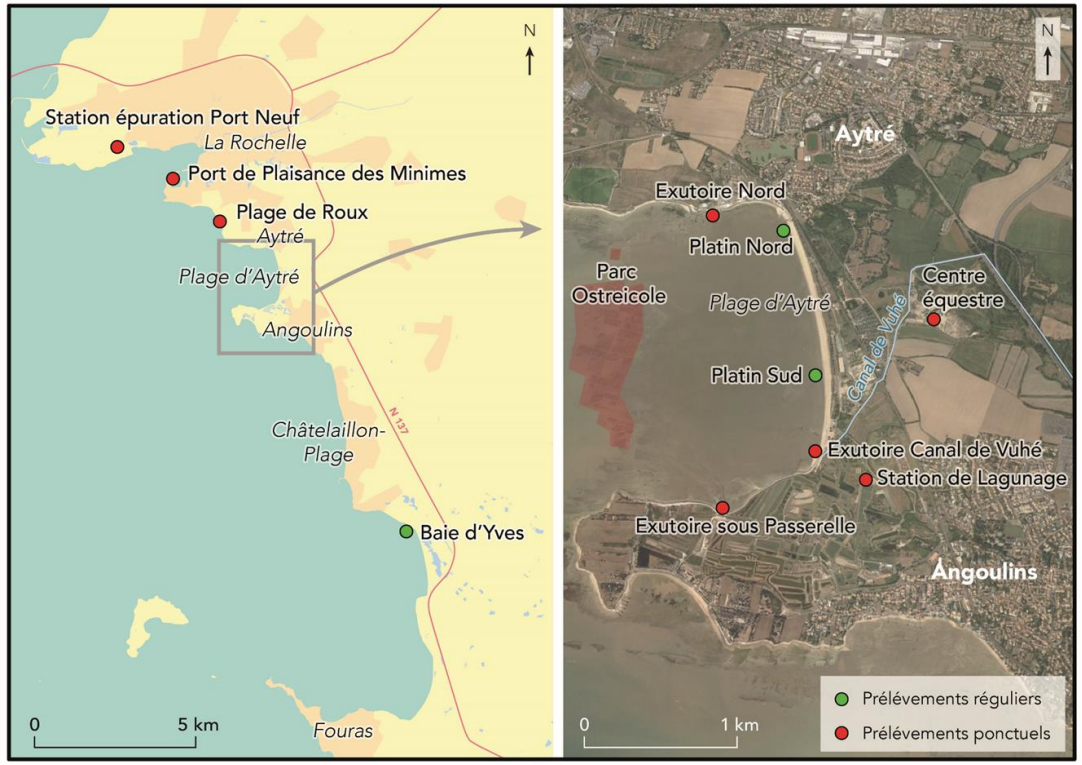
Identifier les sources de la contamination fécale dans la baie d'Aytré

Echantillonnage d'eau et de sédiment pendant une année

45 campagnes d'échantillonnage de février 2019 à février 2020

- ✓ Eau et sédiment ➔ quantifier des indicateurs de contamination fécale par les méthodes normées
- ✓ Paramètres physico-chimiques (pH, salinité, O_2dissous…)
- ✓ Paramètres climatiques (température air et eau, pluviométrie, vitesse vent…)

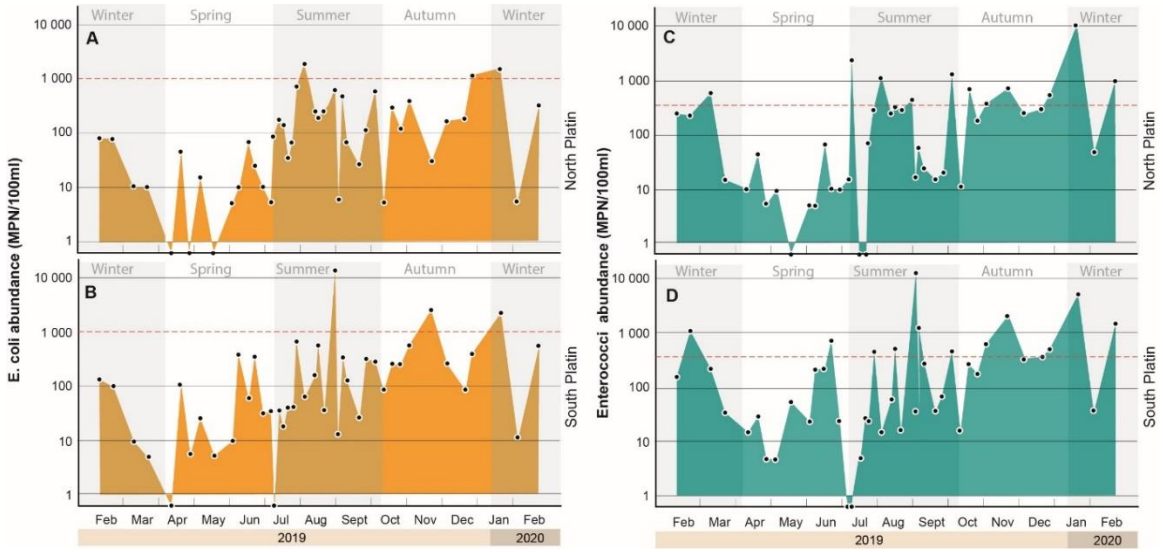
Prélèvements d'échantillons d'eau



Cartographie et contexte géographique de la baie d'Aytré
(image par Pascal Brunello)

Premières conclusions de l'étude

Objectif 1 : Analyse de la dynamique temporelle des indicateurs de contamination fécale dans les échantillons d'eau au cours d'un cycle annuel



Abondance des indicateurs de contamination fécale dans les échantillons d'eau au cours de l'année

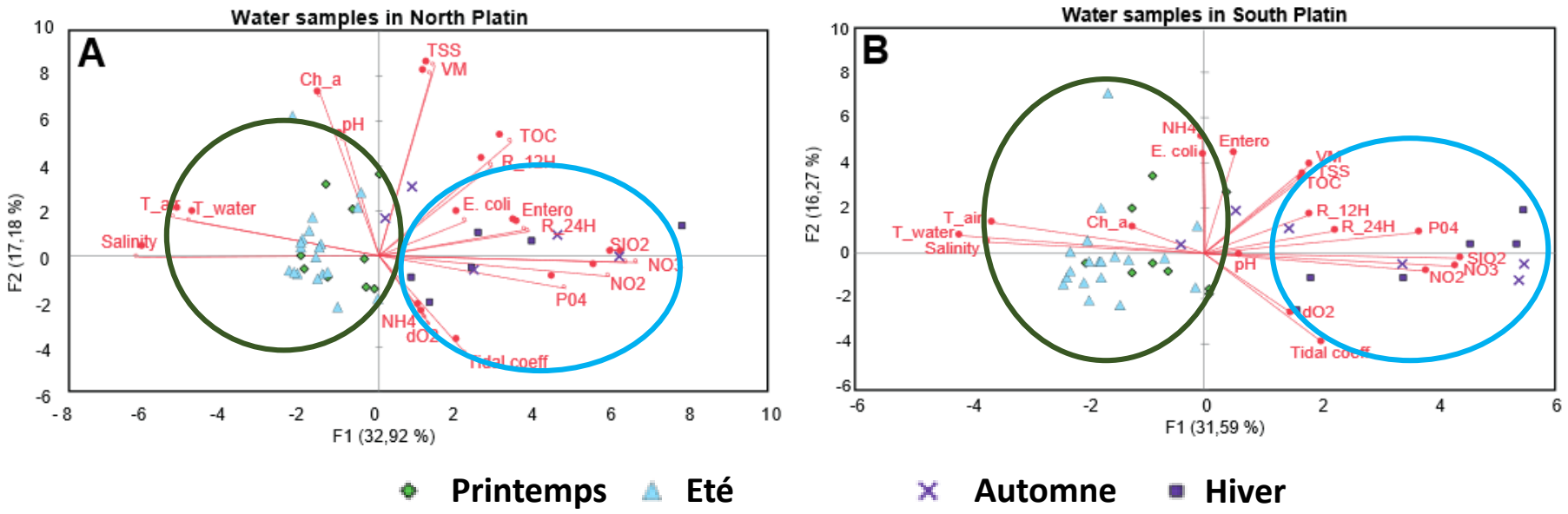
Conclusion 1

- Variations saisonnières de l'abondance des indicateurs de contamination fécale : Printemps > été, automne, hiver
- Abondance des indicateurs de contamination fécale est plus faible dans le sédiment
- Le sédiment ne semble pas être une source de bactéries fécales dans la colonne d'eau

Premières conclusions de l'étude

Objectif 2 : Effets des paramètres physico-chimiques sur l'abondance des indicateurs de contamination fécale

Abondance des indicateurs de contamination fécale en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu



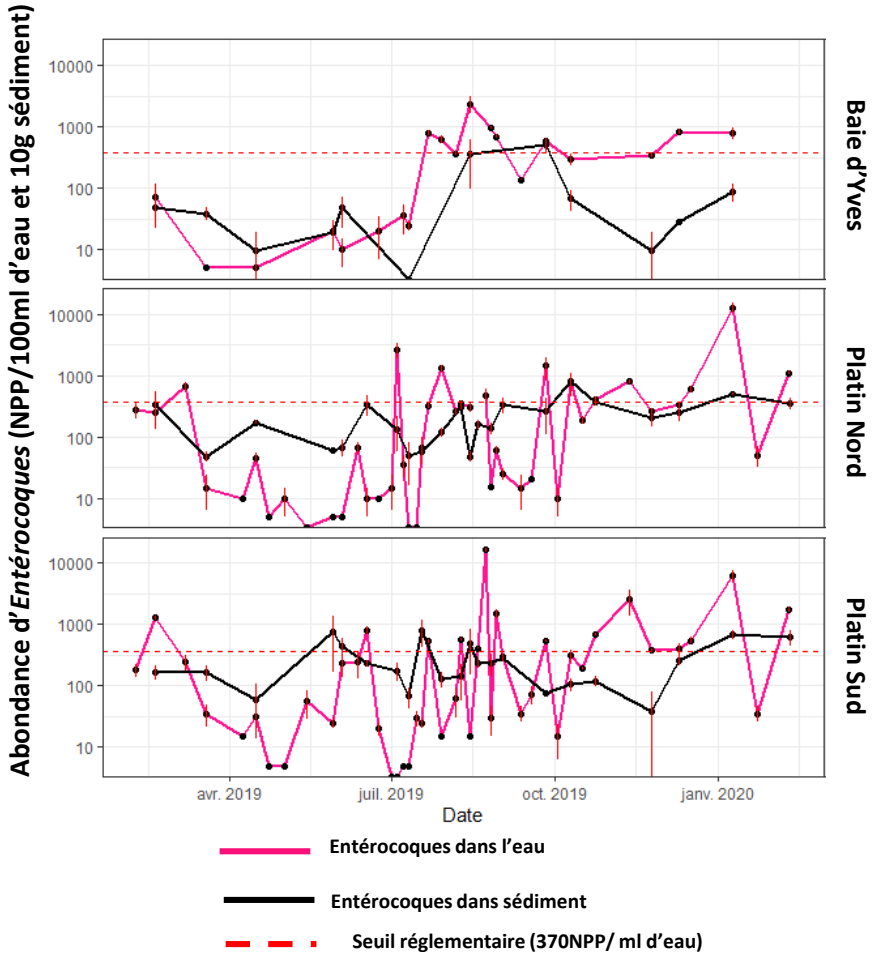
Conclusion 2

- En automne et en hiver, les volumes de précipitations sont corrélés à l'abondance des bactéries fécales et la concentration en nutriments.
- Pendant l'été, la température et la salinité élevées sont des conditions favorables à la croissance des bactéries fécales entériques halotolérantes et thermophiles.

Premières conclusions de l'étude

Objectif 3 : Analyse de l'effet de la configuration spatiale sur le niveau de contamination

Abondance des entérocoques dans les échantillons d'**eau** et de **sédiment** (NPP/100ml d'eau et 10g de sédiment)



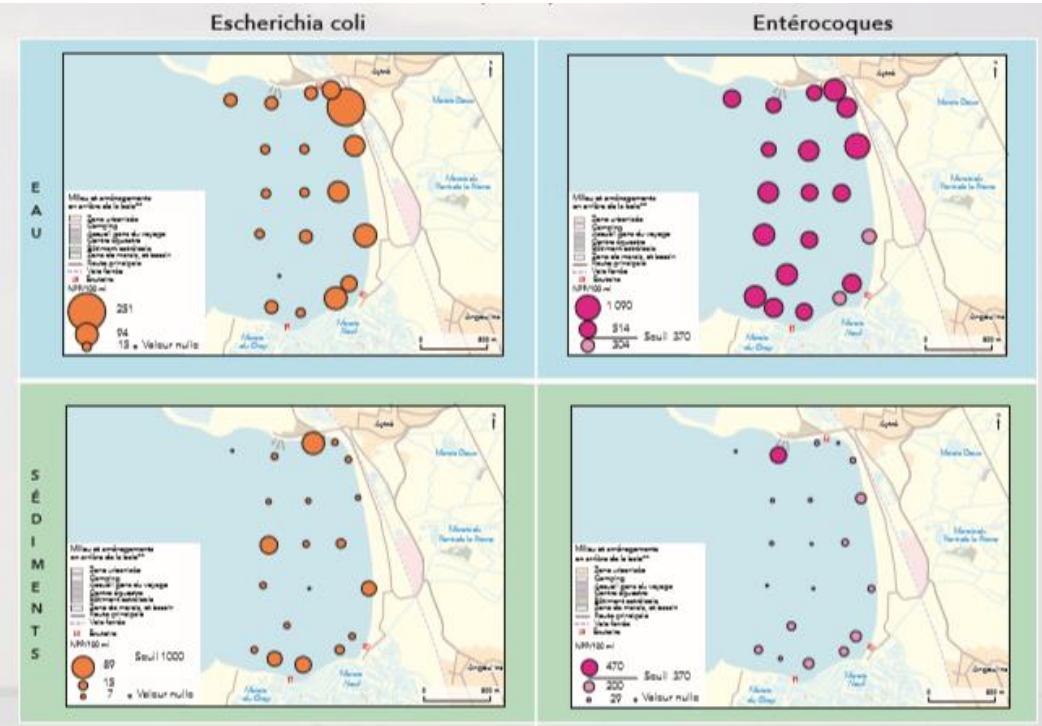
Conclusion 3

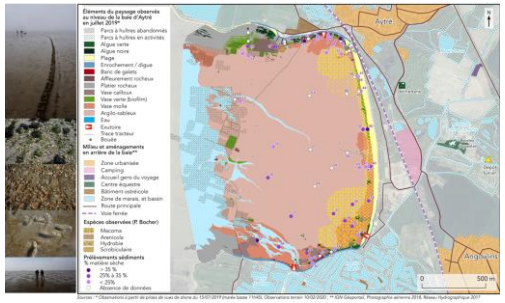
- Même profil d'abondance en entérocoques (et en *E. coli*) dans le sédiment et dans l'eau sur les 3 sites
- Baies intertidales sablo-vaseuses, protégées (faibles courants)
- La configuration particulière de la baie d'Aytré semble impacter le niveau de contamination

Premières conclusions de l'étude

Objectif 4 : Analyse de la dynamique spatiale de cette contamination fécale en lien avec la texture du sédiment

Abondance des entérocoques dans les échantillons d'eau et de sédiment (NPP/100ml d'eau et NPP/ 10g sédiment)





Microreliefs du substrat de la baie
(image par Pascal Brunello)

Conclusion 4

- Homogénéité spatiale de l'abondance des indicateurs de contamination fécale dans l'eau
- Le sédiment ne semble pas constituer une source de contamination fécale

Détermination de l'origine de la contamination fécale

Quelle est l'origine de cette contamination fécale : humaine ou non humaine (animale)?

1- Déterminisme des indicateurs de contamination fécale

-Origine fécale *vs* origine environnementale

-Origine humaine *vs* origine animale

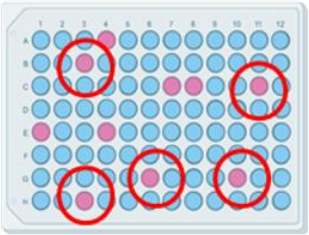
2- Utilisation d'autres traceurs de sources microbiologiques

Spécificité des méthodes normées d'analyse de contamination fécale

Origine fécale *vs* origine environnementale des indicateurs de contamination fécale

Analyse de la spécificité de la méthode de quantification des indicateurs de contamination fécale

Méthodes normées



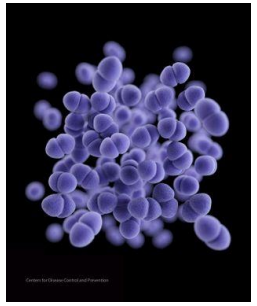
E. coli

Entérocoques fécaux

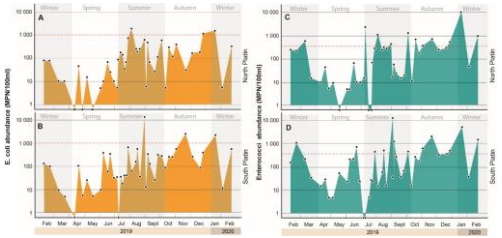
E. faecium et E. faecalis?

Enterococcus spp.

Investigation sur la diversité des espèces d'entérocoques quantifiées par la méthode normée



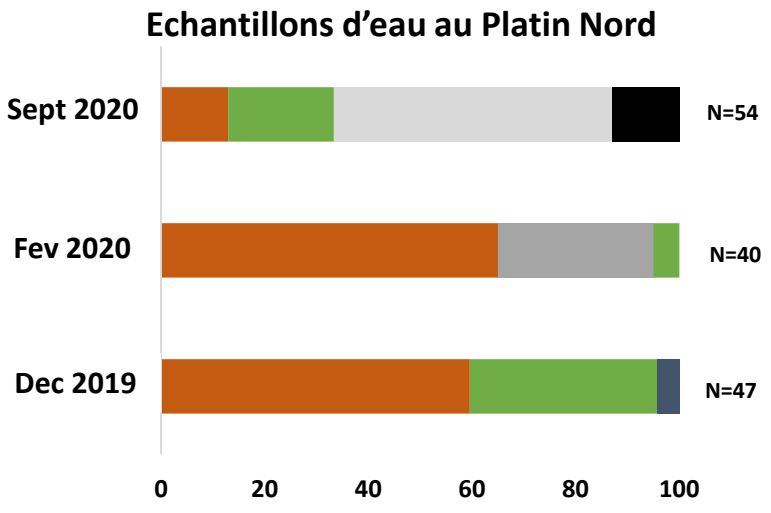
Identification par MALDI-TOF

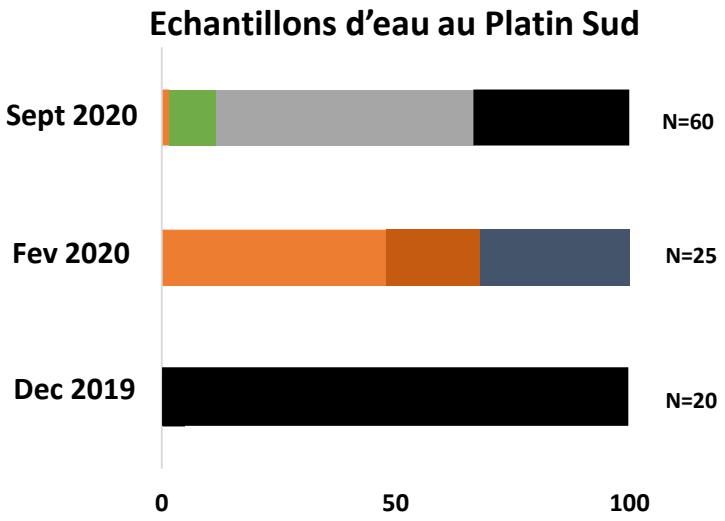


- Contamination en entérocoques principalement pendant 11 jours au Platin Nord et 15 jours au Platin Sud.

Spécificité des méthodes normées d'analyse de contamination fécale

Identification des espèces d'entérocoques





E. faecium
E. faecalis
Origine fécale

Origine environnementale ← *E. mundtii*

E. durans
E. hirae
E. casseliflavius
Ubiquiste

Autres espèces

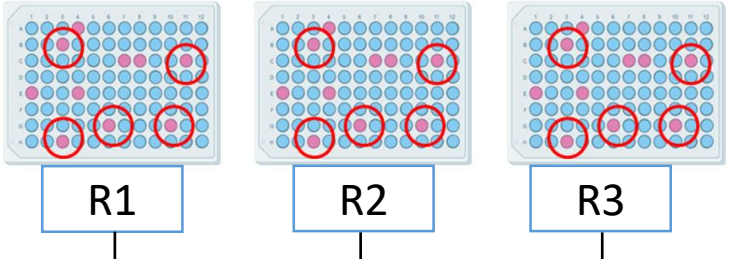
- Le dépassement des seuils réglementaires peut être dû totalement ou en partie à des bactéries environnementales
  - 3 sur 6 cas correspondraient à des faux positifs

Collaboration QUALYSE et l'ANSES de Nancy (Benoit Gassilloud)

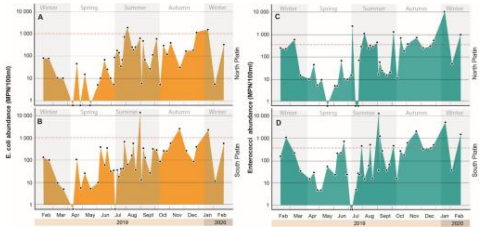
Exploitation de la piste sur l'origine environnementale des entérocoques
Profil de population durant une année (fev 2021-fev 2022)
➔ pour identifier les espèces d'entérocoques d'org. environ. *vs* d'org. fécale

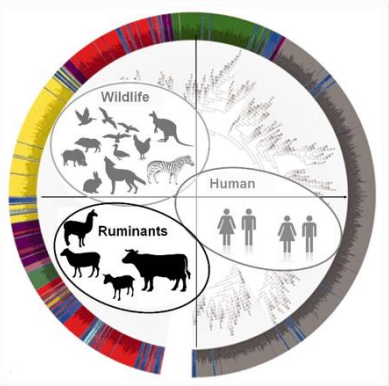
Détermination de l'origine de la contamination fécale

Recherche de traceurs de sources microbiologiques



Echantillons en dépassement des seuils réglementaires





Exemple de cohortes de discrimination de l'origine d'une contamination fécale

- **Marqueurs protéiques :** Typage des indicateurs de contamination fécale (*E. coli* et entérocoques)
- **Marqueurs génétiques :** Recherche de marqueurs d'origine spécifique pour déterminer l'origine de la contamination
- **Marqueurs chimiques :** Recherche de marqueurs d'origine humaine

Typage des indicateurs de contamination fécale par l'utilisation de marqueurs protéiques

Développement de modèles d'algorithme génétique pour caractériser l'origine humaine ou non humaine (animale) des indicateurs de contamination fécale (*E. coli*, *Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium)*

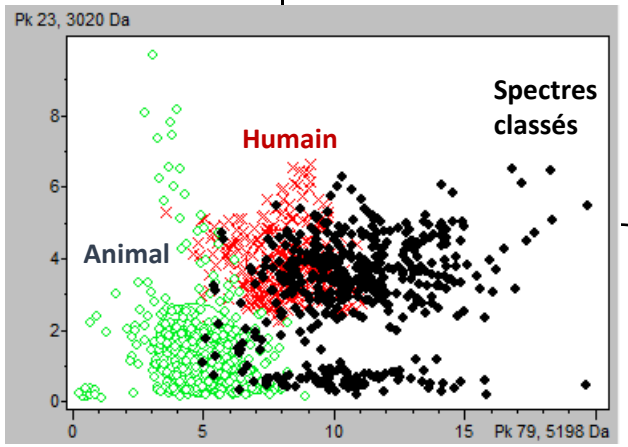
- Robustesse des différentes modèles ==> modèles validés

Modèle d'algorithme génétique	*E. coli*
Classe animale	99.79 %
Classe humaine	98.79 %

Modèle d'algorithme génétique	*E. faecalis*
Classe animale	100 %
Classe humaine	100 %

Modèle d'algorithme génétique	*E. faecium*
Classe animale	99.27 %
Classe humaine	99.89 %

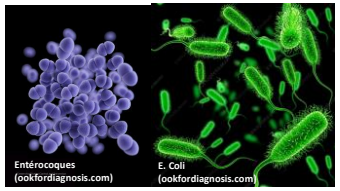
Analyse des spectres des isolats bactériens obtenus à partir des échantillons d'eau



Classification des 24 spectres de chaque isolat d'origine environnementale

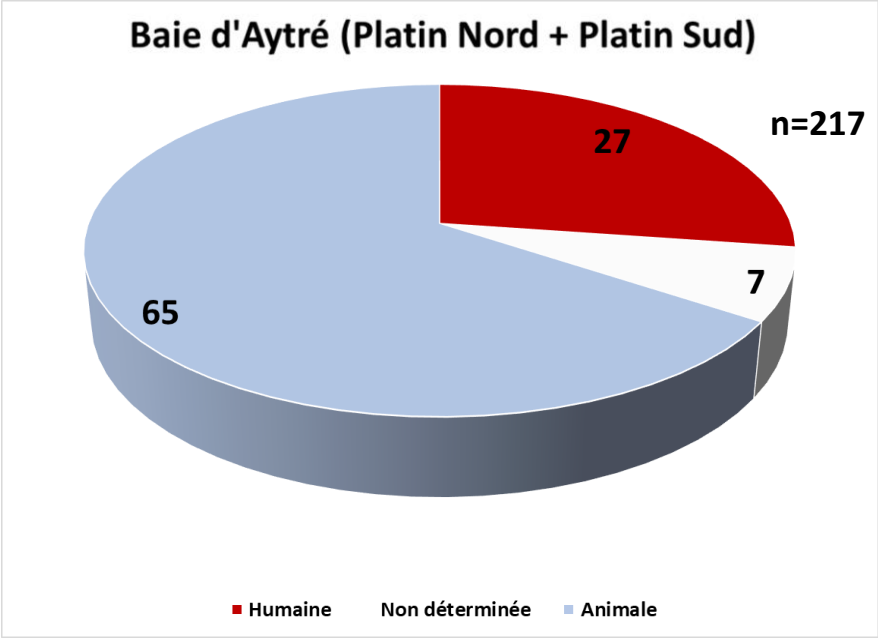
Identification possible : >15 spectres/24 classés dans un groupe

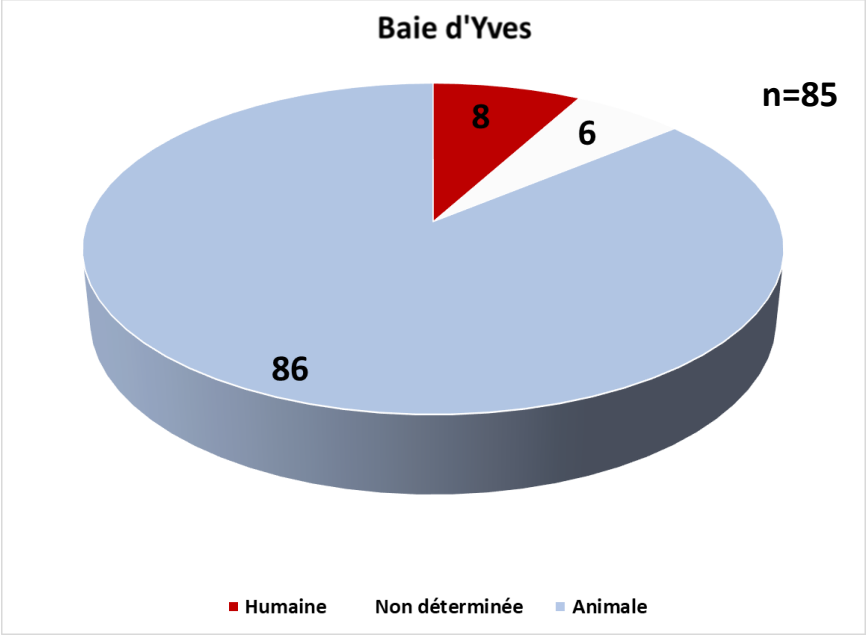
Typage des indicateurs de contamination fécale par l'utilisation de marqueurs protéiques



Origine des différents isolats des 3 espèces bactériennes (*E. coli*, *Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium)* caractéristiques d'une contamination fécale

Pourcentage cumulé (%) de l'origine des espèces bactériennes

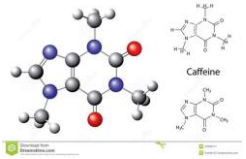


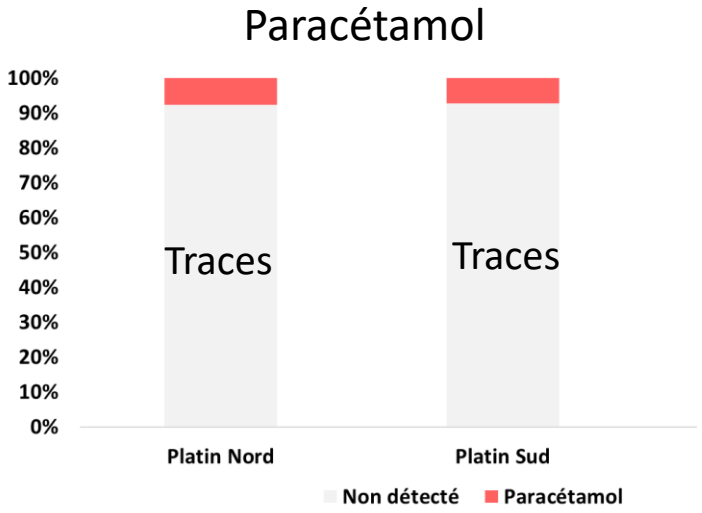


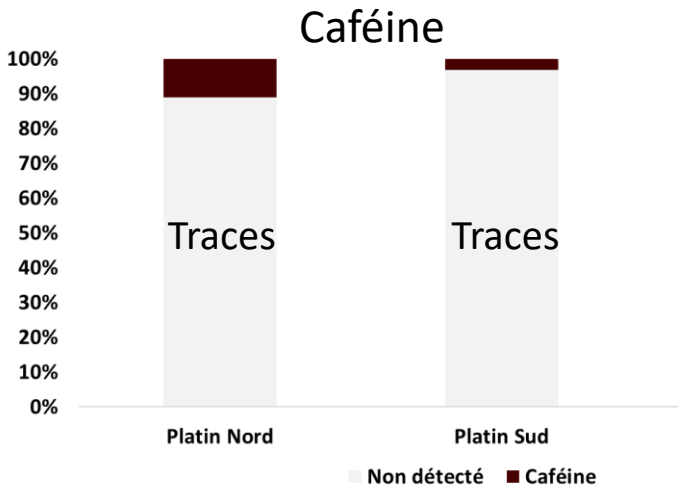
- La caractérisation des 3 espèces bactériennes définit une origine animale plus importante qu'une origine humaine

Détermination de l'origine de contamination fécale par l'utilisation de marqueurs chimiques

Caractérisation de l'origine humaine de la contamination par la recherche de marqueurs chimiques







- La quantification de la caféine et du paracétamol montre que ces molécules chimiques sont détectées dans quelques d'échantillons
- Cette analyse montre que la contamination fécale n'est pas spécifique à une origine humaine

Origine des indicateurs de contamination fécale par l'utilisation de marqueurs génétiques

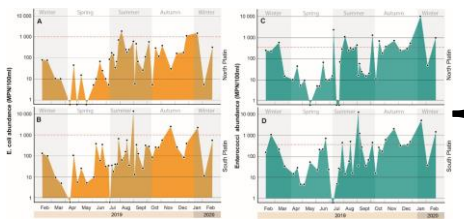
Recherche de marqueurs génétiques (bactériens ou viraux) d'origine spécifique à l'Homme, aux oiseaux, aux chiens ou aux chevaux

Extraction d'ADN « environnemental » à partir des échantillons d'eau pour la recherche de marqueurs d'origine spécifique aux différentes sources.

Analyse en cours

Conclusion

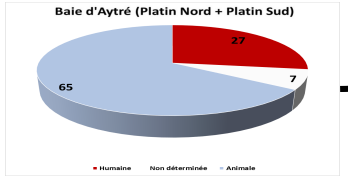
Schéma de synthèse



- Variabilité saisonnière de la contamination fécale
- Corrélation entre la température, pluviométrie et bactéries fécales

Investigation sur la diversité des souches d'entérocoques

Espèces d'origine fécale + espèces **d'origine environnementale**



Marqueurs protéiques et chimiques déterminent une contamination **d'origine animale > l'origine humaine**

➢ **L'analyse des marqueurs génétiques pour une caractérisation spécifique de l'origine animale (aviaire, équine, canine) de la contamination fécale est en cours.**

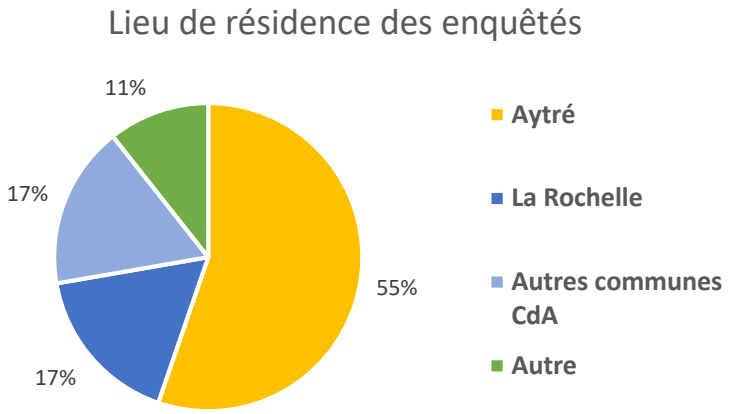
La combinaison de toutes ces méthodes permettra une meilleure précision de l'origine de la contamination fécale

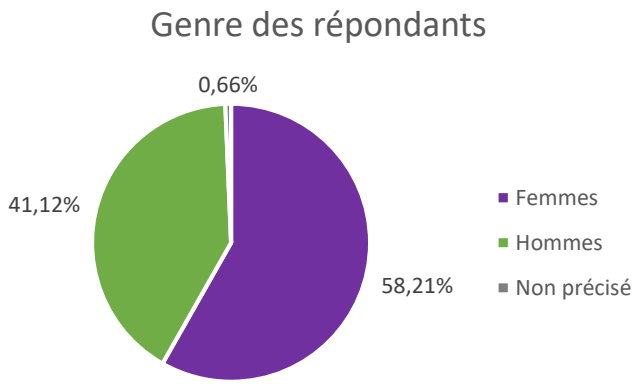
Enquête ICOMABIO 2020

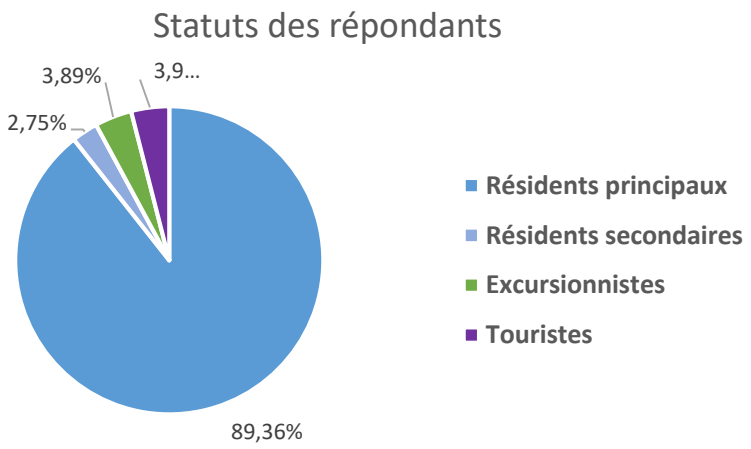
Une diffusion en ligne de mai à septembre 2020 via les réseaux sociaux

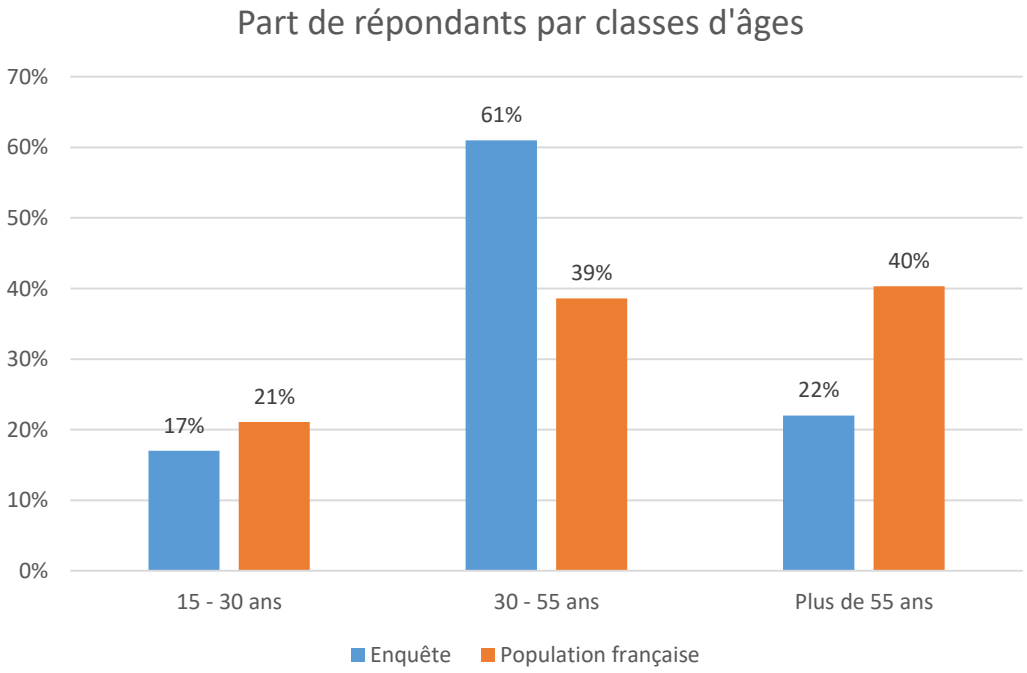
1 053 questionnaires collectés

Des enquêtés au profil local, informés et plutôt jeunes









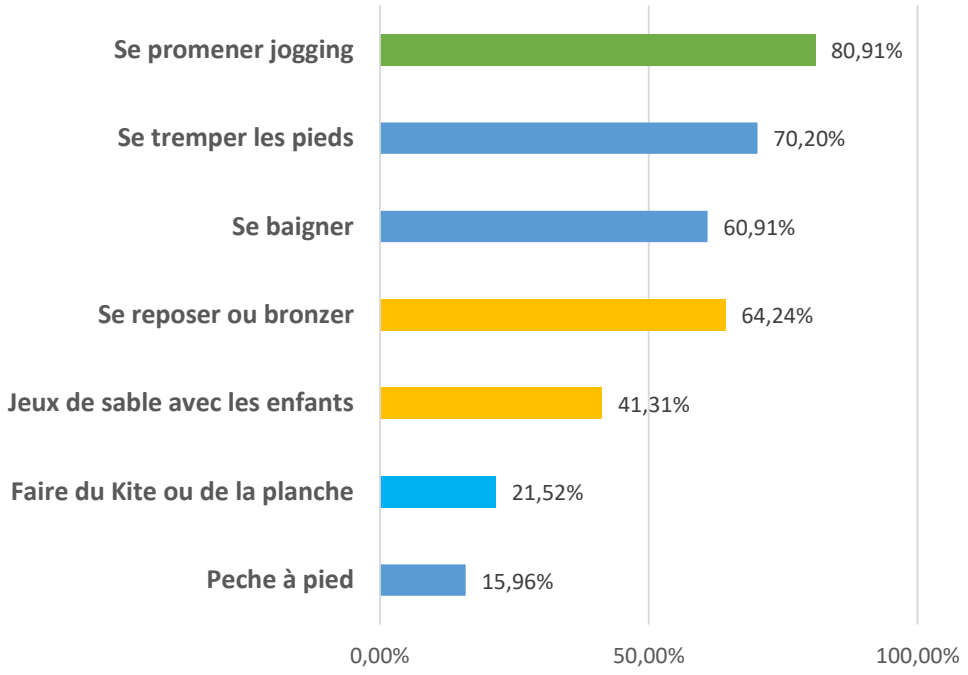
Lieu de résidence, statut, âge et genre des enquêtés, 1 053 répondants, enquête ICOMABIO 2020

Enquête ICOMABIO 2020

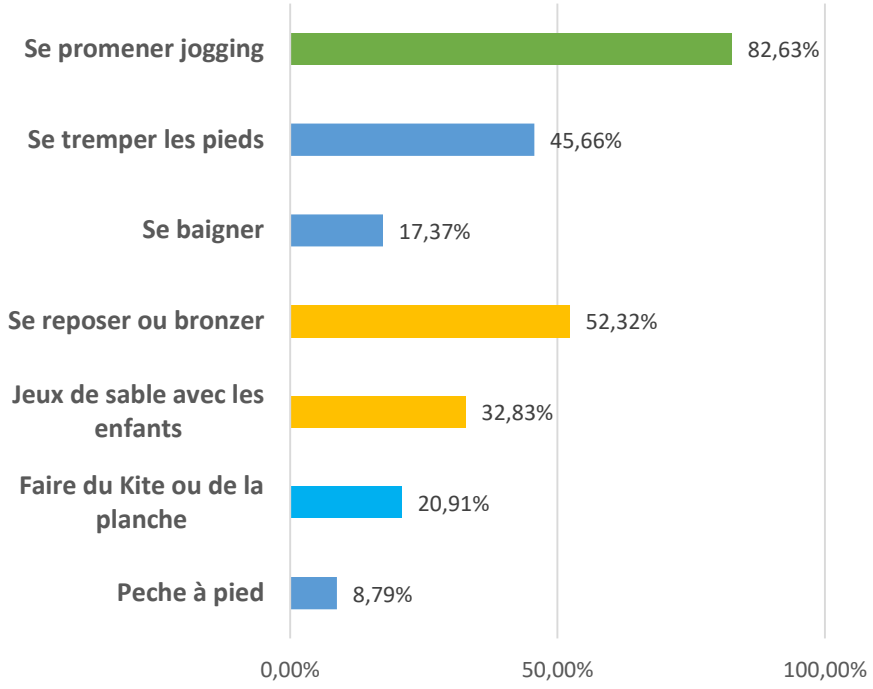
Les pratiques sur la baie d'Aytré

61 % enquêtés se baignaient avant
17 % continuent à se baigner aujourd'hui

Pratiques passées



Pratiques actuelles



Pratiques de la baie d'Aytré, 992 répondants, enquête ICOMABIO 2020

Sur 617 personnes qui se baignaient avant, 445 ont arrêté de se baigner à Aytré soit 72 % des personnes qui se baignaient avant la fermeture de la baignade

Enquête ICOMABIO 2020

Différents profils de réception de la contamination et de l'interdiction selon les pratiques

1 - Affirmation que l'information de contamination n'est pas fiable

2 – Formulation d'une inquiétude par rapport à la contamination

Tolérance de la contamination :

3 – Si elle a pour origine des bactéries propres à l'écosystème

4 – Si elle a pour origine des crottes d'animaux sauvages

5 – Si elle a pour origine des crottes d'animaux domestiques

6 – Si elle est apportée par les eaux de ruissellement

7 – Si elle est liée au fonctionnement naturel de l'écosystème

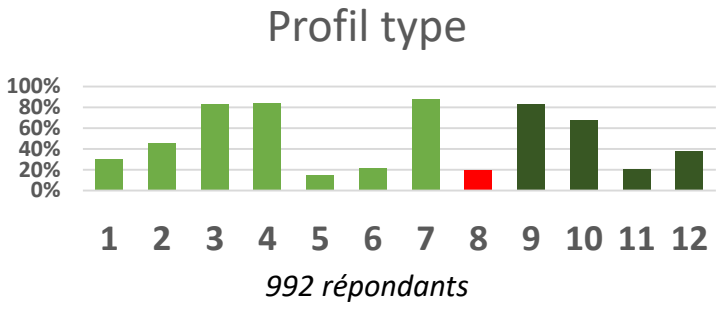
8 – Les mesures entrainant l'interdiction sont inutilement sévères

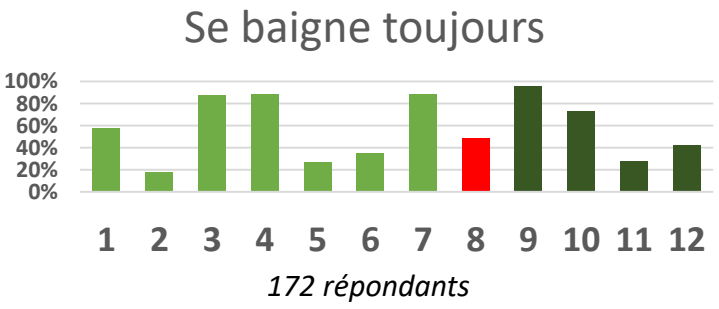
9 – Attachement à la plage

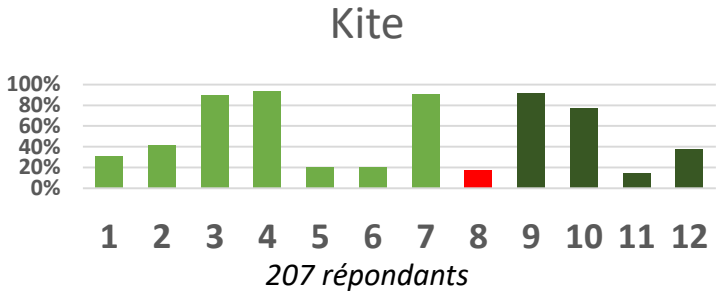
10 – Lien fort entre le répondant et l'environnement

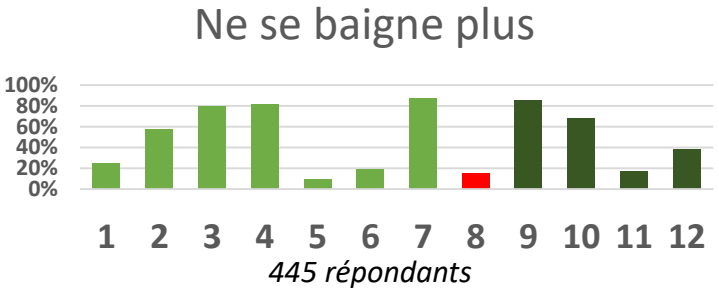
11 – Faible confiance vis-à-vis des informations scientifiques

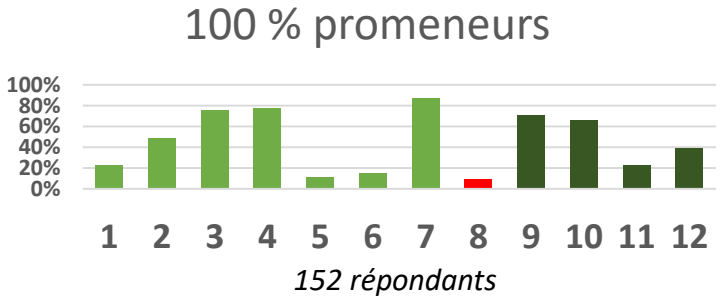
12 – Méfiance vis-à-vis des informations institutionnelles

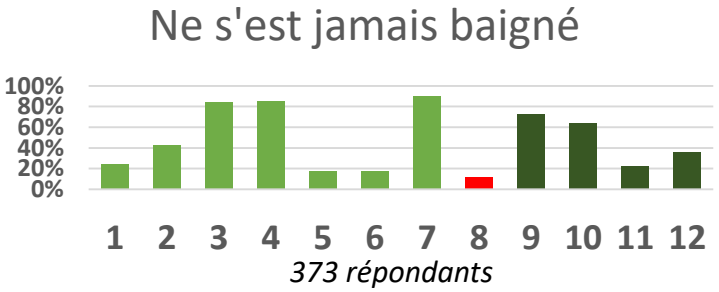












Profils de réception « type » et selon différentes pratiques, 992 répondants, enquête ICOMABIO 2020

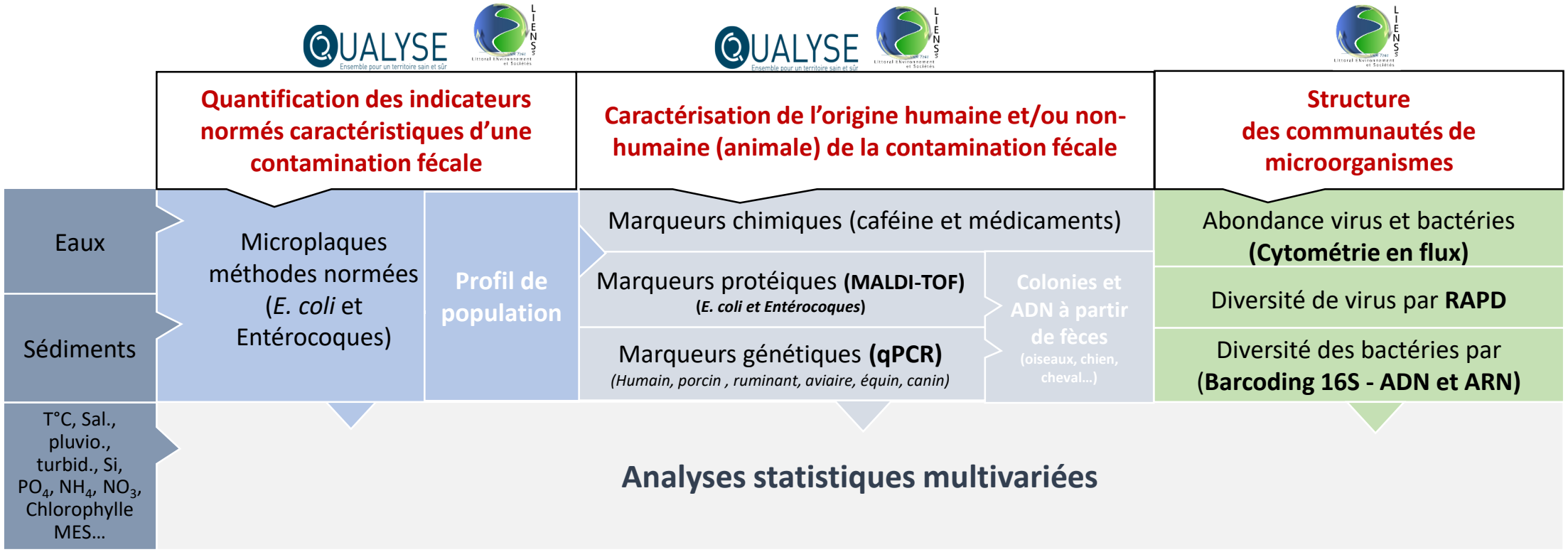
Enquête ICOMABIO 2020

Evolution de la fréquentation de la plage d'Aytré

Population	Aytré plage favorite avant la fermeture			Classement après la fermeture	*Effectif*	*%*
	Effectif	*Effectif total*	*%*			
Total enquêtés	452	992	46%	Aytré toujours favorite après	218	48%
				Aytré rang n°2 ou 3 après	79	17%
				Disparition d'Aytré dans top 3	155	34%
Aytrésiens	302	565	53%	Aytré toujours favorite après	137	45%
				Aytré rang n°2 ou 3 après	61	20%
				Disparition d'Aytré dans top 3	104	34%
Anciens baigneurs	218	445	49%	Aytré toujours favorite après	45	21%
				Aytré rang n°2 ou 3 après	54	25%
				Disparition d'Aytré dans top 3	119	55%

Evolution de la fréquentation des plages, 992 répondants, enquête ICOMABIO 2020

Plage de substitution pour ceux qui classaient Aytré en 1 et ne placent plus cette plage dans leur top 3	Ensemble		Aytrésiens		Anciens baigneurs	
	Effectif	*%*	*Effectif*	*%*	*Effectif*	*%*
Châtelaillon	**48**	**31%**	**30**	**29%**	**38**	**32%**
Plage d'Angoulins	34	22%	28	27%	23	19%
Plage du Roux	22	12%	17	12%	17	13%
Plage des Minimes	18	12%	12	12%	16	13%
Chef de Baie	10	6%	4	4%	10	8%
Plade de la Concurrence	2	1%	2	2%	1	1%
Autre	21	14%	11	11%	14	12%
Toutes plages de substitution	155	100%	104	100%	119	100%

Merci pour votre attention

Annexes : synthèse des analyses effectuées au cours de la thèse