



ENSP

ÉCOLE NATIONALE DE
LA SANTÉ PUBLIQUE

RENNES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

**Formation des ingénieurs du
génie sanitaire**

2000-2001

**REFLEXION SUR LA NOTION D'INDICATEUR DE RISQUES
SANITAIRES LIES AU REJET D'EAUX USEES EN MILIEU LITTORAL**

Présenté par :

Jérôme DUBREIL

Diplôme INSA

Lieu de stage :

Saunier Techna St Grégoire

Maître de stage :

Marc Le SAOUT

Correspondant pédagogique :

Michèle Legeas

«L'École Nationale de la Santé Publique n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les mémoires : les opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs »

REMERCIEMENTS

Le stage qui fait l'objet du présent rapport a été réalisé dans le bureau d'études Saunier Techna au service Impact et en collaboration avec le service traitement.

Je tiens à remercier l'ensemble du personnel de l'entreprise pour leur accueil chaleureux et plus particulièrement Monsieur LYS, Directeur de l'entreprise, pour m'avoir accueilli au sein de son établissement.

Je souhaite également remercier Marc LE SAOUT, responsable du service Impact et Bernard DUSSART, responsable du service Traitement, qui m'ont encadré tout au long de mon stage.

Mes remerciements vont ensuite à Michelle LEGEAS, professeur à l'École Nationale de la Santé Publique (ENSP), et référant pédagogique pour mon mémoire.

Je remercie enfin toutes les personnes qui ont collaboré et contribué au bon déroulement de mon travail.

RESUME

Les eaux littorales constituent souvent un milieu récepteur pour les rejets d'eaux usées qui sont le véhicule de nombreux microorganismes pathogènes pour l'homme : bactéries, virus et parasites.

Face aux risques liés aux usages du milieu récepteur, les systèmes de surveillance sont basés sur la législation qui fixe des critères microbiologiques concernant les Germes Témoins de Contamination Fécale. Malheureusement, ces systèmes rencontrent des problèmes de fiabilité en terme de protection de la Santé Publique lorsque qu'un procédé de désinfection est mis en œuvre et le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France préconise à juste titre la désinfection qu'en dernier recours.

Sur la Côte de Nacre, un procédé d'ozonation a été mis en œuvre et la présente étude se fixe 3 objectifs :

- ❑ appréhender l'état sanitaire réel du milieu récepteur : risques viral et parasitaire,
- ❑ déterminer l'origine des apports en microorganismes,
- ❑ évaluer l'efficacité de la filière de traitement.

Dans la perspective de répondre à ces objectifs, une stratégie de choix d'indicateurs microbiologiques est réalisée et les paramètres candidats sont recensés et évalués à l'aide de données bibliographiques sur des critères écologiques et sur leur faisabilité analytique.

Les outils disponibles pour mettre en place des systèmes de surveillance pertinents en ce qui concerne la gestion des rejets en milieu littoral ne sont pas encore au point pour maîtriser le risque parasitaire et le risque viral liés aux rejets. Des connaissances en microbiologie sont encore à produire et la validation épidémiologique s'avère nécessaire dans certains cas.

Suite à ce choix, deux campagnes de mesures sont réalisées pour évaluer succinctement les indicateurs précédemment choisis.

ABSTRACT

Most coastal seawaters experience discharges of treated wastewater effluent, which contain various human pathogenic agents grouped into 3 subcategories : bacteria, viruses and parasites.

To reduce the risk of infection to users, the operation of such marine waters rely on monitoring of water quality by testing for the presence of microbiological parameters : E. coli and Enterococcus.

Unfortunately, monitoring systems based on these indicators face difficulties to protect the public health when a disinfection process is used in treatment plants.

The study is led on a treatment plant with an advanced disinfection process by ozone located in the region of 'Côte de Nacre', and has 3 objectives :

- to produce informations about the presence of viruses and parasites,
- to determine the main source of microbiological pollution,
- to evaluate the efficiency of the treatment plant,

In order to fulfil these objectives, adequate indicators organisms must be chosen and the monitoring system must be elaborated.

For this purpose, bibliography data provide the informations required about the main available indicators. These parameters are then evaluated on their capabilities to play the role of indicator using ecological criteria and analytical feasibility. Further acknowledgement in microbiology is needed and epidemiological investigations must be done.

The tools required to perform efficient monitoring systems which permit to control and manage the risk associated with the presence of viruses and protozoas in coastal seawater do not still exist.

The treatment plant and the river 'La Seulles' were sampled twice to briefly evaluate the indicators previously discussed.

SOMMAIRE

1 - INTRODUCTION.....	1
2 - LA DÉSINFECTION DES EAUX USÉES ET EAUX LITTORALES	2
2.1 LES MICROORGANISMES PRÉSENTS DANS LES EAUX USÉES [4],[53]	2
2.1.1 <i>Les bactéries</i>	2
2.1.2 <i>Les virus</i>	4
2.1.3 <i>Les parasites</i>	5
2.2 LES USAGES DU MILIEU MARIN ET LES RISQUES SANITAIRES LIÉS	7
2.2.1 <i>Les sources possibles de pollution microbiologique du littoral</i>	7
2.2.2 <i>Les risques liés à la baignade</i>	8
2.2.3 <i>Les risques liés à la consommation de coquillages</i>	12
2.2.4 <i>Gestion des risques liés aux usages</i>	13
2.3 CONTEXTE RÉGLEMENTAIRE	14
2.4 PROBLÉMATIQUE DE SANTÉ PUBLIQUE : MAÎTRISE ET GESTION DES RISQUES PAR RAPPORT À LA DÉSINFECTION	18
2.4.1 <i>La désinfection des eaux usées</i>	18
2.4.2 <i>Maitrise et gestion des risques liés à la désinfection</i>	19
3 - UNE RÉFLEXION RENOVÉE.....	19
3.1 PRÉOCCUPATIONS ET ATTENTES DES DIFFÉRENTS PARTENAIRES	19
3.1.1 <i>L'Agence de l'Eau</i> :	19
3.1.2 <i>L'exploitant</i>	20
3.1.3 <i>Le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France</i>	20
3.1.4 <i>Les collectivités territoriales</i>	20
3.1.5 <i>Les Services de l'Etat</i>	21
3.1.6 <i>Les Bureaux d'Etudes</i>	21
3.1.7 <i>Convergence des préoccupations</i>	21
3.1.8 <i>La surveillance</i>	22
3.2 NOTION CLASSIQUE DE GERMES 'INDICATEURS'	22
3.2.1 <i>Les besoins et le raisonnement des hygiénistes</i> :	22
3.2.2 <i>Inconvénients et limites : introduction de la notion d'indicateur d'efficacité de traitement</i> 24	
4 - CONTEXTE LOCAL.....	25
4.1 SCHÉMA D'ASSAINISSEMENT ET INFRASTRUCTURES	25
4.2 RAISONS DES CHOIX : DÉSINFECTION À L'OZONE ET REJET EN MER VIA UN ÉMISSAIRE	28
4.2.1 <i>Usages du milieu [51]</i>	28
4.2.2 <i>Historique</i>	28

4.2.3	<i>Déroulement du projet</i>	29
4.2.4	<i>Avis de la Commission Départementale d'Hygiène</i>	29
4.2.5	<i>Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France</i>	30
4.2.6	<i>L'autorisation de rejet</i>	30
5 -	ELÉMENTS DE DÉFINITION D'INDICATEURS ADAPTÉS	32
5.1	LES INDICATEURS.....	32
5.1.1	<i>Considérations générales</i>	32
5.1.2	<i>Les indicateurs microbiologiques</i>	32
5.2	LES 4 TYPES D'INDICATEURS ET LEURS CRITÈRES ÉCOLOGIQUES.....	33
5.2.1	<i>Les 4 types d'indicateurs et leur critères écologiques</i>	34
5.2.2	<i>La faisabilité analytique</i>	36
5.3	PRÉSENTATION DU CONTEXTE LOCAL ET CHOIX DES TYPES D'INDICATEURS.....	36
5.3.1	<i>Objectifs de l'étude et choix des types d'indicateurs</i>	36
5.3.2	<i>Synthèse</i>	38
6 -	PROPOSITION DU SYSTÈME DE RECUEIL D'INFORMATION	42
6.1	SUIVI RÉALISÉ DANS LE CADRE DU MÉMOIRE.....	42
6.1.1	<i>Les points de prélèvement</i>	42
6.1.2	<i>Justifications du choix des indicateurs</i>	42
6.1.3	<i>Remarques pratiques</i>	44
6.2	RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION.....	44
6.2.1	<i>Résultats analytiques</i>	45
6.2.2	<i>Graphiques et interprétation</i>	46
7 -	CONCLUSION	52

LISTE DES SIGLES UTILISES

C.A.R.E.P.S	: Centre Alpin de Recherches Epidémiologiques et de Prévention Sanitaire
C.E.N	: Comité Européen de Normalisation
CF	: Coliformes Fécaux
CT	: Coliformes Totaux
DBO5	: Demande Biologique en Oxygène à 5 jours
DCO	: Demande Chimique en Oxygène
DDAM	: Direction Départementale des Affaires Maritimes
DDASS	: Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales
DDE	: Direction Départementale de l'Équipement
DIREN	: Direction Régionale de l'Environnement
DMI	: Dose Minimale Infectante
DSV	: Direction des Services Vétérinaires
E.P.A	: Environmental Protection Agency
ENSP	: École Nationale de la Santé Publique
G.B.	: Grande Bretagne
GE	: Gastro-Entérites
GTCF	: Germes Témoins de Contamination Fécale
I.S.O	: International Standards Organization
IFREMER	: Institut Français pour la Recherche et l'Exploitation de la MER
IGS	: Ingénieur Génie Sanitaire
MES	: Matières en suspension
N.O.A.A.	: National Oceanic and Atmospheric Administration
ORL	: Oto-Rhino-Laryngée
REMI	: REseau Microbiologique
REPHY	: REseau PHYtoplanctonique
RNO	: Réseau National d'Observation
SF	: Streptocoques Fécaux
T.O.D.	: Transferred Ozone Dose
U.S.A	: United States of America
ZNIEFF	: Zone Naturelle d'Intérêt Ecologique Faunistique et Floristique

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 2-1 : MICROORGANISMES ET CONCENTRATION DANS LES EAUX USÉES BRUTES.	7
TABLEAU 2-2 : LES DIFFÉRENTS AGENTS PATHOGÈNES RESPONSABLES DE MALADIES TRANSMISSIBLES PAR L'EAU [58].	9
TABLEAU 2-3 : ESTIMATION DE L'INCIDENCE ANNUELLE ($*10^{-4}$) DE TROUBLES DIGESTIFS AIGUS ATTRIBUABLES À LA BAIGNADE, SELON LA CONCENTRATION DES GERMES : MOYENNE ET BORNE SUPÉRIEURE 95 %.	10
TABLEAU 2-4: NOMBRE DE CAS DE GÉ (TROUBLES HAUTEMENT CRÉDIBLES) ÉVITÉS PAR AN POUR 10 000 BAINEURS QUAND LA CONCENTRATION DE SF OU DE CF/EC DIMINUE.....	11
TABLEAU 2-5 : MANIFESTATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES EN FRANCE ET À L 'ÉTRANGER, LIÉES À LA CONSOMMATION DE COQUILLAGES [4].	12
TABLEAU 2-6: CONDITIONS MICROBIOLOGIQUES POUR LE CLASSEMENT DES ZONES ET CONTRAINTES D'EXPLOITATION.	15
TABLEAU 2-7 : NORMES DE QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE RELATIVES AUX EAUX DE BAIGNADE.(EXTRAIT DE L'ANNEXE 1 DU DÉCRET N°81-324 DU 7 AVRIL 1981)	16
TABLEAU 2-8 : NORMES FRANÇAISE DE QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DES EAUX DE BAIGNADE	17
TABLEAU 4-1: CRITÈRES DE QUALITÉ DU REJET FIGURANT DANS L'ARRÊTÉ D'AUTORISATION DE REJET.	31
TABLEAU 4-2 : CRITÈRES DE QUALITÉS CONCERNANT LES REJETS.....	31
TABLEAU 5-1 :LES DIFFÉRENTS PARAMÈTRES MICROBIOLOGIQUES CANDIDATS AU RÔLE D'INDICATEUR, LEUR CRITÈRES MICROBIOLOGIQUES ET LEUR FAISABILITÉ ANALYTIQUE.	1
TABLEAU 5-2 : SUITE DU TABLEAU 5-2.	2
TABLEAU 6-1 : RÉSULTATS DE LA CAMPAGNE DE MESURES DU 11 JUILLET 2001 (TEMPS SEC, DÉBIT STATION=4979 M ³ /J, DÉBIT SEULLES : 2798L/S).....	45
TABLEAU 6-2 : RÉSULTATS DE LA CAMPAGNE DE MESURES DU 19 JUILLET 2001. (TEMPS DE PLUIE : 55 MM EN 48H, DÉBIT STATION=5266 M ³ /J, DÉBIT SEULLES : 3230L/S).....	45
TABLEAU 6-3 : ABATTEMENT DES PARAMÈTRES PAR LA CLARIFICATION.	49
TABLEAU 6-4 : ABATTEMENTS DES PARAMÈTRES SUR LES FILTRES À SABLE.	49
TABLEAU 6-5 : ABATTEMENTS DES PARAMÈTRES PAR LE PROCÉDÉ D'OZONATION.	50
TABLEAU 6-6 : FLUX JOURNALIER EN GERMES OBTENUS EN ENTRÉE DE STATION (ES), EN SORTIE DE STATION (SO) ET DANS LA SEULLES.....	51
TABLEAU 8-1 : DIFFÉRENTES ÉPIDÉMIES DE CRYPTOSPORIDIOSE D'ORIGINE HYDRIQUE (1984-1997).	28

Liste des figures

FIGURE 4-1 : SYNOPTIQUE DE LA FILIÈRE DE TRAITEMENT DES EAUX USÉES ET DE TRAITEMENT TERTIAIRE.....	27
FIGURE 5-1 : SCHÉMA RÉCAPITULATIF D'UTILISATION DES INDICATEURS SUR LE SITE DE CÔTE DE NACRE.....	38
FIGURE 6-1 : EVOLUTION DES BACTÉRIES INDICATRICES LE LONG DE LA FILIÈRE DE TRAITEMENT ET CONCENTRATIONS DANS LA SEULLES (CAMPAGNE DU 11/07/2001).....	46
FIGURE 6-2 : EVOLUTION DES BACTÉRIES INDICATRICES LE LONG DE LA FILIÈRE DE TRAITEMENT ET CONCENTRATIONS DANS LA SEULLES (CAMPAGNE DU 19/07/2001).....	46
FIGURE 6-3 : EVOLUTION DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> ET <i>GIARDIA</i> LE LONG DE LA FILIÈRE DE TRAITEMENT ET CONCENTRATIONS DANS LA SEULLES (CAMPAGNE DU 11/07/2001).....	47
FIGURE 6-4 : EVOLUTION DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> ET <i>GIARDIA</i> LE LONG DE LA FILIÈRE DE TRAITEMENT ET CONCENTRATIONS DANS LA SEULLES (CAMPAGNE DU 19/07/2001).....	47

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Listes des personnes – ressources

Annexe 2 : Données bibliographiques sur les différents types d'indicateurs

1 - INTRODUCTION

Les **eaux littorales** constituent souvent un **milieu récepteur** pour les **rejets d'eaux usées** qui sont le **véhicule de nombreux microorganismes pathogènes** pour l'homme : bactéries, virus et parasites. Lorsque les eaux côtières et c'est souvent le cas, font l'objet d'usages par les baignades et la consommation de coquillages, les pollutions microbiologiques constituent des **enjeux** en terme de **Santé Publique** d'impacts sanitaires plus ou moins importants.

Face à ces problèmes, la **législation** en vigueur fixe des **conditions microbiologiques** à respecter :

- ❑ pour les **zones de baignades**,
- ❑ pour les **zones conchylicoles** et de **pêche à pied**.

Etant donné la complexité de la microbiologie des eaux usées, des limites techniques liées aux connaissances actuelles et des contraintes financières, la **surveillance de ces milieux** ne peut se faire que par une **approche statistique** (échantillonnage) et l'utilisation de **paramètres microbiologiques** (qui évoluent dans le temps) que sont les **Germes Témoins de Contamination Fécale** (GTFC).

Ces **systèmes de surveillance** rencontrent des **problèmes de fiabilité** en terme de protection de la Santé Publique lorsque des **procédés de désinfection** sont mis en œuvre (destruction des GTFC) et le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique émet par conséquent des réticences fondées vis à vis de ces procédés si bien qu'il ne les préconise qu'en dernier recours.

Sur la **Côte de Nacre**, des problèmes de pollution microbiologique ont poussé le Syndicat Mixte d'Assainissement de la Côte de Nacre à mettre en œuvre des infrastructures performantes d'assainissement des eaux usées. La filière de traitement se compose d'un **traitement biologique** classique suivi d'une **filtration sur sable** d'une **ozonation** et d'un **émissaire en mer** bien que le Conseil Supérieur préconisait l'émissaire en mer et l'abandon du procédé d'ozonation.

Les **indicateurs microbiologiques** constituent les **outils nécessaires** à la production **d'informations pertinentes** pour la prise de **décision concernant la gestion des rejets en milieu littoral**.

La présente étude s'est fixé 3 objectifs :

- ❑ appréhender l'état sanitaire réel du milieu récepteur : **risques parasitaire et viral**,
- ❑ déterminer l'**origine des apports en microorganismes**,
- ❑ évaluer l'**efficacité de la filière de traitement**.

Dans la perspective de répondre à ces objectifs, une stratégie de choix d'indicateurs a été réalisée et les **paramètres candidats** ont été **recensés et évalués** via les données bibliographiques disponibles à leur sujet sur leur capacité respective à servir de bons indicateurs qui sont de 4 types différents :

- ❑ les indicateurs de contamination fécale,
- ❑ les indicateurs de survie,
- ❑ les indicateurs d'efficacité de traitement,
- ❑ les indicateurs de risques sanitaires.

L'évaluation porte sur les **critères écologiques** des paramètres et sur la **faisabilité analytique**.

A la suite de cette évaluation, des **paramètres** ont été **choisis** en prenant en compte les **contraintes techniques et financières propres à l'étude** et **évalués succinctement** lors de **2 campagnes de mesures** l'une par temps sec et l'autre par temps de pluie.

2 - LA DESINFECTION DES EAUX USEES ET EAUX LITTORALES

2.1 Les microorganismes présents dans les eaux usées [4],[53]

Les eaux usées domestiques (eaux vannes et eaux ménagères) urbaines contiennent une **multitude d'agents pathogènes** excrétés par la voie intestinale ou urinaire et susceptibles de déclencher des maladies transmissibles. Ces agents peuvent être classés en quatre catégories principales : les bactéries, les virus, les parasites et les champignons.

Parmi tous les microorganismes couramment rencontrés dans les eaux usées urbaines, il est important de distinguer leur origine, ainsi que les pathologies qu'ils sont susceptibles d'engendrer. En se basant sur ces deux critères nous pouvons définir trois catégories de germes :

- ❑ les germes d'**origine tellurique non pathogènes et non infectieux**, entraînés par les eaux de ruissellement.
- ❑ les germes d'**origine fécale, humaine ou animale**, le plus fréquemment **non pathogènes**, qui regroupent principalement des bactéries, et sont couramment utilisés comme germes témoins de contamination fécale.
- ❑ les **germes pathogènes** parmi lesquels nous distinguons : certaines bactéries, les virus et les parasites.

Pour tous ces microorganismes, l'eau représente un vecteur de choix pour atteindre leur cible. La transmission se fait préférentiellement par **voie digestive** (ingestion d'eau d'alimentation ou de baignade contaminée ou d'aliments souillés comme les coquillages) mais peut également se faire par **voie cutané-muqueuse** lors des activités de baignades.

2.1.1 Les bactéries

Les bactéries appartiennent à l'ordre des procaryotes, ce qui signifie que ce sont des microorganismes unicellulaires ne possédant pas de véritables noyaux. Elles possèdent tout le matériel cellulaire nécessaire à leur multiplication (réplication et division), et sont excrétées sous forme de cellules directement infectieuses. Certaines d'entre elles peuvent être rencontrées sous forme de spores : ce phénomène de sporulation a lieu en réponse à un environnement qui leur est peu favorable.

Le **pouvoir pathogène** d'une bactérie est soit **spécifique**, c'est à dire qu'il engendre des pathologies spécifiques, soit **opportuniste**, c'est à dire qu'il ne s'exprime que sur des individus affaiblis (immunodépressifs, système immunitaire déficient). Afin de mieux les distinguer, les bactéries humaines ou animales sont réparties en trois groupes selon leur provenance :

2.1.1.1 Origine fécale humaine

Les bactéries d'origine fécale trouvent résidence dans l'appareil digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur mode de transmission est essentiellement par voie orale. Elles ont souvent été responsables de grandes épidémies hydriques, qui heureusement, se font de plus en plus rares de nos jours. Nous pouvons citer comme exemple :

- ❑ ***Vibrio cholerae***, responsable des épidémies de choléra, aujourd'hui disparu en Europe, mais qui sévit encore sur le continent africain et en Amérique Latine.
- ❑ ***Salmonella typhi*, et *paratyphi***, sont deux souches particulièrement virulentes de salmonelles, à l'origine d'épidémies de fièvre typhoïde et paratyphoïde. D'autres sérotypes sont responsables de gastro-entérites aiguës (*S.typhimurium*, *S. enteridis*) ou de septicémies.
- ❑ ***Escherichia coli***, d'origine fécale stricte, pouvant être responsable de gastro-entérites infantiles (colibacilloses), ou de la « turista » (diarrhée des voyageurs), bien que la majorité des souches ne soient pas pathogènes pour l'Homme.
- ❑ ***Shigella***, à l'origine de dysenteries bacillaires dans les pays chauds (*S.dysenteriae*), et de diarrhées dans les pays industrialisés (*S. flexnerie*, *S. boydii*).
- ❑ ***Enterobacter***, qui peut être à l'origine de cystites, de pleurésies, ou encore de méningites.
- ❑ ***Klebsiella***, qui occasionnent des diarrhées, des cystites, et des pneumopathies, mais qui ne sont pas exclusivement d'origine intestinale, puisque certaines souches colonisent les voies respiratoires. On les retrouve également dans les papeteries et les usines textiles.
- ❑ ***Campylobacter jejuni*, et *C. coli***, sont à l'origine de gastro-entérites et de diarrhées au même titre que *Salmonella* ou *Shigella*. Leur présence peut-être détectée dans les eaux de surface.

2.1.1.2 Origine fécale animale

Certaines espèces de **Leptospires**, pathogènes pour l'homme, et provoquant un ictère infectieux (leptospirose) sont rencontrées en Europe Occidentale mais en règle générale, ces germes sont répandus dans le monde entier. Ils sont éliminés dans les urines des animaux contaminés (le chien mais plus souvent le rat) et sont retrouvés dans les eaux douces et la terre. La contamination se fait par voie orale, mais également par voie transcutanée. La majorité des cas recensés est liée à la baignade en eau douce ou aux professions à forte exposition.

Yersinia enterocolitica est très fréquent chez les rongeurs et les animaux domestiques, et semble de plus en plus impliqué dans les pathologies humaines telles que les gastro-entérites chez l'enfant, les troubles abdominaux, les diarrhées et l'arthrite chez l'adulte. La présence dans les eaux de surface, des espèces présumées responsables d'infection humaine, est exceptionnelle.

2.1.1.3 Origine cutanée ou cutanéomuqueuse

Ces germes sont responsables d'affections cutanées plus ou moins graves. A titre d'exemple, on peut citer :

- ❑ Staphylocoques dont ***Staphylococcus aureus***, qui est à l'origine d'affections cutanées et sous cutanées, dont la responsabilité est clairement établie pour les eaux de piscine, mais ne reste que suspectée pour les eaux de baignade en eaux douces et en mer.
- ❑ ***Pseudomonas aeruginosa***, responsables d'infections O.R.L., de septicémies et de suppurations cutanées.
- ❑ ***Aeromonas hydrophyla***, responsable de gastro-entérites chez les individus bien portants et de septicémies chez les immunodéprimés.
- ❑ les **Mycobactéries**, responsables de maladies infectieuses comme la tuberculose ou la lèpre dans les pays en voie de développement.

2.1.2 Les virus

Les virus sont des organismes unicellulaires, dotés d'une capsidie protéique et d'une molécule d'ARN ou d'ADN, support de l'information génétique. Les virus sont des parasites obligatoires car ils ne possèdent pas de système enzymatique leur permettant de se reproduire de façon autonome dans le milieu naturel.

Les principaux virus rencontrés dans l'eau et présentant des risques sanitaires de par leur caractère pathogène vis-à-vis de l'homme sont les virus entériques, qui sont excrétés dans les selles d'individus infectés. Ces virus appartiennent à plusieurs genres :

- ❑ les **Entérovirus** : ce sont des virus à ARN simple brin dotés d'une longue persistance dans l'environnement. Leur domaine pathologique est très étendu puisqu'ils peuvent à la fois engendrer des lésions dans les systèmes nerveux, digestif et respiratoire, ainsi qu'au niveau de la peau, des muscles et des yeux. Nous pouvons citer comme exemples :
 - les Poliovirus, à l'origine de poliomyélites et de fièvres,
 - les Echovirus, à l'origine de méningites, de diarrhées, et d'infections respiratoires,
 - les Coxsackievirus A et B, à l'origine de méningites lymphocytaires, d'affections digestives et respiratoires, et de manifestations cutanéomuqueuses.
- ❑ les **virus des hépatites**: nous distinguons surtout le virus de l'hépatite A (V.H.A.), et le virus de l'hépatite E (V.H.E.). Les symptômes couramment observés sont des nausées, des vomissements, des fièvres, un phénomène d'anorexie, ainsi que des ictères accompagnés d'asthénie.
- ❑ les **virus des gastro-entérites**: ces virus sont responsables de diarrhées épidémiques et de vomissements. Ce genre de virus peut être divisé en plusieurs groupes :
 - les Rotavirus et Réovirus, qui entraînent des manifestations cliniques chez les enfants dans 60% des cas d'infections.
 - les petits virus ronds, qui présentent une morphologie voisine au microscope électronique, et qui provoquent des épidémies de gastro-entérites marquées par des vomissements et quelquefois accompagnées de fièvres. Virus de Norwalk, Astrovirus, Calicivirus,...
 - les Coronavirus : responsables de gastro-entérites chez l'homme et d'entérocolites chez le nouveau né.
- ❑ les **Adénovirus** : ils sont répartis en sous classes. Les adénovirus humains des sous classes A,

B, C, D et E, sont responsables d'infections respiratoires, et conjonctivales, et certains sérotypes possèdent un pouvoir oncogène. Ceux de la sous classe F sont responsables de 4 à 8% des gastro-entérites infantiles.

2.1.3 Les parasites

Parmi tous les microorganismes pathogènes pour l'homme, certains appartiennent à l'ordre des eucaryotes. Il s'agit de certains protozoaires, vers ou champignons tous regroupés sous le terme de « parasites » et dont l'incidence sur la Santé Publique peut être, dans certains cas, grave de conséquences.

Sont considérés comme parasites des êtres vivants qui pendant une partie ou la totalité de leur existence vivent au dépens d'autres êtres organisés appelés hôtes. On distingue 2 sortes d'hôtes .

L'hôte définitif est celui chez lequel le parasite accomplit sa fonction de reproduction : par exemple, l'homme est l'hôte définitif pour l'*Ascaris*.

L'hôte intermédiaire héberge les formes larvaires dont il assure la maturation jusqu'à leur stade infestant : par exemple, le ~~boeuf~~ bœuf est l'hôte intermédiaire du *Taenia saginata* [53].

2.1.3.1 Les protozoaires

Ce sont des animaux unicellulaires, dotés d'un noyau, et éliminés par voie fécale, souvent sous forme de kystes très résistants dans le milieu extérieur, mais qui sont incapables de s'y multiplier. Ils sont souvent rencontrés dans les eaux douces et les eaux marines où ils se nourrissent de matière organique ou de bactéries.

Parmi les pathogènes pour l'homme, nous distinguons :

- ❑ les **flagellés** qui, après les bactéries, sont responsables de la dégradation d'une grande partie des matières organiques de l'eau. Nous pouvons citer comme exemple, les *Giardia* qui sont à l'origine de douleurs abdominales chez l'adulte et de symptômes diarrhéiques chez l'enfant. *Giardia* présente une forme trophozoïte et une forme kystique. La forme kystique assure la dissémination de la maladie.
- ❑ les **rhizopodes**, qui comportent un grand nombre d'espèces pathogènes, dont les amibes (ex : *Naegleria*, responsables de méningites).
- ❑ les **sporozoaires**, dont *Cryptosporidium* responsables de diarrhées liquides profuses accompagnées de douleurs abdominales, vomissements et fièvres. La transmission s'effectue via la forme kystique, très robuste, présente dans l'environnement par excrétion de fèces d'un individu infecté [7].

2.1.3.2 Les helminthes

Il peut s'agir de vers plats (plathelminthes), ou ronds (némathelminthes), qui comprennent de nombreuses formes de parasites souvent à l'origine de maladie très graves. Ce sont pour la plupart, des vers intestinaux, rejetés avec les matières fécales animales ou humaines (souvent sous forme d'~~œufs~~ œufs très résistants). La contamination se fait par voie digestive lors de l'absorption d'eau

contaminée par des œufs ou des larves, ou alors par voie transcutanée c'est à dire, par fixation puis pénétration de larves à travers la peau.

Les principales espèces sont :

- ❑ les **Cestodes** (vers à aspect rubané), dont *Taenia solium* (ou ver solitaire), et *Dibothricephalus latus*, tous deux parasites de l'intestin humain.
- ❑ les **Trématodes** (vers à aspect foliacé), dont *Fasciola hepatica* de la famille des Douves, parasite du foie de l'homme et des ruminants, qui se développe dans l'eau sous forme de larves ciliées, ou encore les espèces appartenant à la famille des bilharzies (du genre *Schistosoma*), à l'origine de nombreux cas de bilharziose à travers le monde entier (surtout en Afrique, en Asie, et en Amérique du Sud).
- ❑ les **Nématodes** (vers ronds), parmi lesquels, *Ascaris* (*Ascaris lumbricoï de*), fréquemment retrouvé dans l'intestin grêle de l'homme et du porc en Extrême Orient et plus généralement dans les pays tropicaux, après ingestion d'eau contaminée. Il est responsable de troubles digestifs.

2.1.3.3 Les champignons

Ce sont des organismes privés de tout organe de locomotion, incapables d'effectuer la photosynthèse, et de ce fait, réduit à l'état de parasite ou à celui de saprophytes (organismes qui tirent leur nourriture de matières organiques en voie de décomposition).

Les champignons recherchés dans l'eau se transmettent par voie cutanéomuqueuse, et sont à l'origine d'affections cutanées. Ce sont les moisissures et les levures (mycètes unicellulaires).

Parmi les moisissures, nous pouvons citer comme espèces pathogènes :

- ❑ *Allescheria boydii*,
- ❑ *Géotrichum candidum*,
- ❑ *Aspergillus fumigatus*,

Parmi les levures nous pouvons citer *Candida albicans*, espèce très répandue, d'origine fécale, et responsables de diverses mycoses (infections cutanéomuqueuses buccales, vaginales et cutanées).

La description **des principaux microorganismes pathogènes** susceptibles d'être présents dans les eaux usées des collectivités humaines et animales qui les produisent et les disséminent montre qu'ils sont **très variés** : en **taille** (des virus aux vers), en **résistance** (des bactéries aux kystes et œufs de vers), par le **mode d'infestation** de l'homme (voies orale, transcutanée), par **l'origine de la contamination** (fécale, mais aussi urinaire, cutanée ou autre). Les eaux usées constituent pour ces microorganismes plus un milieu de survie et un vecteur à plus ou moins longue distance de leur point d'émission qu'un réservoir.

Suite à l'exposé des microorganismes présents dans les eaux usées, le tableau 2-1 suivant précise les ordres de grandeurs pour les concentrations des principaux microorganismes rencontrés dans les eaux usées.

MICROORGANISMES	CONCENTRATIONS EAUX USEES BRUTES
VIRUS	
Entérovirus	10^2 à 10^3 /L
V.H.A.	10^2 à 10^3 /L
Rotavirus	10^2 à 10^3 /L
BACTERIES	
Coliformes totaux	10^8 - 10^{11} /L
Coliformes thermotolérants	10^6 - 10^{10} /L
Streptocoques fécaux	10^5 - 10^8 /L
Salmonelles	0- 10^3 /L
Staphylocoques	10^1 - 10^5 /L
Aeromonas	10^5 - 10^8 /L
Campylobacter	10^3 - 10^6 /L
PARASITES	
Protozoaires	
Giardia (kystes)	10^1 - 10^5 /L
Cryptosporidium (oocystes)	0- 10^4 /L
Helminthes	
Œufs (nématodes et cestodes)	0- 10^2 /L

Tableau 2-1 : Microorganismes et concentration dans les eaux usées brutes.

2.2 Les usages du milieu marin et les risques sanitaires liés

2.2.1 Les sources possibles de pollution microbiologique du littoral

La qualité microbiologique des eaux côtières est déterminante pour la vie économique et touristique des régions littorales. En effet, baignade, conchyliculture et pêche à pied constituent trois usages très pratiqués nécessitant une bonne qualité microbiologique de l'eau pour garantir la protection de la Santé Publique.

Les différentes sources de pollution du littoral sont d'une manière générale:

- les **rejets de stations d'épuration**,
- les rejets directs d'eaux usées par **dysfonctionnement ou insuffisance du système d'assainissement** par temps sec ou temps de pluie (surverses de réseaux unitaires, by-pass et départs de boues de stations d'épuration),
- les **rejets directs d'eaux usées** (habitations non raccordés au système de collecte),
- les **activités portuaires** (rejets de dragage des ports, eaux vannes des bateaux de plaisance),

- ❑ les **activités agricoles** (ruissellement sur des surfaces d'élevages et débordements de fosses à lisiers)
- ❑ les **lessivages** de voiries et de surfaces imperméabilisées par temps de pluie,
- ❑ les **flux polluants apportés par les rivières** (surtout par temps de pluie),
- ❑ l'**activité conchylicole** (eau utilisée pour l'épuration des coquillages),
- ❑ les **excrétas** des animaux.

2.2.2 Les risques liés à la baignade

2.2.2.1 Introduction

La baignade dans les eaux naturelles peut entraîner un **contact** plus ou moins **intense avec des germes pathogènes** qui peuvent être présents dans l'eau en plus ou moins grande quantité. Les pathologies associées à ces germes concernent **la sphère O.R.L., l'appareil digestif, les yeux et la peau** et une grande variété d'agents pathogènes présents dans les eaux naturelles sont responsables de ces diverses maladies dont les plus fréquentes sont répertoriées dans le tableau 2-2.

Le **risque** encouru par le baigneur **dépend de plusieurs facteurs** :

- ❑ du **niveau de contamination** de l'eau,
- ❑ de l'**état de santé du baigneur**,
- ❑ des **modalités de la baignade** (durée, immersion de la tête...).

Des épidémies liées à la pratique de la baignade ont ainsi été relatées dans la littérature. De nombreuses **études épidémiologiques** se sont attachées à **estimer les risques** de contracter différentes pathologies du fait de la pratique de la baignade en général, en caractérisant plus précisément l'exposition et en tenant compte de la qualité de l'eau [30].

2.2.2.2 Historique

Jusqu'en 1975 environ, les risques sanitaires liés à la baignade ont été ignorés. A partir des années 1980, plusieurs personnes s'intéressent à ces risques, notamment Cabelli et Foulon aux Etats-Unis. Les études réalisées révèlent une **convergence** certaine **entre les pathologies observées** (diarrhées, vomissements, nausées,...) et **l'existence d'une pollution fécale** marquée. Lors de différentes études, il s'avère que les baigneurs présentent plus de troubles gastro-intestinaux que les non-baigneurs, tout comme les baigneurs des zones soumises à des pollutions fécales comparés à ceux des zones saines.

Les travaux de Foulon (1983) ont mis en évidence l'apparition de troubles dermatologiques et d'affections O.R.L. attribués à la baignade et plus précisément aux conditions de baignade (avec immersion ou non de la tête par les baigneurs).

Toutefois, **l'ingestion d'eau** apparaît comme le **mode principal d'agression** et l'on suppose qu'un baigneur ingère de 75 à 100 mL d'eau lorsqu'il nage la tête sous l'eau [4].

Une étude de Fattal et al. réalisée sur des eaux de mer peu (0 à 50 E. coli/100mL) et moyennement contaminées (50 à 650 E. coli/100mL) met en évidence un risque compris entre 0.6 et 2.4 chances sur 100 pour la contraction de maladies entériques, respiratoires, cutanées et grippales sans distinction significative du niveau de concentrations en germes fécaux.

MALADIES	AGENTS RESPONSABLES
ORIGINE BACTERIENNE Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes Dysenterie bacillaire Choléra Gastro-entérites aiguës et diarrhées	<i>Salmonella typhi et paratyphi A et B</i> <i>Shigella</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Escherichia coli et entérotoxigène</i> <i>Campylobacter jejuni/coli</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella sp.</i>
ORIGINE VIRALE Hépatites A et E Poliomyélite Gastro-entérites aiguës et diarrhées	<i>Virus hépatite A et E</i> <i>Virus poliomyélitique</i> <i>Virus de Norwalk</i> <i>Rotavirus</i> <i>Astrovirus</i> <i>Calicivirus</i> <i>Coronavirus</i> <i>Entérovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Réovirus</i>
ORIGINE PARASITAIRE Dysenterie amibienne Gastro-entérites	<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i>

Tableau 2-2 : Les différents agents pathogènes responsables de maladies transmissibles par l'eau [58].

2.2.2.3 La méta-analyse de l'InVS

Plus récemment, la **méta-analyse de l'InVS** a permis de mettre en évidence une **relation exposition réponse** pour les **Coliformes totaux**, les **Streptocoques fécaux**, les **Coliformes fécaux** et les **Entérovirus**. Ces résultats peuvent être utilisés en vue d'estimer le niveau de concentration de germes qui conduit à un risque jugé trop élevé (notion de risque acceptable). Le tableau 2-3 montre

l'incidence annuelle (pour 20 baignades annuelles) attribuable à diverses numérations de germes, selon la catégorie de morbidité :

- ❑ Les **Troubles Digestifs Généraux** (T.D.G.) comprennent la totalité des troubles digestifs déclarés : nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales, avec ou sans fièvre.
- ❑ Les **Troubles Digestifs Objectifs** (T.D.O.) regroupent les manifestations (diarrhées ou vomissements) plus objectives que les symptômes tels que les douleurs abdominales ou stomachales.
- ❑ Les **Troubles digestifs les Plus Crédibles** (H.C.G.I.). Cette définition introduite par Cabelli et Dufour en 1983 a été largement reprise par les études suivantes. Elle correspond à des troubles très objectifs comme les vomissements ou les associations diarrhée - fièvre, ou douleur abdominale - fièvre , et apparaît comme le plus spécifique pour qualifier ces désordres de gastro-entérite.

Type de troubles (et type d'eau)	Concentration pour 100 mL	Coliformes totaux		E. coli ou Coliformes Fécaux ¹		Streptocoques fécaux	
		Moyenne	IC95%+	Moyenne	IC95%+	Moyenne	IC95%+
Troubles généraux	10	0	0	10	13	36	52
	50	3	6	11	89	185	276
	100	28	29	99	183	390	598
Troubles objectifs	10	-	-	0	2	-	-
	50	-	-	1	9	-	-
	100	-	-	2	19	-	-
	200	-	-	19	41	-	-
Troubles hautement crédibles (Eaux douces)	10	-	-	0	3	18	37
	50	-	-	10	18	129	370
	100	-	-	21	41	406	2104
	1000	-	-	612	2737	-	-
Troubles hautement crédibles (Eaux marines)	10	-	-	2	3	0	0
	50	-	-	10	18	39	58
	100	-	-	21	41	146	191
	1000	-	-	612	2737	-	-

¹pour les EC/CF, la catégorie 'troubles hautement crédibles' est commune aux deux types d'eau, sans interaction

Tableau 2-3 : Estimation de l'incidence annuelle (*10⁻⁴) de troubles digestifs aigus attribuables à la baignade, selon la concentration des germes : moyenne et borne supérieure 95 %.

Le tableau 2-3 peut être utilisé pour **formuler des propositions relatives à des valeurs limites de concentrations des germes indicateurs dans les eaux de baignades**. Différents paramètres peuvent influencer les valeurs limites, notamment le choix du niveau de 'risque maximum tolérable', ou l'utilisation des valeurs moyennes des pentes issues de la méta-analyse ou des bornes supérieures de l'intervalle de confiance pour l'estimation du risque pour diverses concentrations de

germes. Le résultat peut être également conditionné par le choix de la catégorie de morbidité sur laquelle le calcul est réalisé.

2.2.2.4 Utilisation des résultats

2.2.2.4.1 Le risque consenti ou acceptable

A l'aide du tableau, les fonctions de risque attribuable à la qualité des eaux de baignades peuvent être tracées. Ces fonctions de risques montrent clairement que les **valeurs limites de qualité des eaux** de baignades **dépendent** en premier lieu **du niveau de risque consenti**. L'agence américaine US-EPA a adopté la valeur de 10^{-4} comme mesure du risque infectieux annuel maximum au-delà duquel des mesures de réduction du risque microbiologique doivent être mises en œuvre.

Pour ce niveau très bas de 10^{-4} , les concentrations des indicateurs fécaux **supérieures à 10 germes/100 mL** sont **excessives**, alors que l'on peut accepter des **valeurs de 50 coliformes fécaux par 100 mL** (voire 100), pour un **risque** de troubles objectifs de 10^{-3} . Toutes ces **valeurs** sont nettement **plus basses que les valeurs guides actuelles** de la réglementation européenne (cf. tableau 2-7).

2.2.2.4.2 Le calcul des gains sanitaires

Une autre manière d'utiliser ces résultats est de **calculer les gains sanitaires** lorsque la qualité des eaux s'améliore. Pour une **population de 10000 baigneurs 'moyens' exposée à une eau** présentant un **niveau de contamination de 100 SF par 100 mL** (niveau guide européen actuel), le Tableau 2-4 donne le nombre annuel de cas de gastro-entérites évités (troubles hautement crédibles) si la qualité de l'eau s'améliore pour atteindre 50 et 10 SF par 100 mL ; les gains sont également présentés pour l'amélioration de la qualité en fonction de la concentration en coliformes fécaux (de la norme actuelle de 2000 CF/ 100mL à 1000 puis 100/ 100 mL).

	Concentration par 100 mL	Eaux douces	Eaux marines
SF	Niveau initial : 100	-	-
	50	277	107
	10	388	146
CF	Niveau initial : 2000	-	-
	1000	3567	Sans objet*
	100	4158	Sans objet*

*les eaux douces et marines ne diffèrent pas pour les CF/EC

Tableau 2-4: Nombre de cas de GE (troubles hautement crédibles) évités par an pour 10 000 baigneurs quand la concentration de SF ou de CF/EC diminue.

Au vu des résultats de cette méta-analyse et de leurs utilisations pour **formuler des propositions relatives à des valeurs limites de concentrations des germes indicateurs dans les eaux de baignades**, la législation européenne propose des valeurs limites élevées et elle notamment sur le point d'évoluer. Ce sujet est abordé plus amplement au paragraphe 2.3.1.3.

2.2.3 Les risques liés à la consommation de coquillages

La **consommation de coquillages** est associée de façon bien plus nette que la baignade à la **transmission d'infections entériques**. Le Tableau 2-5 cite un certain nombre de manifestations épidémiques imputables aux coquillages, rapportées dans différents pays.

ANNEES	COQUILLAGE	LIEU	NOMBRE DE CAS SIGNALES	MALADIE INDUITE
1904	Huître	U.S.A.	80	Typhoïde
1925	Huître	U.S.A.	1500 estimés	Typhoïde
1961	Clam	U.S.A.	464	Hépatite A
1974	Moule	Italie	278	Choléra
1976	Coque	Angleterre	797	Gastro-entérites
1980-81	Coque	Angleterre	424	Hépatite A
1982	Clam	U.S.A.	813	Gastro-entérites (Norwalk)
1984	Coque	Singapour	322	Hépatite A, Gastro-entérite
1985	Coquillages	France	9	Typhoïde
1988	Palourde	Shangai, Chine	292301	Hépatite A
1991-92	Coquillages	France, Loire Atlantique	100	Hépatite A
1992	Coquillages	France, Hérault	1000	Gastro-entérite

Tableau 2-5 : Manifestations épidémiologiques en France et à l'étranger, liées à la consommation de coquillages [4].

Les principaux risques résultent de la **pêche à pied récréative** en **zones côtières soumises à des pollutions diffuses ou ponctuelles** et dans une moindre mesure à la **pêche professionnelle lors de la commercialisation accidentelle de coquillages contaminés**. En effet, la réglementation actuelle prévient ce risque sanitaire en imposant des conditions d'exploitation par catégories de zones (cf Décret du 28 avril 1994 et Arrêté du 21 mai 1999 et tableau 2-6). De plus, ces coquillages sont souvent consommés crus ou après une cuisson insuffisante.

Les **principaux virus responsables** d'épidémies virales sont **ceux des gastro-entérites et de l'hépatite A**. Les **germes bactériens pathogènes** rencontrés dans les coquillages sont généralement d'**origine marine (*Vibrio parahaemolyticus*) ou humaine (*Vibrio cholerae*, *Salmonella*)**.

2.2.3.1 La contamination des coquillages

La contamination des coquillages concerne essentiellement les **bivalves filtreurs**, et surtout les **bivalves épigés** (moules, huîtres). En effet, **ces mollusques filtrent d'importantes quantités d'eau** (une huître filtre environ 5 litres/h et une moule jusqu'à 4 litres par heure) pour se nourrir, et **se chargent progressivement en germes et autres polluants**. La **cinétique d'accumulation** ne

dépend pas de la nature du germe mais plutôt de l'**activité physiologique** du mollusque et plus particulièrement de son **activité de filtration**. D'autres facteurs tels que le **temps d'exposition**, le **taux de MES** et la **température** sont également déterminants dans la contamination des bivalves.

Ce **phénomène** d'accumulation peut être **décrit par le facteur d'enrichissement** qui peut varier de **10 à 250** suivant le bivalve et les autres facteurs cités précédemment [4].

Dans le cadre de la **pêche professionnelle**, les mollusques prélevés peuvent faire l'objet d'une **décontamination** en eau de mer naturellement propre (**reparcage**) ou désinfectée (**purification**) selon la catégorie de zone dont ils sont issus (cf. tableau 2-6) tandis que la pêche de loisirs n'est autorisée qu'en zone A et B, du fait de la **consommation directe** des coquillages (cf. paragraphe 2.3.1.2 et tableau 2-6).

En ce qui concerne la **caractérisation du risque microbiologique** associé à la consommation de coquillages, cette **étape** est **délicate** et peu d'études sont disponibles à ce sujet. Par exemple, une évaluation des risques liés au VHA exposée dans le mémoire de Nezha Leftah ne permet pas de caractériser le risque. En effet, de **nombreuses incertitudes** persistent sur la **quantité de particules virales excrétées par un malade**, sur l'**intégrité des particules virales** lors de l'infection / excrétion, lors de leur séjour en milieu marin et lors de leur absorption et concentration dans le coquillage et enfin sur la **relation dose / effet** (DMI variables suivant les individus) [41].

2.2.4 Gestion des risques liés aux usages

Le **concept de risque acceptable** implique que **des considérations sociales, culturelles, économiques, politiques ainsi que médicales** soient prises en compte dans son établissement et que ces considérations puissent varier dans le temps et dans l'espace.

Toutefois, la notion de **risque réel** évoqué par Jean Vial reste une **notion difficilement appréciable en situation réelle** du fait, d'une part de la **complexité de la microbiologie des eaux** et d'autre part, du **peu de connaissances existantes en terme d'évaluation des risques microbiologiques** (cf. paragraphe 2.2.2 et 2.2.3).

En effet, le risque sanitaire lié aux microorganismes résulte de leur présence et de leur concentration au point d'usages de l'eau. Le dénombrement de ces microorganismes pathogènes posent des problèmes économiques (dénombrement onéreux) et techniques (dénombrement et mise en évidence difficile parfois).

C'est pourquoi, le **risque** sanitaire lié à la pollution microbiologique ne peut être mesuré ou plus précisément **appréhendé** que **par une approche statistique** (échantillonnage) et apprécié à l'aide de **paramètres biologiques non conservatifs** comme on peut le voir dans la législation (cf. contexte réglementaire), ce qui rend difficile la tâche des autorités concernées en terme d'établissement des normes et de respect de celles-ci.

En effet, le dénombrement de pathogènes est insuffisant en terme d'intérêt hygiénique dans la mesure où il ne traduit le risque qu'au moment du prélèvement et qu'en période normale il peut être bas.

Malgré toutes ces difficultés, l'hygiéniste doit prévoir, et prévoir notamment le risque d'apparition d'un grand nombre de microorganismes pathogènes, afin de prendre à l'avance les mesures nécessaires. Si le germe redouté est fécal, ce n'est peut être pas la concentration habituelle qui importe, mais la concentration en matières fécales de l'eau usée : en rapport avec l'importance de la population, elle permet d'apprécier une concentration envisageable en germes pathogènes en cas d'augmentation du nombre d'individus infectés, par exemple lors d'une épidémie.

2.3 Contexte réglementaire

2.3.1.1 Textes relatifs aux zones conchylicoles

Les **normes en vigueur** découlent de la **Directive Européenne du 15 juillet 1991**, traduite en droit français par **le Décret du 28 avril 1994 et l'Arrêté du 21 mai 1999**. Ces textes introduisent le classement des **zones conchylicoles** basé sur les **germes témoins de contamination fécale** suivant **4 catégories** (cf. tableau 2-6) afin de limiter au maximum les risques sanitaires liés à la consommation de coquillages et déterminent les contraintes de distribution liées à ces classements.

Le **décret** impose une série minimale de **26 analyses des chairs de coquillage** par point de prélèvement **sur une durée minimale d'un an**.

Les prélèvements sont réalisés par l'**IFREMER** depuis l'entrée en vigueur du Décret n° 89-247 du 14 avril 1989. Le préfet prononce alors par Arrêté le classement de salubrité des zones de production sur proposition de la Direction Départementale des Affaires Maritimes qui consulte pour avis l'IFREMER, la DSV, la DDASS, la DDE et le Service Maritime.

CATEGORIE	CONDITIONS MICROBIOLOGIQUES	CONTRAINTES D'EXPLOITATION
A	Au moins 90% des prélèvements \leq 300 C.F. ou \leq 230 E. coli / 100g de chair Et Aucun prélèvement \geq 1000C.F. dans 100g de chair Et Aucun prélèvement ne contient de Salmonella /25g de chair	Consommation directe autorisée
B	Au moins 90% des prélèvements \leq 6000 C.F./100g ou \leq 4600 E. coli /100g de chair Et Aucun prélèvement \geq 60000 C.F. ou 46000 E. coli /100g de chair	Distribution après reparcage en zone A ou purification
C	Au moins 90% des prélèvements \leq 60000 C.F. ou moins de 4600 E. coli dans 100g de chair	Distribution après reparcage de longue durée ou traitement thermique avant distribution
D	Les critères exigibles pour les classements A, B et C ne sont pas satisfaits	Récolte non autorisée

Tableau 2-6: Conditions microbiologiques pour le classement des zones et contraintes d'exploitation.

2.3.1.2 Textes concernant la pêche de loisirs

Le **Décret n°98-696 du 30 juillet 1998** modifie celui du 28 avril 1994 et autorise la pêche des coquillages vivants destinés à la consommation humaine à titre non professionnel sur les **gisements naturels situés en zone A et B** (cf. tableau 2-6). Toutefois, « le classement de salubrité des zones définies par leurs limites géographiques précises est fixé par arrêté du préfet du département sur proposition du directeur départemental des Affaires Maritimes après avis du directeur départemental des Affaires Sanitaires et Sociales. En cas de contamination momentanée d'une zone et en fonction de sa nature et de son niveau, le préfet, sur proposition du directeur des Services Vétérinaires, et après avis du directeur départemental des Affaires Sanitaires et Sociales, peut, soit soumettre l'exploitation à des conditions générales plus contraignantes, soit suspendre toutes ou certaines formes d'activités » d'après le Décret n°94-340 du 28 avril 1994.

2.3.1.3 Textes relatifs aux zones de baignades

La protection de la qualité des eaux de baignade fait l'objet d'un cadre réglementaire défini par la **Directive Européenne du 8 décembre 1975** (cf. tableau 2-7), transcrite en droit français par le

décret n°81-324 du 7 avril 1981, modifié par le décret n°91-980 du 20 septembre 1991 (cf. tableau 2-8).

PARAMETRES	VALEUR GUIDE	VALEUR IMPERATIVE	FREQUENCE ECHANTILLONAGE
Coliformes Totaux/100mL	500	10 000	Bimensuelle
Coliformes Thermotolérants/100mL	100	2 000	Bimensuelle
Streptocoques Fécaux/100mL	100	-*	Bimensuelle
Salmonelles/1L	-*	0	(1)
Entérovirus PFU/10L	-*	0	(1)

*norme non définie

(1) la concentration est à vérifier lorsqu'une enquête effectuée dans la zone de baignade en révèle la présence possible ou une détérioration possible de la qualité des eaux.

Tableau 2-7 : Normes de qualité microbiologique relatives aux eaux de baignade. (Extrait de l'annexe 1 du décret n°81-324 du 7 avril 1981)

Ces textes indiquent les valeurs guides et impératives des paramètres de qualité microbiologique des eaux de baignade répertoriées dans le tableau 2-7. Le **suivi de la qualité** des eaux de baignades est réalisé par les **Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales** pendant la **saison estivale** (du 15 mai au 30 septembre) et consiste à prélever et à analyser des échantillons afin de dénombrer les **E. coli et les Streptocoques fécaux** et de classer les baignades. Lorsqu'un échantillon présente un mauvais résultat, la DDASS en informe le maire qui doit prendre une décision par **Arrêté Municipal** et prélève un autre échantillon. Dans le cas où un arrêté est pris, il est levé dès le retour à la normale. Lorsque le maire anticipe un mauvais résultat, dans le cas d'un orage ou d'un événement pluvieux exceptionnel, il peut prendre une **mesure d'interdiction préventive** et dans ce cas les mauvais résultats ne sont pas pris en compte pour le classement des baignades.

CLASSE	CRITERE MICROBIOLOGIQUE	QUALITE
A	Au moins 80% des prélèvements \leq 100 E. coli/100mL d'eau Et Au moins 95% des prélèvements \leq 2000 E. coli/100mL Et Au moins 95% des prélèvements \leq 100 S.F./100mL	Bonne qualité
B	Au moins 95% des prélèvements \leq 2000 E. coli/100mL	Qualité acceptable
C	Le pourcentage de prélèvements \geq 2000 E. coli/100mL est compris entre 5 et 33.3%	Pollution momentanée
D	Le pourcentage des prélèvements \geq 2000 E. coli/100mL est d'au moins 33.3%	Mauvaise qualité

Tableau 2-8 : Normes françaises de qualité microbiologique des eaux de baignade.

Bien qu'adoptée il y a plus de 25 ans, cette **directive sur les eaux de baignade** présente toujours autant d'intérêt au fil des saisons balnéaires, puisqu'elle permet de **protéger le public des pollutions** qui surviennent de façon accidentelle ou chronique à l'intérieur et aux abords des zones de baignade en Europe. En outre, la **qualité générale des eaux de baignade s'est considérablement améliorée** depuis l'entrée en vigueur de la directive.

Toutefois, le texte, au fil des ans, a fait l'**objet de critiques** de plus en plus nombreuses pour des motifs d'ordre scientifique et technologique et de gestion :

- ❑ **certains paramètres** définis dans la directive en vigueur sont **obsolètes** et d'autres ne sont plus pertinents ;
- ❑ la surveillance des eaux aurait **uniquement pour but** d'en **vérifier la conformité** et non d'apprendre à mieux connaître les eaux de baignade ;
- ❑ la **directive ne précise pas les méthodes d'analyses à employer**, de sorte que les laboratoires utilisent des méthodes très variées et les résultats ne sont pas entièrement comparables ;
- ❑ les **analyses microbiologiques** nécessitent beaucoup de **temps**, ce qui signifie que, si la non-conformité de l'échantillon est confirmée, l'éventuelle (ré)action destinée à remédier à cette situation interviendra trop tard et le public risquera d'être exposé à une pollution.

En outre, il est devenu clair que la qualité des eaux de baignade n'est pas seulement une question de 'contrôle de produit', mais véritablement de gestion de la qualité et d'assurance de la qualité.

Un autre point important concerne le **passage de la directive, de la surveillance de la qualité à la gestion de la qualité des eaux de baignade**. En effet, les exigences de la future directive porteront non seulement sur la conformité aux critères de qualité mais également sur la réponse donnée en cas de non-respect de ces critères. Ces principes s'harmonisent avec ceux énoncés dans la directive cadre sur l'eau.

Les critères microbiologiques proposés pour l'établissement des **nouvelles normes** sont :

- ❑ **50 entérocoques /100mL en milieu marin,**
- ❑ **400 E. coli /100mL en eaux douces.**

De plus, les **méthodes d'analyses normalisées ISO ou CEN** seront utilisées pour une homogénéisation des résultats.(source : élaborer une nouvelle politique des eaux de baignade)

Face à cette sévèrisation, il serait bon d'imposer des modalités de prélèvements (problème des mauvais résultats par temps de pluie) pour ne pas permettre des classements qui ne sont plus en lien avec la réalité microbiologique du milieu littoral.

De plus, l'abaissement des valeurs limites peut inciter à mettre en œuvre des procédés de désinfection à outrance dont les méfaits posent de graves problèmes en matière de Santé Publique.

2.4 Problématique de Santé Publique : Maîtrise et gestion des risques par rapport à la désinfection

Les microorganismes véhiculés par les rejets d'eaux usées sont susceptibles de détériorer la qualité du milieu récepteur et de porter atteinte à la salubrité de certains usages ou activités sensibles à la contamination microbiologique.

Comme nous avons pu le voir précédemment, les **usages des eaux côtières** peuvent être à l'origine de pathologies chez l'homme par l'intermédiaire de la baignade ou de la consommation de coquillages et font l'**objet de réglementation**.

Face à ces problèmes sanitaires générés le plus souvent par des rejets d'eaux usées, **des procédés de désinfection** des eaux usées épurées sont mis en œuvre avant rejet dans le milieu récepteur.

2.4.1 La désinfection des eaux usées

Le mot désinfection « désigne la **mise en œuvre de moyens destinés à détruire dans les eaux usées les microorganismes susceptibles d'être pathogènes pour l'homme** ».

La désinfection d'une eau usée peut donc être définie comme une opération dont le but est de **réduire** en fonction des usages, **à un niveau acceptable, le risque sanitaire** lié à des microorganismes pathogènes, voire opportunistes, qui, lors de l'utilisation de cette eau, seraient susceptibles de nuire à la santé.

« Cette désinfection peut être réalisée secondairement et partiellement par des procédés visant à l'obtention d'autres objectifs tels que l'élimination des matières en suspension et des matières organiques. Mais il existe aussi des procédés de traitement visant uniquement à détruire les microorganismes pathogènes. Ils sont généralement coûteux et complexes ; on ne peut les envisager s'ils ne sont pas imposés par un risque sanitaire REEL, découlant de la présence de ces microorganismes » [59].

2.4.2 Maitrise et gestion des risques liés à la désinfection

Ces procédés peuvent permettre de mettre en **conformité le milieu naturel avec la législation** et un problème se pose alors est-ce que la conformité à la législation garantit des usages sans risque ou plutôt n'engendrant qu'un risque acceptable ? En effet, est-ce que les valeurs limites des GTCF préconisées par la réglementation sont toujours pertinents lorsque l'on a affaire à une désinfection pour garantir la salubrité du milieu naturel?

Cette question évoque **d'une part**, le problème qui se pose lors de l'**établissement des normes**, en effet, on dispose actuellement **de peu d'informations sur les évaluations quantitatives de risques microbiologiques** et **d'autre part**, le problème de la désinfection qui détruit les GTCF.

3 - UNE REFLEXION RENOVEE

Cette partie présente les préoccupations et les attentes des différents partenaires qui s'intéressent au problème posé par la mise en œuvre des procédés de désinfection avant rejet des eaux usées en milieu littoral et qui s'occupent de la gestion des risques liés aux usages du milieu récepteur.

3.1 Préoccupations et attentes des différents partenaires

3.1.1 L'Agence de l'Eau :

L'Agence de l'Eau est un établissement public administratif doté de la personnalité civile et de l'autonomie financière dont la mission est de faciliter les diverses actions d'intérêt commun aux bassins ou groupements de bassins.

Elle **perçoit des redevances** sur les personnes publiques ou privées qui rendent leurs interventions nécessaires ou utiles et, en contrepartie, **réalise ou fait réaliser des études et des travaux**. Elle apporte surtout une aide financière aux personnes publiques ou privées qui réalisent des travaux correspondant à ses objectifs. Ces objectifs sont contenus dans un programme pluriannuel d'intervention dressé en conformité avec les orientations du Plan de Développement économique, social et culturel.

Les priorités du programme d'intervention pour la période 1997 à 2001 concernent notamment le développement des aides au bon fonctionnement des stations d'épuration et l'amélioration de la fiabilité des traitements et de la collecte.

Il est facile de comprendre que dans ce contexte, **l'Agence s'intéresse aux procédés de désinfection et à leur évaluation technico-économique**. En effet, certains procédés sont innovants en matière de désinfection des eaux usées sur site si bien qu'un suivi soutenu de leur efficacité ainsi qu'un bilan économique de leur fonctionnement s'avèrent intéressants:

- **pour apporter des précisions quant aux connaissances en terme de Santé Publique**, et évaluer les limites de ce procédé dans le cadre de la protection des usages des eaux littorales,
- **pour orienter les décisions futures** en matière de désinfection des eaux en zone littorale.]

3.1.2 L'exploitant

La Lyonnaise des Eaux a la charge de l'**exploitation des infrastructures d'assainissement** du Syndicat Mixte de Côte de Nacre. En tant qu'exploitant, elle doit assurer un fonctionnement des ouvrages afin de **respecter les réglementations** en vigueur et mettre en conformité les réseaux.

Elle réalise également l'autosurveillance de la station et du réseau.

Elle possède un Comité de Fonds Pour l'Innovation qui finance certaines études également.

3.1.3 Le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France

Face à la législation européenne relative aux eaux de baignade, à l'assainissement des agglomérations et aux zones de production de coquillages, le Conseil Supérieur doit pouvoir **fournir des avis compétents** sur les projets dont elle est saisie (cf. Article R780.1 à 780.3 du Code de la Santé Publique) afin d'améliorer la **sécurité des consommateurs ou des usagers** dans les **zones exposées** à l'influence de la pollution résiduelle apportée par tout **effluent désinfecté**.

Dans le document de 1995 concernant les recommandations sanitaires relatives à la désinfection des eaux usées urbaines [12], il est rappelé l'avis du CSHPF du 14 décembre 1987 relatif à la chloration des effluents bruts ou sommairement traités : La destruction partielle ou totale des germes témoins dans ces conditions ne garantit pas celle des pathogènes dans les mêmes proportions : elle masque la réalité du risque sanitaire.

D'après le Conseil, les procédés de désinfection ne sont pas maîtrisés et les prescripteurs sont démunis devant la complexité des difficultés auxquelles ils sont confrontés. De ce constat, le Conseil pense que des **expérimentations menées en situations réelles**, selon des protocoles rigoureusement établis sont indispensables **pour vérifier les incertitudes** qui subsistent depuis trop longtemps et constituent autant de dangers potentiels pour la Santé Publique et l'Environnement.

De plus, il préconise la désinfection en dernier recours si vraiment aucune autre solution n'est envisageable.

3.1.4 Les collectivités territoriales

Les collectivités territoriales ont **pour mission de garantir la protection des usages et des usagers** du milieu littoral via le respect de la conformité des infrastructures.

Elles investissent des sommes d'argent via le budget eau – assainissement afin d'assurer leur mission et de favoriser ou de ne pas nuire, de cette façon à l'essor du tourisme.

Les Syndicats sont chargés de mettre en place des programmes d'auto-surveillance afin de permettre le **contrôle de l'efficacité et du bon fonctionnement des systèmes d'assainissement** par la DDE et d'apprécier l'effet des rejets sur le milieu marin.

De plus, les communes participent à l'information du public en réalisant l'affichage des analyses comme le prévoit la réglementation et prend les arrêtés d'interdiction sur conseil des services de l'Etat pour les **zones de baignades** dépassant les normes impératives.

Pour les **coquillages**, en cas de contamination momentanée d'une zone et en fonction de sa nature et de son niveau, le préfet, sur proposition du directeur des services vétérinaires, et après avis du

directeur départemental des Affaires Sanitaires et Sociales, peut soit soumettre l'exploitation à des conditions générales plus contraignantes, soit suspendre toutes ou certaines formes d'activité.

3.1.5 Les Services de l'Etat

En matière de police des eaux, le ministre chargé de l'Environnement fait appel notamment aux services déconcentrés des divers ministères concernés dans le domaine de l'eau, qui sont placés soit sous l'autorité des préfets de région (en particulier DIREN et DRIRE), soit sous l'autorité des préfets de département (en particulier DDE, DDAF, DDASS).

Les **DDASS** ont en charge la **surveillance des eaux de baignades** pendant la saison estivale et l'établissement du classement des baignades. Cette surveillance consiste à prélever et à analyser des échantillons afin de voir si les critères législatifs concernant le milieu sont respectés, autrement dit si les eaux sont conformes ou non puis par exploitation de ces données procéder au classement de ces baignades. Elles sont également chargées du suivi sanitaire des gisements naturels de coquillages.

IFREMER se charge de la **surveillance du milieu marin en ce qui concerne les activités conchylicoles** via le réseau RNO, REMI, REPHY en collaboration avec la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales et la Direction Départementale de l'Équipement. Il procède également au classement des zones conchylicoles en collaboration avec la Direction des Affaires Maritimes.

Les **DDE** ont en charge un rôle de **police des eaux et de service instructeur** pour les autorisations de rejet en milieu littoral.

Les DDASS, DDE, et DDAFF sont également chargés du **contrôle du respect des arrêtés** par rapport aux usages.

3.1.6 Les Bureaux d'Études

Les bureaux d'études réalisent des **projets adaptés au contexte local, réglementaire et environnemental** en proposant des solutions techniques.

Les bureaux d'études ont également un **rôle de conseil** auprès des collectivités territoriales et rédigent les dossiers d'Étude d'Impact (notamment les volets sanitaires).

Les études technico-économiques portant sur l'efficacité des filières de traitement mises en œuvre ainsi que les aspects sanitaires liés à la désinfection et au rejet sont utiles pour leurs différentes missions de conseil et d'expertise. Plus concrètement, il est intéressant de savoir si la désinfection est indispensable pour garantir un effluent assez peu riche en pathogènes pour qu'il ne présente pas de risque sanitaire après dilution dans le milieu récepteur.

3.1.7 Convergence des préoccupations

Comme on peut le constater, la **plupart des partenaires** ont un souci de **conformité** du milieu littoral, i.e. de **respect de la législation en vigueur**. C'est notamment le cas de l'**exploitant, des collectivités territoriales** et des **services de l'Etat** par le biais d'un suivi de paramètres.

Pour certains, leurs préoccupations sortent du cadre de la conformité :

- ❑ l'**efficacité des procédés de désinfection** intéresse l'**Agence de l'eau**, les **bureaux d'études** et le **Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France**,
- ❑ l'**évaluation technico-économique** des procédés de désinfection intéresse les bureaux d'études et l'Agence de l'Eau,
- ❑ les **aspects sanitaires** intéressent le **Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France**, les **DDASS** par l'intermédiaire du classement des plages et enfin les **bureaux d'études** par l'intermédiaire des volets sanitaires des études d'impact .

De manière générale, ces préoccupations se traduisent par la mise en œuvre d'un suivi de paramètres qui débouche sur un système de surveillance.

3.1.8 La surveillance

Par définition, «la **surveillance** est le **processus de collecte**, de **compilation** et **d'analyse des données**, ainsi que leur **diffusion** à l'ensemble de ceux qui ont besoin d'être informés » d'après Langmuir (1963) .

Une proposition de définition appliquée peut être : «la **surveillance** est un processus dynamique allant **de la collecte de données à leur transformation en informations pertinentes pour l'action** »

Après avoir choisi un objectif bien défini ou une action, il est nécessaire de mettre en place le système de surveillance qui permet d'apporter les éléments pertinents à la prise de décision. Le **système de surveillance** correspond en fait à un **suivi d'indicateurs** appropriés au problème.

Par exemple, dans le but d'évaluer l'efficacité d'un procédé de désinfection, il est nécessaire de mettre en place un suivi de paramètres microbiologiques en amont et en aval du procédé sur la filière de traitement.

3.2 Notion classique de germes 'indicateurs'

3.2.1 Les besoins et le raisonnement des hygiénistes :

3.2.1.1 Raisonnement

Le Tableau 2-1 répertorie les organismes pathogènes présents dans les eaux usées et contaminants via les usages des eaux littorales. A la vue de la variété des organismes cités, il est hors de question de les rechercher un par un pour mettre en évidence une éventuelle contamination. De plus, les pathogènes peuvent être présents occasionnellement, généralement en petit nombre et leur mise en évidence par les laboratoires est longue, difficile et coûteuse.

Face à ces problèmes, les **hygiénistes** ont cherché à mettre au point **un système permettant de simplifier leurs études** et ont proposés la **notion de germes indicateurs** par analogie avec ce qui se fait pour les eaux de boisson. En effet, le contrôle sanitaire périodique doit mettre en œuvre des moyens très simples d'un point de vue technique et adaptés sur le plan économique.

Du fait que la **majorité des maladies d'origine hydrique** est due à la **contamination fécale des eaux**, on utilise des **indicateurs de pollution fécale** qui entrent dans la composition normale de la flore intestinale et qui sont véhiculés dans les eaux usées.

3.2.1.2 Historique

Aux premiers temps de la microbiologie des eaux (1890 – 1900), les **coliformes fécaux** et les **streptocoques fécaux** ont été retenus comme Germes Indicateurs de Contamination Fécale (**GTCTF**) parce qu'ils étaient **très abondants** mais aussi parce que les **méthodes sélectives** étaient **disponibles** pour les dénombrer. Aujourd'hui, ce sont les germes tests ou indicateurs les plus fréquemment utilisés.

Bonde élargit la réflexion et en 1966, il définit les conditions que doivent remplir les germes indicateurs de contamination fécale dont la présence peut traduire celle de véritables pathogènes :

- ❑ indiquer la présence possible des germes pathogènes ;
- ❑ être présents seulement quand les pathogènes représentent un danger imminent ;
- ❑ apparaître en plus grand nombre que les pathogènes ;
- ❑ pousser rapidement sur des milieux simples ;
- ❑ produire des réactions simples et caractéristiques, permettant une identification sans ambiguïté du groupe ;
- ❑ être distribués au hasard dans l'échantillon à examiner ou si ce n'est pas le cas, une simple procédure d'homogénéisation doit permettre d'en obtenir une répartition uniforme ;
- ❑ enfin se développer largement, indépendamment des autres organismes présents, c'est-à-dire qu'ils ne doivent pas être inhibés par la présence d'autres bactéries.

Les 3 premières conditions énoncées concernent l'écologie et les 4 suivantes concernent la faisabilité analytique : ces 2 notions complémentaires, **l'écologie du microorganisme et la faisabilité analytique** sont fondamentales et servent de **base pour le choix des indicateurs**.

Bonde affirme ensuite que la **présence de ces germes** traduit à coup sûr une **contamination d'origine fécale** et se pose la question du **risque infectieux associé**. Pour prévenir ces risques, la réglementation établit des normes mais encore faut-il qu'elle repose sur des bases scientifiques ? Il faudrait pour cela connaître soit la relation existante entre la bactérie pathogène et l'infection (dose infectieuse), soit la relation existante entre le germe indicateur et l'infection. Pour répondre à ces questions, il est nécessaire de faire des enquêtes épidémiologiques. Ces problèmes évoqués par Bonde, il y a une trentaine d'années maintenant, sont toujours d'actualité (cf. paragraphe 2.2.2 et 2.2.3.).

En 1979, Vial définit les **germes indicateurs** comme « des germes **présents en nombre important, faciles à dénombrer** et dont la **présence ou le comportement donne des renseignements utiles sur le risque de présence ou le comportement éventuel des pathogènes** » [79]. Dans ses travaux, il distingue 2 catégories d'indicateurs :

- ❑ « Les indicateurs de pollution fécale sont utilisés pour apprécier l'état sanitaire d'une eau naturelle ou usée non désinfectée. »
- ❑ les indicateurs d'efficacité de traitement. Ils font l'objet du paragraphe suivant.

3.2.2 Inconvénients et limites : introduction de la notion d'indicateur d'efficacité de traitement

Tout d'abord, les indicateurs de pollution fécale ne témoignent que d'une pollution d'origine fécale et ne donnent donc **pas d'indications** certaines **sur le risque provenant des microorganismes d'origine non fécale.**

En effet, l'emploi des germes tests de contamination fécale comme indicateurs de pollution permettra d'estimer l'importance de la « fécalisation » des eaux et donc le risque de présence de germes fécaux pathogènes d'origine humaine ou animale.

Dans la mesure où un **traitement de désinfection** est réalisé, il est bon de **vérifier** que celui-ci contribue à abaisser le nombre de microorganismes présents. Dans la situation idéale, les microorganismes susceptibles de provoquer des problèmes sanitaires dans une situation donnée devraient être recherchés spécifiquement. Il est clair que ceci ne peut rester qu'une hypothèse de laboratoire.

Dans la pratique, le nombre et l'identité des microorganismes présents avant traitement ne font pas l'objet d'une étude systématique. On a donc recours aux **indicateurs d'efficacité de traitement**. On définit ainsi des **microorganismes qui se comportent vis-à-vis du traitement envisagé de façon aussi proche que possible que les pathogènes que l'on veut éliminer**. Le problème crucial est celui du choix de l'indicateur, car de même que tous les germes n'ont pas la même sensibilité aux agents désinfectants, les indicateurs diffèrent des pathogènes. L'utilisation d'un indicateur peut être qualitativement utile mais ne permet pas de conclure de façon quantitative certaine quant à la diminution d'un pathogène.

Traditionnellement, les germes indicateurs d'efficacité de traitement sont les **coliformes** du fait que ce sont des germes fréquemment présents dans l'eau brute. Leur absence informe sur l'efficacité du traitement vis-à-vis des germes qui se comportent comme eux, mais n'indique rien quant à la présence de virus ou de spores.

Pour qu'un germe soit un bon **indicateur d'efficacité de traitement**, il devrait présenter un certain nombre de propriétés et en particulier :

- ❑ être **présent dans tous les échantillons**,
- ❑ être **présent en plus grand nombre** que les pathogènes (ou au moins égal),
- ❑ être **au moins aussi ou plus résistant** à la désinfection **que les pathogènes** connus,
- ❑ **ne pas se multiplier** après la désinfection,
- ❑ ne pas être inhibé par la présence d'autres germes,
- ❑ être **facile à dénombrer**,

- ❑ ne pas être pathogène lui-même, en effet, cela voudrait dire qu'il ne sont présents que lorsqu'il y a des porteurs de virus et cela pourrait poser des problèmes lors de la manipulation par les opérateurs.

On remarque que l'origine des germes utilisés n'a pas d'importance dans ce cas et que **peu de germes** sont susceptibles **de satisfaire l'ensemble de ces critères**

Cabelli en 1978 [8] propose des critères mais distingue également différentes utilisations : indicateurs fécaux (e.g. E. coli), indicateurs de pollution par les eaux usées (e.g. Pseudomonas aeruginosa), des indicateurs pour distinguer la pollution par les humains de celles des animaux (e.g. bifido-bacteria or certain streptococci), des indicateurs en relation avec l'âge de la pollution et la proximité de la source (e.g. spores de clostridia) et des indicateurs de pollution par des nutriments (e.g. Aeromonas hydrophila).

De ces considérations, il est clair qu'il n'y a **pas de réponse simple** aux problèmes posés par l'utilisation et le choix des indicateurs.

4 - CONTEXTE LOCAL

4.1 Schéma d'assainissement et infrastructures

Sur le littoral du Calvados, entre LUC SUR MER et COURSEULLES SUR MER, le **Syndicat Mixte d'Assainissement de la Côte de Nacre** a mis en place **une infrastructure performante de collecte et de traitement des eaux usées** pour 7 communes voisines afin de répondre au mieux à la protection des usages du milieu naturel.

Le caractère maritime de ces communes a favorisé le développement d'une activité touristique saisonnière, qui se traduit notamment par une augmentation importante de la population en période estivale.

Le **dimensionnement des ouvrages** prend en compte ces variations saisonnières de la population :

- ❑ **26600 habitants** hors saison touristique,
- ❑ **97000 habitants** pour les mois de juillet et août.

L'infrastructure d'assainissement se compose de **4 bassins tampons**, d'une **station de traitement des eaux usées** et d'un **émissaire en mer** débouchant à 2300m du rivage.

La station de traitement dimensionnée pour un débit de pointe de 16400 m³/Jour, est constituée d'une

- ❑ filière de **traitement des eaux usées** :

Ouvrage tampon, pré-traitement (dégrillage puis dessablage - dégraissage), suivi d'un traitement par boues activées et aération prolongée.

- ❑ filière de **traitement tertiaire** :

Filtration sur sable suivie d'une désinfection à l'ozone.(vitesse, taux d'ozonation, temps de contact)

- ❑ filière de **traitement des boues** :

Epaississement par aéro-flottation suivi d'une déshydratation mécanique par centrifugation et chaulage, permettant l'épandage des boues d'une siccité voisine de 20-30%.

- ❑ filière de **traitement des odeurs** :

Lavage chimique de l'air vicié issu des pré-traitements et du traitement des boues.

Des photographies des différents ouvrages de traitement se situent en annexe 3 et le synoptique de la figure 3-1 présente succinctement la filière de traitement qui se trouve également de façon plus détaillée en annexe 6.

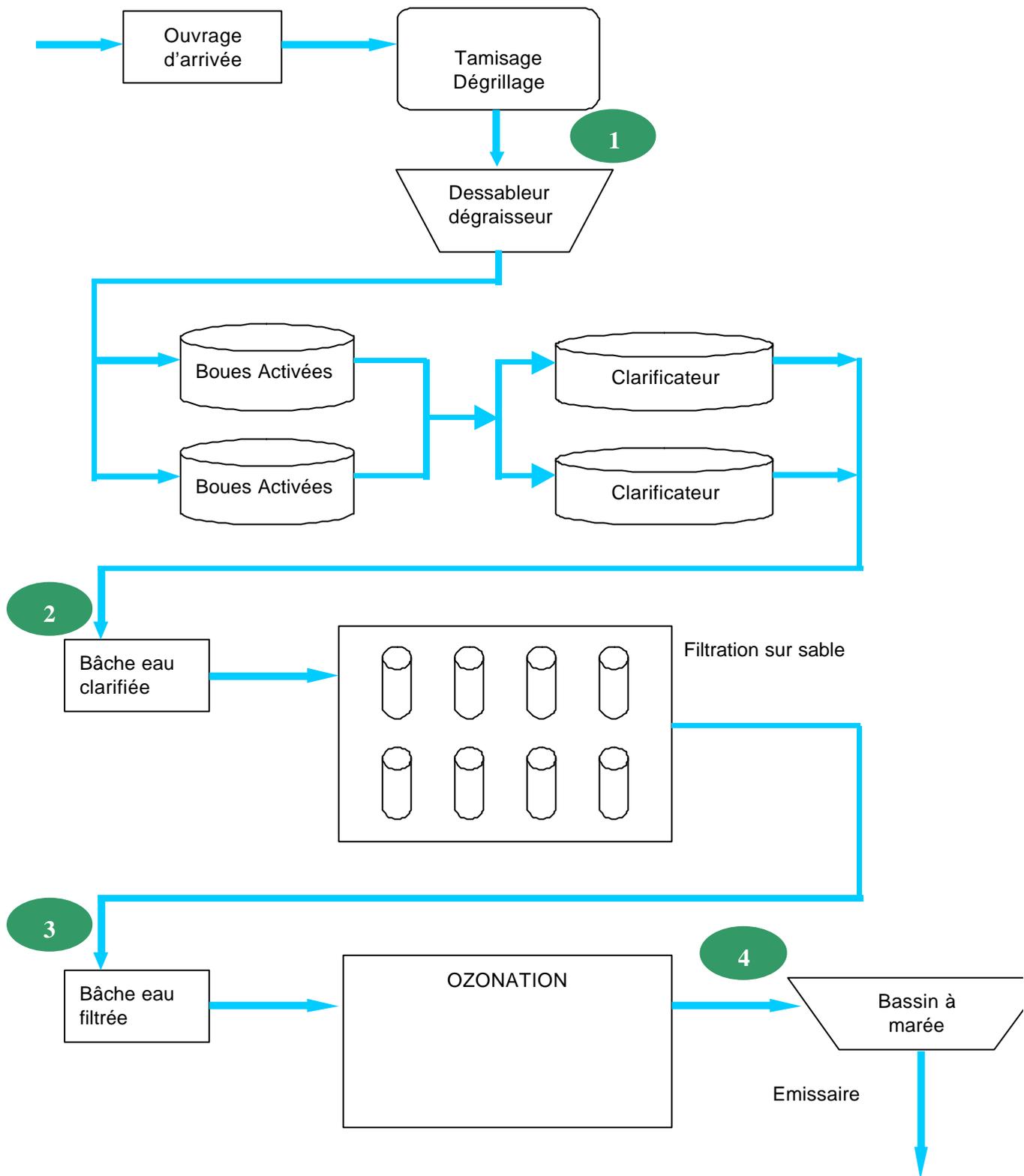


Figure 4-1 : Synoptique de la filière de traitement des eaux usées et de traitement tertiaire.

4.2 Raisons des choix : Désinfection à l’ozone et rejet en mer via un émissaire

4.2.1 Usages du milieu [51]

Le littoral de la côte de Nacre est le siège d’usages importants et constitue par conséquent, la richesse économique principale des communes concernées.

4.2.1.1 La baignade

Sur l’aire du Syndicat Mixte de Côte de Nacre, **8 plages** font l’objet du **programme de surveillance** de la qualité des eaux de baignade par la DDASS (cf. figure 4-2).

Depuis la mise en service de la station de Côte de Nacre, une amélioration sensible de la qualité des eaux de baignade a pu être observée. Toutefois, il subsiste quelques points de pollution : pour l’année 2000, 6 plages sont classées B et 2 sont classées C (Saint Aubin - poste de surveillance et Bernières - devant la rue Câline). Les mauvais résultats relevés sont apparemment dus à des dysfonctionnements du réseau et/ou des apports du bassin versant et non au rejet de la station.

4.2.1.2 La pêche récréative et professionnelle.

La zone littorale située au niveau du plateau calcaire et qui s’étend de Langrune à Courseulles constitue un **gisement naturel de moules classé ZNIEFF** (cf. figure 4-2).

Compte tenu du cycle de reproduction des moules, les sites d’exploitation localisés sur ce plateau se trouvent près des côtes mais ne sont plus exploités par manque de productivité.

Toutefois, la qualité des coquillages est toujours **contrôlée par l’IFREMER** à travers le réseau REMI qui suit la qualité microbiologique des moules. Un des points du **réseau REMI** se situe au niveau de Saint Aubin (cf. figure 4-2).

D’autre part, la configuration de la côte et l’amplitude des marées provoquent un découverture important de l’estran à marée basse et permettent ainsi aux estivants de pratiquer la **pêche à pieds**.

Cette zone est également peuplée, par de nombreux crustacés, directement exploités par les **pêcheurs côtiers** (homards, tourteaux, étrilles et crevettes) .

4.2.2 Historique

En 1993, après avoir constaté une pollution assez importante en coliformes fécaux des eaux du littoral de Côte de Nacre entre LUC/MER et COURSEULLES, 7 communes concernées par le rejet en mer des eaux traitées dans trois stations d’épuration (COURSEULLES, ST AUBIN/MER, et LUC/MER) se sont regroupées au sein d’un Syndicat Mixte d’Assainissement. En effet, la qualité du milieu littoral n’était plus compatible avec les baignades sur les plages et l’exploitation des bancs naturels de moules qui se développent sur les rochers du Calvados.

4.2.3 Déroulement du projet

Un **concours** est **ouvert en 1993** concernant l'assainissement de la Côte de Nacre. Le bureau d'études retenu privilégie une **épuration biologique poussée suivi d'une désinfection** sur une usine de traitement unique puis un **rejet en mer par l'intermédiaire d'un émissaire court** (2300 ml) équipé d'un diffuseur, avec un phasage du rejet en fonction de la marée.

Le procédé de désinfection proposé est l'**ozonation précédée** d'une **filtration sur sable**. En effet, ce procédé a déjà fait ses preuves dans le domaine de l'eau potable et son efficacité n'est plus à démontrer. Les autres avant-projets proposent des épurations sommaires sans désinfection mais préconisent le rejet par l'intermédiaire d'un émissaire long.

Les études courantologiques et la modélisation hydrodynamique montrent clairement que le panache de rejet, compte tenu des courants littoraux locaux liés aux marées, vient se replaquer sur les plages et cela, pour différentes longueurs d'émissaires 2300 – 3500 et 5000m.

Au vu de ces résultats, le **jury du concours** composé d'élus du Syndicat et de techniciens des services locaux de l'Etat (DDE, DDASS...) opte pour une **désinfection à l'ozone** avec le maintien d'un **émissaire long** pour rejeter dans la fosse de Bernières/Mer.

Le bureau d'études rédige ensuite l'étude d'impact ainsi que l'avant projet de maîtrise d'œuvre.

Le dépôt du dossier à la préfecture précède l'ouverture de l'Enquête Publique, l'Avis du Comité Départemental d'Hygiène et celui du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France.

4.2.4 Avis de la Commission Départementale d'Hygiène

Le **pôle de Compétences Interservices Eau** (DDAF, DDASS, DIREN, DDE service instructeur) émet un **avis favorable** au projet, sous réserve que les prescriptions suivantes, relatives au système d'assainissement et aux rejets des eaux épurées soient prises en compte:

- ❑ les campagnes de lâcher de colorant effectuées pour suivre l'évolution du panache du rejet en mer n'ont eu lieu que par temps calme. La connaissance précise de l'évolution du panache, donc de l'impact possible du rejet, nécessite la **réalisation de campagnes complémentaires** dans des conditions d'agitation différentes. Ces campagnes doivent être réalisées avant la mise en service de la station afin d'optimiser la gestion du rejet dans le milieu naturel.
- ❑ des **modalités de contrôle et de surveillance** de l'émissaire de rejet en mer et de son diffuseur devront être définies.

Le **Directeur Départemental des Affaires Maritimes** émet un **avis favorable** au projet. Toutefois, il a consulté IFREMER qui, tout en soulignant la pertinence de la démarche entreprise, émet quelques réserves : nécessité de **campagnes supplémentaires** pour affiner la connaissance de la diffusion au niveau du rejet et de s'assurer de la qualité des réseaux et des rejets sur l'estran. De plus, IFREMER souhaite la mise en place d'un **programme de suivi de l'évolution du milieu récepteur**.

La **mission déléguée de Bassin Seine – Normandie** a donné un **avis favorable** au projet sous réserve que soient prises en compte les prescriptions du Pôle de Compétences Interservices Eau.

4.2.5 Avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France

Le Conseil Supérieur donne un **avis favorable** à la demande d'autorisation préalable du rejet en mer et d'épandage des boues de la station d'épuration de Bernières/Mer sous réserve que le projet de **désinfection** des effluents soit **abandonné au profit d'un report à 3500m** de la côte du point de rejet. Cet avis ne sera pas pris en compte dans l'Arrêté préfectoral.

4.2.6 L'autorisation de rejet

La réglementation concernant le rejet des eaux usées se base sur **la Directive Européenne 91/271/CEE du 21 mai 1991** traduite en droit français par le **décret 94-469 du 3 juin 1994 et l'arrêté du 22 décembre 1994**.

L'**arrêté du 22 décembre 1994** fixe les prescriptions techniques relatives aux ouvrages de collecte et de traitement des eaux usées : les **rejets de station d'épuration** sont soumis à une réglementation portant sur des **critères de qualité physico-chimique et biologique de l'effluent** (DBO5, DCO, MES, NTK, NH4...).

La **réglementation ne s'occupe pas de la qualité microbiologique** de l'effluent et seuls les **usages** et la **qualité du milieu récepteur** constituent une **contrainte à ce sujet** : surveillance de la qualité des eaux de baignade par la DDASS et suivi de la qualité des coquillages (moules) par l'IFREMER.

Dans le cadre de l'assainissement de la Côte de Nacre, l'Arrêté préfectoral du 31 mars 1995 (cf. annexe 2) autorise le Syndicat à réaliser les travaux, à rejeter les eaux épurées au milieu naturel et à épandre les boues de la station sous réserve du respect des prescriptions figurant dans l'arrêté.

L'émissaire de rejet, le réseau de transfert, les bassins tampons, le bassin à marée, l'unité de traitement des eaux d'une capacité de 97000 équivalents/habitants et enfin, la valorisation des boues produites font l'objet de l'autorisation dans les conditions fixées par cet Arrêté Préfectoral.

Un dispositif de **gestion du rejet en fonction de la marée** est mis en œuvre afin de permettre une dispersion vers le large et une dilution efficace des effluents traités.

Il comprend :

- un **bassin à marée** d'une capacité initiale de 8000 m³ destiné à stocker une partie des eaux épurées avant rejet dans le milieu marin.
- le **rejet** des eaux épurées pendant **une durée maximale de 4h30 à partir de la pleine mer** par l'intermédiaire d'un émissaire en mer enterré sur une longueur de 2300 m en milieu marin et rejoignant la fosse de Bernières-sur-mer. Le débit d'évacuation est fixé à 2000 m³/h.

La **qualité des eaux épurées** avant rejet dans le milieu naturel doit respecter les normes répertoriées dans le **tableau 4-1**.

PARAMETRES	CONCENTRATION MAXIMALE ADMISSIBLE (échantillon moyen sur 24 heures)	FLUX MAXIMAL ADMISSIBLE (kg/j)
Matières en suspension	30 mg/l	492
Demande biochimique en oxygène à 5 jours	25 mg/l	410
Demande chimique en oxygène	90 mg/l	1476
Azote total	15 mg/l	246
Coliformes fécaux	100 germes/100 mL (mesure instantanée)	

La température des eaux rejetées doit être inférieure à 25°C.

Le pH des eaux rejetées doit être compris entre 6 et 9.

Tableau 4-1 : Critères de qualité du rejet figurant dans l'Arrêté d'autorisation de rejet.

Les rejets des eaux de surverse des bassins tampons ne peuvent avoir lieu que pour des précipitations supérieures ou égales à la pluie semestrielle d'une intensité de 25 mm sur 24 heures, mesurées au pluviographe installé sur le site de l'unité de traitement.

La qualité des eaux de surverse des bassins tampons et des eaux pluviales, avant rejet dans le milieu naturel, doit respecter les normes répertoriées dans le tableau 3-2.

COMMUNES	DENOMINATION	NATURE DES EAUX REJETEES	COLIFORMES FECAUX /100mL	
			Pluie < 25 mm/j	Pluie > 25 mm/j
Luc-sur-Mer	Emissaire Est	Pluviales + surverse du bassin tampon Pierre Laurent	1000	-
Luc-sur-Mer	La Capricieuse busée	Pluviales + surverse du bassin tampon	1000	-
Langrune-sur-Mer	Emissaire	Pluviales	1000	1000
St Aubin-sur-Mer	Emissaire Est	Pluviales	1000	1000
St Aubin-sur-Mer	Emissaire Ouest	Pluviales + surverse du bassin tampon	1000	-
Bernières-sur-Mer	Emissaire Ouest	Pluviales + surverse du bassin tampon	1000	-
Courseulles-sur-Mer	Trop plein du bassin tampon	Surverse du bassin tampon	Aucun rejet autorisé	-

Tableau 4-2 : Critères de qualités concernant les rejets.

Le Syndicat Mixte d'Assainissement de la Côte de Nacre met en place un **programme d'autosurveillance** afin de permettre le contrôle de l'efficacité et du bon fonctionnement du système

d'assainissement par la Direction Départementale de l'Équipement du Calvados, et d'apprécier l'effet des rejets sur le milieu marin.

Le programme concerne :

- ❑ la **surveillance de la collecte des eaux usées et pluviales**,
- ❑ la **surveillance du traitement des eaux usées** selon l'arrêté du 22/12/94,
- ❑ la **surveillance du milieu marin**.

Un **suivi de qualité du milieu marin** à proximité du point de rejet des eaux épurées et dans les zones d'usage doit être réalisé.

Il comprend :

- ❑ la caractérisation de l'état initial du milieu marin avant la mise en service du système d'assainissement : qualité bactériologique des coquillages, richesse floristique et faunistique, qualité du sédiment...
- ❑ le suivi régulier de l'évolution de ces paramètres.

Le protocole de surveillance du milieu marin est établi en collaboration avec la Direction Départementale de l'Équipement, la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales et l'Institut Français pour la Recherche et l'Exploitation de la Mer.

5 - ELEMENTS DE DEFINITION D'INDICATEURS ADAPTES

5.1 Les indicateurs

5.1.1 Considérations générales

Les '**indicateurs**', d'une manière globale peuvent être définis comme '**des variables qui aident à mesurer le changement**' d'après l'OMS.

Dans le cas présent, les indicateurs dont on parle sont des indicateurs quantitatifs, en effet, ils renseignent sur l'état de l'environnement, visent à évaluer les performances des actions engagées et relèvent des disciplines scientifiques.

Les **indicateurs environnementaux** sont **descriptifs - statiques** i.e. ils décrivent un état à un moment donné et **spécifiques** i.e. ils fournissent une information sur un seul item. Ils sont qualifiés de composites lorsqu'ils fournissent une information sur plusieurs items.

5.1.2 Les indicateurs microbiologiques

5.1.2.1 Définition

De façon générale, un **indicateur microbiologique** environnemental ou fécal est un **paramètre mesurable** dans un milieu hydrique donné et **qui renseigne sur une réalité plus globale** concernant les aspects microbiologiques de ce milieu. Ce paramètre peut être un paramètre microbiologique

(bactérie fécale, pathogène strict...) ou un paramètre physique ou physico-chimique (pH, T°C, MES, Turbidité, pluviométrie...).

5.1.2.2 Spécificité et sensibilité

La **spécificité** d'un indicateur est sa **capacité à renseigner** d'une façon plus ou moins précise sur la **présence de microorganismes particuliers** présents dans le milieu hydrique. On distingue **2 niveaux** de spécificité d'un indicateur : le premier concerne le fait que la contamination soit d'**origine environnementale ou fécale**, le second concerne le fait qu'une contamination fécale soit **d'origine humaine ou animale**.

La **sensibilité** d'un indicateur est étroitement lié à la **densité** et au **seuil de détection analytique** du paramètre et s'apprécie au regard du volume courant d'analyse (10L à 10 mL).

La sensibilité d'un indicateur peut donc varier en fonction du milieu hydrique observé. (Eaux douces, Eaux marines, Eaux usées...)

En règle générale, lorsque la **spécificité** d'un indicateur **augmente**, sa **sensibilité diminue**. Pourtant, un bon indicateur se doit d'être sensible et spécifique et un compromis doit donc être fait entre ces 2 qualités.(BEAUDEAU, 1999).

5.2 Les 4 types d'indicateurs et leurs critères écologiques

Tout d'abord, le paramètre choisi pour jouer le rôle d'indicateur microbiologique doit être **assez abondant** dans les eaux usées pour pouvoir être retrouvé facilement. De manière générale, il doit être présent en nombre suffisant dans le milieu dans lequel il doit être recherché.

Ensuite, le microorganisme **ne doit pas pouvoir se multiplier** dans l'environnement hydrique concerné sous peine d'obtenir des résultats inexploitable et peu productifs en terme d'informations.

De manière générale, ces 2 critères écologiques doivent être réunis pour permettre à un paramètre de jouer le rôle d'indicateur.

Enfin, des critères écologiques supplémentaires sont requis pour les différents types d'indicateurs. Par exemple, la **spécificité** peut jouer un rôle important en fonction du type d'indicateur recherché ou alors son comportement en milieu marin doit être similaire à celui d'un pathogène.

Dans la suite de l'exposé, les 4 types d'indicateurs sont passés en revue et leurs critères écologiques propres sont relatés de façon détaillée.

5.2.1 Les 4 types d'indicateurs et leur critères écologiques

5.2.1.1 Les indicateurs de contamination

5.2.1.1.1 Fonctions

Les indicateurs de contamination devraient pouvoir renseigner **sur la nature** (hydro-tellurique ou fécale) et l'origine (humaine ou animale) de la pollution du milieu hydrique ainsi que **sur le niveau** de contamination de ce milieu i.e. sur la **densité de microorganismes présents**.

Le pathogène fécal cible est présent avec une bonne probabilité de présence au-dessus d'un certain niveau d'abondance du bio-indicateur.

5.2.1.1.2 Critères écologiques propres

Les paramètres utilisés doivent posséder une bonne **spécificité fécale**, puis **animale et/ou humaine** si nécessaire.

5.2.1.2 Les indicateurs de survie ou d'évolution

5.2.1.2.1 Fonctions

Les indicateurs de survie ou d'évolution renseignent sur le **devenir** et le **comportement** de certains **pathogènes d'origine fécale entre le point de contamination** du milieu et **le point d'exposition**; infrastructures de stockage et circuits de distribution pour les eaux potables, milieu récepteur (eaux douces ou eaux marines) pour les rejets d'eaux usées épurées et/ou de déjections animales.

5.2.1.2.2 Critères écologiques propres

Les paramètres utilisés doivent présenter un **comportement similaire aux pathogènes cibles** dans le milieu aquatique concerné.

Pour ce faire, le **T90 du pathogène cible** dans le milieu considéré doit être **inférieur ou égal à celui de l'indicateur**, ce qui signifie que le pathogène cible soit moins résistant aux facteurs environnementaux antimicrobiens que l'indicateur.

Remarque :

Le **T90** est le **temps nécessaire** pour que le **taux de mortalité** des flores bactériennes d'intérêt sanitaire atteigne **90%**. En milieu marin, il est fonction du taux de M.E.S., du taux de M.O., de la lumière, de la température, de la concentration en chlorure et de la notion de prédation / antibiose. Il faut noter que dans les évaluations de risques, la notion de T90 a été abandonnée et on maximise le risque en ne considérant aucune disparition du germe.

En effet, les valeurs de T90 en milieu marin sont très variables. Plusquellec (1984) relate des T90 observés entre une demi-heure et 200 heures pour une même catégorie de germes (coliformes

fécaux). Ces variations sont imputables pour l'essentiel aux conditions physiques ou biologiques qui diffèrent d'un secteur littoral à l'autre (dilution, dispersion, sédimentation, carence en nutriment, irradiation par les U.V. de la lumière solaire, température, mortalité naturelle) [47].

5.2.1.3 Les indicateurs d'efficacité de traitement

5.2.1.3.1 Fonctions

Les indicateurs d'efficacité de traitement renseignent sur le **résultat probable ou attendu d'un traitement vis à vis d'un pathogène** ou d'une population de pathogènes.

5.2.1.3.2 Critères écologiques propres

Les paramètres utilisés doivent présenter une **résistance similaire ou supérieure à celle des pathogènes cibles**.

Remarque : la spécificité fécale n'est pas requise.

5.2.1.4 Les indicateurs de risque sanitaire

5.2.1.4.1 Fonctions

Les indicateurs de risque sanitaire renseignent sur le niveau de risque de morbidité lié à l'usage du milieu hydrique (baignade, conchyliculture, pêche à pieds...)

En effet, il est intéressant de pouvoir utiliser l'indicateur comme descripteur global de salubrité du milieu (niveau d'exposition au danger microbien d'origine fécale).

5.2.1.4.2 Critères écologiques propres

Les paramètres utilisés doivent remplir 2 conditions :

- Bonne spécificité fécale** animale et/ou humaine,
- Forte relation statistique entre la manifestation des pathologies cibles** dans la population exposée (gastro-entérite, hépatite A...) et **l'abondance de l'indicateur** au point d'exposition permettant une caractérisation des risques liés à la baignade ou à la consommation de coquillages.

Remarques :

- ces indicateurs ne sont pas représentatifs des risques liés à des pathogènes environnementaux tels que *Candida albicans* ou *Vibrio parahaemolyticus*, etc...En effet, on recherche la spécificité fécale étant donné que la plupart des pathologies liées aux usages du milieu marin sont engendrées par des germes véhiculés dans les matières fécales.
- le rapport de concentrations entre l'indicateur de risque et la présence de bactéries pathogènes dépend évidemment de la proportion d'individus infectés par rapport à la population totale. Ce rapport ne peut être constant pour une région donnée que si l'état sanitaire de la population est stable.

- ❑ les microbiologistes essaient d'établir en général, des rapports entre la concentrations de l'indicateur de risque et la présence de germes pathogènes. Souvent, il apparaît que plus la concentration de l'indicateur est élevé, plus la probabilité de présence des pathogènes augmentent. On doit remarquer que la notion de probabilité ou de risque de présence est très différente de la notion de concentrations en germes pathogènes, notion dont dépend en très grande partie le risque sanitaire réel.
- ❑ le rapport entre l'importance de la 'fécalisation' exprimée par une concentration en GTCF et les risques sanitaires ne semble demeurer valable que dans la mesure où aucun traitement de désinfection n'est appliqué et si l'on ne se retrouve pas à proximité d'un rejet d'eaux usées.
- ❑ Pour trouver des bases scientifiques à l'établissement des normes, il faut connaître soit la relation existant entre la bactérie pathogène et l'infection (dose infectieuse), soit la relation existante entre l'indicateur et l'infection. Dans le premier cas, il est indispensable d'établir un rapport quantitatif entre la concentration de l'indicateur et celles probables des bactéries pathogènes. Pour répondre à ces différentes interrogations, il est également nécessaire de faire des enquêtes épidémiologiques pas toujours évidentes à réaliser. En outre, les facteurs propres au germe considéré et à l'infection posent des problèmes pour la caractérisation du risque (connaissance des doses infectieuses insuffisantes, variations de la réceptivité des individus...)
Pour pouvoir caractériser le risque, il faut être informé sur:
 - la quantité d'eau ingérée,
 - la concentration en germes pathogènes de l'eau,
 - la dose infectieuse du germe.

5.2.2 La faisabilité analytique

La faisabilité analytique concerne tous les types d'indicateurs et regroupe les aspects pratiques de l'utilisation des paramètres : existe-t-il des méthodes normalisées d'analyse ? Est-ce que la méthode est facile à mettre en œuvre ? Quels sont les volumes nécessaires (sensibilité) ? Combien de laboratoires réalisent la prestation ? Combien cela coûte et quels sont les délais d'obtention des résultats ?

5.3 Présentation du contexte local et choix des types d'indicateurs

5.3.1 Objectifs de l'étude et choix des types d'indicateurs

5.3.1.1 L'état sanitaire du milieu et risque réel

Les eaux du milieu récepteur doivent remplir les critères microbiologiques des normes baignade et conchylicole. La désinfection à l'ozone des eaux usées avant rejet permet d'abaisser les concentrations en E.coli et en entérocoques. Toutefois, les abattements de ces microorganismes ne signifient pas obligatoirement une garantie supplémentaire en matière de protection de la Santé

Publique et le risque sanitaire peut se trouver masqué. Dans l'optique, d'évaluer ou plus modestement d'en savoir plus sur le risque réel, il est intéressant d'appréhender aussi bien la présence de bactéries, de virus ou de parasites présent dans le milieu récepteur.

Tout d'abord, on doit se placer aux différents points d'exposition (cf. figure 4-2): zone conchylicole, zone de pêche à pieds et plages pour la baignade. Ensuite, considérant les deux principales sources de pollution, la Seulles et l'émissaire, on constate que les **zones d'exposition sont plus ou moins distantes** de ces **2 points de contamination** du milieu, c'est pourquoi dans ce cas là il faut recourir à des **indicateurs de survie** qui permettraient de **connaître le devenir des microorganismes** (bactéries, virus et parasites...) entre le point de contamination et le point d'exposition ou alors des indicateurs de contamination fécale aux différents points d'usages du milieu. Par extension, il est intéressant que ces **indicateurs** renseignent également sur le **risque sanitaire**.

5.3.1.2 Les origines des apports en microorganismes

Lorsque l'on connaît la charge en microorganismes présente dans le milieu récepteur, on veut savoir d'où ils proviennent pour pouvoir prendre des décisions ultérieurement. Dans le cas présent, le rejet de l'effluent ozoné se fait par l'intermédiaire d'un émissaire d'une longueur de 2300m dans le milieu marin. La Seulles débouche dans la mer à l'ouest de Bernières et s'avère être également une source importante en microorganismes. Tout d'abord, il faut regarder **ce qu'il y a dans la Seulles et ce que l'on rejette via l'émissaire** à l'aide d'**indicateur de contamination bactérienne, virale et parasitaire**. Ensuite, dans le milieu récepteur, il faudrait des **indicateurs d'origine de contamination** ou des indicateurs très spécifiques qui permettraient de distinguer l'apport du bassin versant via la Seulles et l'apport de la station via l'émissaire. On peut également raisonner avec des flux de pollution.

5.3.1.3 L'efficacité de la filière de traitement

Il est intéressant maintenant de savoir comment **l'élimination des bactéries, des virus et des parasites** s'effectue au fil des différentes étapes de la **filière de traitement**. En effet, est-ce que l'ozonation est réellement indispensable après la filtration sur sable ou est – ce que la filtration est suffisante pour garantir un effluent assez peu riches en pathogènes pour qu'il ne présente pas de risque sanitaire après dilution dans le milieu récepteur ? Pour ce faire, on choisit un suivi de paramètres tout au long de la filière pour voir les abattements obtenus par ce traitement pour les **indicateurs d'efficacité de traitement à l'ozone vis-à-vis des bactéries, des virus et des parasites**

5.3.1.4 Stratégie des indicateurs

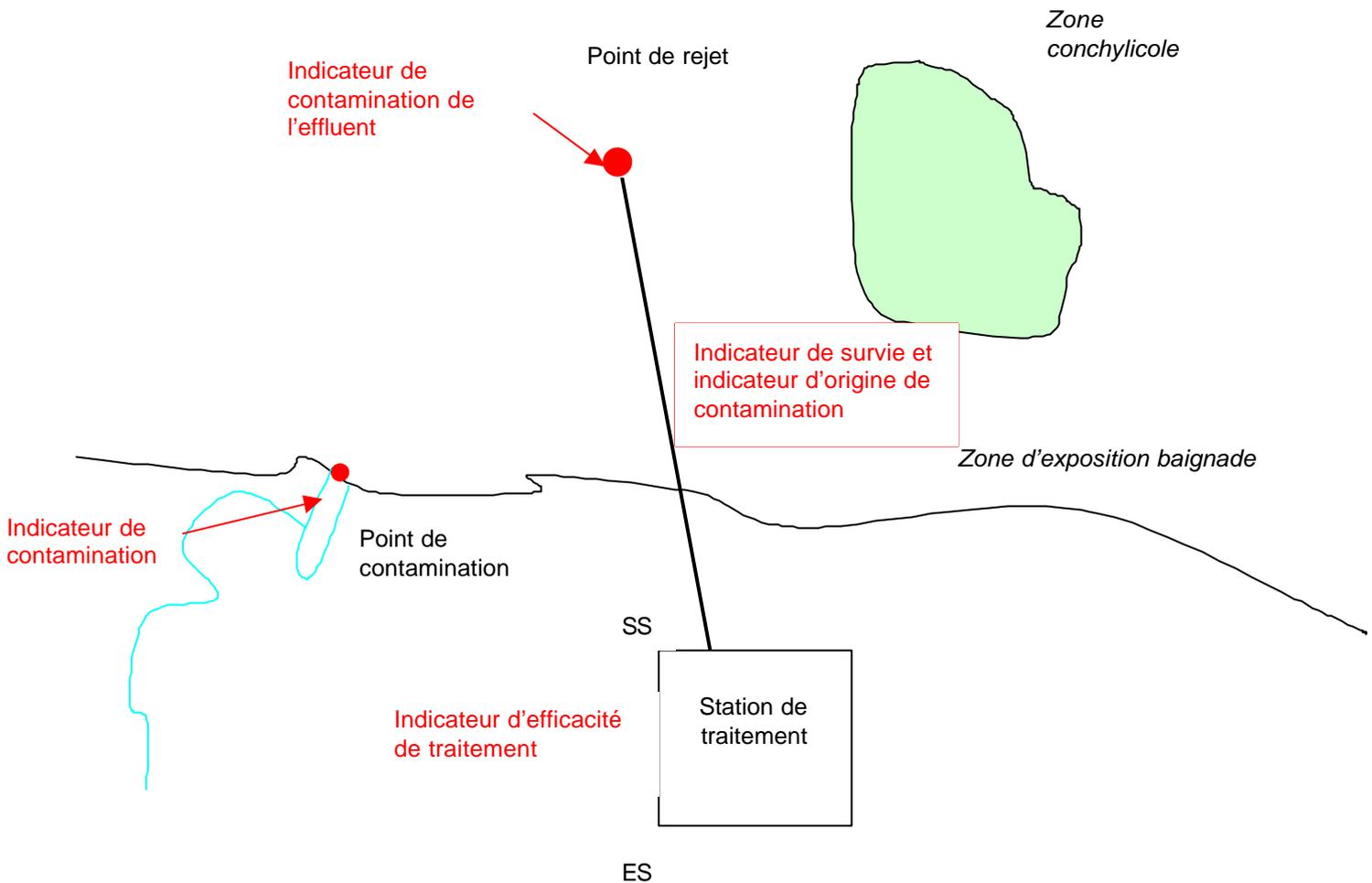


Figure 5-1 : Schéma récapitulatif d'utilisation des indicateurs sur le site de Côte de Nacre.

5.3.2 Synthèse

Les tableaux 5-2 et 5-3 récapitulent les informations concernant les différents paramètres candidats au rôle d'indicateur : les critères écologiques et leur faisabilité analytique sont évalués succinctement pour les différents types d'indicateurs nécessaires aux objectifs de l'étude.

Paramètres	Critères écologiques							Faisabilité analytique ¹					
	Communs			Propres à chaque type d'indicateur				Normes et standards	S	Md	C	D	Lb
	Concentration eaux usées	M	Spécificité	Contamination eaux de rivières	Contamination et Survie en milieu marin	Efficacité de traitement (ozonation)	Risque sanitaire Milieu marin						
CF	+++	Non	H et A	+++	++ (contamination)	+++ (vis à vis des bactéries)	+(baignade)	NF T90-433	+++	+++	+++	+++	+++
E. coli	+++	Non	H et A		+ (survie)		+++ (eaux conchylicoles)	ISO9308-3	+++	+++	+++	+++	+++
SF	+++	Non	H et A	+++	+++	+++ (vis à vis des bactéries)	+++ (baignade)	NF T90-432	+++	+++	+++	+++	+++
Entéro.	+++	Non	H				+++ (chair de coquillages)	ISO7899-1	+++	+++	+++	+++	+++
Salmonelles	++	Non	H ou A ou E ¹			+	+++ (baignade) +++ (eaux conchylicoles)	D : - P/A :- Sérotypage : -	+	+	++	+	++
Spores de Clostridium perfringens	+++	Non	H et A et E	++ (virale et parasitaire)	+++ (survie) + (contamination pb origine)	+++ (vis à vis des parasites et des virus)	+(baignade) +(chair de coquillages) +(eaux conchylicoles)	NF V08-056	+++	++	++	+++	++

¹Voir tableau 5-3 pour la signification de l'évaluation de la faisabilité analytique

²Le sérotypage des Salmonelles permet une très bonne spécificité

Evaluation : +++ favorable ; ++ correct ; + médiocre

H : Fécale humaine ; A : Fécale animale ; E : Environnementale

D : Dénombrement ; P/A : Présence/Absence ; S : Sérotypage

M : Multiplication ; S : Sensibilité ; Md : Méthode ; C : Coût ; D : Délai ; Lb : Laboratoires

Tableau 5-1 : Les différents paramètres microbiologiques candidats au rôle d'indicateur, leur critères microbiologiques et leur faisabilité analytique.

Paramètres	Critères écologiques							Faisabilité analytique					
	Communs			Propres à chaque type d'indicateur				Normes et standards	S	Md	C	D	Lb
	Concentration eaux usées	M	Spécificité	Contamination eaux de rivières	Contamination et Survie en milieu marin	Efficacité de traitement (ozonation)	Risque sanitaire Milieu marin						
Entérovirus	++	Non	H	+++ (viral)	+++	+++ (vis à vis virus)	+++ (baignade)	NF T90-451	+	+	+	+	+
Coliphages	+++	Oui ¹	H et A	+++ (bactérien et viral)	+++ (bactérien et viral)	+	Peu d'info. et avis divergents	ISO 10705-2	+++	+++	+++	+++	++
ARN-f spécifiques	++	Oui ²	H et A	++ (viral)	++ (viral)	+++ (vis à vis virus)	Peu d'info. et avis divergents	ISO 10705-1	+++	+	++	+++	+
Phages de B. fragilis	+	Non	H	+++ (viral)	+++ (viral)	Trop peu d'info.	Trop peu d'info. disponibles	ISO 10705-4	+	+	+++	+++	+
Crypto.	+	Non	H et A	+++ (parasitaire)	+++ (parasitaire)	+++ (vis à vis parasites)	+++ (baignade)	NF T90-455	+	++	+	++	+
Giardia	+	Non	H et A	+++ (parasitaire)	+++ (parasitaire)	+++ (vis à vis parasites)	+++ (baignade)	NF T90-455	+	++	+	++	+

¹La température du milieu doit être supérieure à 25°C et la densité de bactéries hôtes supérieure à 10⁴cfu/mL. La température en rivière et en milieu marin dans la zone géographique concernée ne dépasse jamais 20°C. Toutefois, ces conditions peuvent être rencontrées dans la station d'épuration.

²Pour se multiplier, ils doivent être en concentration suffisante 10⁴/mL et d'avoir à leur disposition des bactéries porteuses de Pili en concentration suffisante 10⁴/mL.

Evaluation	Sensibilité	Méthode	Coût	Délai	Labo.
+++	<500mL	Simple	<300F	<3jours	fréquent
++	500< <1000mL	Normale	300< <800F	3< <8	Peu fréquent
+	>1L	Complicquée	>2000F	>8	Rare

Tableau 5-2 : Suite du tableau 5-2.

6 - PROPOSITION DU SYSTEME DE RECUEIL D'INFORMATION

6.1 Suivi réalisé dans le cadre du mémoire

6.1.1 Les points de prélèvement

Compte tenu des contraintes techniques, analytiques et financières, 5 points de prélèvements par campagne ont été choisis: 4 points le long de la **filière de traitement** (cf. figure3-1):

- ❑ Entrée Station (ES),
- ❑ Sortie Clarificateur (SC),
- ❑ Sortie Filtre à sable (SF),
- ❑ Sortie Ozonation (SO),

et 1 point sur la **Seulles** (cf. figure 3-2). Il aurait été intéressant de rajouter un point au niveau de la zone d'exposition, point plage par exemple mais les contraintes financières ne l'ont pas permis.

Deux campagnes sont réalisées, une par **temps sec** le 11 juillet 2001 et une par **temps de pluie**, le 19 juillet 2001.

6.1.2 Justifications du choix des indicateurs

Pour chaque échantillon, des **paramètres physico-chimiques** ainsi que des **paramètres microbiologiques** sont analysées.

6.1.2.1 Les paramètres physico-chimiques

Les MES et la turbidité sont de bons paramètres à suivre le long de la filière car ils rendent bien compte de l'élimination des matières en suspension et par la même occasion de l'élimination de certains microorganismes comme les Germes Témoins de Contamination Féciale ou *Cryptosporidium* bien que cette thèse de corrélation entre turbidité et présence d'oocystes soit controversée [18].

6.1.2.2 Les paramètres microbiologiques

De façon générale, les paramètres microbiologiques ont été choisis de manière à ce qu'ils soient retrouvées en **nombre suffisant au point d'exposition** et obtenir des **informations** au sujet des 3 types de microorganismes susceptibles d'être retrouvés dans les eaux usées : les **bactéries**, les **virus** et les **parasites**

6.1.2.2.1 Le risque bactérien

E. coli et les **entérocoques** sont les **GTCF classiques** et bien que leur utilisation connaisse des limites lorsqu'un procédé de désinfection est mis en œuvre, ils demeurent de **bons indicateurs de**

contamination fécale en eaux douces et d'**efficacité de traitement par ozonation vis à vis des bactéries**. De plus, la mise en œuvre analytique des GTCF ne pose aucun problème.

6.1.2.2.2 *Le risque parasitaire et viral*

6.1.2.2.2.1 *Les spores de Clostridium perfringens*

Les **spores de Clostridium perfringens**, du fait de leur très bonne résistance constituent de bons **indicateurs de contamination virale et parasitaire en eaux de rivière**, de **très bons indicateurs de survie parasitaire et virale en milieu marin** ainsi que de très **bons indicateurs d'efficacité de traitement par ozonation vis à vis des parasites et des virus**.

6.1.2.2.2.2 *Les Entérovirus*

Pour le risque viral, les **Entérovirus** sont les seuls candidats à présenter **tous les critères écologiques** concernant les différents types d'indicateurs nécessaires à l'étude : indicateurs de **contamination en eaux de rivières** (spécificité humaine), indicateurs de **contamination et de survie en milieu marin**, indicateur d'**efficacité de traitement à l'ozone** et enfin indicateur de **risque sanitaire**.

De ce fait, ils peuvent être suivis dans la rivière, le long de la filière de traitement puis dans la mer.

Le seul inconvénient de cet indicateur est sa faisabilité analytique qui posent quelques problèmes :

- sensibilité faible,
- volume important,
- délai long,
- laboratoire peu nombreux.

6.1.2.2.2.3 *Les bactériophages*

Les autres candidats susceptibles de jouer le rôle d'indicateur viral sont les bactériophages.

Parmi eux, les coliphages somatiques et les ARN-f spécifiques présentent des inconvénients écologiques rédhibitoires :

- les **coliphages somatiques** peuvent se répliquer dans la filière de traitement et ne présentent pas d'intérêt en tant qu'indicateur d'efficacité de traitement.
- les **phages ARN-f spécifiques** peuvent se multiplier dans l'environnement et sont de mauvais indicateurs de contamination virale en milieu marin. De plus, ils ne présentent pas d'intérêts en terme d'indicateur de risque sanitaire en milieu marin.

En ce qui concerne les **phages de B. fragilis**, ils présentent de **bons critères écologiques** pour jouer le rôle d'indicateur de contamination des eaux de rivières, de contamination et de survie en milieu marin et d'indicateur d'efficacité de traitement bien que peu d'informations soient disponibles à ce sujet. Il est donc intéressant de les retenir pour élargir les connaissances à leur sujet.

6.1.2.2.4 *Cryptosporidium* et *Giardia*

Pour le risque parasitaire, *Cryptosporidium* et *Giardia* présentent des **critères écologiques** qui satisfont la plupart des conditions requises pour jouer le rôle d'**indicateur de contamination des eaux de rivières**, de **contamination et de survie en milieu marin**, d'efficacité de traitement et de risque sanitaire étant donné que ce sont eux-mêmes des pathogènes. Il est donc intéressant de suivre ces paramètres pour cette étude.

Pour des **raisons financières**, les **paramètres choisis précédemment** n'ont **pas pu tous être retenus** pour les campagnes de mesures et les Entérovirus ainsi que les phages de *Bacteroides fragilis* ont été abandonnés au profit de *Cryptosporidium* et *Giardia*. Très peu d'informations concernant les nouveaux pathogènes que constituent *Cryptosporidium* et *Giardia* sont disponibles dans la littérature et c'est pourquoi ils ont été privilégiés.

6.1.3 Remarques pratiques

- ❑ Les **prélèvements** sont effectués de **manière ponctuelle** dans la Seulles et le long de la filière de traitement fonctionnant à débit régulé grâce à un bassin tampon qui se trouve en tête de station.
- ❑ Les **mesures de débit** de la Seulles sont réalisées au **micromoulinet** et les valeurs de débits du rejet par la station sont relevés au débitmètre.
- ❑ Les prélèvements dans la Seulles sont faits au moins 4h après la Pleine mer pour que l'échantillon soit représentatif de l'eau de la rivière. Des mesures de conductivité permettent de s'assurer des bonnes conditions de prélèvements.
- ❑ Les analyses sont effectuées par l'Institut Pasteur de Lille. Les échantillons sont acheminés dans une enceinte entre 2 et 10°C et les analyses sont effectuées dans les 24h suivant le prélèvement.
- ❑ Pour *Cryptosporidium* et *Giardia*, le laboratoire effectue le dénombrement sur le **même échantillon**. Le **volume des échantillons** à cet effet est de **10L** en **Entrée Station**, en **Sortie Clarification** et dans la **Seulles**. En ce qui concerne les échantillons prélevés en **Sortie Filtre à sable** et **Sortie Ozonation**, le laboratoire fournit des **cartouches filtrantes** de porosité 1 µm sur lesquelles on passe 100L d'effluent. En effet, la bonne qualité de l'effluent nécessite l'emploi des méthodes d'analyses utilisées pour l'eau potable. De la même manière, pour ces échantillons, le laboratoire utilise les normes d'analyses eau potable pour E. coli et entérocoques étant donné la faible contamination microbiologique et la faible teneur en MES des échantillons.

6.2 Résultats et interprétation

Deux campagnes d'analyses ont été réalisées le 11 juillet et le 19 juillet 2001 avec un taux d'ozonation de 1 mg/L alors que la station de traitement a été conçue pour fonctionner à 10mg/L.

6.2.1 Résultats analytiques

Points de prélèvement	SEULLES (conductivité=733 μ S/cm)	ES	SC	SF	SO
E. coli/100mL	1.3 10 ³	1.0 10 ⁶	4.4 10 ⁴	7000	3
Entéro./100mL	2.5 10 ²	5.0 10 ⁶	8.0 10 ³	3000	3
Spores de C.p./100mL	100	10000	1000	15	100
Crypto./100L	90*	<20***	<10***	43**	10**
Giardia/100L	510*	<20***	8400*	72**	20**
MES(mg/L)	10	434	5	1	<1
Turbidité(NTU)	2.6	140	2.4	0.48	0.38

ES : Entrée station ; SC : Sortie Clarificateur ; SF : Sortie Filtre à sable ; SO : Sortie Ozonation

* mesures effectuées sur un échantillon de 10L : seuil de détection 1/10L

** mesures effectuées à l'aide d'une cartouche filtrante (volume filtré 100L) : seuil de détection 1/100L

*** des problèmes de colmatage ont été observés : ces résultats ont été obtenus sur des volumes de 5L

Tableau 6-1 : Résultats de la campagne de mesures du 11 juillet 2001 (temps sec, débit station=4979 m³ /j, débit Seulles : 2798l/s).

Points de prélèvement	SEULLES (conductivité=683 μ S/cm)	ES	SC	SF	SO
E. coli/100mL	1.5 10 ³	2.5 10 ⁷	2.9 10 ³	200	61
Entéro./100mL	5.8 10 ²	7.8 10 ⁶	2.4 10 ³	130	<1
Spores de C.p./100mL	100	10 ⁵	10 ³	15	100
Crypto./100L	60*	20***	40*	15**	25**
Giardia/100L	240*	2.4 10 ⁴ ***	8.6 10 ³ *	1.9 10 ² ***	28**
MES(mg/L)	6	254	5	1	2
Turbidité(NTU)	1.9	110	1.9	0.42	0.34

* mesures effectuées sur un échantillon de 10L : seuil de détection 1/10L

** mesures effectuées à l'aide d'une cartouche filtrante (volume filtré 100L) : seuil de détection 1/100L

*** des problèmes de colmatage ont été observés : ces résultats ont été obtenus sur des volumes de 5L

Tableau 6-2 : Résultats de la campagne de mesures du 19 juillet 2001. (temps de pluie : 55 mm en 48h, débit station=5266 m³ /j, débit Seulles : 3230l/s).

6.2.2 Graphiques et interprétation

6.2.2.1 Graphiques

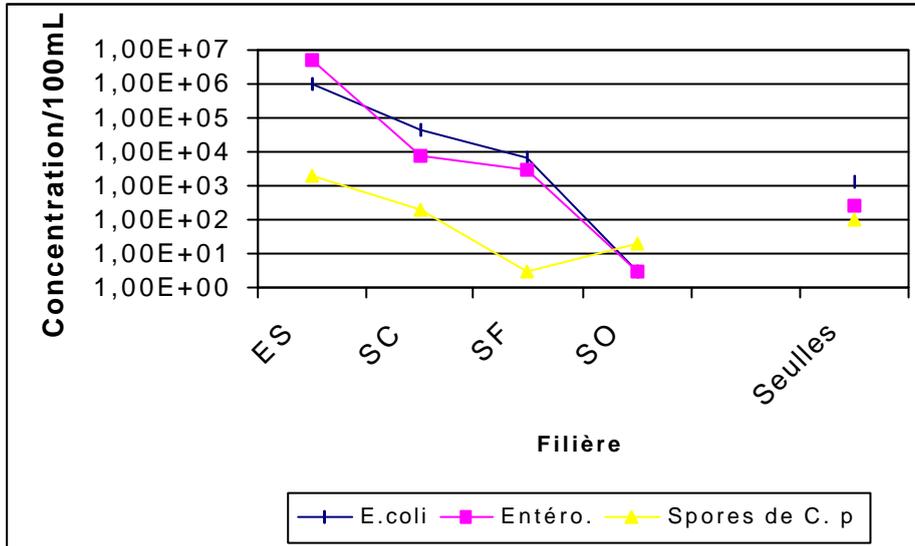


Figure 6-1 : Evolution des bactéries indicatrices le long de la filière de traitement et concentrations dans la Seulles (campagne du 11/07/2001).

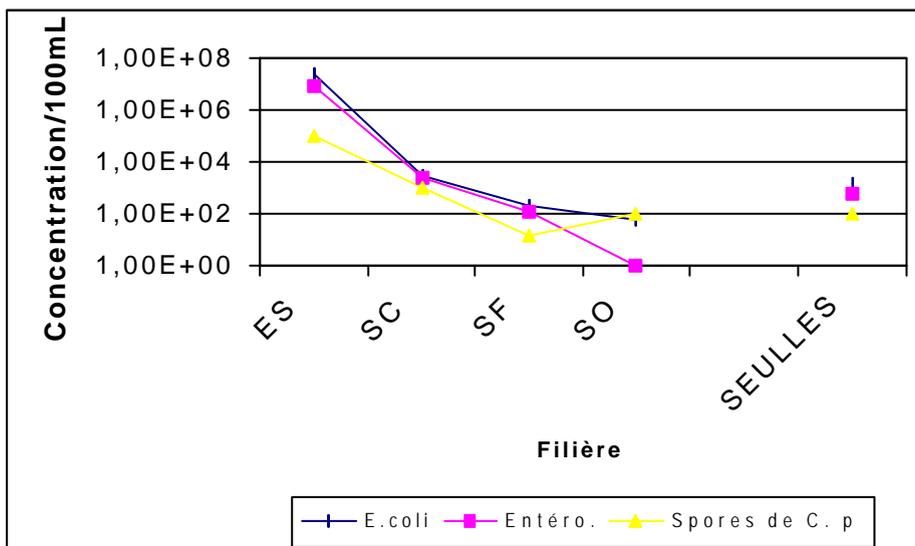


Figure 6-2 : Evolution des bactéries indicatrices le long de la filière de traitement et concentrations dans la Seulles (campagne du 19/07/2001).

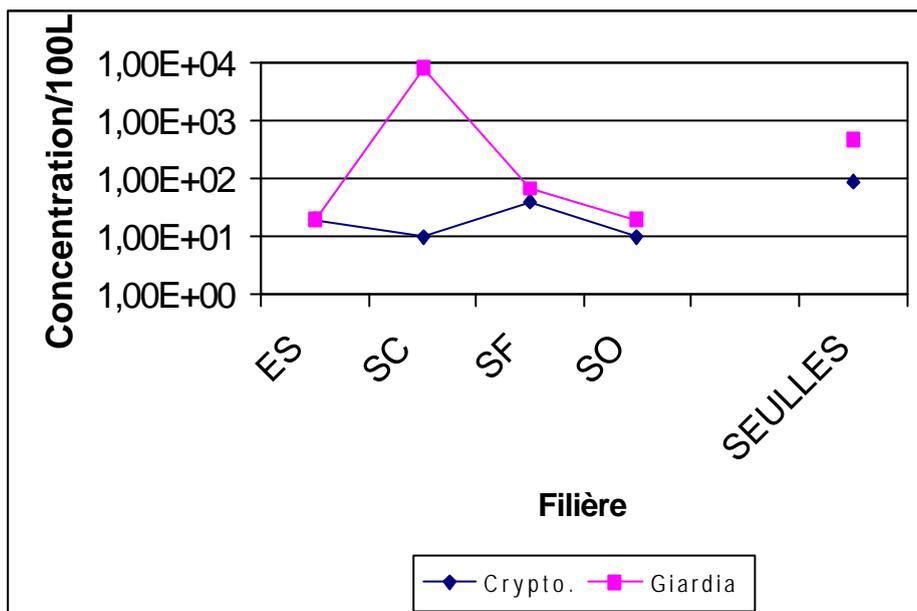


Figure 6-3 : Evolution de *Cryptosporidium* et *Giardia* le long de la filière de traitement et concentrations dans la Seulles (campagne du 11/07/2001).

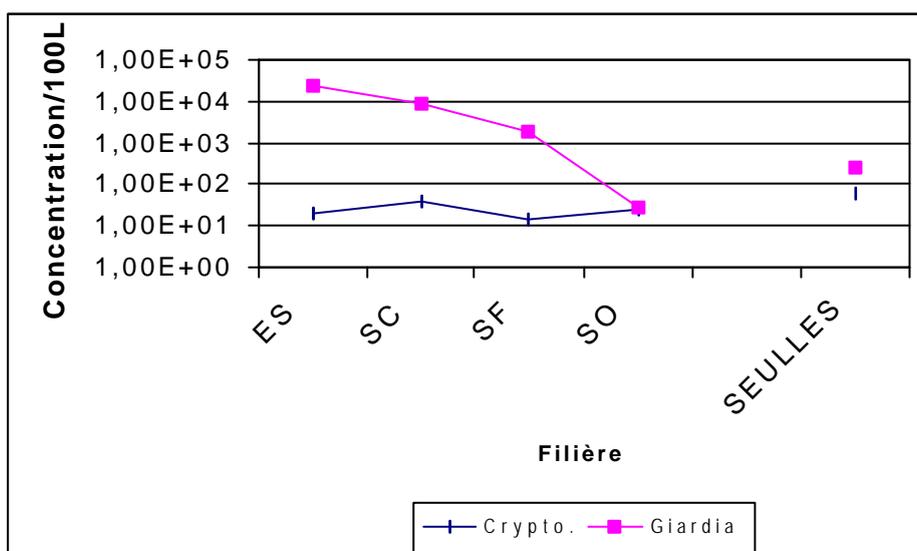


Figure 6-4 : Evolution de *Cryptosporidium* et *Giardia* le long de la filière de traitement et concentrations dans la Seulles (campagne du 19/07/2001).

6.2.2.2 Interprétation

6.2.2.2.1 La Seulles

Les **GTCF** sont retrouvés à des concentrations de l'ordre de $10^3/100\text{mL}$ pour **E. coli** et de $10^2/100\text{mL}$ pour les **entérocoques**. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles qui

figurent dans l'étude d'impact de 1996 et sont tout à fait en accord avec les valeurs habituellement mesurées sur les bassins versants naturels et les données de la bibliographie.

Les spores de ***Clostridium perfringens*** sont retrouvées à des concentrations de **100 spores/100mL**, ce qui est en accord avec les valeurs trouvées par Bisson et Cabelli [6] dans les eaux de rivières.

D'après les travaux de Mougeot, les **concentrations** en ***Cryptosporidium*** et ***Giardia*** retrouvées dans les eaux superficielles sont de l'ordre de **5 à 44 oocystes/L** et de **20 à 960 kystes/L** tandis qu'une étude générale réalisée aux Etats Unis et relatée par Rose et al. en 1991 (BUNEL) montre des concentrations de l'ordre de **0.43 oocystes /L** et **0.03 kystes/L**. Dans la **Seulles**, on retrouve respectivement **0.9 et 0.6 oocystes/L** et **2.4 et 5.1kystes/L**. Ces résultats s'éloignent donc des valeurs de Mougeot et se rapprochent de ceux de l'étude américaine qui a été menée dans 17 états américains. Ces différences peuvent s'expliquer par l'**influence** des **bassins versants**, de l'**activité humaine** (variabilité du taux d'infestation, taille de la communauté, etc...) et des **activités liées aux animaux sauvages et domestiques**. On observe également, que le rapport des concentrations *Giardia/Cryptosporidium* entre ces 2 microorganismes est équilibré (≈ 5).

6.2.2.2.2 *En entrée de station*

E. coli et les **entérocoques** se retrouvent à des densités proches de celles énoncées dans le tableau 2-1.

Les spores de ***Clostridium perfringens*** sont présentes dans l'effluent brut à des concentrations de 10^4 et $10^5/100\text{mL}$ et corroborent les données de Bisson et Cabelli [6].

Les concentrations en **oocystes de *Cryptosporidium*** et **kystes de *Giardia*** dans l'**effluent brut** sont d'environ **0.2 oocystes/L** et **240 kystes/L**. Elles sont comparables à celles trouvées dans la littérature : de 0 à 10^4 oocystes/L et de 10^1 à 10^5 kystes/L [53](cf. tableau 2-1). D'après une étude réalisée à Nancy, les concentrations en kystes de *Giardia* dans les eaux usées brutes varient de 8.10^2 à $1.4 \cdot 10^4$ kystes/L [25]. Les concentrations retrouvées se trouvent dans la **fourchette basse** et une **forte variabilité** sur les 2 campagnes de mesures est observée. Cela est probablement due, d'une part aux **problèmes de colmatage** rencontrés lors de la phase analytique, d'autre part au procédé d'**échantillonnage** et enfin peut-être à la **variation du taux d'infestation** dans la population.

Le **rapport** entre ces 2 microorganismes est, cette fois **déséquilibré** (≈ 1200).

6.2.2.2.3 Efficacité et abattements dans la filière

6.2.2.2.3.1 De ES à SC

GERMES	ABATTEMENT
GTCF	3-4 log
<i>C. perfringens</i>	1-2 log
MES	99%
Turbidité	98%

Tableau 6-3 : Abattement des paramètres par la clarification.

On considère souvent que lorsque l'on a un taux de MES < 20 mg/L, les CF sont présents à des concentrations < 10⁴/100mL ce qui se vérifie dans le cas présent. En effet, **l'élimination des GTCF est étroitement liée à l'élimination des MES**.

Un **abattement correct** est également observé pour les **spores de *Clostridium perfringens*** et légèrement supérieur aux données de la littérature : 0.5 à 1 log [53].

En ce qui concerne ***Cryptosporidium*** et ***Giardia***, des problèmes de colmatage ont été rencontrés lors des phase analytiques ce qui limite la validité des résultats. Toutefois, **aucun abattement** n'est observé sur ***Cryptosporidium*** alors qu'un abattement de 0.5 log a pu être observé pour ***Giardia***.

Ces résultats s'expliquent par le fait que ***Giardia*** possède une densité légèrement supérieur à ***Cryptosporidium*** mais celle-ci demeure faible par rapport à celle de l'eau ce qui entraîne l'**inefficacité** de la **sédimentation**.

Le **rapport** entre ces 2 espèces demeure **déséquilibré** en sortie de clarificateur (≈215).

6.2.2.2.3.2 De SC à SF

GERMES	ABATTEMENT
GTCF	1 log
<i>C. perfringens</i>	2 log
MES	80%
Turbidité	80%

Tableau 6-4 : Abattements des paramètres sur les filtres à sable.

De bons abattements sur le clarificateur sont observés et donc une **plus faible rétention** est observée par la filtration sur sable pour les **GTCF et les MES**.

Par contre, un **meilleur abattement** (2 log) est obtenu sur les **spores de *Clostridium perfringens*** ce qui paraît normal du fait de leur taille.

Cryptosporidium paraît **peu sensible** alors que ***Giardia*** subit un **abattement de 1 à 2 log**. Ces résultats s'expliquent par la **différence de taille entre les kystes (8-12 µm) et les oocystes (4-6 µm)**.

Le **rapport** entre les 2 espèces est **à peu près équilibré** (≈ 10).

6.2.2.2.3.3 De SF à SO

GERMES	ABATTEMENT
GTCF	2-3 log
<i>C. perfringens</i>	*10
<i>Cryptosporidium</i>	0.6 log
<i>Giardia</i>	0.5-2 log

Tableau 6-5 : Abattements des paramètres par le procédé d'ozonation.

Comme Janex l'affirme dans son étude, un **abattement similaire** pour **E. coli** et les **entérocoques** est observé lors du procédé d'ozonation lors de la première campagne [31].

On obtient un abattement de 3 log pour la première campagne et de 1.5 à 2 log pour la seconde campagne pour une ozonation à 1 mg/L (temps de contact 20min. ; ozone résiduel=0.050mg/L ; CT= 1min.mg/L) ce qui est tout à fait en accord avec les résultats de Janex et al.[31].

En ce qui concerne les **spores de Clostridium perfringens**, leur nombre **augmente après ozonation**, ce qui peut s'expliquer par leur mise en contact avec un oxydant puissant qui déclenche le processus de **sporulation des formes végétatives**. Les travaux de Janex à ce sujet montre qu'il faudrait une ozonation CT=15 min.mg/L pour obtenir une réduction de 1.7 log.

L'abattement obtenu par ozonation sur les oocystes de **Cryptosporidium** est de **0.6 log** et de **0.5-2 log** pour les kystes de **Giardia**.

Une étude de Liberti et al. montre des abattements nuls pour *Cryptosporidium* et de l'ordre de 0.5-0.7 log pour *Giardia* sur un effluent filtré et une ozonation de 15 ppm (soit 15 mg/L) et un temps de contact de 10 min. Ces résultats sont difficilement comparable étant donné que l'on a pas la dose d'ozone résiduelle pour calculer CT.

Toutefois, les résultats de notre étude sont **en accord avec les travaux de Langlais et al.** qui démontrent **une bonne efficacité de l'ozonation aussi bien vis à vis de Cryptosporidium que de Giardia** [38], [39]. Toutefois, le débat à ce sujet entre microbiologistes est loin d'être clos et les avis divergent [34]. Certains microbiologistes affirment une **résistance à l'ozone de Cryptosporidium dix fois supérieure à celle de Giardia**, ce qui pourrait expliquer ce qui précède.

6.2.2.2.4 Comparaison effluents ES/SO/Seulles et flux journaliers.

En sortie de station, l'effluent désinfecté rejeté dans le milieu naturel ne contient plus de GTCF bien qu'il contienne encore des spores de *C. perfringens* (100/100mL), des oocystes de *Cryptosporidium* (10 et 25/100L) et des kystes de *Giardia* (20 et 28/100L). Ce constat montre bien que **la disparition des GTCF lors d'un procédé de désinfection ne signifie rien en terme de diminution du risque parasitaire et viral.**

FLUX JOURNALIER (germes/j)	ES		SF		SO		Seulles	
	TS	TP	TS	TP	TS	TP	TS	TP
<i>E. coli</i>	5 10 ¹⁴	1.3 10 ¹⁵	3.5 10 ¹¹	1.1 10 ¹⁰	1.5 10 ⁸	1.3 10 ⁶	3.3 10 ¹²	4.4 10 ¹²
Entérocoques	2.5 10 ¹⁴	4.1 10 ¹⁴	1.5 10 ¹¹	6.8 10 ⁹	1.5 10 ⁸	1.5 10 ⁶	6.3 10 ¹¹	1.7 10 ¹²
Spores de <i>C. perf.</i>	5 10 ¹¹	5.3 10 ¹²	7.5 10 ⁸	7.9 10 ⁸	5 10 ⁹	3.2 10 ⁹	2.5 10 ¹¹	3 10 ¹¹
<i>Cryptosporidium</i>	-*	10 ⁶	2.1 10 ⁶	7.9 10 ⁵	5 10 ⁵	1.3 10 ⁶	2.3 10 ⁸	1.7 10 ⁸
<i>Giardia</i>	-*	1.3 10 ⁹	3.6 10 ⁶	10 ⁷	9.9 10 ⁵	1.5 10 ⁶	1.310 ⁹	7 10 ⁸

*Informations non disponibles

TS : Temps sec ; TP : Temps de pluie.

Tableau 6-6 : Flux journalier en germes obtenus en entrée de station (ES), en sortie de station (SO) et dans la Seulles.

Si l'on compare l'effluent traité à l'ozone et l'eau de la rivière, la **Seulles** est **plus contaminée** en parasites (60-90 oocystes/100L, 240-510 kystes/100L) et en GTCF que l'effluent rejeté (10-25 oocystes/100L, 20-28 kystes/100L). De plus, le débit de la Seulles est largement supérieure (*50) au débit rejeté par la station, ce qui veut dire que les apports du bassin versant joue un rôle plus important que le rejet désinfecté au niveau de la pollution des eaux littorales.

Les **flux journaliers en GTCF** provenant de la **Seulles** sont **supérieures** à ceux provenant du **rejet désinfecté** de **3 à 4 log**.

Les **flux journaliers de spores de *Clostridium perfringens*** de la **Seulles** sont **supérieures** à ceux du **rejet** de **2 log**.

En ce qui concerne ***Cryptosporidium*** et ***Giardia***, des différences de 2 à 3 log sont observées entre les flux de la Seulles et les flux de la station.

D'autre part, on remarque qu'à la **sortie de la filtration sur sable**, on se trouve déjà avec des **flux journaliers en germes inférieurs à ceux de la Seulles** et donc on peut se poser la question de l'utilité du procédé d'ozonation.

La **différence entre la campagne par temps sec** du 11 juillet et **celle par temps de pluie** du 19 juillet n'est **pas flagrante**.

Tout d'abord, les flux journaliers en germes ne varient pas globalement au niveau de l'entrée de la station, de la sortie et de la Seulles. D'autre part, les concentrations en parasites n'augmentent pas dans la Seulles et le taux de MES et la turbidité diminuent si bien que l'on peut se poser la question sur les phénomènes de ruissellement du bassin versant.

6.2.2.2.5 Remarque concernant le rapport *Giardia*/*Cryptosporidium*.

Dans la rivière, on obtient un rapport de concentrations à peu près équilibré entre les kystes de *Giardia* et les oocystes de *Cryptosporidium* alors qu'en entrée de station un rapport supérieur à 100 existe entre les 2 concentrations. On peut alors s'interroger si le rapport équilibré signe l'origine humaine des excréta tandis que le rapport déséquilibré signerait l'origine animale ?

En sortie de station, on retombe sur un rapport équilibré entre les 2 concentrations. On peut alors se demander si le rapport équilibré trouvé dans la Seulles n'est pas simplement le reflet du comportement de survie de ces 2 microorganismes plutôt que la signature de l'origine animale de la pollution fécale.

7 - CONCLUSION

La plupart des résultats de l'étude corroborent les données recueillies dans la littérature. Toutefois, les conclusions de ce travail ne sont valables que dans la limite de la représentativité des mesures.

Tout d'abord, cette étude conforte le **bien fondé** de l'utilisation des **GTCF** en tant qu'**indicateur d'efficacité de traitement vis à vis des bactéries seulement** étant donné qu'ils sont mesurables tout au long de la filière mais qu'ils se déconnectent du comportement des parasites et des spores face au procédé d'ozonation.

Ensuite, on constate que les spores de *Clostridium perfringens* présentent également un intérêt indéniable en tant qu'**indicateur d'efficacité de traitement**. Leur comportement lors de la clarification ne traduit pas celui des parasites étant donné leur différence de densité mais leur comportement lors de la filtration sur sable s'apparente approximativement à celle des *Giardia*.

Face à l'ozone, les spores ont une **constante d'inactivation très élevée** et une dose importante (**CT = 15 min.mg/L**) doit être appliquée pour obtenir un abattement de 1.7 log. Dans les **conditions expérimentales** pour lesquelles la dose d'ozone appliquée est **CT=1 min.mg/L**, on observe une augmentation des spores du fait de la sporulation des formes végétatives et ces spores ne présentent donc **pas d'intérêt en tant qu'indicateur d'efficacité de la désinfection vis à vis des parasites** dans le cas présent. La piste reste à approfondir en ce qui concerne le risque viral.

Les **oocystes de *Cryptosporidium*** et les **kystes de *Giardia*** sont bien **présents** dans les eaux usées ainsi que dans les eaux de rivières et présentent des **faibles taux d'élimination** sur le **clarificateur** du fait de leur faible densité alors qu'ils sont **sensibles à la filtration sur sable** du fait de leur taille (Abattement supérieur pour *Giardia* car les kystes sont plus gros que les oocystes).

Face à la désinfection à l'ozone, les oocystes de *Cryptosporidium* sont **plus résistants** que les kystes de *Giardia*. D'autre part, le rôle de ces microorganismes comme indicateur de l'origine de la contamination reste à examiner.

Face aux résultats de cette étude, on comprend facilement la **complexité des problèmes posés par le choix des indicateurs** en terme de **qualités écologiques requises**. A ces difficultés écologiques qui se heurtent aux limites de la connaissance en microbiologie viennent s'ajouter les **contraintes de**

faisabilité analytique afin que les hygiénistes puissent intégrer ces paramètres dans les contrôles de routine.

D'après les données bibliographiques, les **outils disponibles** pour mettre en place des systèmes de surveillance ayant pour but de produire de l'informations pertinentes pour la prise de décision en ce qui concerne la gestion des rejets en milieu littoral **ne sont pas encore au point pour maîtriser le risque parasitaire et le risque viral** engendrés par les **rejets d'effluents désinfectés** ce qui conforte la position du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique.

Des **expérimentations in situ** doivent être conduites afin de trouver des indicateurs de **risque parasitaire**. Les pathogènes *Giardia* et *Cryptosporidium* **sont intéressants à suivre** pour remplir cette fonction bien que la faisabilité analytique pose des problèmes.

Pour le **risque viral**, les bactériophages ont fait l'objet de nombreuses études mais les avis divergent à leur sujet et la **validation épidémiologique** de ces indicateurs potentiels doit donc être envisagée. Toutefois, de la **connaissance concernant l'écologie** des phages de *Bacteroides* **reste à produire** . D'autre part, pour le contrôle de routine des eaux de baignade, de **nouvelles méthodes rapides de détection** émergent et doivent faire l'objet de plus d'attention de la part des hygiénistes et peut-être devenir les méthodes préconisées dans la législation. En effet, elles permettent de réduire la période pendant laquelle les baigneurs peuvent être exposés aux pathogènes.

Bibliographie

- (1) **ABARNOU A., GUILLAUD J.F., MIOSSEC L., BATT A.**
La chloration des effluents urbains avant rejet en mer. (1990)
Rapports scientifiques et techniques de l'IFREMER.
- (2) **Agence de bassin Loire-Bretagne**
Journées d'information sur la désinfection des eaux usées.
Rennes 21-22-23 mai 1979. ENSP.
- (3) **AUDIC J.M.**
Evolution des technologies d'élimination des micro-organismes.
La Mer et les Rejets Urbains. Bendor. 13-15 juin
IFREMER ; Actes de Colloques 11 ; pp 133 à 148
- (4) **AUGELMANN A. (1996)**
Etude de la pollution microbiologique par temps de pluie ; De l'impact sur les usages du littoral ; Des exemples de solutions en France et à l'étranger.
Agence de l'Eau Seine – Normandie.
- (5) **BEAUDEAU P. (1999)**
Etude in situ sur la pertinence des nouveaux indicateurs pour le classement de la qualité des eaux de baignade.
Agence de l'Eau Seine - Normandie.
- (6) **BISSON J. W., CABELLI V. J. (1980)**
Clostridium perfringens as a water pollution indicator.
Journal WPCF, vol. 52, n°2 (February 1980)
- (7) **BUNEL (1995)**
Les parasites Giardia – Cryptosporidium Approche du risque sanitaire Mémoires DESS Environnement.
- (8) **CABELLI V. J. (1978)**
New Standards for Enteric Bacteria.
In Water Pollution Microbiology (Edité par Mitchell R.), Vol.2, pp. 233-271. Wiley, New York.
- (9) **Cahiers de l'AGHTM.**
Points de repère sur la désinfection des eaux usées (1981)

- (10) **CHUNG H. , SOBSEY M. D.(1993)**
Comparative Survival of indicator viruses and enteric viruses in
Seawater and Sediment.
Water Science Technology, Vol. 27, N°3-4, pp. 425-428, 1993.
- (11) **Commission Européenne**
Elaborer une nouvelle politique des eaux de baignade.(2000)
- (12) **Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France.**
Recommandations sanitaires relatives à la désinfection des eaux usées urbaines
(1995).
- (13) **CORMIER M ; et MARTIN**
Rejets urbains et salubrité du littoral - Thème II – Synthèse
La Mer et les Rejets Urbains. *Bendor, 13-15 juin 1990.*
IFREMER
- (14) **CORNAX R., MORINIGO M. A., BALEBONA M.C., CASTRO D.,
BORREGO J. J. (1991)**
Significance of several bacteriophage groups as indicators of sewage
pollution in marine waters.
Water Research, Vol. 25, N°6, pp. 673-678. (1991)
- (15) **DDASS CALVADOS**
Bilan de la qualité des eaux de baignade dans le département du Calvados.
Saison balnéaire 2000.
- (16) **DDASS CALVADOS**
Qualité des eaux de baignade en mer de Courseulles sur mer à Luc sur mer.
Bilan à l'issue de la saison balnéaire 2000.
- (17) **DONIA D., DIVIZIA M., PANA A., GABRIELLI R., GASBARRO M.,
CAPUANI L., MORELLI A. L.**
Presence of bacteriophages in different stages of wastewater
treatment.
L'Igiena Moderna (1999) : 111, 239-251.
- (18) **DORON Maeva (2000)**
Cryptosporidium dans l'environnement aquatique : Conséquences pour
les eaux de distribution.
*Synthèse bibliographique- ENGREF – OFFICE INTERNATIONAL DE
L'EAU.*
- (19) **DUPRAY E., BALEUX B., BONNEFONT J.L., GUICHAOUA C.,
POMMEPUY M., DERRIEN A.**

Apports en bactéries par les stations d'épuration.
La Mer et les Rejets Urbains. *Bendor*, 13-15 juin 1990.
IFREMER.

- (20) **DYRDA C. (1999)**
Réflexions sur le rejet de la station d'épuration d'Outreau-Le Portel
(Pas-de-Calais).
Mémoire ENSP IGS.
- (21) **ELLIOTT A.H**
Prediction of illness risk near ocean outfalls using frequency distributions of
bacterial concentrations.
Wat. Res. Vol 32. No 10. Pp. 3182-3187. 1998
- (22) **ELMUND G.K., ALLEN M.J., RICE E.W. (1999)**
Comparison of Escherichia coli, Total Coliform, and Fecal Coliform
Populations as Indicators of Wastewater Treatment Efficiency.
Water Environment Research, vol.72, Number2.
- (23) **GANTZER C., DUBOIS E., CRANCE J.-M., BILLAUDEL S., KOPECKA
H., SCHWARTBROD L., POMMEPUY M., LE GUYADER F. (1998)**
Devenir des virus entériques en mer et influence des facteurs
environnementaux.
Oceanologica acta – vol. 21 – N°6.
- (24) **GANTZER C. , LUCENA F. , SCHWARZBROD L., JOFRE J.**
Indicateur de contamination virale du milieu hydrique : mythe ou réalité
Virologie, Vol. 2, n° 2, mars-avril 1998
- (25) **GASSMANN L. and SCHWARTZBROD J.**
Wastewater and Giardia Cysts.
Water Science Technology, Vol. 24 , N°2, pp. 183-186 (1991).
- (26) **HAVELAAR A. H., Van OLPHEN M. and DROST Y. C. (1993)**
F-Specific RNA Bacteriophages Are Adequate Model Organisms for
Enteric Viruses in Fresh Water.
Applied and Environmental Microbiology, sept. 1993, p. 2956-2962
- (27) **HELMER R., HESPANHOL I., SALIBA L. J.**
Public Health criteria for the aquatic environment : recent who guidelines and
their application
Wat. Sci. Tech. Vol 24. No 2, pp.35-42, 1991

- (28) **IFREMER Laboratoire côtier de Port en Bessin**
Résultats de la surveillance de la qualité du milieu marin littoral.
Départements : Seine Maritime, Eure, Calvados et Manche
Editions 2001.
- (29) **IAWPRC Study Group on Health Related Water Microbiology**
Bacteriophages as model viruses in water quality control.
Water Research, Vol. 25, N°5, pp. 529-545, 1991.
- (30) **Institut de Veille Sanitaire**
Critères microbiologiques de qualité des eaux de baignades. (2001)
- (31) **JANEX M.L., XU PEI, SAVOYE P., LAÏ NE J. M. and LAZAROVA V. (1999)**
Ozonation as a wastewater disinfection process to meet Reuse Regulations.
CIRSEE-Lyonnaise des Eaux.
- (32) **JANEX M.L., SAVOYE P., ROUSTAN M., DO-QUANG Z. LAINE. J.M. and LAZAROVA V.(1999)**
Wastewater Disinfection by Ozone : Influence of water quality and kinetics modeling.
Ozone Science and Engineering
Vol. 22, pp. 113-121
- (33) **KHAMLICH L. SAGHI M. et BENLEMLIH (1999)**
Studie of some factors that influence survival of fecal pollution indicators and pathogenic bacteria in wastewaters.
Journal Européen d'Hydrologie. Tome 30 - Fasc. 1 – 1999.
- (34) **KORICH D. G., MEAD J. R., MADORE M. S., SINCLAIR N. A. and STERLING C. R.**
Effects of Ozone, Chlorine Dioxide, Chlorine, and Monochloramine on *Cryptosporidium parvum* Oocyst Viability.
Applied and Environmental Microbiology, May 1990, p. 1423 – 1428.
- (35) **LARBAIGT G. (1989)**
Une meilleure connaissance des risques sanitaires liés à la baignade.
Incidence sur la réglementation et la prévention.
Revue des sciences de l'eau, 2 (1989) 295-306.

- (36) **LAZAROVA V., SAVOYE P., JANEX M.L., BLATCHEY E.R. and POMMEPUY M. (1999)**
Advanced wastewater disinfection technologies : State of the art and perspectives.
Water Science Technology Vol. 40, N°4-5, pp. 203-213, 1999.
- (37) **LECLERC H.**
Les bio-indicateurs bactériens de santé publique en milieu aquatique
- (38) **LIBERTI L. and NOTARNICOLA M. (1999)**
Advanced treatment and disinfection for municipal wastewater reuse in agriculture.
Water Science Technology Vol. 40, N° 4-5, pp 235-245, 1999
- (39) **LIBERTI L., NOTARNICOLA M. and LOPEZ A. (1999)**
Advanced Treatment For Municipal Wastewater Reuse In Agriculture.
III -Ozone disinfection.
Ozone Science & Engineering. Vol. 22, pp. 151-166.
- (40) **MOUGEOT G., CAMBON M., ENTRADAS M., ALAME J., PEPIN D.**
Etude de la présence des œufs d'helminthes, des kystes de Giardia spp., des oocystes de Cryptosporidium spp. et des amibes d'origine tellurique dans les eaux superficielles en Auvergne (France).
Bulletin de la Société Française de Parasitologie 1997, Tome 15, n°2.
- (41) **NEZHA LEFTAH (1999)**
Faisabilité du volet sanitaire des études d'impact. Cas des dossiers de stations d'épuration : Intérêts et limites de la démarche d'évaluation des risques.
Mémoire ENSP IGS.
- (42) **Office International de l'Eau. (1999)**
Identification des parasites dans les eaux résiduaires et dans les boues.
- (43) **PALMATEER G. A., DUTKA B. J., JANZEN E.M., MEISSNER S. M. and SAKELLARIS M. G. (1991)**
Coliphage and bacteriophage as indicators of recreational water quality.
Water Research, Vol. 25, N°3, pp. 355-357 (1991)
- (44) **PARASKEVA P., LAMBERT D., GRAHAM N. J. D.**
Ozone Treatment of Sewage Work's Final Effluent.
J.CIWEM, December 1999.

- (45) **PARKER J. F. W., GREAVES G.F. and SMITH H.V.**
The effect of ozone on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and a comparison of experimental method.
Water Science Technology, Vol. 27, N°3-4, pp. 93-96, 1993.
- (46) **PAYMENT P. and FRANCO E. (1993)**
Clostridium perfringens and Somatic Coliphages as Indicators of the Efficiency of Drinking Water Treatment for Viruses and Protozoan Cysts.
Applied and Environmental Microbiology, Aug. 1993, Vol. 59, p. 2418-2424.
- (47) **POGGI R. (1990)**
Impacts sanitaires de s contaminations microbiologiques.
La mer et les rejets urbains. Bendor, 13-15 juin 1990.
IFREMER. Actes de Colloques 11. pp 115 à 132
- (48) **POMMEPUY M., GUILLAUD J.F., MARTIN Y., DUPRAY E., DERRIEN A., L'YAVANC et CORMIER M.**
Le devenir des bactéries en zone littorale
La Mer et les Rejets Urbains. Bendor, 13-15 juin 1990.
IFREMER. Actes de Colloques 11. Pp 89 à 100
- (49) **RICE E. W., FOX K.R., MILTNER R.J., LYTLE D. A. and JOHNSON C. H.**
Evaluating plant performance with endospores
Journal AWWA, septembre 1996, pp 122-130.
- (50) **ROSE Joan B. et GERBA Charles P.**
Use of risk assessment for development of microbial standards
Wat. Sci. Tech. Vol. 24, NO 2, pp. 29-34, 1991.
- (51) **Saunier Eau et Environnement.**
Assainissement de la Côte de Nacre – *Étude d'Impact. (1994)*
- (52) **Saunier Techna.**
Mise en service de la station d'épuration de Côte de Nacre. *Etude courantologique (2000)*
- (53) **SCHWARZBROD J., SCHWARZBROD L. (1999)**
Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines. *Document ADEME.*

- (54) **SCHWARZBROD L., JEHL-PIETRI C. BOHER S. HUGUES B. ALBERT M., BERIL C.**
La Mer et les Rejets Urbains. Bendor, 13-15 juin 1990
IFREMER ; Actes de Colloques 11. Pp 101 à 114
- (55) **SCHWARZBROD L., coordonnateur**
Virologie des milieux hydrique. (1991)
- (56) **SERVAIS P. (coordonateur)**
Contaminations bactérienne et virale.
IFREMER. Programme scientifique Seine - Aval (2001).
- (57) **TYRREL S. A., RIPPEY S. R. and WATKINS W. D. (1995)**
Inactivation of bacterial and viral indicators in secondary sewage effluents, using chlorine and ozone.
Wat. Res., Vol. 29, n°11, pp. 2483-2490.
- (58) **Université Laval – AESN.**
La désinfection des eaux usées par rayonnement UV : Expérience Québécoise (1995)
- (59) **VIAL Jean**
Journées d'information sur la désinfection des eaux usées .
21-22-23 mai 1979
Risques sanitaires liés aux rejets d'eaux usées. But de la désinfection.
- (60) **VIAL Jean**
La décontamination des eaux usées
TSM - L'eau - Juillet 1983. P 343, 344.
- (61) **VILAGINES P., SARRETTE B., LE GUYADER M., CUN C. et VILAGINES R.**
Relationship between cultivable viruses, F-specific RNA phages and the principal fecal bacterial indicators in raw waters, treated wastewaters and surface waters
Journal européen d'Hydrologie - Tome 28 - fax. 2 - 1997
- (62) **VOLK C., RENNER C, JORET J.C.**
La mesure du CODB : un index du potentiel de reviviscence bactérienne des eaux.
Revue des sciences de l'eau, 5 (n° spécial) (1992) 189-205

(63) WIANDT S., BALEUX B., BONTOUX J.

Etude sur l'efficacité de certaines stations d'épuration des eaux usées
vis-à-vis de l'élimination de kystes Giardia sp.

Journal Européen d'Hydrologie, Tome 28, fasc. 3, p. 283-296, 1998

ANNEXE 1

LISTE DES PERSONNES – RESSOURCES

M. CANTELOUP et M. NICOLE – DDASS Calvados

Mme PACHALSKI et M. JOUIN – DDE Calvados

M. COQUARD et Mme OSTERTAG – Laboratoire d'hydrologie de Strasbourg

Mme GIREAUDOT et M. CABON – Institut Pasteur de Lille

M. LESNE – Laboratoire ENSP

M. LAVERANT – Institut de Formation et de Recherche en Hygiène Clermont Ferrand

M. PAQUIN – Laboratoire d'Hygiène de Nancy

M. LE GOFF et M. DU BOULLAY – IFREMER – Station de Port – en – Bessin

ANNEXE 2

8 - DONNEES BIBLIO. DISPONIBLES SUR LA PROBLEMATIQUE LOCALE ET LA FAISABILITE ANALYTIQUE

Cette partie a pour but de **recenser** les **paramètres microbiologiques** susceptibles de jouer le rôle d'indicateur et de présenter les **qualités écologiques communes** aux 4 types d'indicateurs et leur **capacité** à jouer le rôle d'**indicateur de contamination et de survie**, d'**efficacité de traitement à l'ozone** et enfin de **risques sanitaires**.

Les **critères écologiques communs** regroupent leur **concentrations dans les eaux usées**, leur **capacité à se répliquer** dans l'environnement ainsi que leur **spécificité parfois**

Dans la partie, **survie et contamination** : on recherche les corrélations existantes avec la présence ou le risque de présence de pathogènes et on compare leur comportement de survie à celui des pathogènes dans les eaux usées, les eaux de rivières, les eaux marines.

Dans la partie **traitement** , on s'interroge sur leur résistance au traitement à l'ozone et si celle-ci est comparable à celles de pathogènes.

On recherche ensuite, dans la partie **sanitaire**, si il existe une corrélation entre leur concentrations et la morbidité liée à la baignade ou à la consommation de coquillages.

Enfin, le dernier point concerne la **faisabilité analytique** et regroupe : norme / méthode / délai / coût / sensibilité.

8.1 Les coliformes et les streptocoques [22],[53]

Le terme « **coliformes thermotolérants** » désigne un groupe de coliformes capables de provoquer la fermentation du lactose à 44-45°C ; ils comprennent le genre *Escherichia* et, dans une moindre mesure, certaines espèces de *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Citrobacter*. Les CF ne sont pas exclusivement d'origine fécale et sont par conséquent moins spécifiques qu'*Escherichia coli* qui se retrouvent exclusivement dans le tractus digestif de l'homme et des animaux à sang chaud.

Les « **coliformes totaux** » constituent un groupe hétérogène de bactéries d'origine non fécale qui répondent aux définitions des coliformes et des coliformes ne provoquant pas la fermentation du lactose ce qui limite l'utilité de ce groupe de microorganismes comme indicateur de pollution fécale.

Escherichia coli est un membre de la famille des Entérobactériacées et fait partie des coliformes thermotolérants. Les méthodes d'analyses permettent maintenant plus de spécificité qu'auparavant. En effet, *E. coli* est **strictement fécal** et doit être utilisé pour les normes de rejet [22].

La famille des **streptocoques** renferme plusieurs genres dont le genre *Streptococcus* et le genre *Enterococcus*. Les **entérocoques** qui regroupent 2 espèces sont plus **spécifiques de l'Homme** que le groupe des Streptocoques fécaux.

8.1.1 Qualités d'indicateur

8.1.1.1 Critères écologiques communs

Tout d'abord, les **coliformes fécaux** et les **streptocoques fécaux** sont **incapables de se multiplier** dans l'**environnement** aquatique [14],[53].

Ces deux groupes de microorganismes sont retrouvés de manière abondante dans les eaux usées (CF : 10^9 à 10^{13} /mL ; SF : 10^8 à 10^{11} /mL), les eaux de rivières et les eaux marines à la suite de pollution fécale.

Ils sont tous les deux d'**origine fécale humaine et animale** et les **entérocoques** sont spécifiques humains.

8.1.1.2 Contamination et survie

Les **coliformes fécaux** constituent a priori de bons indicateurs de **contamination bactérienne fécale en eaux douces** et reflètent bien la densité de bactéries fécales présentes dans le milieu et donc l'ampleur de la pollution.

Le T90 des coliformes varie de 0.6 à 8 heures en milieu marin [53] et les coliformes totaux et fécaux subissent le plus fort taux d'inactivation en milieu marin alors que les **streptocoques fécaux** possèdent le **plus fort taux de survie** [8], [14].

Les **entérocoques** ou streptocoques fécaux constituent donc un indicateur plus fiable de **contamination fécale et de survie en milieu marin** [14], [53].

Du fait de leur survie inférieure aux virus en milieu marin, ces microorganismes ne peuvent être utilisés en tant qu'indicateurs de contamination virale et à plus forte raison de contamination parasitaire d'après Goyal et al., 1978 ; Gerba et al., 1979 ; LaBelle et al., 1980 [14].

8.1.1.3 Traitement à l'ozone

Les **coliformes thermotolérants** sont **plus sensibles à l'ozone** que les **entérocoques** [14] et que la plupart des virus et parasites et ne peuvent par conséquent constituer de bons indicateurs d'efficacité de traitement vis à vis de ces microorganismes. Néanmoins, ils peuvent témoigner de **l'efficacité du traitement à l'ozone vis à vis des bactéries**.

Une étude réalisée par Tyrrel et al. en 1995 porte sur la désinfection à l'ozone in situ de différents effluents secondaires de qualités variées et montre a priori un abattement de **1.1 à 1.5 unités log pour les coliformes fécaux** et un abattement de **1.0 à 1.2 unités log pour les entérocoques**. Le traitement à l'ozone dans ce cas s'effectue par l'obtention d'une concentration résiduelle de 0.30 ppm en 2 minutes [57].

Une autre étude réalisée par Paraskeva et al. [44] rapporte un abattement de **1.5 - 3 log pour les E. coli** pour une désinfection en laboratoire d'effluents prélevés en station avec une concentration résiduelle d'ozone de 0.2 – 1mg/L.

Les travaux de Liberti et al. [39] relate **3-4 log d'inactivation** pour les **coliformes fécaux** obtenus respectivement pour un effluent clarifié et pour un effluent clarifié-filtré pour un dosage de 15 ppm,10min.

Une étude réalisée par Janex et al. [32] tend à montrer que l'inactivation des **coliformes fécaux** par l'ozone est similaire à celle observée pour les **entérocoques**

D'autre part, cette étude démontre l'efficacité de l'ozonation face aux Entérovirus et permet d'affirmer qu'une inactivation de 2 unités log pour les coliformes fécaux aboutit à l'inactivation totale des Entérovirus.

Par ailleurs, ces paramètres peuvent être suivis en auto-surveillance des stations de traitement des eaux usées afin de détecter des dysfonctionnements de la filière ou de la désinfection.

8.1.1.4 Sanitaire

En terme d'intérêt sanitaire, on peut distinguer les indicateurs de risques liés à la consommation de coquillages et les indicateurs de risques liés à la baignade.

Au sujet des risques liés à la baignade, le travail de Larbaigt [35] sur le sujet relate des études épidémiologiques réalisées par l'E.P.A. sur des eaux de mer et des eaux de lacs ainsi qu'une étude réalisée par le C.A.R.E.P.S. sur des eaux de rivières. Ces études montrent **une bonne corrélation entre la morbidité gastro-intestinale et les entérocoques** (études E.P.A.) **ou les streptocoques fécaux** (étude française). Au contraire, les **corrélations avec les coliformes fécaux** sont **plus faibles** (étude française) **ou inexistantes** (études E.P.A.) ; elles sont cependant meilleures (eaux de mer) ou même excellentes (eaux douces) vis à vis de l'espèce E. coli lorsque celle-ci a été déterminée sélectivement. Il n'a pas été mis en évidence de corrélations avec le groupe des coliformes totaux.

Plus récemment, la **méta-analyse de l'InVS** [30] conclut également que les indicateurs microbiens les mieux corrélés à la morbidité infectieuse sont les **SF-entérocoques** pour les **eaux douces** et les **eaux marines**, et les **E. coli** dans les **eaux douces**.

En résumé, les streptocoques fécaux et les entérocoques présentent manifestement la meilleure corrélation entre leur densité et la morbidité infectieuse d'après Cabelli et al. ;[14], [30], [47], [35].

Pourtant, les CF et les CT figurent dans les paramètres utilisés pour la déclaration de conformité.

Dans un article sur l'impact sanitaires des contaminations microbiologiques [47], R. Poggi aborde les problèmes liés à la consommation de coquillages et relate une étude réalisée par la N.O.A.A. (National Oceanic and Atmospheric Administration) et l'E.P.A. (Environmental Protection Agency). Cette étude cas – témoin rapportée par White en 1989 portant sur 1393 personnes démontre que les **entérocoques** et les **bactériophages** présents dans la **chair des coquillages** sont **les indicateurs les plus significatifs** alors que si l'on s'intéresse à la **qualité des eaux d'élevage**, 8 jours avant le ramassage des huîtres, le taux de contamination en **coliformes fécaux** semble **plus en relation** avec l'impact sanitaire.

8.1.2 Contexte de faisabilité analytique

Les analyses des paramètres coliformes fécaux, E.coli, streptocoques et entérocoques de par la simplicité de leur dénombrement sont réalisées par la plupart des laboratoires de microbiologie et le délai d'obtention des résultats n'excède pas **2 jours**.

Les méthodes d'analyses sont sensibles et le **volume nécessaire** est compris entre **50 et 500 mL**.

Son coût est raisonnable : de **150 à 200FHT** pour les **CF et E. coli**, de **60 à 180 F** pour **SF et les entérocoques**.

Une norme **ISO9308-3** (dénombrement des **E. coli** en **microplaque**) ainsi qu'une **NF T90-433** existent pour l'analyse des **coliformes**.

Une norme **ISO7899-1**(dénombrement des **entérocoques en microplaque**) ainsi qu'une **NF T90-432** existent pour l'analyse des **streptocoques fécaux**.

En outre, l'IFREMER a développé une **méthode d'analyse rapide** basée sur les phénomènes enzymatiques (réponse en 20 à 30 minutes) [56]. Une autre méthode rapide (Colilert) qui utilise l'impédancemétrie existe pour la détection des coliformes. Cependant, leur fiabilité restent à évaluer et elles doivent faire l'objet d'un agrément pour pouvoir être utilisées dans le cadre de la surveillance des baignades

8.2 Les Salmonelles

Le genre Salmonella comporte une espèce Salmonella enterica qui comprend 7 sous-espèces. Parmi les sérotypes de la sous-espèce enterica, on distingue [53] :

- ❑ des sérotypes strictement humains,
- ❑ des sérotypes strictement animaux : par ex. Abortus-ovis (chez les ovins) ; Gallinarum-Pullorum (volaille),
- ❑ des sérotypes ubiquistes : la plupart des sérotypes sont ubiquistes. L'exemple type Typhimurium.

De ces considérations, on peut affirmer que le **sérotypage des salmonelles** conduit à la **détermination spécifique de l'origine de la contamination**.

Certaines souches de Salmonelles sont **pathogènes** pour l'homme qui peut demeurer porteur sain pendant plusieurs mois.

8.2.1 Qualités d'indicateur

8.2.1.1 Critères écologiques communs

Les **Salmonelles** sont retrouvées dans les **eaux usées** à des concentrations de **0 à 10⁶/mL** [53].

Cependant, leur présence dans les eaux usées dépend de l'état de santé de la population et présente une variabilité importante [8].

Ces microorganismes sont **incapables de se multiplier** dans l'environnement hydrique et par sérotypage, il est possible de retrouver l'origine de la contamination.

8.2.1.2 Contamination et survie

Peu d'informations sont disponibles sur leur utilisation en tant qu'indicateur.

Une étude de Mezrioui (1995) affirme que les **salmonelles** et les **coliformes** suivent le **même profil évolutif** quant à leur abondance au niveau des systèmes épuratoires [33].

Les temps de survie dans les eaux varient de 1 à 100 jours et les T90 de 1 à 10 jours et de manière générale, leur survie est plus longue dans les eaux chargées en matières organiques et plus brève en eau de mer qu'en eau douce [53].

8.2.1.3 Traitement à l'ozone

Dans une étude réalisée par Janex et al. [31], les performances de la désinfection à l'ozone vis à vis des Salmonelles ont fait l'objet d'une investigation. Pour une dose d'ozone (TOD=8.6mg/L, Temps de contact =4 min.) supérieur ou égale à 8.6 mg/L, on ne retrouve plus de salmonelles dans l'effluent désinfecté.

8.2.1.4 Sanitaire

Les salmonelles sont **utilisées dans la législation** des eaux de baignades et conchylicoles (recherche en cas de soupçon) et lors du suivi des rejets par la DDE (utilisation du sérotypage).

Les analyses utilisées dans ce cas concernent la présence/absence et le sérotypage du pathogène et non le dénombrement.

En effet, elles présentent un **intérêt sanitaire évident** aussi bien pour les eaux de baignades que pour les eaux conchylicoles étant donné que certaines souches sont pathogènes pour l'homme. La Dose Minimale Infectante (DMI) est toujours élevée et est estimée selon les espèces en cause et selon le niveau sanitaire de la population concernée à 10^5 - 10^9 *Salmonella*.

8.2.2 Faisabilité analytique

Aucune méthode standard n'existe. Certains laboratoires s'inspirent de ce qui est fait en **hygiène alimentaire** via la **norme ISO 6430.3**. D'autres laboratoires mettent au point leur propre méthode.

En ce qui concerne le dénombrement, la technique du nombre le plus probable est utilisée mais le rendement varie très fortement en fonction des étapes d'enrichissement et du type de géloses employées pour l'incubation d'après J. Lesne (laboratoire ENSP) et J.L. Paquin (laboratoire d'Hygiène de Nancy).

Le volume à fournir varie de **1L à 10 L** et les **délais** d'obtention des résultats de **10 à 15 jours**, suivant les méthodes d'analyses utilisées.

Le coût varie également de **300 à 450FHT**.

8.3 Les spores de Clostridium perfringens :

Le genre *Clostridium* regroupe une trentaine d'espèces. Ces **bactéries** sont **anaérobies** et quand les **conditions environnementales** deviennent **défavorables**, elles produisent des **spores** caractérisées par une **grande résistance** à divers facteurs physico-chimiques (température, pression,...). Les *Clostridium perfringens* sont les plus ubiquitaires et se retrouvent dans les matières fécales de l'Homme, de nombreux animaux, dans l'eau, l'air, le sol et les boues [8], [53].

8.3.1 Qualités d'indicateur

8.3.1.1 Critères écologiques communs

Ils sont présents de façon abondante dans les matières fécales à des concentrations de l'ordre de 10^3 à 10^6 /g [53] et à plus forte raison dans les eaux usées à des concentrations de l'ordre de 10^5 /100mL. Dans l'environnement, ils sont **incapables de se multiplier**. En ce qui concerne leur spécificité, le paragraphe introductif en fait état.

8.3.1.2 Survie et contamination

D'après une étude réalisée par Bisson et Cabelli en 1980 [6], les spores de *Clostridium perfringens* **survivent très bien** dans des échantillons naturels d'**eaux marines**. En effet, environ 20% seulement des spores sont inactivées au bout de 14 jours à température ambiante de 22°C, ce qui laisse conclure aisément à l'intérêt de ces microorganismes en tant qu'**indicateurs de survie**.

De plus, pour examiner leur capacité à remplir leur rôle d'indicateur de survie et de contamination, les densités de E. coli et de spores ont été comparées pour des échantillons prélevés à des distances croissantes d'un point de contamination du milieu. Le ratio E. coli/spores de *Clostridium perfringens* diminue quand la distance entre le point de prélèvement et le point de contamination augmente.

Cependant, en tant qu'**indicateur de contamination**, le **problème de l'origine** se pose. En effet, les **Clostridium perfringens** peuvent se trouver dans les sédiments marins et d'eaux douces sous forme végétative. Par mise en suspension, ces bactéries peuvent se retrouver en milieu aquatique hostile et par conséquent, produire des spores.

Dans une étude concernant l'eau potable [46], Payment met en évidence une **corrélation** dans les **eaux de rivières entre le dénombrement des spores de C. perfringens et la présence des pathogènes** suivants : les **virus entériques humains**, les **kystes de Giardia** et les **oocystes de Cryptosporidium**. Les données de cette étude viennent étayer l'avis de plusieurs chercheurs qui affirment que les spores de *Clostridium perfringens* constituent un **bon indicateur de contamination virale et parasitaire des eaux de rivières**.

Les spores de *C.perfringens* sont **corrélées au risque d'entérovirus** dans les **eaux de mer** et les **eaux brutes** d'après Chung 1998 [5].

8.3.1.3 Traitement

Dans une étude réalisée par Janex et al. [31], la **résistance des spores de Clostridium perfringens** à l'ozone s'est révélée particulièrement **élevée**. En effet, un abattement maximal de 1.7 unité log est obtenu après un traitement à 29 mg/L TOD, soit une valeur « Ct » de 15 min.mg/L.

Une autre étude concernant l'inactivation des bactéries et des indicateurs viraux dans les effluents secondaires réalisée par Tyrrel et al. [57] montre une inactivation à l'ozone comprise entre 0.1 et 0.2 unité log. Le procédé d'ozonation dans ce cas, consiste à obtenir une concentration résiduelle de 0.30 ppm en 2 min. En outre, cette étude permet de comparer la résistance de ces spores à celle des autres microorganismes indicateurs tels que Entérocoques, Coliformes fécaux, F+ coliphage et

somatic phages. On remarque aisément que les spores de *Clostridium perfringens* sont les microorganismes les plus résistants à ce traitement.

Les travaux de Payment et al. [46] sur les **indicateurs d'efficacité de traitement** pour les eaux de consommation vise à montrer des corrélations entre les pathogènes, **virus entériques et parasites** et les indicateurs microbiologiques que constituent les spores de *Clostridium perfringens* et les bactériophages. L'étude porte sur 3 stations différentes et conclut que les spores de *Clostridium perfringens* constituent de bons indicateurs d'efficacité de traitement par l'ozone et le chlore vis à vis des virus et des parasites (kystes de Giardia).

8.3.1.4 Sanitaire

En tant qu'indicateur de risque sanitaire, l'étude de Bisson et Cabelli a testé 2 plages sur les paramètres entérocoques, E. coli et spores de *Clostridium perfringens*. L'une des plages étant proche de sources de pollution connues et relativement peu exposée à la houle, l'autre étant plus distantes des sources de pollution et exposée à la houle. Les analyses montrent des densités en E. coli et en entérocoques supérieures sur la première plage tandis que la densité de spores de *Clostridium perfringens* est plus importante sur l'autre plage : cela est due à la mise en suspension des sédiments par les vagues. De plus, la morbidité gastro-intestinale liée à la baignade est plus importante sur la première plage ce qui signifie que les **spores de *Clostridium perfringens* n'ont pas vraiment d'intérêt en terme d'indicateur de risque lié à la baignade.**

D'autre part, une étude « cas – témoin » réalisée par les services de la N.O.A.A. et l'EPA rapportée par White (1989) [47] a utilisé les spores de *Clostridium perfringens* comme indicateur de risque sanitaire lié à la consommation d'huîtres mais n'a pas obtenu de résultats significatifs concernant ces microorganismes. Cette étude montre également que si l'on se reporte à la qualité des eaux d'élevage, huit jours avant le ramassage des huîtres, le taux de contamination en *Clostridium perfringens* ne semble pas en relation avec l'impact sanitaire.

8.3.2 Faisabilité analytique

Une méthode normalisée existe pour la population totale (formes végétatives et spores): T90-415 (milieu de culture spécifique + température d'incubation spécifique aux *C. perfringens*).

Pour les spores, l'Institut Pasteur de Lille utilise la NF V08-056 adaptée. C'est une méthode sensible qui requiert un **volume** d'échantillonnage de **20 mL**.

Son **coût** est de **650FHT**. Le **délai** d'obtention des résultats est de **2 jours**.

8.4 Les Entérovirus :

Le genre des Entérovirus fait partie de la famille des Picornaviridae et regroupe les Poliovirus (3 sérotypes), les Coxsackievirus, les Echovirus et les Entérovirus.

Les Entérovirus se multiplient dans le tractus digestif humain et sont rejetés dans les selles de toutes les personnes infectées. Ce sont des **pathogènes spécifiques** d'une **contamination fécale humaine**.

8.4.1 Qualités d'indicateur

8.4.1.1 Critères écologiques communs

Les Entérovirus sont retrouvés à des **concentrations de l'ordre de 10^1 à 10^2 / 100 mL** dans les eaux usées brutes [53] et ne présentent **pas la capacité à se multiplier** dans l'environnement.

Ils sont rares dans l'environnement et leur présence dans les eaux usées dépend de l'état de santé de la population.

8.4.1.2 Contamination et survie

Son T90 avoisine 671j à 4°C en eau de mer et 25 j à 25°C d'après les travaux de Gantzer et al. [24].

Les Entérovirus sont des pathogènes pour l'homme et constituent par définition de **bons indicateurs de contamination et de survie en eaux douces et eaux marines**.

Par exemple, une étude réalisée par Havelaar [26] montre que la **concentration en virus entériques** (Entérovirus + réovirus) est **corrélée aux trois types d'organismes ARN-f spécifiques, E. coli et streptocoques dans les eaux de rivières** ce qui veut dire que la concentration en virus pour ce type d'eau peut être dérivée de la concentration des paramètres tels que ARN-f spécifiques, streptocoques fécaux et coliformes thermotolérants .

8.4.1.3 Traitement à l'ozone

Leur utilisation en tant qu'**indicateur de traitement** se heurte tout d'abord à leur **faible concentration** et leur **fréquence d'apparition**. Toutefois, leur relativement forte résistance aux conditions environnementales défavorables fait que si un **traitement est efficace à leur sujet**, il peut être considéré comme **efficace vis à vis des autres virus** [29].

8.4.1.4 Sanitaire

Ce paramètre est utilisé dans la législation concernant les eaux de baignades : En effet, sa concentration doit être vérifiée lorsqu'une enquête effectuée dans la zone de baignade en révèle la présence possible ou une détérioration possible de la qualité des eaux.

L'**intérêt sanitaire** de ces microorganismes est sans équivoque étant donné qu'ils sont pathogènes pour l'homme. La dose minimale infectieuse (DMI) est variable selon les sérotypes mais il existe un consensus pour admettre que la **DMI** est inférieure à 50 et de l'ordre de **10 à 15 particules infectieuses** [53].

8.4.2 Faisabilité analytique

Une **méthode d'analyse standard** existe : **T90-451**. Toutefois, elle est **peu sensible** et nécessite des volumes de **10L par échantillon**.

Les **délais** d'obtention des résultats sont également importants et s'échelonne de **15 à 60 jours**.

Le coût analytique s'élève de **2550 à 4200F** selon les laboratoires qui sont peu nombreux à réaliser ce genre d'analyses.

L'étude réalisée par l'Agence de l'Eau Seine Normandie a testé la faisabilité des mesures d'Entérovirus dans le cadre du contrôle légal des eaux de baignade et il est vrai que la mise en œuvre analytique de ce paramètre en routine pose de sérieux problèmes [5] :

- ❑ très mauvaise sensibilité de la méthode normalisée (aucun résultat positif dans le cadre de ce travail),
- ❑ coût prohibitif,
- ❑ collecte et transport des échantillons contraignants (prélèvements de 10 L).

Les Entérovirus ne constituent en aucun cas un bon choix pratique ni économique pour les contrôles de routine [5], [29].

8.5 Les bactériophages

Face aux problèmes concernant la recherche directe des Entérovirus pour le contrôle de routine de l'efficacité d'une filière de traitement ou de la surveillance de la qualité des eaux de baignades, il est nécessaire de disposer d'un indicateur de contamination virale ou d'efficacité de traitement vis à vis des virus : les **bactériophages constituent de bons candidats** pour remplir ces rôles.

De manière générale, l'inactivation des bactériophages dans les eaux naturelles est fonction des mêmes paramètres qui gouvernent l'inactivation des bactéries, e.g. la température, les M.E.S., l'activité biologique et la lumière d'après Mitchell, 1971 ; Niemi, 1975 ; Babich et Stotzky, 1980 ; Zaiss et Hennies, 1988 ; Martins et al., 1989 [29].

8.5.1 Les coliphages somatiques

Ce sont des phages qui infectent E. coli par adsorption sur des récepteurs situés sur la paroi bactérienne. Ils appartiennent aux Myoviridae, Siphoviridae et Podoviridae.

8.5.1.1 Qualités d'indicateur

8.5.1.1.1 Critères écologiques communs

Dans les eaux usées urbaines, ils sont constamment retrouvés à la **concentration moyenne de 10^5 à $10^7/100\text{mL}$** . Ils sont excrétés par l'homme et les animaux à sang chaud.

Pour se multiplier, les coliphages somatiques ont besoin d'un certain nombre de bactéries. Il apparaît dans certains cas, en particulier lorsque la température du milieu hydrique est élevée ($>25^\circ\text{C}$), que les coliphages sont **susceptibles de se multiplier dans l'environnement** [53], [29], [14] et [55].

8.5.1.1.2 Survie et contamination

Si aucune corrélation n'a pu être établie entre la présence de virus et celle des germes témoins de contamination fécale, en revanche une **corrélation existe entre les coliphages somatiques et les virus entériques** [43], [10], d'après les travaux de Moringo (1992) [5] et entre les coliphages et les entérocoques dans les eaux marines [5], [43].

De plus, les coliphages sont plus résistants à l'inactivation que les bactéries coliformes en milieu marin d'après Kott, 1966 ; Kott et Ben Ari, 1968[29] et Cornax conclut son étude en affirmant que les

coliphages sont les **indicateurs les plus adéquats pour la pollution fécale à distance** dans les **eaux marines**[14].

Les coliphages sont donc a priori de **bons indicateurs de contamination virale et de survie bactérienne** en **milieu marin** lorsque la température n'excède pas 25°C..

Une corrélation entre les coliphages et les Entérovirus a été montrée dans les rivières tchèques d'après Simkova et Cervenka (1981) [43], d'après les travaux de Moringo (1992) [5].

D'autre part, il existe une tendance générale à utiliser les coliphages comme indicateur de contamination pour les bactéries entériques pathogènes d'après Kenard and Valentine, 1974 ; Borrego et al., 1987 ; O'Keefe and Green, 1989 [14] et pour les virus entériques d'après Simkova and Cervenka, 1981 ; Stetler, 1984 ; Grabow et al., 1984 [14].

Toutefois, les coliphages présentent l'**inconvenient de se multiplier** dans les environnements qui répondent à certaines conditions d'après Vaughn and Metcalf, 1975 ; Borrego et al., 1990 [14], [53], [29]. En effet, la température doit être >25°C [53] et une densité en bactérie hôte supérieure à 10⁴cfu/mL est requise d'après Wiggins and Alexander, 1985 [14].

8.5.1.1.3 *Traitement*

Une étude portant sur l'évolution des bactériophages au cours d'un traitement classique d'épuration montre que les **coliphages somatiques** sont **stables pendant la durée du traitement** [17], ce qui peut s'expliquer par leur capacité à se répliquer dans les systèmes épuratoires [17], [53].

Ces microorganismes ne présentent donc **pas d'intérêt en tant qu'indicateur d'efficacité de traitement**.

D'autre part, il existe une **grande variabilité de la résistance** des différents groupes de ces coliphages face au traitement [29] et ils apparaissent beaucoup moins résistants à l'inactivation que les virus entériques [53].

8.5.1.1.4 *Sanitaire*

Dutka et Al. suggèrent un critère de qualité pour les eaux récréatives de 20 coliphages pour 100 mL [43] alors que **certaines réserves sont émises** à leur sujet concernant la variabilité de leur résistance et leur capacité à se multiplier dans des eaux non polluées [55].

De nombreuses études ont été réalisées sur la présence de coliphages chez des mollusques bivalves et il a été rapporté l'existence de corrélation entre le nombre de coliphages et celui de coliformes totaux, mais pas avec E. coli ou les entérovirus d'après Kott et Gloyna, 1965 ; Kennedy et al., 1984 ; Vaughn et Metcalf, 1975, [55].

8.5.1.2 Faisabilité analytique

Une **norme ISO existe** pour la recherche des coliphages somatiques : **ISO 10705-2**.

La méthode d'analyse permet une **détection simple** [53], [5] et possède une **bonne sensibilité (volume 20mL)**.

Son coût est de **250 FHT** mais peu de laboratoires effectuent la prestation.

Le délai d'obtention des résultats est de 3 jours.

8.5.2 Les phages ARN-f spécifiques

Les phages ARN-f spécifiques infectent leur hôte (E. coli, bactéries GRAM négatives...) en s'adsorbant sur les pili (Fimbriae) sexuels. Ils appartiennent aux Liviviridae (ex : phages MS2, QB).

8.5.2.1 Qualités d'indicateur

8.5.2.1.1 Critères écologiques communs

Ils sont retrouvés le plus souvent chez les animaux de fermes et assez peu dans les fèces humaines d'après Havelaar et al., 1986 [43]. Pourtant, ils sont présents dans les **eaux usées** à des concentrations **de 10^5 à 10^6 pfu/100mL** [29].

Ils ont besoin **pour se multiplier** d'être en concentration suffisante 10^4 /mL, d'avoir à leur disposition des bactéries porteuses de Pili en concentration suffisante 10^4 /mL et de bénéficier d'une température supérieure à 30°C. D'ailleurs, le nombre important de ces phages retrouvés dans les eaux usées comparé au faible nombre présent dans les fèces humaines laissent à penser que ces phages se multiplient dans le système d'assainissement où ils rencontrent des conditions favorables d'après Havelaar [55],[29].

8.5.2.1.2 Survie et contamination

Etant donné la multitude des études réalisées à ce sujet et la diversité des conclusions, il est difficile de conclure à leur sujet.

Etant donné les avis divergents à ce sujet, Beaudou a mis au point une grille d'évaluation des études et les conclusions qui sont présentées ci-après proviennent des études les plus crédibles selon les critères adoptés [5].

Une **forte corrélation entre ces phages et les virus** a été montrée par Havelaar 1993 pour diverses eaux douces et naturelles. L'existence d'une corrélation entre les phages ARN-f spécifiques et le risque de présence d'Entérovirus a été montrée par Chung, 1998[5].

Ces phages peuvent donc apparemment jouer le rôle **d'indicateur de contamination virale en eaux douces**

Primrose et al. (1982) propose les ARN-f spécifiques comme **indicateur viral de pollution fécale** car il ne se répliquent pas en milieu marin et qu'ils ressemblent aux Entérovirus [14].

Leur survie dans l'eau de mer est de courte durée : 5 jours pour le phage f2 et 20 jours pour le phage MS2 d'après Jofre et al., 1986 et Ayres, 1977 [55] et demeure inférieure à celle des virus entériques humains[53].

Au vu de ces affirmations, on constate que les phages peuvent jouer le rôle d'indicateur de **contamination virale en milieu marin** mais pas de survie.

Cependant, **Vilaginès émet des réserves** quant à l'emploi de ces bactériophages en tant qu'indicateurs de présence virale. En effet, ils peuvent être présents sans que l'on ne retrouve de virus humains et des virus humains peuvent être retrouvés sans que soient présents des bactériophages [61].

8.5.2.1.3 Traitement

Ces bactériophages ont fait l'objet de diverses études et les résultats sont difficilement comparables du fait de l'utilisation de phages, d'eaux et de traitement très divers [55].

Les phages ARN-f spécifiques sont considérés comme de **bons indicateurs d'efficacité de traitement** des eaux résiduaires **vis à vis des virus** [14], [26].

Toutefois, on observe des variabilités de la résistance de ces phages face à l'ozone : en effet, le phage f2 est très sensible à l'ozone (plus que E. coli) [53] et plus sensible que les poliovirus, les échovirus, coxsackievirus et les rotavirus humains d'après Harekeh et Butler, 1985 [29] alors que le phage MS2 est aussi résistant à l'ozone que le virus de l'hépatite A [29],[53].

L'ozone est très efficace vis à vis de ces bactériophages : pour $C^*t=0.1$ min.mg/L, on obtient 3 log d'inactivation même si la sensibilité des virus diffèrent face à l'ozone, on peut considérer que MS2 est un **bon indicateur d'efficacité de traitement vis à vis des virus** d'après Hall (1993) [29],[63].

8.5.2.1.4 Sanitaire

Palmateer propose de les inclure dans les analyses pour la surveillance des eaux récréatives [43].

Trop peu d'informations sont disponibles à ce sujet. En effet, il **apparaît difficile de valider ces phages** par référence aux pathogènes de l'eau et aux entérovirus et la **validation épidémiologique directe** constitue peut – être la **meilleure solution**.

8.5.2.2 Faisabilité analytique

Une **méthode normalisée** de recherche existe : **ISO 10705-1**.

Cette méthodologie de mise en évidence est **complexe** et pose problème au niveau de la méthode de concentration et du maintien des qualités physiologiques spécifiques de la souche hôte [5].

Ces inconvénients de mise en œuvre de la méthodologie débouche sur une variabilité des rendements et rend délicate la comparaison entre différentes études.

Le volume de prise d'essai dépend de la concentration potentielle en bactériophages du milieu et est d'environ **50 mL**.

Son **coût** s'élève à environ **650 FHT** et **peu de laboratoires** offrent cette prestation.

Les délais d'obtention des résultats n'excèdent pas 3 jours.

8.5.3 Les phages de bacteroides fragilis

Ce sont des phages qui infectent Bacteroides fragilis (bactérie anaérobie rencontrée dans le tractus intestinal humain) en s'adsorbant sur des récepteurs situés sur la paroi bactérienne. Ils appartiennent à la famille des Syphoviridae [53].

8.5.3.1 Qualités d'indicateurs

8.5.3.1.1 Critères écologiques communs

Les phages de Bacteroides Fragilis sont des phages spécifiques du tractus intestinal humain [53], [14]. Ces phages sont **incapables de se multiplier** dans l'environnement hydrique étant donné que leur bactérie hôte, anaérobie, est elle-même incapable de s'y multiplier d'après Jofre et al., 1986 [29],

[14], [53], [55]. Ils sont retrouvés dans les eaux usées brutes à des **concentrations** de l'ordre de **10⁴/100 mL**.

8.5.3.1.2 *Survie et contamination*

Du fait de leur spécificité humaine, ils sont de bons candidats au rôle d'**indicateur de contamination virale** d'après Finegold et al., 1983 [14], [29], [53] .

Jofre et al. ont montré une **corrélation significative** entre le **nombre de phages et les virus entériques humains** [14].

Toutefois, les travaux de Cornax montrent qu'ils sont présents dans les eaux usées à des faibles concentrations : le pourcentage d'excréteurs parmi la population est faible d'après Kai et al., 1985, Tartera et Jofre , 1987 [29] et ils ne sont pas retrouvés dans les zones éloignées des points de rejet.

Pourtant, une étude sur la **survie de ces phages en milieu marin** côtier montre une **survie comparable ou même meilleure** que celle des **virus entériques** [10] de l'ordre de 6 jours pour le phage B40-8 d'après AYRES, 1977 ; Jofre et al. [55].

Les phages de *Bacteroides fragilis* constituent donc de bons **indicateurs de contamination virale et de survie des virus** en milieu marin. Cependant, leur faibles concentrations peuvent parfois poser problème.

8.5.3.1.3 *Traitement*

Un étude portant sur l'évolution des bactériophages au cours d'un traitement d'épuration montre que ces phages présentent un intérêt en terme d'**indicateur d'efficacité de traitement** des eaux usées [17].

Toutefois, le peu de données disponibles sur le sujet ne permet pas de conclure de façon formelle.

8.5.3.1.4 *Sanitaire*

Aucun élément n'est disponible à ce sujet.

8.5.3.2 Faisabilité analytique

Une **méthode normalisée** de recherche existe : **ISO 10705-4**.

Les inconvénients majeurs de ces microorganismes à jouer le rôle d'indicateur sont :

- ❑ d'une part, leur **faible concentration** dans les eaux polluées par les fèces humaines [5], les eaux brutes et les fèces d'après Kai et al., 1985 [14] qui entraîne une sensibilité peu élevée,
- ❑ d'autre part, la **difficulté de leur mise en évidence** qui requiert des **conditions anaérobies**.

Le coût de l'analyse est de **245FHT** et **peu de laboratoires** proposent cette prestation.

Le délai d'obtention des résultats est de 3 jours environ.

8.6 Les autres candidats au rôle d'indicateur

8.6.1 *Pseudomonas aeruginosa* et *Aeromonas hydrophila*

Les *Pseudomonas aeruginosa* et les *Aeromonas hydrophila* sont **présents en grand nombre** dans les **eaux usées**. Elles sont pourtant retrouvées peu fréquemment dans les matières fécales de

l'homme et en faible quantité. Ces 2 microorganismes peuvent être considérées comme des **organismes aquatiques** étant donné qu'ils sont retrouvés dans l'eau en l'absence de sources immédiates de pollution et sont des **pathogènes opportunistes** à l'origine d'épidémies chez les nageurs : *P. aeruginosa* provoque des otites tandis que *A. hydrophila* peut entraîner l'infections de plaies.

Toutefois, **aucun de ces 2 microorganismes** n'apparaît **adéquat** pour jouer le rôle d'**indicateur de contamination fécale** [8] . En ce qui concerne le rôle d'**indicateur d'efficacité de traitement**, les travaux de Liberti et Notarnicola montrent une inactivation de *P. aeruginosa* à l'ozone de 94 à 99.5% ou supérieur à 98% [38]. Leur **sensibilité à l'ozonation** fait qu'il n'ont pas beaucoup d'intérêt en terme d'indicateurs d'efficacité de traitement sinon vis à vis d'eux mêmes.

Toutefois, **peu de données** sont **disponibles** à leur sujet et il est difficile de conclure.

8.6.2 *Candida albicans*

Candida albicans est retrouvé dans la bouche, la gorge, sur la peau et dans les fèces humaines. Il se retrouve également dans les fèces de certains animaux et dans les eaux usées et les milieux récepteurs des rejets épurés.

Cependant, il **n'apparaît pas très adéquat au rôle d'indicateur de contamination fécale** étant donné que seulement 18% de la population l'excrète dans les fèces et à des concentrations relativement peu élevées [8].

Il présente une bonne capacité de survie et de résistance en laboratoire mais **trop peu d'informations issues d'expérimentations in situ** existent pour pouvoir en tirer des conclusions [8].

8.6.3 *Bifidobacteria*

Bifidobacteria se retrouvent presque exclusivement dans les fèces humaines et des animaux à sang chaud. Ces microorganismes anaérobies sont présents à des concentrations élevées dans les fèces humaines, un peu moins élevées dans les eaux usées et beaucoup moins élevées dans les eaux naturelles. Toutefois, **trop peu d'informations** sont disponibles concernant leur survie, leur résistance et leur rôle potentiel d'indicateur [8].

8.7 Les nouveaux pathogènes : *Giardia* et *Cryptosporidium*

Ces parasites sont à l'origine de **nombreuses épidémies** (cf. 8.7.2.3) et c'est pourquoi ils font désormais partie des **nouveaux pathogènes redoutés** par les hygiénistes chargé de la protection de la Santé Publique. En effet, ils sont retrouvés dans les eaux naturelles et il est donc intéressant de voir leur comportement lors du traitement des eaux usées. D'autre part, Cabelli affirme que les épidémies qui ont pour origine la consommation d'eau de boisson doivent être considérées comme possibles via les eaux récréatives [8] et des cas de **cryptosporidioses** contractées lors de **baignades en piscine** ont été rapportées aux Etats-Unis.

Trop peu d'informations sont encore disponibles au sujet de leur comportement face à la désinfection des eaux usées et quelques travaux s'orientent plutôt vers la recherche d'indicateur de contamination parasitaire ou d'efficacité de traitement vis à vis de ces parasites.

8.7.1 Critères écologiques communs

Giardia intestinalis se présente sous 2 formes : le trophozoïte responsable de la maladie et le **kyste**, **forme résistante** présente dans l'environnement.

Giardia se retrouve chez l'**homme** et chez diverses **espèces animales** et est présent dans les **eaux usées** à des concentrations de l'ordre de **10² à 10⁴ kystes/L** d'après plusieurs auteurs [25], [61]. Dans les **rivières**, ils sont présents à des concentrations de l'ordre de **20 à 960 kystes/L** [40].

Cryptosporidium se présente sous 4 formes différentes suivant le stade de développement. Toutefois, ***Cryptosporidium*** est rencontré dans l'environnement sous sa **forme résistante** : l'**oocyste**. Ce parasite peut être hébergé par diverses **espèces animales** ainsi que l'**homme** [53] et n'est donc pas spécifique bien qu'un pic de concentrations associé aux élevages de bétail (veaux et agneaux) dans les eaux superficielles s'observe souvent au début du printemps (communication avec Mme Ostertag du laboratoire d'hydrologie de Strasbourg).

Dans les **eaux superficielles** en Auvergne, ils sont retrouvés à des concentrations de l'ordre de **5 à 44 oocystes/L** [40]. Ils sont également retrouvés dans les **eaux usées brutes** à des concentrations comprises **entre 0.002 et 1700 oocystes/L** [18].

8.7.2 Qualités d'indicateur

8.7.2.1 Survie et contamination

La résistance des **oocystes** dans l'**environnement** est de **14 jours à 15 – 20°C** et de **plusieurs mois** à une **température inférieure à 15°C**.

Les **kystes de Giardia** survivent de **14 à 60 jours en eaux douces**, **environ 20 jours en eaux marines** et de **15 à 30 jours dans les eaux usées** [53].

8.7.2.2 Traitement

Quelques études s'intéressent au comportement de ces parasites dans les stations d'épuration.

Les travaux de Liberti et al. 1999 [38], [39] sur la station de Bari en Italie ont porté sur la désinfection de deux effluents de natures différentes : l'un est clarifié, l'autre est clarifié puis filtré.

Une dose de **15 ppm d'ozone** avec un **temps de contact de 10 min.** a été appliquée : la désinfection permet alors une inactivation de 0.5-0.7 log pour les *Giardia* et presque nul vis-à-vis de *Cryptosporidium*. Ces résultats sont en partie en désaccord avec les informations fournies sur l'ozone par Langlais et Al. en 1991 qui affirment aussi une bonne efficacité de l'ozonation vis à vis des *Cryptosporidium*. Toutefois, étant donné que la dose d'ozone appliquée est faible, ces résultats sont en accord avec le fait que ***Cryptosporidium* est 10 fois plus résistant à l'ozone que Giardia** [18].

Une étude réalisée par Lazarova et al. [36] rapporte 3 log d'élimination de kystes *Giardia* avec Ct=2.9 min.mg/L et une concentration résiduelle en ozone de 0.3mg/L d'après les travaux de Hunter and Rakness en 1997.

La **sédimentation ne semble pas convenir pour éliminer les oocystes** étant donné leur faible densité par rapport à l'eau ($d = 1.045$) [18].

La constante d'inactivation de *Cryptosporidium* (CT : avec C la concentration résiduelle en ozone et T le temps de contact) est de 0.62L/mg.min à 7°C (concentration d'ozone à appliquer sur les oocystes pour les détruire). Pour information, ***Cryptosporidium* est environ 10 fois plus résistant que *Giardia*** (4.8L/mg.min) [18]. La température joue également un rôle important et les **oocystes sont moins résistants à température moyenne ou élevée** (supérieure à 20°C).

8.7.2.3 Intérêt sanitaire

Pour *Giardia*, la **Dose Minimale Infectieuse** s'échelonne **entre 10 et 100 kystes**. La maladie apparaît de 6 à 15 jours après l'ingestion et l'excrétion des kystes se poursuit au maximum jusqu'à 41 jours. L'excrétion est variable selon les individus qui peuvent rejeter quotidiennement jusqu'à 9.10^8 kystes.

Le **kyste** est la **forme de contamination**. La transmission de type oro-fécal se fait, soit de façon indirecte par l'intermédiaire de l'eau ou des aliments, soit de façon directe de l'animal à l'homme.

Dans les **pays développés**, la **giardiase** est la **parasitose intestinale la plus communément rencontrée**. Ainsi aux U.S.A. entre 1946 et 1990, elle a été responsable de 27% des épidémies d'origine hydrique avec **plus d'une centaine d'épidémies** représentant **25 000 cas**. Ces épidémies sont généralement provoquées par contamination du réseau d'eau de boisson [53].

Pour *Cryptosporidium*, la **Dose Minimale Infectante** n'est **pas connue avec précision**. Néanmoins un **très faible nombre d'oocystes** semble capable d'induire la maladie chez l'Homme. Chez les volontaires sains, la **DI50** (responsable de 50 % d'infections) est d'environ **100 oocystes**.

Le malade excrète dans les selles de 10^8 à 10^{10} oocystes par jour pendant environ 12 jours.

La maladie peut être propagée de différentes façons même si la voie de **transmission oro-fécale** est la plus souvent empruntée. Elle peut avoir lieu, soit de façon directe de l'animal à l'Homme ou bien de personne à personne, soit de façon indirecte par l'intermédiaire de l'eau de consommation ou de l'eau de baignade.

Les **principales épidémies d'origine hydrique** décrites **entre 1984 et 1997** sont regroupées dans le **tableau 4-1** et concernent près de **440 000 personnes**.

Les causes de ces épidémies sont diverses :

- déficience de la filière de traitement de l'eau potable,
- problème au niveau du lavage des filtres,
- contamination d'un puits par de l'eau souillée,
- contamination de l'eau potable par de l'eau souillée lors du transport dans le réseau,
- contamination d'une baignade par des eaux usées brutes.

ANNEE	NOMBRE DE CAS	LIEU
1984	2000	Braunstation, Texas, U.S.A.
1987	13000	Georgia, Carrollton, U.S.A.
1988	62	Yorkshire, G.B.
1988	27	Ayrshire, G.B.
1989	516	Swindom, Oxfordshire, G.B.
1989	442	Ecosse, G.B.
1991	77	Adelaide, Australie
1992	15 000	Jackson Co., U.S.A.
1993	403 000	Milwaukee, U.S.A.
1995	15	Pays Bas
1997	262	G.B.

Tableau 8-1 : Différentes épidémies de Cryptosporidiose d'origine hydrique (1984-1997).

8.7.3 Faisabilité analytique

Une **méthode standard d'analyse existe** : **T90-455** cependant **peu de laboratoires** réalisent la prestation.

Les paramètres *Giardia* et *Cryptosporidium* sont **généralement recherchés en même temps sur un seul échantillon**.

La **méthode est peu sensible** et requiert **10L pour des échantillons d'eaux usées** ou la **filtration de 100L à l'aide d'une cartouche de porosité 1 µm** pour des échantillons 'plus propres'. Toutefois, pour les échantillons d'eaux usées des **problèmes importants de colmatage** des filtres apparaissent et les **rendements** sont par conséquent **très variables**.

Le coût de l'analyse se situe entre **3500 et 4000FHT**. Le **délai** d'obtention des résultats est d'**une semaine**.