Modélisation sous Telemac-2D de la dispersion de bactéries antibiorésistantes au sein d'un réseau hydrographique en Camargue



Florian Ferchiche

M2 QUAMA
Année universitaire 2019-2020

Le présent rapport constitue un exercice pédagogique qui ne peut en aucun cas engager la responsabilité de l'entreprise ou du laboratoire d'accueil.

Encadré par
Marion Vittecoq et
Olivier Boutron

Résumé

L'antibiorésistance est un des problèmes majeurs de santé publique à gérer dans les prochaines décennies.

L'objectif de ce stage a été d'étudier la dispersion de ces bactéries particulières dans un compartiment complexe qu'est l'eau au travers du milieu hydrographique camarguais. L'établissement d'un modèle hydraulique sous Telemac-2D et BlueKenue a été nécessaire pour cela.

La dispersion a été modélisée sur des données environnementales réelles récupérées à l'aide d'une campagne de jaugeage pour les débits et d'une campagne d'échantillonnage microbiologique. Les bactéries ont été cultivées sur des milieux sélectifs comportant des antibiotiques.

Les simulations ont été lancées selon l'hypothèse de la station d'épuration en tant que source avec différents indices d'abattement des bactéries. Les résultats ont montré que le pouvoir de dispersion était relativement faible sur un milieu hydrographique présentant un régime de débits particulier (flux et reflux). Les pousses de colonies de bactéries ont été importantes, présentes sur tous les sites et diversifiées.

Cette étude a permis de mettre en lumière qu'il existait une grande variété de BAR sur le domaine d'étude, mais là, ou les, sources de ces bactéries n'ont pu être précisément identifiées. L'utilisation de données ponctuelles de jaugeages s'est avérée compliquée au vu du régime très particulier des canaux changeant selon les conditions de vent.

Au final, il a été possible de simuler la dispersion de BAR, mais le modèle pourra être renforcé par la mesure en continu des hauteurs d'eau en différents points via des sondes CTD et par des analyses microbiologiques plus avancées.

Mots-clés : modèle hydraulique ; antibiorésistance ; dispersion bactérienne ; Telemac-2D ; Camargue

Abstract

Antimicrobial resistance is one of the major public health problems to be managed in the coming decades. The objective of this training course was to study the dispersion of these particular bacteria in a complex compartment that is water through the Camargue hydrographic environment. The establishment of a hydraulic model under Telemac-2D and BlueKenue was necessary for this purpose. The dispersion was modelled on real environmental data recovered using a flow gauging campaign and a microbiological sampling campaign. Bacteria were cultured on selective media containing antibiotics. Simulations were run under the assumption of the wastewater treatment plant as a source with different indices of bacterial abatement. The results showed that the dispersal power was relatively low on a hydrographic medium with a particular flow regime (ebb and flow). Bacterial colony growth was significant, present at all sites and diverse This study revealed that there was a wide variety of antibiotic-resistant bacteria in the field of study, but the source(s) of these bacteria could not be precisely identified. The use of point gauge data proved to be complicated by the very particular regime of the canals, which change according to wind conditions.

In the end, it was possible to simulate the dispersion of antibiotic-resistant bacteria, but the model can be further enhanced by continuous height data collected via CTD probes and more advanced microbiological analyses.

Keywords: hydraulic model; antibiotic resistance; bacterial dispersion; Telemac-2D; Camargue

Resumen

La resistencia a los antibióticos es uno de los principales problemas de la salud pública que deben de ser tratados en las próximas décadas. El objetivo de este curso de capacitación es estudiar la dispersión de estas particulares bacterias en un compartimento complejo como es el agua del entorno hidrográfico de la Camarga. El desarrollo de un modelo hidráulico por medio deTelemac-2D y BlueKenue ha sido necesario para este propósito.

La dispersión se modeló a partir de datos ambientales reales recuperados mediante una sección de aforo del flujo y una campaña de muestreo microbiológico. Las bacterias fueron cultivadas en medios selectivos que contenían antibióticos.

Las simulaciones se realizaron bajo el supuesto de que la planta de tratamiento de aguas residuales es una fuente con diferentes índices de reducción bacteriana. Los resultados mostraron que el poder de dispersión es relativamente bajo en un medio hidrográfico con un régimen de flujo particular (flujo y reflujo). El crecimiento de las colonias bacterianas fue significativo, presente en todos los sitios y diverso. Este estudio reveló que existe una amplia variedad de bacterias resistentes a los antibióticos en la región, pero sin embargo, no se hq podido establecer ninguna fuente responsable. El uso de los datos del medidor de puntos resultó complicado debido al régimen muy particular de los canales, que cambian según las condiciones del viento.

Al final, fue posible simular la dispersión de bacterias resistentes a los antibióticos, pero el modelo puede mejorarse aún más con datos de altura continua recogidos mediante sondas CTD y análisis microbiológicos más avanzados.

Palabras clave: modelo hidráulico; resistencia a los antibióticos; dispersión bacteriana; Telemac-2D; Camarga

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à la Tour du Valat pour son accueil, la mise à disposition de ses terrains et de son matériel, et le cadre de vie si agréable ayant contribué à la réussite de mon stage et de nombreux bons souvenirs que je garderais. Je remercie tout particulièrement Marion Vittecoq et Olivier Boutron de m'avoir fait confiance pour la tenue de cette étude, leur soutien et leurs conseils durant tout le stage ainsi que leur aide précieuse durant l'écriture de ce rapport.

Merci à l'UMR Mivegec pour leur collaboration dans la proposition de ce sujet de stage et la bonne conduite de la campagne microbiologique avec la préparation de certains milieux.

Viennent ensuite tous ceux qui m'ont accompagné durant ma campagne de terrain. Merci à Émilie Luna-Laurent pour l'organisation de mes campagnes hydrauliques et microbiologiques ainsi qu'une participation importante dans leurs réalisations. Merci à Louisiane Burkart, Carole Leray, Thomas Blanchon et Marion Vittecoq pour leur présence indispensable dans l'exécution du terrain.

Je souhaiterais également remercier Mathilde Monperrus ainsi que tous les intervenants du master QUAMA pour leurs interventions apportant les connaissances théoriques nécessaires à la bonne tenue de ce stage.

Mes remerciements les moins chaleureux vont dans l'ordre d'importance : au coronavirus, aux moustiques, au vent et aux arabis.

Table des matières

1 Introduction ..... **Erreur ! Signet non défini.**
2 Matériel et méthodes 4
2.1 Description de la zone d'étude 4
2.1.1 L'hydrographie 4
2.1.2 Occupation des sols 5
2.1.3 Définition du domaine d'étude 6
2.2 Stratégies d'échantillonnages 7
2.2.1 Stratégie de jaugeage pour la courantologie 7
2.2.2 Stratégie d'échantillonnage microbiologie 9
2.3 Les données 12
2.3.1 Hydraulique 12
2.3.2 Microbiologie 13
2.3.3 Variables environnementales 13
3 Le modèle 14
3.1 Les fichiers 14
3.1.1 Le fichier de géométrie 15
3.1.2 Le fichier des conditions limites 15
3.1.3 Le fichier liquide 15
3.1.4 Le fichier de paramètres 16
3.1.5 Le fichier de paramètres additionnels 16
3.1.6 Autre fichiers (sections, buse, paramètres environnementaux) 16
3.2 Hypothèses 17
4 Résultats 18
4.1 Hydraulique 18
4.1.1 Le modèle 18
4.1.2 La dispersion bactérienne 19
4.1.3 Les analyses MES 20
4.2 Microbiologie 21
4.2.1 Échantillons 21
4.2.2 Culture bactériologique 21
4.2.3 Identification 23
5 Discussion 25

5.1 Du modèle à la dispersion bactérienne 25
5.2 Analyses microbiologiques : Diversité des BAR isolées 27
5.3 Les limites et autres analyses prévues 29
6 Conclusion 31
7 Bibliographie 32

Table des illustrations

Figure 1 : Réseau hydrographique principal du canal de Fumemorte 4
Figure 2 : Occupation des sols du bassin hydrographique de Fumemorte 5
Figure 3 : Points de prélèvements bactériologiques et de courantologie sur le site d'étude 6
Figure 4 : Courantomètre électromagnétique 8
Figure 5 : Stratégie d'échantillonnage microbiologique 10
Figure 6 : Récupération d'un filtre après filtration 11
Tableau 1 : Milieux de cultures bactériologiques de sélection 11
Figure 7 : Colonies sur milieu BLSE 11
Tableau 2 : Milieux de cultures bactériologiques de repiquage 12
Figure 8 : Stockage d'une colonie dans un cryotube à bille 12
Figure 9 : Maillage et frontières liquides du domaine 14
Figure 10 : Visualisation des vitesses d'écoulements du modèle (m/s) 18
Figure 11 : Visualisation des variations de hauteurs dans le domaine (m NGF) 18
Tableau 3 : Echelle de lecture des concentrations de bactéries 19
Figure 12 : Visualisations de la modélisation de la dispersion bactérienne au T90=2h 19
Figure 13 : Visualisations de la modélisation de la dispersion bactérienne au T90=18h 20
Figure 14 : Visualisations de la modélisation de la dispersion bactérienne au T90=48h 20
Tableau 4 : Résultats des analyses MES 20
Tableau 5 : Résultats de la campagne bactériologique 22
Tableau 6: Résultats de l'identification microbiologique 23
Figure 15 : Distribution des colonies de bactéries cultivées 24

Abréviations

BAR : Bactéries antibiorésistantes
BLSE : Bêta-lactamases à spectre étendu
CTD : Conductivity ; Temperature ; Depth
ERU : Eaux résiduaires urbaines
KESC : Klebsiella ; Enterobacter ; Serratia ; Citrobacter
MES : Matières en suspensions
MRSA : Meticyllin resistant staphylococcus aureus
NTU : Nephelometric Turbidity Unit
STEP : Station d'épuration
TDV : Tour du Valat
UFC : Unité formant colonie
VRE : Vancomycin resistant enterobacter

1 Introduction

De tout temps, l'Homme a cherché à dominer son environnement, la Terre, pour survivre, puis pour améliorer son confort. Il est un domaine que les Hommes ont dû appréhender très tôt, l'eau. Au fur et à mesure des avancées technologiques, les cours d'eaux ont été fixés, les zones humides assainies et les côtes endiguées. Il est un autre domaine auquel a été confronté de tout temps l'humanité, les pathogènes. Des méthodes ingénieuses de gestion de l'eau existent depuis l'Antiquité, notamment pour répondre à des problématiques de gestion des agents pathogènes. Ce fut le cas notamment lors de grandes campagnes d'assèchement de marais au Moyen Âge en France (Morera, 2011), mais la médecine moderne occidentale telle qu'on la connait aujourd'hui luttant efficacement contre ces agents infectieux n'existe que depuis la fin du XIX^{ème} siècle. Pour les bactéries en particulier, leur première observation date de 1668 (Porter, 1976) et leur caractérisation n'est apparue qu'au cours du XIX^{ème} siècle (*Pasteur's Papers on the Germ Theory*, s. d.). Puis sont venues leurs imputations à des maladies épidémiques et la découverte des vaccins pour les enrayer.

Peu après, en 1940, a été identifiée la première antibiorésistance à la pénicilline, le premier antibiotique utilisé à grande échelle (Singer et al., 2003). Pour une bactérie, acquérir une résistance signifie la capacité à se défendre contre des molécules toxiques pour elle par divers moyens. Les gènes permettant de les exprimer ont longtemps été sélectionnés par la pression de sélection naturelle associée à la production de ces molécules par des organismes présents dans le sol ou l'eau, champignons ou bactéries. De plus, les bactéries ont la capacité d'échanger des informations génétiques entre elles, y compris entre espèces différentes, par l'acquisition de plasmides qui peut avoir lieu par conjugaison, transduction ou transformation. Ce processus est lié à toutes les bactéries et a eu lieu dans l'environnement de tout temps. L'Homme a changé cette pression en utilisant à échelle industrielle certains antibiotiques ciblant des agents pathogènes. Une pression de sélection très forte s'est donc ajoutée sur ces espèces pathogènes, accélérant spécifiquement leurs mutations (GUILLOT, 1989).

L'eau joue un rôle central de transport et de partage de l'antibiorésistance dans n'importe quel milieu. En effet, pour tous les consommateurs d'antibiotiques, qu'ils soient intentionnels (humains, animaux domestiques) ou non intentionnels les eaux qui en découlent sont chargées d'antibiotiques (stations d'épurations, ruissellement de parcelles agricoles, contacts directs). Se retrouvent donc dans les milieux aquatiques des BAR ou non de diverses origines mais qui peuvent interagir entre elles et transposer leurs plasmides. De plus, d'autres polluants potentiellement présents dans les eaux (métaux lourds, autres antibiotiques, …) peuvent produire une nouvelle pression de sélection naturelle et apporter de nouvelles mutations.(Baquero et al., 2008)

Ces bactéries résistantes sont présentes dans une grande diversité de milieux aquatiques. Au final, n'importe quel milieu où les conditions leurs sont favorables, qu'il y ait des pressions d'origine anthropiques ou non. C'est par exemple le cas de glaciers pakistanais jamais explorés auparavant où ont été retrouvées des bactéries psychrophiles antibiorésistantes (Rafiq et al., 2017). À l'opposé, les océans reçoivent toutes les eaux douces superficielles et donc les rejets humains, ils sont au final pourvoyeurs d'une grande diversité de gènes de résistance (Hatosy & Martiny, 2015). Mais les conditions de transferts entre ces pressions et les milieux sont encore peu connues. Des projets existants ont déjà essayé d'approcher la dynamique et le devenir de BAR. Il en résulte que la présence de BAR provient plus de la persistance de certains antibiotiques de l'environnement qui exercent une pression sur les bactéries du milieu que l'introduction directe de bactéries qui résistent moins bien aux conditions environnementales (Leclercq et al., 2013).

Comme dans de nombreux deltas investis par l'Homme, la Camargue est exposée aux différentes pressions que peuvent exercer les activités anthropiques. Dans ce chevelu de canaux se côtoient zones urbaines, agricoles et naturelles apportant chacune des eaux aux différentes sources de BAR. Les eaux résiduaires urbaines, de par leur nature, sont un reflet de la consommation d'antibiotiques (Martins da Costa et al., 2006). Malgré leur passage en station d'épuration, les résidus d'antibiotiques comme la bactériologie se retrouvent dans les effluents rejetés. En effet, une station d'épuration n'est aujourd'hui conçue que pour traiter efficacement la charge de matière organique. Malgré tout, la fraction des molécules médicamenteuses est correctement abattue par les filières traditionnelles ou récentes lorsqu'elles fonctionnent correctement (Watkinson et al., 2007). Les eaux de ruissellement de surfaces agricoles peuvent également être chargées d'antibiotiques et de bactéries résistantes. L'élevage est un gros consommateur de ces substances et les rejets d'animaux domestiques en milieu ouvert sous forme de fumiers ou de lisiers contiennent aussi des antibiotiques (Baquero et al., 2008). Enfin les écosystèmes eux-mêmes peuvent être des sources, des puits et des vecteurs de BAR. De plus, plus les interactions entre le biote et les activités humaines sont fortes, plus on observe une grande diversité d'antibiorésistances et une grande proportion d'animaux sauvages porteurs de BAR dans ce compartiment (Vittecoq et al., 2016).

Si l'approche de ces interactions peut déjà paraitre compliquée dans un milieu aquatique simple, elle l'est encore plus dans un milieu hydrographique complexe tel que celui de la Camargue. Son réseau artificialisé de canaux d'irrigation et de drainage sur un bassin plat associé à une gestion hydraulique forte et dispersée rendent toute approche du fonctionnement hydrologique complexe.

Ces milieux sont influencés par de multiples facteurs, mais certains en particulier, comme une zone humide anthropisée, le sont encore plus. Si aujourd'hui, certaines sources ou vecteurs de ces bactéries dans l'environnement ont été déterminés, c'est moins le cas pour leur comportement dans un milieu aquatique. Aujourd'hui encore, la dynamique et le devenir des BAR dans l'environnement ne sont expliqués que par des études qui ne peuvent pas forcément être exportées aux autres milieux aquatiques. De même, les sources et réservoirs de ces bactéries ne peuvent être totalement expliqués localement à l'aide de la bibliographie.

Le bassin du Fumemorte a été choisi car il correspond bien à cette description, comportant un dense chevelu de canaux où se situent un hameau et sa station d'épuration, des terres agricoles et une biodiversité importante. Il existe aujourd'hui des connaissances approchant le fonctionnement hydrologique de ce bassin particulier. Il en résulte que le bassin du Fumemorte est trop complexe pour modéliser finement son fonctionnement de par la présence d'un très grand nombre de canaux de drainages et d'irrigations et la gestion d'un nombre important de décideurs sur ceux-ci (Chauvelon, 1996). Il existe également des recherches locales sur des sources ou des puits potentiels de BAR. Plus particulièrement, des oiseaux ont été étudiés (goélands) pour leurs capacités de déplacement et leurs régimes alimentaires. Il en ressort que des BAR étaient présentes chez une espèce se nourrissant dans des zones urbaines (Aberkane et al., 2017)(Vittecoq et al, 2017). Il se peut qu'il y ait un lien entre dynamique hydraulique et dispersion de BAR. Mais cette potentielle dispersion par le vecteur eau n'a pas fait l'objet de recherches à notre connaissance dans un contexte de réseau complexe d'irrigation et de drainage tel que notre système d'étude. C'est pourquoi ce mémoire va essayer de répondre à la question : « Quel est le pouvoir de dispersion associé à l'eau pour des BAR dans un bassin hydrographique complexe tel que le bassin de Fumemorte ? »

Pour ce faire l'étude s'appuiera sur une modélisation fine de l'hydraulique du canal de Fumemorte et de ses principaux affluents sous Telemac-2D, à l'aide de données météorologiques et environnementales prises sur 3 mois. Plusieurs campagnes microbiologiques seront menées par des échantillonnages sur cette période et dans le même secteur pour compléter la modélisation.

2 Matériel et méthodes

2.1 Description de la zone d'étude

La zone d'étude se situe dans le bassin versant du Fumemorte, en Camargue. Cette entité hydrogéographique a un fonctionnement très particulier comme tous ceux de Camargue, de par son réseau très fortement anthropisé ayant induit une semi-poldérisation des terres et une dense connexion de réseau d'irrigations et de drainages. On ne peut donc pas la décrire selon les principes de base de description du bassin versant d'une rivière.

2.1.1 L'hydrographie

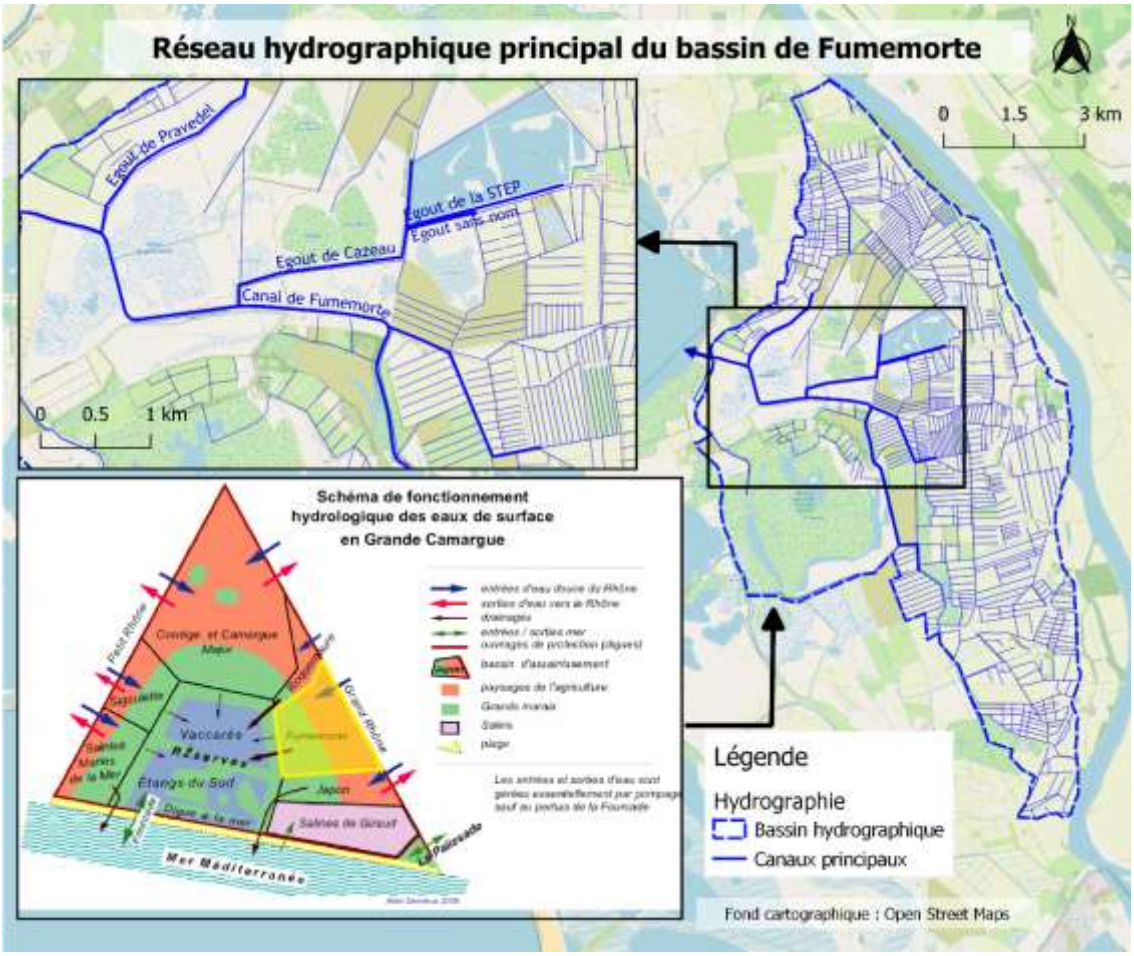


Figure 1 : Réseau hydrographique principal du canal de Fumemorte

Le bassin de Fumemorte est l'un des six grands bassins hydrographiques de la grande Camargue. C'est principalement un bassin d'irrigation et de drainage. Par ailleurs, ces apports sont sensiblement associés à l'agriculture dominante de la région, la riziculture.

La définition des contours du bassin de Fumemorte présentés sur la figure 1 relèverait d'un travail particulier. En effet, des secteurs d'irrigations provenant d'un bassin d'irrigation n'iront pas

forcément dans le même bassin lors du drainage. Certains secteurs ont même une réversibilité de bassin selon les choix de l'exploitant.

L'hydrologie de cette entité hydrogéographique est particulière. Son organisation et son régime ont été adaptés à plusieurs époques par l'Homme pour sa sécurité sanitaire et alimentaire. En résulte un chevelu très dense de canaux de drainage et d'irrigation géré par les exploitants agricoles. Pour le régime de ces canaux, les eaux proviennent principalement de pompages sur la rive droite du Grand Rhône. Elles sont donc principalement issues d'ouvrages anthropiques. Une part secondaire est issue des retombées pluviales.

2.1.2 Occupation des sols

Au vu de la forte gestion effectuée par l'Homme, il est important de réaliser une analyse de l'occupation des sols.

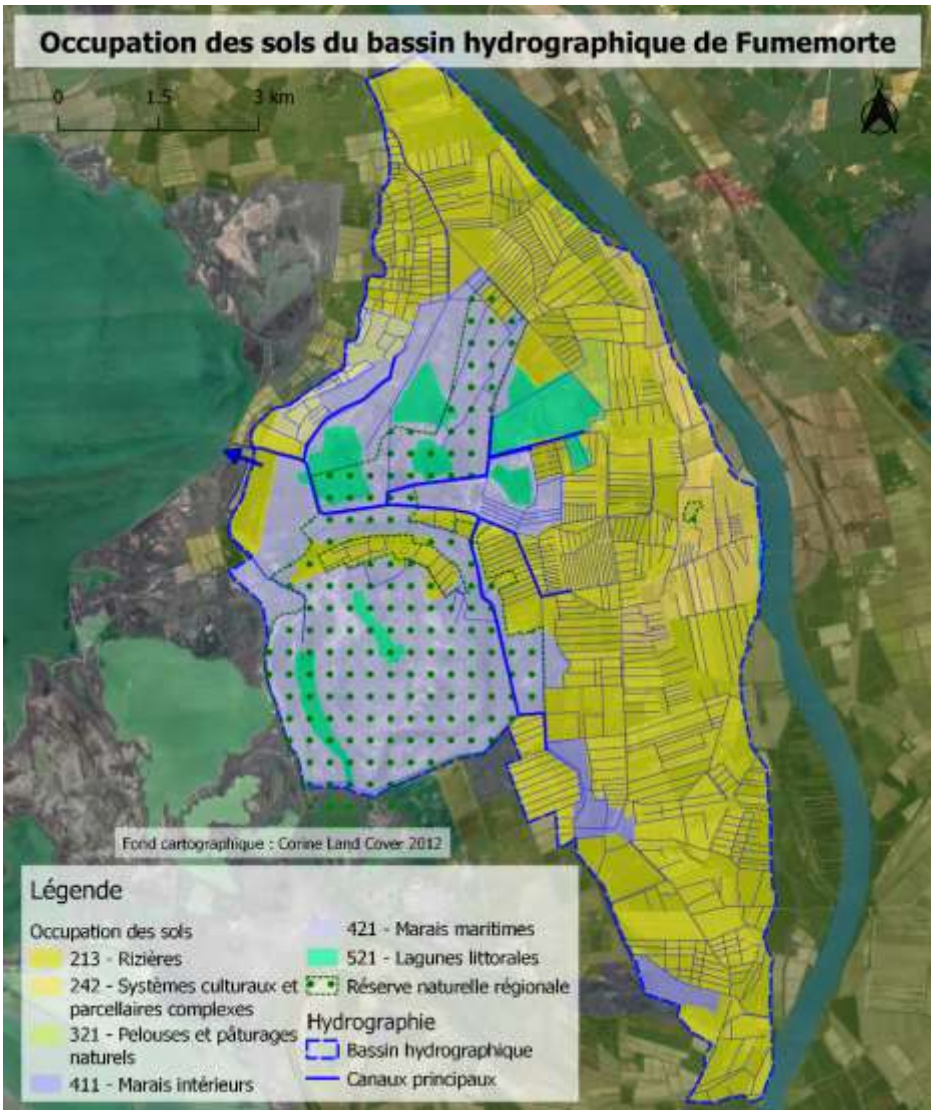


Figure 2 : Occupation des sols du bassin hydrographique de Fumemorte

Il apparaît que, pour cette entité hydrogéographique, cohabitent des milieux aux fonctionnements différents. Le bassin est séparé en deux parties distinctes d'occupation des sols. La majeure partie, longeant le Grand Rhône, correspondant à la tête élargie du bassin, est cultivée en rizière. Cette culture est associée à une modification très forte du cheminement hydraulique. En résulte un chevelu très dense de petits canaux longilignes d'irrigation et de drainage. La seconde partie, plus proche de l'exutoire, est un ensemble d'étangs et de sansouïres, dont les écoulements sont moins bien connus. Une partie est située dans le domaine de la Tour du Valat et est classée en réserve naturelle régionale (figure 2). Ces parcelles peuvent être pâturées extensivement par des cheptels de taureaux ou de chevaux.

Il en résulte que l'occupation de la première partie du bassin hydrographique rend l'approche de son régime hydrologique très complexe, tandis que l'approche de la partie aval, c'est-à-dire des principaux canaux de drainage, semble plus aisée.

2.1.3 Définition du domaine d'étude

La délimitation du domaine d'étude actuel a été arrêtée pour des raisons d'impératif pratique et de questionnements scientifiques. En effet, la nécessité de mesurer les conditions amont des canaux ne peut être conduite sur toute la tête de bassin. Les mesures sont donc faites sur des portions intermédiaires qui permettent l'établissement d'une campagne de jaugeage avec un nombre de points réduits tout en mesurant tout le flux amont. De plus, la station d'épuration du Sambuc en tant qu'objet d'étude devait être située dans le domaine.

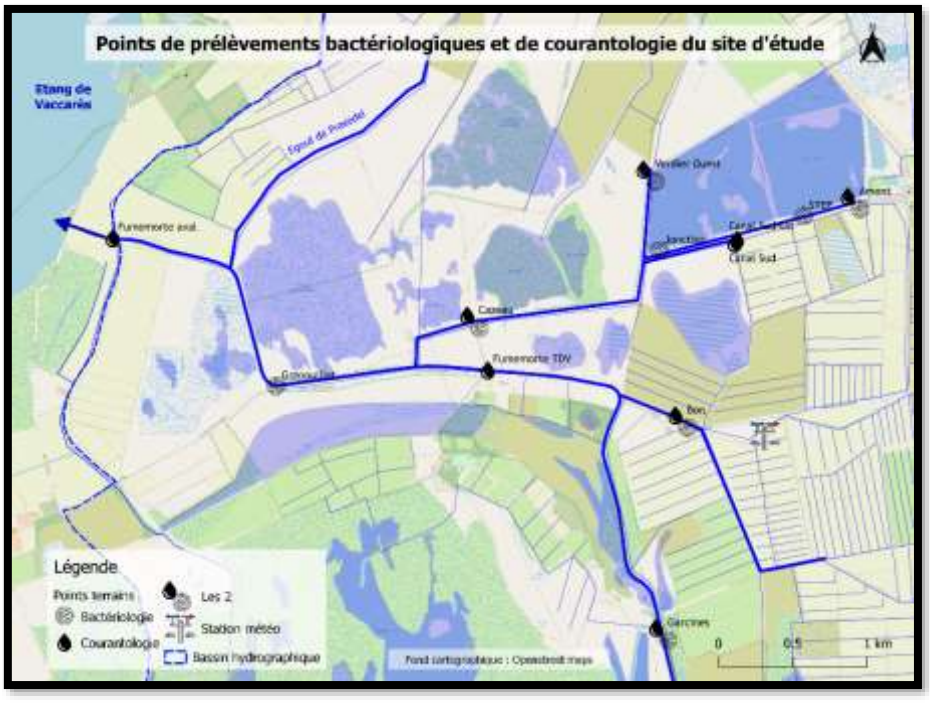


Figure 3 : Points de prélèvements bactériologiques et de courantologie sur le site d'étude

Cette zone a aussi été déterminée selon plusieurs autres critères. Tout d'abord la prise en compte des sources potentielles de BAR : déchets anthropiques solides ou eaux résiduaires urbaines. Le lieu-dit du Sambuc, seule zone urbaine du bassin versant, sera traitée au travers du rejet de la station d'épuration (STEP) éponyme. Le canal dans lequel se fait le rejet sera intégralement pris en compte. Celui-ci se jette dans l'égout de Cazeau, lui-même affluent du canal de Fumemorte. Il a été choisi d'analyser tout l'aval de la STEP jusqu'à l'exutoire de l'étang de Vaccarès afin de prendre en compte les entrées salines et la dispersion potentielle des bactéries jusque-là.

Les frontières ont été étendues sur tous les canaux pour sectoriser et appréhender toute entrée bactérienne potentielle dans la zone, ou même une dispersion importante depuis la STEP.

2.2 Stratégies d'échantillonnages

2.2.1 Stratégie de jaugeage pour la courantologie

La campagne de courantologie a porté sur 8 points de jaugeages stratégiquement placés selon le domaine de modélisation numérique. Un neuvième point correspondant à « Fumemorte aval » (Figure 3) est associé à la campagne. Il s'agit d'un débitmètre à ultrason en place de manière permanente et géré par la Tour du Valat.

Le but ici est de fournir des données de débit pour alimenter le modèle numérique, c'est-à-dire fournir au mieux les flux d'entrées et de sorties d'eau pour toutes les extrémités hydrauliques. C'est le cas pour les canaux suivants avec le nom des sites jaugés :

- Égout de Cazeau = Verdier Ouest ;
- Canal de la STEP = Amont ;
- Canal sans nom = Canal Sud + Canal Sud-Est ;
- Égout de la Commanderie = Bon ;
- Canal de Fumemorte (amont) = Garcines ;
- Canal de Fumemorte (aval) = Fumemorte aval.

De plus, afin de valider les débits modélisés à l'intérieur du domaine, deux points de jaugeages ont été définis en aval de l'égout de Cazeau avec le point « Cazeau » et à l'intérieur du canal de Fumemorte avec le point « Fumemorte TDV ».

Seul l'égout de Pravedel, n'a pu bénéficier d'un point de jaugeage, l'accès à ce canal posant des problèmes administratifs (propriété privée).

La campagne de terrain devait à l'origine se tenir du 17 février au 27 avril 2020. En raison de la période de confinement, la campagne s'est arrêtée au dernier jaugeage du lundi 16 mars. Dans cet intervalle ont été effectuées 2 sorties jaugeage par semaine, par défaut le lundi et le jeudi. Une sortie

jaugeage consiste à faire le tour du domaine et jauger tous les points cités plus hauts sur un temps réduit (une demi-journée) afin d'éviter des variations environnementales trop importantes.

La campagne de jaugeage a intégralement été réalisée à l'aide d'un courantomètre électromagnétique mobile (figure 4). Il repose sur le principe de la loi de Faraday afin de traduire la différence de potentiel autour de la sonde en vitesse en m/s.



Figure 4 : Courantomètre électromagnétique

Deux stratégies différentes ont dû être mises en place selon les sites pour jauger. Toutes deux cherchent à connaître différentes vitesses sur la section longitudinale du point jaugé.

La première, classique, consiste en la sectorisation par quadrillage de la section pour connaître exactement où se situe la sonde dans la tranche pour chaque relevé. En pratique des seuils horizontaux sont arrêtés pour se repérer sur la largeur. Pour chaque seuil horizontal enfin, les relevés sont effectués selon la logique :

- Premier sondage réalisé à 10cm du fond ;
- Sondages intermédiaires tous les 30cm ;
- Dernier sondage à 10 cm de la surface.

Cette stratégie permet d'appréhender au mieux le profil de vitesse du cours d'eau dont les principaux éléments perturbateurs sont la rugosité du fond et les éléments environnementaux aériens. Elle a été mise en place là où cela été possible sans difficulté, c'est-à-dire en ayant accès à toute la largeur du canal au moyen d'un pont ou d'une passerelle. Cela a été le cas pour les points « Bon » ; « Fumemorte TDV » ; « Cazeau » et « Garcines ».

La seconde stratégie a été mise en place pour les points où il n'était pas possible d'établir facilement des profils verticaux en se déplaçant sur la largeur du canal. En ces endroits, il n'y a pas de passerelle ou de pont. Le jaugeage a donc consisté à relever des points aléatoirement (environ une quinzaine) dans la tranche tout en essayant d'échantillonner toutes les zones de vitesse (surface ; fond ; berges et centre). Cette stratégie est moins précise que la première du fait de la non connaissance de la localisation des relevés.

En complément de cette campagne, des sondes CTD ont été installées pour l'étude sur les points « Verdier Ouest » et « Fumemorte TDV ». Des sondes étaient déjà présentes sur « Garcines » et « Cazeau ».

2.2.2 Stratégie d'échantillonnage microbiologie

La campagne d'échantillonnage a porté sur 8 sites de prélèvements stratégiquement placés sur le domaine de la modélisation numérique (figure 3).
La STEP et ses eaux de rejets, en tant que principale source potentielle de BAR, est le point de départ de la recherche.
A la confluence et à l'entrée du canal de la STEP, les points de prélèvements « Jonction » et « Sambuc Ouest » permettent d'étudier l'atteinte potentielle de BAR aux sorties du canal.

Les points « Verdier Ouest », « Bon » et « Garcines » permettent de contrôler les entrées amont des autres canaux du domaine pour rechercher la dispersion potentielle de bactéries provenant de la STEP ou d'une autre source.
Le point « Cazeau » est un point de passage intermédiaire facile d'accès sur l'égout de Cazeau. Celui-ci permet de sectoriser plus finement l'aval de la STEP.
Le point le plus à l'aval, « Grenouillet », est placé sur le canal de Fumemorte à distance de sa confluence avec l'étang du Vaccarès (environ 500m) et en amont de l'exutoire de l'égout de Pravedel. Bien que dans le domaine, ce dernier ne bénéficie pas d'un point de courantologie. Cela n'a pas été possible pour des raisons d'accès (propriété privée).

La campagne de terrain de courantologie ayant été initialement prévue sur une durée de 2 mois et demi, il a été décidé de placer 3 campagnes d'échantillonnage microbiologique au début, au milieu et à la fin de cette période. Cela correspondait aux semaines 8, 13 et 18. En raison de la période de confinement qui a écourté la campagne de terrain du stage, seule la première campagne microbiologique a pu être menée.
La campagne d'échantillonnage microbiologique comporte plusieurs étapes successives s'échelonnant sur une semaine environ.

En préambule, en plus de la stratégie spatiale, il a fallu choisir les milieux de culture à utiliser et décider de la pertinence et du nombre de réplicats en trouvant le meilleur compromis possible entre acquisition de données et capacités techniques (le facteur limitant étant notamment le temps nécessaire à la filtration).

Au final, il a été décidé de tester pour chaque site de prélèvement cinq milieux de culture en duplicat, soit 10 cultures par site multiplié par les huit sites.

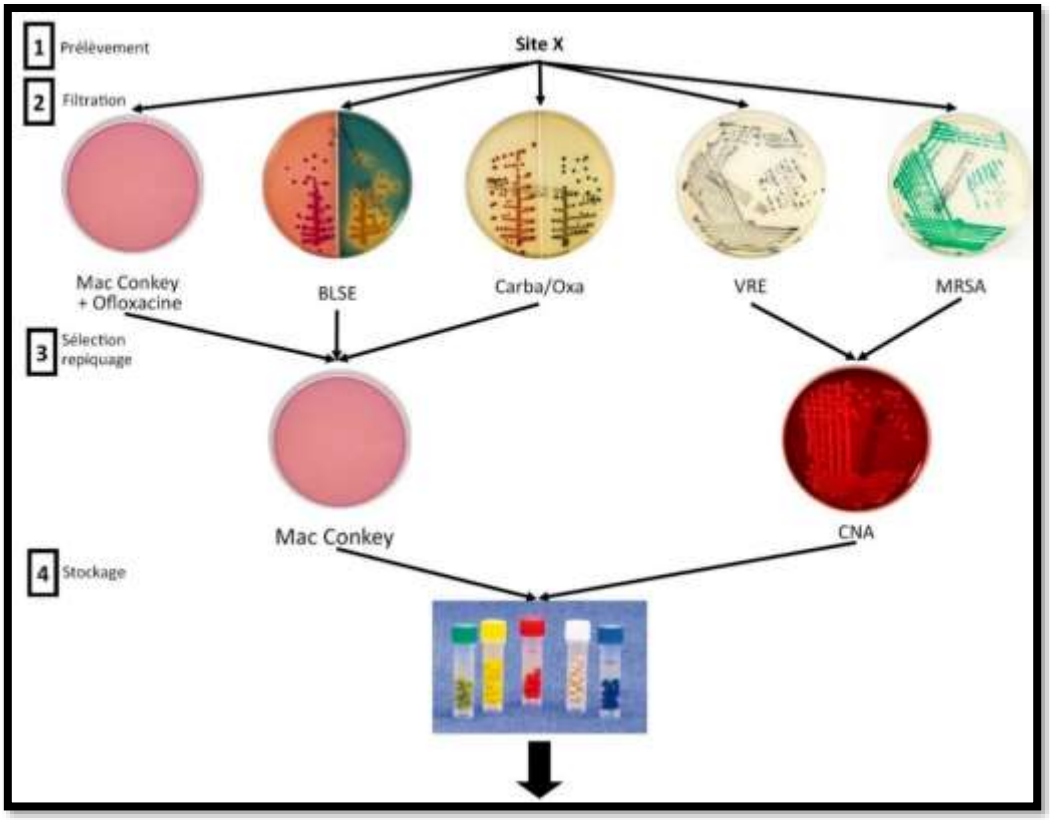


Figure 5 : Stratégie d'échantillonnage microbiologique

1 Prélèvement sur chaque site d'un échantillon d'eau destiné à l'analyse microbiologique et d'un échantillon destiné à la mesure des matières en suspension (500mL). Pour cela, nous nous sommes servi d'un outil créé sur mesure : une canne à pêche surmontée d'une bouteille de prélèvement accrochée au bout de la ligne. Ce montage ne permet cependant que de récupérer de l'eau en surface.

En plus des prélèvements d'eau, des observations et mesures in-situ ont été effectuées. La conductivité et la température de l'eau sont mesurées à l'aide d'un conductimètre. La hauteur d'eau est lue au droit du prélèvement à l'aide d'une perche graduée. Ces mesures sont complétées par l'heure du prélèvement, une appréciation (échelle de 0 à 4) du débit en surface, de la force et de la direction du vent.

2 Au retour du terrain, il faut procéder à la filtration des échantillons.

Analyse des MES : utilisation de filtres de porosité 0,45µm préalablement prépesés. Introduction d'un volume d'échantillon variable selon la turbidité (>300mL). Un blanc et un réplicat sont systématiquement réalisés pour valider la manipulation. Ces filtres sont placés à l'étuve 24h à 60°C avant d'être pesés.

Filtrations préalables aux analyses microbiologiques : utilisation de filtres de porosité 0,2µm. Tout le

matériel en contact avec l'eau prélevée est aseptisé au préalable avec de l'alcool à 70°.
Le volume filtré est de 50mL pour chaque filtre mis en culture (figure 6).
Après filtration le filtre est déposé sur une boite de culture amenée ensuite à l'étuve à 37C° pour 24h.

Les cinq milieux de culture utilisés sont tous sélectifs (supplémentés de divers antibiotiques) et chromogènes (permettant la mise en évidence d'activités enzymatiques diverses), En voici une présentation sommaire (tableau 1):



Figure 6 : Récupération d'un filtre après filtration

Tableau 1 : Milieux de cultures bactériologiques de sélection

Sigle	Nom Complet	Antibiotique	Bactérie(s) recherchée(s)	Compartiment(s)
chromID® CARBA SMART*		Carbapénèmes	KESC	2
VRE*	Vancomycin Resistant Enterococcus	Vancomycine	*E.Faecium E.Faecalis*	1
MRSA*	Staphylococcus Aureus Meticillin Resistant	Méticiline	*Staphylococcus aureus*	1
BLSE*	β-lactamases à Spectre Étendu	Céphalosporine	*E.Coli* KESC	2
Mc Conkey + Ofloxacine		Ofloxacine	sp (Cattoir, 2012)	1

*Biomérieux

Pour une description plus détaillée, voir annexe 2.

3 Afin d'assurer la pureté des colonies bactériennes étudiées une première étape de repiquage est mise en œuvre au bout de 24 à 48h selon la pousse observée (figure 7). Chaque morphologie distincte est repiquée séparément. Les entérobactéries productrices de Bétalactamase, résistantes aux carbapénèmes et résistantes à l'ofloxacine sont repiquées sur milieu McConkey tandis que les Staphylocoques et les entérocoques sont repiqués sur milieu CNA (Columbia agar)(tableau 2).

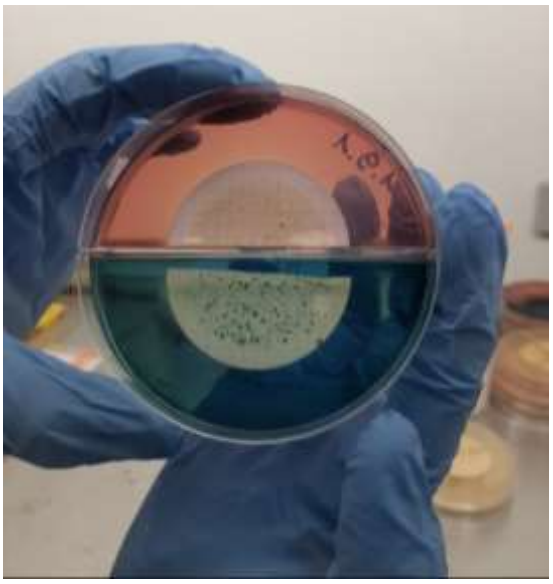


Figure 7 : Colonies sur milieu BLSE

Tableau 2 : Milieux de cultures bactériologiques de repiquage

Sigle	Nom Complet	Caractéristique recherchée	Types
Mac Conckey		Dégradation du lactose	- ; +
CNA	Columbia Agar	Dégradation du sang (hémolyse)	– ; γ ; β

Pour une description plus détaillée, voir annexe 2.

Les nouvelles boîtes sont marquées de leur ancien nom auquel est ajouté un numéro (par exemple, pour trois colonies repiquées à partir d'une même boîte, nous aurons les colonies 1, 2 et 3), ainsi que la couleur de chaque colonie.

Les boîtes dont les cultures n'étaient pas encore développées ont été remises à l'étuve pour 24h. Cette étape est ainsi répétée sur ces boîtes le jour suivant.

4 Une fois les colonies repiquées, un nouveau temps de culture a lieu (24h à 37°C). Les colonies issues du repiquage sont stockées dans des tubes de stockages à microbille (Tube billes Cryosystème Protect, Dutscher) (figure 8). Leurs caractéristiques mises en évidence par le milieu sont notées (taille, couleur, aspect). Ces tubes de stockages ont pour fonction de retenir de manière optimale du matériel génétique afin de les réexploiter plus tard, ici les réensemencer.

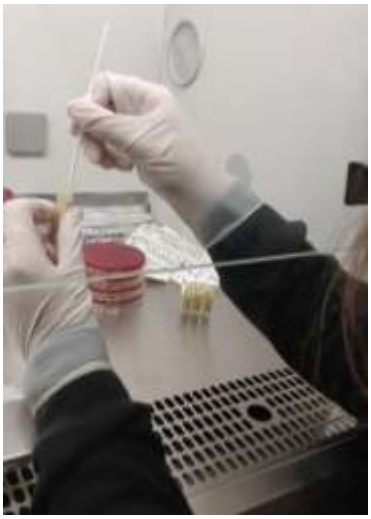


Figure 8 : Stockage d'une colonie dans un cryotube à bille

De la même manière que l'étape précédente, les boîtes dont les cultures n'étaient pas encore développées ont été remises à l'étuve pour 24h. Le protocole reste le même.

2.3 Les données

Toutes les données recueillies et traitées lors de ce stage ont servi à alimenter le modèle en paramètres hydrauliques, microbiologiques et en variables environnementales. Mais celles-ci ont pour la plupart été reçues brutes et ont dû être formatées afin d'être rendues compatibles aux formats de Telemac-2D.

2.3.1 Hydraulique

À l'issue d'une sortie de jaugeage, les données recueillies sont des vitesses spatio-localisées selon le site ou non (annexe 1). Le modèle cependant ne lit que des débits ou des hauteurs d'eau. Il faut donc traduire ces données.

Pour cela, un fichier Excel a été préparé pour interpoler les valeurs de vitesse sur la surface de la tranche et sortir un débit. De la même manière, il a été adapté pour les jaugeages de la seconde stratégie. Pour ceci, la vitesse a été uniformisée sur toute la surface et cette dernière calculée pour chaque jaugeage grâce à des points géoréférencés et la mesure de différence de hauteur entre ces points et la surface de l'eau à chaque sortie.
Les données de hauteurs utilisées sont issues de sondes CTD installées pour cette étude, sauf celles à l'aval du Fumemorte et à Garcines qui sont permanentes.

2.3.2 Microbiologie

Les données de la campagne de microbiologie n'ont pas pu être intégrées au modèle suite au confinement. Elles sont donc traitées à part et le parallèle effectué avec le modèle en discussion. Pour la simulation, selon l'hypothèse de la station d'épuration en tant que source, un traceur a été paramétré. Il permet de tester la dispersion d'un flux donné de bactéries dans les conditions du modèle.

2.3.3 Variables environnementales

Des variables météorologiques ont été intégrées au modèle pour s'approcher de la réalité. Pour cela, les données de la station Météo France située sur le domaine de la Tour du Valat, le long de l'égout de la Commanderie à quelques mètres en amont du site « Bon », ont été récupérées. Les données de cette station ne sont utilisables qu'en interne de l'institut de recherche et pour Météo France.
Les données transmises comportent plusieurs variables mesurées : le vent (direction et vitesse) ; le rayonnement solaire ; la température ainsi que la tension de vapeur saturante. Toutes ces variables peuvent être intégrées au modèle.

Les données de vent ont été fournies dans un format propre à Météo France (intensité et direction). Elles ont été transformées pour pouvoir être utilisées sous la forme de projections scalaires pour être lisible dans le modèle.

3 Le modèle

Nous avons considéré un modèle hydraulique tournant sous Telemac-2D associé à la dispersion de bactéries sous forme de traceurs. Comme précité dans l'analyse de la zone d'étude, le domaine du modèle se limite à la portion aval des canaux principaux jusqu'à leurs confluences avec le canal de Fumemorte ainsi que ce dernier sur sa portion aval.

Pour le construire, il a été nécessaire d'utiliser un logiciel utilitaire particulier : Blue Kenue. C'est un outil de préparation et de visualisation de fichiers essentiels à un modèle Telemac-2D.

Le modèle s'appuie aussi sur d'autres fichiers textuels pour ajouter des variables ou donner des règles de calcul durant la modélisation. En voici une présentation.

3.1 Les fichiers



Figure 9 : Maillage et frontières liquides du domaine

3.1.1 Le fichier de géométrie

Le fichier de géométrie est un des 3 fichiers indispensables pour faire fonctionner une modélisation sous Telemac-2D. Une stratégie de maillage a dû être mise en place pour le choix de sa finesse, afin d'optimiser la précision de modélisation et le temps de calcul. Au final, le maillage est un assemblage de portions à 4 lignes (berges + 2 lignes centrales) sur les secteurs les plus importants et de portions à 3 lignes (berges + ligne centrale) sur des secteurs d'intérêt moindre. La figure 9 montre que la section de l'égout de la Commanderie a été maillée en 3 lignes alors que le canal de Fumemorte où il se jette a été maillé en 4 lignes.

Par ailleurs, un travail d'optimisation a également été effectué au niveau des confluences entre les canaux afin d'améliorer la représentation locale des écoulements. Cela permet aussi d'améliorer la finesse de la simulation et d'éviter l'alourdissement du calcul. Dans la même optique le maillage a été nettoyé des polygones aux côtés trop réduits.

3.1.2 Le fichier des conditions limites

Le fichier des conditions limites est un autre des fichiers obligatoires. Il se créé à l'aide du même maillage que pour le fichier précédent. Une fois créé, il permet de délimiter les entrées/sorties dans le domaine, ici les extrémités des canaux et d'y assigner le type de données de forçage que l'on va lui donner. Dans la figure 9 par exemple, les 5 frontières ouvertes sont représentées par des triangles verts ou bleus selon qu'ils sont assignés à des données de hauteurs ou de débits. Les autres nœuds sur les berges représentées par des points font partie des frontières laissées fermées.

Il a été choisi de fermer les frontières initialement créées sur l'égout de Pravedel ainsi que sur le canal de la STEP. Cela est dû à la fermeture de ces canaux à l'amont proche de ces frontières. Une frontière fermées est donc le faciès le plus approprié pour ces canaux.

Il a été choisi d'associer des données de hauteurs pour les frontières amont et aval du canal de Fumemorte aux données de débits pour les 3 autres frontières pour leur représentativité de la réalité.

3.1.3 Le fichier liquide

Le fichier liquide est associé aux frontières liquides. Selon les règles données dans le fichier de conditions, ce fichier contient les variables de débit ou de hauteur pour au moins le temps du calcul, ainsi que les données des traceurs s'il y en a. Dans notre cas, ne travaillant que sur un point interne (la STEP), aucun traceur n'a été introduit de l'extérieur du modèle.

3.1.4 Le fichier de paramètres

Le fichier paramètre est le dernier des fichiers indispensables pour le fonctionnement de la modélisation. Il s'agit du fichier qui indique au logiciel quels autres fichiers il doit lire ainsi que tous les paramètres de base comme le temps de calcul ou les règles physiques à utiliser.

Étant donné l'arrêt prématuré de la campagne de jaugeage et de microbiologie, la modélisation a été arrêtée au 16 mars, dernier jour de jaugeage, soit une période 28 jours.

3.1.5 Le fichier de paramètres additionnels

Le fichier de paramètres additionnels est un fichier de commandes dédiées à l'apport de règles et de lois afin de compléter la modélisation par la lecture des fichiers annexes, c'est à dire tout ceux qui ne sont pas obligatoires. Il est codé en Fortran.

Pour cette étude, il a notamment servi à régir toutes les variables rentrant dans le modèle à savoir les hauteurs et débits d'eaux et les variables environnementales.

L'équation régissant le vent a été simplifiée afin d'être modulable selon un coefficient nommé « Fair ». Suite à plusieurs essais, le coefficient choisi pour le modèle final a été Fair = 0.000001.

Les traceurs sont aussi régis par ce fichier. Le traceur utilisé ici a été les bactéries pour l'hypothèse de la station d'épuration en tant que source de bactéries. Les paramètres choisis ont été d'une concentration de 10 millions de bactéries par m² (Servais & Passerat, 2009) pour un débit de 3 litres par seconde[1].

3.1.6 Autre fichiers (sections, buse, paramètres environnementaux)

Le fichier de section a été créé pour intégrer des tronçons de visualisation des flux comme ceux indiqués pour les frontières. Ces sections de contrôles ont servi tout au long de l'optimisation du modèle, notamment en comparant les résultats à la réalité à l'aide des jaugeages effectués sur les sites « Fumemorte TDV » et « Cazeau » qui ont été réalisés à cet effet.

Le fichier buse a été créé pour indiquer un point d'entrée d'un traceur dans le domaine. Le point d'entrée est un nœud. Ici, la localisation de la station d'épuration a été rentrée avec le nœud le plus proche du rejet.

Le fichier de paramètres environnementaux est le fichier regroupant toutes les variables environnementales fournies par la station météo. Sur le même modèle que le fichier liquide, les variables sont intégrées selon le pas de temps d'1h de la simulation et durent au moins aussi longtemps que la modélisation.

[1] http://assainissement.developpement-durable.gouv.fr/fiche.php?code=060913004008

3.2 Hypothèses

Pour toutes les variables environnementales, on considère qu'elles s'appliquent uniformément sur toute la surface mouillée selon les valeurs du fichier de données, sauf pour le vent ou un garde-fou est paramétré pour supprimer ses effets en dessous d'une certaine hauteur d'eau (1 cm). Cela permet d'éviter des survitesses d'écoulement générant des instabilités numériques.

On considère les variations des données de débit linéaires entre elles, étant donné qu'elles sont issues de jaugeages espacés de 3-4 jours entre eux. Les données de hauteurs elles n'ont pas eu besoin d'interpolation, car mesurées en continu par des sondes CTD.

En ce qui concerne la dispersion microbiologique, l'hypothèse principale est que la station d'épuration est une source de BAR. On considère donc comme nulle toute concentration en bactérie sur tout le domaine au départ de la modélisation et seul le nœud représentant le rejet de la STEP en émet. Les bactéries introduites subissent un abattement lié aux pressions naturelles, principalement le rayonnement solaire et la température (Rodríguez & Araujo, 2012), ou la salinité (Sinton et al., 2007).

Étant donné les différentes conditions environnementales possibles tout au long du temps de l'étude, plusieurs indices d'abattement ont été utilisés. Tous sont exprimées sous la forme de T90. Cet indice correspond au temps que met 90% d'une population bactérienne à disparaitre. Deux indices extrêmes ont été utilisés et un intermédiaire :

- 2h = Pour une eau salée par temps ensoleillé (Le Hir et al., 1990) ;
- 18h = Pour une eau de sortie de lagunage par temps ensoleillé (Mezrioui & Baleux, 2005) ;
- 48h = Pour une eau profonde par temps couvert (Le Hir et al., 1990).

4 Résultats

4.1 Hydraulique

4.1.1 Le modèle

Le modèle final considéré comme valable présente des flux et des reflux correspondant à la réalité perçue sur le terrain.



Vitesse.mp4

Figure 10 : Visualisation des vitesses d'écoulements du modèle (m/s)

Grâce aux jaugeages effectués sur les sections de contrôles aux points « Fumemorte TDV » et « Cazeau », on bénéficie de points ponctuels afin de comparer la simulation à la réalité. Selon la situation dans la simulation, les flux modélisés sont plus ou moins proches des résultats jaugés, mais régulièrement dans le bon sens d'écoulement (figure 10).



hauteur.mp4

Figure 11 : Visualisation des variations de hauteurs dans le domaine (m NGF)

Seules les hauteurs aux frontière « Fumemorte aval » et « Garcines » sont forcées sur le domaine. Les autres s'ajustent automatiquement en fonction des pressions de flux et des conditions environnementales. Les résultats sont cohérents avec ce qui peut apparaitre dans la réalité avec des hauteurs variant de 4 à 37cm NGF durant la simulation (figure 11). Dans l'ensemble, les hauteurs simulées ne s'éloignent pas de la gamme des données forcées aux frontières. Les extrêmes se situent principalement sur le linéaire de l'égout de Pravedel dont la limite amont est fermée.

4.1.2 La dispersion bactérienne

Une fois le modèle hydrauliquement stable, les bactéries ont été implémentées au niveau du rejet de la station d'épuration. Plusieurs simulations ont été réalisées avec les 3 indices T90 retenus.

Voici l'échelle de lecture (tableau 3). La classe bleue correspond à une absence totale de bactéries. La classe verte correspond à une concentration de 1 à 100 bactéries par m^3. Cela signifie une quasi absence de bactérie dans le domaine. La classe jaune correspond à une concentration de 100 à 1000 bactéries par m^3. Cela signifie que des bactéries sont présentes mais difficilement échantillonnables. La classe orange correspond à une concentration de 1000 à 100000 bactéries par m^3. Cela signifie que la section est modérément contaminée par les bactéries qui sont détectables. La classe rouge correspond à une concentration supérieure à 100000 bactéries par mètre cube. Cela signifie que le secteur est entièrement contaminé par les bactéries et que cette contamination est détectable.

Tableau 3 : Échelle de lecture des concentrations de bactéries

BACTERIES
100000
1000
100
1
0

À partir de la première simulation a été estimée la dispersion bactérienne dans le modèle avec un indice T90 de 2 heures (figure 12).

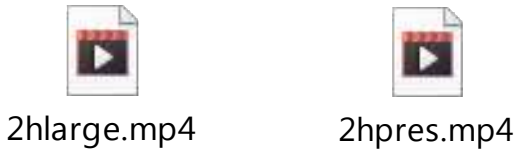


Figure 12 : Visualisations de la modélisation de la dispersion bactérienne au T90=2h

Dans cette configuration, le volume d'eau contaminé par le rejet de la STEP reste circonscrit autour du point d'émission. Aucune bactérie issue de cette source n'atteint la confluence avec l'égout de Cazeau, et donc n'atteint aucun autre site d'échantillonnage. Les sites rapprochés de « Sambuc Ouest » et « Jonction » sont potentiellement contaminés par le panache mais sur des proportions moindres et peu détectables.

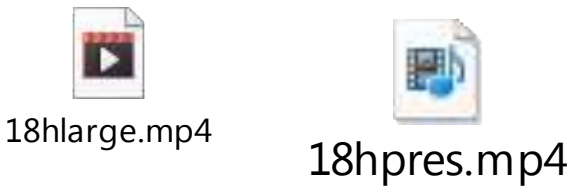


Figure 13 : Visualisations de la modélisation de la dispersion bactérienne au T90=18h

Dans cette configuration, le volume d'eau contaminé par le rejet de la STEP persiste sur une partie importante du canal de celui-ci (figure 13). Pour autant, quasiment aucune bactérie n'atteint l'égout de Cazeau. Seules quelques-unes y arrivent et sont directement diluées dans cette masse d'eau plus importante. L'atteinte des sites de prélèvements ne semble pas positive également pour ceux à l'extérieur du canal de la STEP, alors que le potentiel de contamination est plus important pour les deux points situés de part et d'autre de ce canal.


48hlarge.mp4


48hpres.mp4

Figure 14 : Visualisations de la modélisation de la dispersion bactérienne au T90=48h

Dans cette configuration, le volume d'eau contaminé par le rejet de la STEP a une emprise bien plus importante sur le domaine (figure 14). Il persiste sur tout le canal de la STEP à des concentrations très élevées. Le débordement du panache de ce canal est régulier à des concentrations élevées. En résulte des persistances durant plusieurs heures de certains débordements dans tout le domaine à des concentrations échantillonnables. L'atteinte de la totalité des sites de prélèvement semble possible avec une contamination certaines des sites les plus proches à savoir « Sambuc Ouest », « Jonction », « Verdier Ouest » et « Cazeau ».

4.1.3 Les analyses MES

Tableau 4 : Résultats des analyses MES

Site	**Turbidité** *(NTU)*
Garcines	264,7
Bon	168,1
Cazeau	131,5
Grenouillet	95,88
Jonction	334,6
STEP	107
Sambuc Ouest	157,4
Verdier Ouest	221,2

Les analyses de matières en suspension ont été compilées par site en NTU et sont datées du même jour que les prélèvements pour échantillonnage bactérien, le 17 février.

Les vérifications concernant ces données ont montré une anomalie dans la lecture de cette campagne. En effet, le turbidimètre a été testé avec une solution standard de 100NTU, avec un résultat de 59.58NTU. Les données ne sont donc pas utilisables.

4.2 Microbiologie

4.2.1 Échantillons

L'unique campagne de prélèvement a permis la récupération puis l'analyse de 16 échantillons d'eau, soit 2 échantillons par site, qui ont permis 8 analyses MES et 8 analyses microbiologiques répliquées une fois. Les 16 cultures microbiologiques ont permis d'élever 149 UFC de bactéries identifiées selon les capacités du milieu de culture et stockées en vue d'analyses ultérieures par un laboratoire partenaire.

4.2.2 Culture bactériologique

Sur les 149 UFC identifiées, certaines d'entre elles ont poussées sur les deux réplicats et ont donc constitué des doublons. Une fois écartés, il reste 96 UFC uniques, de par le site de prélèvement, le milieu de culture et la description de l'unité.

Tableau 5 : Résultats de la campagne bactériologique

Sites \ Milieux	MRSA	BLSE		VRE	Mc Conkey + Ofloxacine	Carba-Oxa		Total
		Drigalski	Mc Conkey			Carba	Oxa	
Sambuc Ouest	2	3	1	3	0	2	1	12
STEP	2	3	3	3	2	2	0	15
Jonction	1	3	1	2	0	3	2	12
Cazeau	2	3	2	3	1	3	2	16
Grenouillet	2	3	2	1	0	1	1	10
Garcines	3	2	2	2	0	2	1	12
Bon	1	3	2	2	1	1	1	11
Verdier Ouest	1	2	1	1	1	1	1	8
Total	14	22	14	17	5	15	9	96

Les résultats du *tableau 5,* indiquent la présence ou l'absence de bactéries résistantes à la classe d'antibiotique présente dans le milieu testé et la somme des dénombrements décrits visuellement. Les milieux bi-compartimentés sont décrits comme deux milieux différents car ils peuvent décrire des groupes de bactéries différents.

De manière générale, tous les milieux testés ont démontré la présence de bactéries résistantes à leurs antibiotiques. Mais une variabilité de présence a été observée selon les milieux. Le nombre de groupes de bactéries totaux mis en évidence par milieu varie de 5 pour le milieu « Mc Conkey + ofloxacine » à 22 pour le milieu « Drigalski -cefotaxime».

Certains milieux ont eu un nombre de présences importantes de différentes souches ou espèces de bactéries sur des sites : « MRSA » ; « BLSE » ; « VRE » et « Carba ». Les milieux « Mc Conkey + ofloxacine » et « Oxa » quant à eux ont vu des absences de croissance sur certains sites et globalement une diversité moindre.

4.2.3 Identification

L'étape supplémentaire de sélection repiquage a permis une identification renforcée des groupes bactériens, à l'aide de la définition du type d'hémolyse ou de la capacité d'utilisation du lactose selon les milieux. Les résultats sont à retrouver en *annexe 1*.

L'identification s'est avérée cohérente pour la plupart des milieux, avec des couleurs trouvées correspondant aux notices de lecture et interprétation. Seul le compartiment Drigalski-Cefotaxime du milieu BLSE n'a pas pu bénéficier d'une identification précise. Alors que les couleurs d'UFC cibles étaient soit bleu, soit jaune, toutes les colonies qui ont poussé sur ce milieu étaient vertes. La dénomination de ces groupes s'arrête donc à l'antibiorésistance qui leur a permis de croître sur ce support *(tableau 6)*.

Milieux	MRSA	BLSE		VRE		Mc Conkey + Ofloxacine	Carba-Oxa				Total
		Drigalski	Mc Conkey				Carba		Oxa		
Résistances	Methicilline	Cefotaxime	Ceftazidime	Vancomycine		Ofloxacine	Carbapénème		Carbapénème de type Oxa-48		
Sites \ **Espèces**	**S.Aureus**	**?**	**KESC**	**E.Faecalis**	**E.Faecium**	**Entérobactéries**	**E.Coli**	**KESC**	**E.Coli**	**KESC**	
Sambuc Ouest	2	3	1	2	1	0	1	1	1	0	12
STEP	2	3	3	2	1	2	0	2	0	0	15
Jonction	1	3	1	1	1	0	0	3	1	1	12
Cazeau	2	3	2	1	2	1	1	2	2	0	16
Grenouillet	2	3	2	0	1	0	0	1	0	1	10
Garcines	3	2	2	2	0	0	2	0	1	0	12
Bon	1	3	2	1	1	1	1	0	1	0	11
Verdier Ouest	1	2	1	0	1	1	1	0	1	0	8
Total	14	22	14	9	8	5	6	9	7	2	96

Tableau 6: Résultats de l'identification microbiologique

Il existe également une répartition spatiale hétérogène des unités de bactéries cultivées.

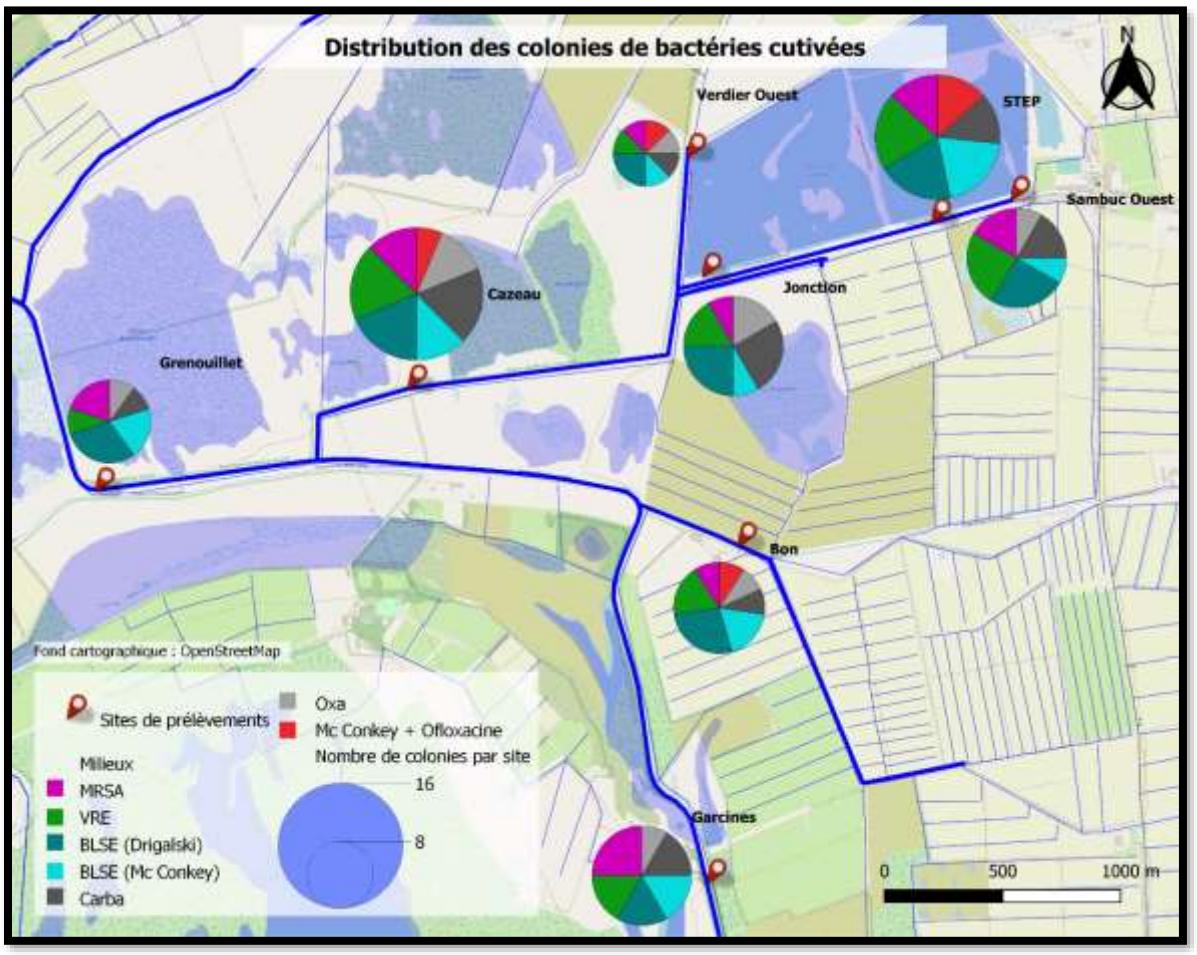


Figure 15 : Distribution des colonies de bactéries cultivées

La *figure 15* permet d'observer la diversité de groupes bactériens cultivés par milieu sur les sites, eux-mêmes replacés sur le linéaire de canaux. Les UFC bactériennes dénombrées sont regroupées pour chaque site sur un diagramme avec la part de chaque milieu. La taille de chaque diagramme est fonction du nombre total d'occurrences pour chaque point de prélèvement.

5 Discussion

5.1 Du modèle à la dispersion bactérienne

La création de ce modèle a permis d'améliorer les connaissances sur ce milieu hydrographique particulier. S'il était connu que le vent était un facteur important à prendre en compte pour modéliser ce genre de système, il s'est avéré que cette variable était en fait prédominante dans l'évolution des flux, en provoquant des inversions de flux importantes. De plus, le système hydrographique est très réactif aux changements de force et de direction du vent, complexifiant les variations de débits.

Les simulations de dispersion bactérienne ont donné des résultats différents. Mais ces résultats ont différentes probabilités d'apparaître et ne sont pas à lire en résultats absolus. En effet, il faut prendre en compte les cycles journaliers de rayonnement solaire et les changements de température ainsi que les variations de salinité qui influent sur la persistance des bactéries (Jozi, 2014). Cela signifie que malgré que les T90 utilisés soient constants, en réalité ceux-ci varient en fonction de paramètres comme le rayonnement solaire, la salinité, etc. Ce choix a donc été fait pour représenter simplement l'amplitude potentiel de dispersion des bactéries dans le domaine.

Concernant l'association des résultats microbiologique et de modélisation, le site particulier de la STEP, dont le prélèvement provient non pas du cours d'eau mais du rejet d'eaux usées traitées de la station d'épuration est un résultat intéressant. La diversité retrouvée sur ce site est du même ordre que les autres sites et sensiblement la même que les deux autres sites du même canal, « Sambuc Ouest » et « Jonction ». Les hypothèses de départ pour expliquer cette situation sont :

- Les eaux de la STEP sont une source de BAR et elles ont contaminé les autres sites ;
- Les eaux de la STEP sont une source de BAR, mais elles sont éliminées avant d'atteindre les autres sites, qui eux-mêmes sont contaminés par d'autres vecteurs ;
- Les eaux de la STEP ne sont pas une source de BAR. Les ERU (Eaux résiduaires urbaines) ne sont pas chargées en bactéries allogènes, c'est la filière de traitement qui subit les mêmes pressions que le milieu hydrographique.

Suivant la première hypothèse, les eaux de la STEP ont contaminé d'autres sites. D'après la modélisation hydraulique, il s'avère que le flux d'eau traité met plus de temps à sortir du canal que le temps de survie des bactéries dans ce milieu. Il apparait peu probable que cette source ait contaminé les sites situés en dehors du canal. Pour les sites « Jonction » et « Sambuc Ouest », les résultats ne semblent

pas cohérents non plus avec ce principe. D'un côté, des bactéries ont été trouvées sur le milieu « Mc Conkey + ofloxacine » sur la STEP et non aux deux autres. D'un autre côté, des bactéries n'ont pas été trouvées sur le milieu « Oxa » sur la STEP et par contre trouvées sur les deux autres.
Par conséquent, cette hypothèse ne peut être validée ici.

Suivant la deuxième hypothèse, les bactéries ne survivent pas assez dans le milieu pour atteindre les autres sites. Le modèle hydraulique a pris en compte le temps de survie des bactéries en intégrant l'indice T90. Il s'avère que sous la plupart des conditions et même pour le T90 les plus contraignant (le plus long), le potentiel d'atteinte des sites en dehors du canal par ces bactéries est très limité. Cependant, pour les sites « Jonction » et « Sambuc Ouest », ceux sur le même canal, le modèle renforce l'idée d'une contamination chronique. Toutefois, il existe une différence de diversité bactérienne sur ces 3 points, ce qui ne permet pas de les relier microbiologiquement. L'hypothèse ne peut donc être validée seule.

Suivant la troisième hypothèse, les eaux traitées de la STEP ne sont pas réellement une source de BAR pour le milieu. En effet, les informations de ce point ne concernent que les eaux en sortie de station. La contamination trouvée peut provenir des eaux usées, mais également de la filière d'épuration elle-même. En effet, ici, les eaux sont traitées suivant des filtres plantés de roseaux. Ceux-ci sont à l'air libre, en contact similaire avec le climat et la faune locale (rongeurs, oiseaux). Les eaux en cours de traitement sont donc potentiellement contaminées par les mêmes sources que les cours d'eaux avoisinants. Dans ce cas-là, les eaux ne seraient pas considérées comme une source, car possédant une diversité bactérienne similaire et une concentration en bactérie de même ordre. Cette hypothèse ne saurait être validée qu'avec des études supplémentaires spécifiquement sur la station d'épuration.

Au final, si l'hypothèse de la contamination de tous les sites par les eaux de la STEP semble peu probable, une combinaison des deux autres hypothèses semble possible. Elles peuvent en effet se compléter, par une double contamination des eaux résiduaires urbaines. La première est directe, avec les eaux ménagères qui sont contaminées par leurs utilisateurs. L'autre est indirecte, par la faune sauvage sur le site de la station d'épuration ou les réseaux. La dissociation de ces hypothèses pourrait être établie par la quantification de BAR cibles retrouvées sur tous les sites et de la comparaison des concentrations trouvées.

Toutes ces hypothèses ne se basent que sur une seule campagne d'échantillonnage au lieu des trois prévues. En résulte un manque de connaissance sur le devenir des bactéries retrouvées et donc aucun contrôle sur le bien-fondé des hypothèses émises grâces à ces résultats. Ce caractère unique ne

permet également pas d'éliminer qu'il y ait eu une anomalie dans la réalisation des prélèvements ou des cultures.

Malgré les flux et reflux que peuvent connaître ces canaux, on peut décrire et interpréter les résultats allant du point « Sambuc Ouest » à « Grenouillet » comme une suite hydraulique classique, cas qui correspond à un écoulement amont/aval avec peu de vent.
Pour le linéaire partant de la STEP, des milieux ayant montré une présence de bactéries augmentent ou diminuent sur certains sites sans logique évidente et sans schéma ressemblant entre eux. Pour les milieux « Mc Conkey + ofloxacine » et « Oxa » qui connaissent des absences en plus des présences, il n'y a pas non plus de logique particulière qui pourrait expliquer cette alternance.
Les autres sites situés en amont sur d'autres canaux peuvent aussi être marqueurs de la contamination de ces cours d'eaux par l'amont ou l'aval. Il n'existe pas non plus de logique particulière explicable.

Dans un système hydrographique classique, les sites ne seraient pas tous situés sur le même axe d'écoulement amont-aval et seraient donc non connectés. Cependant, le modèle a confirmé que les inversions de courants sont fréquentes dans ce système et donc que tous ces sites sont probablement interconnectés.

De manière générale, tous les sites testés étaient pourvus de BAR. Mais le nombre de groupes de bactéries mis en évidence varie pour un site entre 8 pour « Verdier Ouest » et 16 pour « Cazeau ».

5.2 Analyses microbiologiques : Diversité des BAR isolées

Le milieu « Mc Conkey + ofloxacine » a donné des résultats particulièrement différents des autres. Il a en effet donné plusieurs absences sur des sites et des présences faibles sur les autres. Il est par conséquent le milieu avec le moins d'occurrences. Les présences sont situées sur le secteur de l'égout de Cazeau avec les sites de « Cazeau » et « Verdier Ouest », ainsi que les eaux de la STEP. Ces milieux sont proches et il se peut que ces présences proviennent de la dispersion de la même source. Il est possible que les eaux de la station d'épuration soient cette source. Cependant, une présence a aussi été détectée sur le l'égout de la Commanderie avec le site « Bon » qui est plus éloigné hydrologiquement. Il y a moins de chances que cette contamination provienne de la même source que les autres.

La présence inférieure de diversité sur le milieu « Oxa » comparé à « Carba » est normale, étant donné que celui-ci est plus restrictif. Pour rappel, il permet de déterminer des bactéries résistantes aux carbapénèmes (comme Carba), mais en ne permettant d'isoler que celles de type OXA-48.

Toutes les lectures ont pu être réalisées à l'aide de la chromogénéité des milieux, sauf pour le milieu Drigalski-Cefotaxime. Pour rappel, toutes les UFC déterminées sur ce milieu étaient vertes alors que des colonies bleues ou jaunes étaient attendus. Les analyses plus poussées citées précédemment seraient encore plus utile pour les colonies de ce milieu.

Malgré le manque de vision sur la dispersion de ces bactéries, on peut émettre des hypothèses quant à leurs origines par l'étude des antibiotiques qui leurs font pression. En effet, leurs modes de consommation diffèrent par leurs prescriptions.
Comme cité précédemment, l'ofloxacine est principalement prescrit pour les animaux d'élevage. Mais en Camargue, les élevages sont très extensifs et les antibiotiques moins utilisés que dans des régions plus conventionnelles.
Les carbapénèmes eux ne sont prescrits que dans des établissements hospitaliers, lorsque cela est requis, du fait direct de la présence importante de bactéries résistantes, des BLSE. La vancomycine n'est également prescriptible que par des établissements hospitaliers[2], tout comme les médicaments à base de céfotaxime[3] et de ceftazidime[4]. Il est donc peu probable de retrouver ces antibiotiques en source directe de la station d'épuration du Sambuc qui ne raccorde que des logements domestiques.

La méticilline en tant que tel n'est plus prescrite. Elle a été remplacée par des composés plus stables tels que l'oxacilline ou la cloxacilline, qui eux sont vendus par prescription en pharmacie[5] en curatif et dans les établissements hospitaliers en préventif. Ces molécules induisent la résistance de *S.aureus* (MRSA), que l'on peut donc potentiellement trouver dans les eaux de traitements d'épurations collectifs ou non-collectifs.

Quant à l'ofloxacine, à la différence des autres, cet antibiotique est surtout prescrit sur des animaux domestiques comme le bétail plus que pour des humains, ce qui pourrait expliquer la différence de présence ici[6]. Cela tend à signifier que la (ou les) sources ayant contaminée les eaux provienne directement de l'impact anthropique ou indirectement au travers d'animaux sauvages impactés par nos activités.

Il est aujourd'hui difficile d'émettre des hypothèses sur la provenance exacte de ces BAR et de quantifier la pression de sélection qu'elles subissent (Karkman et al., 2018). Mais il est sûr que la grande diversité de souches résistantes trouvée n'est pas due au hasard. On sait aujourd'hui que l'eau, qu'elle

[2] https://www.vidal.fr/substances/liste/type:mono/id:6898/
[3] https://www.vidal.fr/substances/liste/type:mono/id:861/
[4] https://www.vidal.fr/substances/liste/type:mono/id:6722/
[5] https://www.vidal.fr/classifications/atc/c:3878/n:METHICILLINE/
[6] https://www.vidal.fr/substances/liste/type:mono/id:2539/

soit naturelle ou provienne de rejets anthropiques, est un grand réservoir de BAR et un très bon vecteur de transport d'un compartiment à l'autre. Les capacités de rétention des milieux aquatiques sont bien plus utilisées lorsqu'elles se situent près de pressions anthropiques connues comme des zones urbaines ou agricoles, et à l'inverse diminuent au fur et à mesure que l'on s'en éloigne (Gillings et al., 2015). Des études précises doivent par conséquent être menées pour comprendre le rôle de chaque compartiment, comme par exemple l'étude de la faune sauvage au travers d'espèces anthropophiles (Ramey & Ahlstrom, 2019). Ce travail a déjà été effectué en Camargue sur des oiseaux (Aberkane et al., 2016) ou des micromammifères (Roux, 2016) par exemple.

5.3 Les limites et autres analyses prévues

Des contraintes fortes ont été appliquées sur le projet en raison du confinement dû à l'épidémie de Covid-19. La campagne de jaugeage a été réduite de 3 à 1 mois et seule la première campagne bactériologique a pu être menée. Par conséquent, il n'y avait pas de moyens de contrôle de la dispersion des BAR. D'autres étapes du projet ont dû être supprimées comme la création d'un modèle statistique de corrélation entre le vent et le débit des canaux pour améliorer l'interpolation des jaugeages ou l'implémentation de codages pour varier l'impact du vent suivant la couverture végétale des berges ou leurs morphologies. Toutes ces contraintes pourront être simplement supprimées par leur réalisation lors de la prochaine réalisation de cette étude. Mais le stage a permis de soulever des discussions sur le protocole en lui-même. La réalisation de la campagne a soulevé la problématique du choix entre les niveaux d'eau ou les débits comme grandeurs à imposer aux conditions limites du modèle. Plus particulièrement, les débits sont issus de jaugeages réalisés au courantomètre magnétique, qui possède une incertitude importante (Despax, 2016), et sont ponctuels (2x semaine). Par conséquent, l'interpolation temporelle est problématique, car elle doit épouser au mieux les variations qu'il y a entre deux dates de jaugeage. C'est encore plus problématique dans notre système hydrographique camarguais où les variations de débits, voir les inversions de flux, sont très fréquentes, avec des inversions possibles du sens d'écoulement. Le jaugeage, qui ne détermine le débit qu'à un moment donné, ne semble pas être la solution la plus adaptée à ce site d'étude. L'installation de sondes CTD relevant les hauteurs, la température et la conductivité à toutes les frontières éliminerait ce biais et améliorerait probablement la qualité des variables hydrauliques (Pouchoulin, 2019).

Concernant l'identification des espèces bactériennes, la détermination s'est arrêtée à la phénotypie pour certaines à l'espèce et pour d'autres à un groupe de bactéries. C'est dû aux limites de sélectivité des milieux de croissance qui ont été utilisés. Il n'a pas pu être mis en place d'identification plus poussée qui aurait permis d'affiner les résultats. Pour aller plus loin dans la connaissance du phénotype de résistance des bactéries isolées, des études supplémentaires par antibiogramme pourront

être réalisées. Cela permettra d'améliorer les connaissances sur des colonies dont on sait déjà qu'elles résistent à un antibiotique en les testant avec d'autres substances de la même famille (comme les β-lactamines) ou d'autres, qui seront déterminées notamment au regard de résistances déjà observées chez des bactéries portées par la faune sauvage locale (Aberkane et al., 2016). De plus, les antibiogrammes apportent des résultats quantitatifs que n'apportent pas les seuls milieux de culture. On peut en effet retrouver pour la même colonie des résistances plus ou moins fortes à différents antibiotiques (via la mesure du diamètre d'exclusion) et retrouver un pattern caractéristique (Aberkane et al., 2017).

L'utilisation d'études génotypiques pourrait également s'avérer utile pour améliorer les connaissances déjà acquises. Tout d'abord améliorer la spéciation lorsque les milieux de cultures n'ont permis que d'identifier des groupes de bactéries par l'identification de l'ARN 16-S. Pour aller encore plus loin, une détermination des caractéristiques génétiques bactériennes et des gènes de résistances peut être employée pour parfaire la filiation des colonies bactériennes entre elles et renforcer les données sur la distribution et la dispersion spatiale de ces bactéries (Vittecoq et al., 2017).

6 Conclusion

Finalement, cette étude permet de répondre à la problématique de départ à savoir : « Quel est le pouvoir de dispersion associé à l'eau pour des BAR dans un bassin hydrographique complexe tel que le bassin de Fumemorte ? »

Le modèle hydraulique a confirmé le caractère particulier et complexe du milieu hydrographique camarguais. Les inversions de courants y sont fréquentes, expliquées notamment par le vent qui est un facteur dominant dans cette région. Ce même modèle a permis d'estimer que pour la plupart des conditions météorologiques, la dispersion bactérienne d'une source potentiellement importante telle qu'un rejet d'eaux usées traitées est relativement faible.

La campagne d'échantillonnage microbiologique a donné beaucoup de colonies sur une grande partie des milieux choisis pour cette étude. Il en ressort que tous les sites sont contaminés et les absences de colonies faibles. Elles sont principalement sur le milieu « Mc Conkey + Ofloxacine ». Cette campagne n'a pas réussi à démontrer le rôle de la station d'épuration dans ces contaminations ni à identifier une autre source. Il est donc possible que les contaminations soient multiples et diffuses.

Le pouvoir de dispersion de BAR via les canaux au sein de notre système d'étude semble donc faible, mais il faut rappeler que notre étude n'a pas pu être conduite en période de culture rizicole ou les flux hydrauliques sont plus importants.

Les perspectives de poursuites pour cette étude sont importantes. La premières est de pouvoir réaliser complètement la campagne qui n'a pu être conduite cette année, avec le retour d'expérience en prime. Cela permettra de renforcer le modèle en y ajoutant les variations saisonnières importantes localement, et de renforcer les hypothèses sur la dispersion bactérienne. La seconde est que cette étude s'inscrit dans un projet à plus long terme de compréhension de la dynamique ces bactéries, en ajoutant étude par étude une pierre à la compréhension de chaque pression de sélection et de chaque vecteur d'échange. Ce projet porté par la Tour du Valat s'inscrit au-delà de sa portée scientifique dans la problématique de santé publique de l'accélération de l'antibiorésistance. En effet, d'après le rapport Carlet (2015), si le système n'évolue pas, d'ici 2050, plus aucun antibiotique ne sera efficace. Ce type de projet vise donc à contribuer à une identification à long terme des zones d'échanges entre compartiments et les facteurs les favorisant. Ces recherches sont un outil essentiel pour minimiser la progression et l'impact des BAR.

7 Bibliographie

Aberkane, S., Compain, F., Decré, D., Dupont, C., Laurens, C., Vittecoq, M., Pantel, A., Solassol, J., Carrière, C., Renaud, F., Brieu, N., Lavigne, J.-P., Bouzinbi, N., Ouédraogo, A.-S., Jean-Pierre, H., & Godreuil, S. (2016). High Prevalence of SXT/R391-Related Integrative and Conjugative Elements Carrying *bla* $_{CMY-2}$ in Proteus mirabilis Isolates from Gulls in the South of France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *60*(2), 1148‑1152. https://doi.org/10.1128/AAC.01654-15

Aberkane, S., Compain, F., Decré, D., Pantel, A., Vittecoq, M., Solassol, J., Bouzinbi, N., Jean-Pierre, H., & Godreuil, S. (2017). Persistence of bla CMY-2 -producing Proteus mirabilis in two gull colonies at a 1-year interval in Southern France. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *9*, 138‑140. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.05.005

Baquero, F., Martínez, J.-L., & Cantón, R. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*, *19*(3), 260‑265. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006

Cattoir, V. (2012). Quinolones : De l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone Des Laboratoires*, *2012*(445), 79‑87. https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71679-9

Chauvelon, P. (1996). *Hydrologie quantitative d'une zone humide méditerranéenne aménagée : Le bassin de Fumemorte en Grande Camargue, delta du Rhône* [Thesis, Montpellier 2]. http://www.theses.fr/1996MON20054

Despax, A. (2016). *Incertitude des mesures de débit des cours d'eau au courantomètre. Amélioration des méthodes analytiques et apports des essais interlaboratoires* [Phdthesis, Université Grenoble Alpes]. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01496704

Gillings, M. R., Gaze, W. H., Pruden, A., Smalla, K., Tiedje, J. M., & Zhu, Y.-G. (2015). Using the class 1 integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution. *The ISME Journal*, *9*(6), 1269‑1279. https://doi.org/10.1038/ismej.2014.226

GUILLOT, J. F. (1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Annales de Recherches Vétérinaires*, *20*(1), 3‑16.

Hatosy, S. M., & Martiny, A. C. (2015). The Ocean as a Global Reservoir of Antibiotic Resistance Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, *81*(21), 7593‑7599. https://doi.org/10.1128/AEM.00736-15

Jozi, S. (2014). EFFECT OF SOLAR RADIATION, TEMPERATURE AND SALINITY ON THE SURVIVAL OF TWO DIFFERENT STRAINS OF ESCHERICHIA COLI. *Fresenius Environmental Bulletin*, *23*(8), 8.

Karkman, A., Do, T. T., Walsh, F., & Virta, M. P. J. (2018). Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. *Trends in Microbiology*, *26*(3), 220‑228. https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.005

Le Hir, P., Guillaud, J. F., Pommepuy, M., Le Guyader, F., & Salomon, J. C. (1990). Modélisation du transport dissous et particulaire dans l'estuaire de Morlaix. Application au devenir des bactéries entériques. *La Houille Blanche*, *3‑4*, 273‑278. https://doi.org/10.1051/lhb/1990022

Leclercq, R., Oberlï¿½, K., Galopin, S., Cattoir, V., Budzinski, H., & Petit, F. (2013). Changes in Enterococcal Populations and Related Antibiotic Resistance along a Medical Center-Wastewater Treatment Plant-River Continuum. *Applied and Environmental Microbiology*, *79*(7), 2428‑2434. https://doi.org/10.1128/AEM.03586-12

Martins da Costa, P., Vaz-Pires, P., & Bernardo, F. (2006). Antimicrobial resistance in Enterococcus spp. Isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants. *Water Research*, *40*(8), 1735‑1740. https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.02.025

Mezrioui, N., & Baleux, B. (2005). Effets de la température, du pH et du rayonnement solaire sur la survie de différentes bactéries d'intérêt sanitaire dans une eau usée épurée par lagunage. *Revue Des Sciences de l'eau*, *5*(4), 573‑591. https://doi.org/10.7202/705148ar

Morera, R. (2011). *L'assèchement des marais : En France au XVIIe siècle*. Presses universitaires de Rennes.

Pasteur's Papers on the Germ Theory. (s. d.). Consulté 28 janvier 2020, à l'adresse https://biotech.law.lsu.edu/cphl/history/articles/pasteur.htm#paperII

Porter, J. R. (1976). Antony van Leeuwenhoekl : Tercentenary of His Discovery of Bacteria. *BACTERIOL. REV.*, *40*, 10.

Pouchoulin, S. (2019). *Mixing of waters downstream of a confluence -Improvement of the modeling of contaminant flows in watercourses and sanitation networks* [Theses, INSA Lyon]. https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-02527574

Rafiq, M., Hayat, M., Anesio, A. M., Jamil, S. U. U., Hassan, N., Shah, A. A., & Hasan, F. (2017). Recovery of metallo-tolerant and antibiotic resistant psychrophilic bacteria from Siachen glacier, Pakistan. *PLoS ONE*, *12*(7). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178180

Ramey, A. M., & Ahlstrom, C. A. (2019). Antibiotic resistant bacteria in wildlife : Perspectives on trends, acquisition and dissemination, data gaps, and future directions. *Journal of Wildlife Diseases*, *56*(1), 1‑15. https://doi.org/10.7589/2019-04-099

Servais, P., & Passerat, J. (2009). Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine river watershed (France). *Science of The Total Environment*, *408*(2), 365‑372. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.09.042

Singer, R. S., Finch, R., Wegener, H. C., Bywater, R., Walters, J., & Lipsitch, M. (2003). Antibiotic resistance—The interplay between antibiotic use in animals and human beings. *The Lancet infectious diseases*, *3*(1), 47–51.

Sinton, L., Hall, C., & Braithwaite, R. (2007). Sunlight inactivation of Campylobacter jejuni and Salmonella enterica, compared with Escherichia coli, in seawater and river water. *Journal of Water and Health*, *5*(3), 357‑365. https://doi.org/10.2166/wh.2007.031

Vittecoq, M., Godreuil, S., Prugnolle, F., Durand, P., Brazier, L., Renaud, N., Arnal, A., Aberkane, S., Jean-Pierre, H., Gauthier-Clerc, M., Thomas, F., & Renaud, F. (2016). Antimicrobial

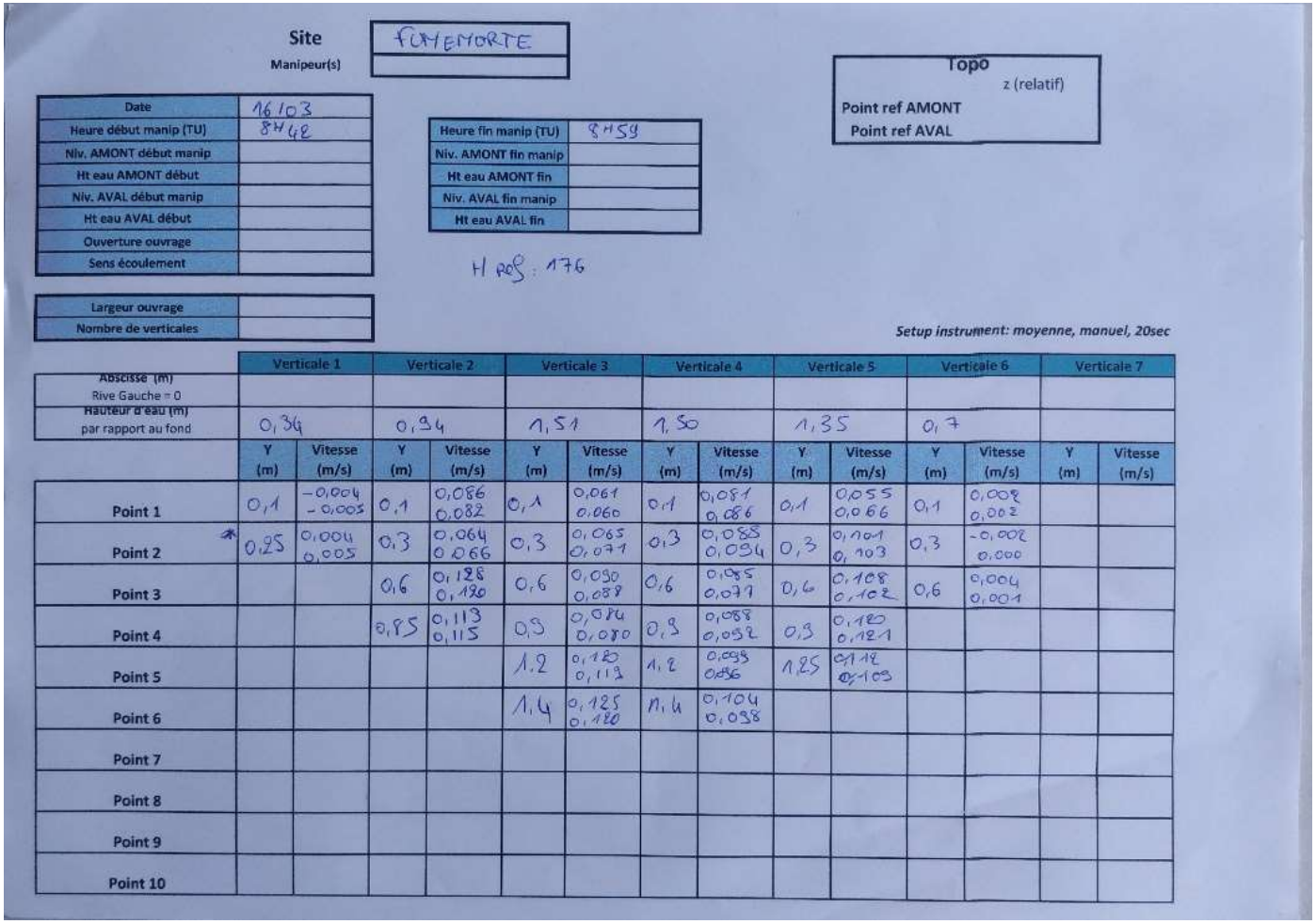
resistance in wildlife. *Journal of Applied Ecology*, *53*(2), 519‐529. https://doi.org/10.1111/1365-2664.12596

Vittecoq, M., Laurens, C., Brazier, L., Durand, P., Elguero, E., Arnal, A., Thomas, F., Aberkane, S., Renaud, N., Prugnolle, F., Solassol, J., Jean-Pierre, H., Godreuil, S., & Renaud, F. (2017). VIM-1 carbapenemase-producing *Escherichia coli* in gulls from southern France. *Ecology and Evolution*, *7*(4), 1224‐1232. https://doi.org/10.1002/ece3.2707

Watkinson, A. J., Murby, E. J., & Costanzo, S. D. (2007). Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment : Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*, *41*(18), 4164‐4176. https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.04.005

Annexes

Annexe 1 : Feuille de prise de données de jaugeage



Site FUMEMORTE

Manipeur(s)

Topo
z (relatif)
Point ref AMONT
Point ref AVAL

Date	16/03
Heure début manip (TU)	8H48
Niv. AMONT début manip	
Ht eau AMONT début	
Niv. AVAL début manip	
Ht eau AVAL début	
Ouverture ouvrage	
Sens écoulement	

Heure fin manip (TU)	8H59
Niv. AMONT fin manip	
Ht eau AMONT fin	
Niv. AVAL fin manip	
Ht eau AVAL fin	

H ROS : 176

Largeur ouvrage	
Nombre de verticales	

Setup instrument: moyenne, manuel, 20sec

	Verticale 1		Verticale 2		Verticale 3		Verticale 4		Verticale 5		Verticale 6		Verticale 7	
Abscisse (m) Rive Gauche = 0														
Hauteur d'eau (m) par rapport au fond	0,36		0,94		1,51		1,50		1,35		0,7			
	Y (m)	Vitesse (m/s)	Y (m)	Vitesse (m/s)	Y (m)	Vitesse (m/s)	Y (m)	Vitesse (m/s)	Y (m)	Vitesse (m/s)	Y (m)	Vitesse (m/s)	Y (m)	Vitesse (m/s)
Point 1	0,1	-0,004 -0,005	0,1	0,086 0,082	0,1	0,061 0,060	0,1	0,081 0,086	0,1	0,055 0,066	0,1	0,008 0,002		
Point 2	0,25	0,004 0,005	0,3	0,064 0,066	0,3	0,065 0,071	0,3	0,085 0,094	0,3	0,101 0,103	0,3	-0,002 0,000		
Point 3			0,6	0,128 0,130	0,6	0,090 0,088	0,6	0,085 0,077	0,6	0,108 0,102	0,6	0,004 0,001		
Point 4			0,85	0,113 0,115	0,9	0,084 0,080	0,9	0,088 0,092	0,9	0,120 0,121				
Point 5					1,2	0,120 0,113	1,2	0,093 0,096	1,25	0,119 0,103				
Point 6					1,4	0,125 0,120	1,4	0,104 0,098						
Point 7														
Point 8														
Point 9														
Point 10														

Annexe 2 : Présentation des milieux de culture bactériens

- Carba/OXA = Pour carbapénèmase, soit l'enzyme produite par des entérobactéries résistantes au carbapénèmes (β-lactamines), et Oxa-48-like, le principal phénotype retrouvé. Le milieu est bi-compartimenté. Le premier, « Carba », met en évidence les *E. coli*. Le second, « OXA », met en évidence les « KESC » : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* et *Citrobacter*.

- VRE = Pour Vancomycin Resistant Enterococci, directement l'appellation de la recherche d'*Enterococcus* résistants à la vancomycine, (famille des peptidoglycanes) , très peu utilisée de par son coût et des effets secondaires prépondérants, mais dont des souches résistantes se développent et subsistent. Ce milieu permet de détecter spécifiquement *E. faecium* et *E. faecalis*.

- MRSA = Pour Staphylococcus Aureus Meticillin Resistant, directement l'appellation de la recherche de souches de staphylocoque doré résistantes à la méticilline (famille des pénicillines). Cet antibiotique n'est plus utilisé depuis les années 80, mais le fait qu'un germe résistant à la méticilline l'est pour toutes les pénicillines le rend très utile à la recherche. Ce milieu a un spectre de recherche réduit au seul staphylocoque doré.

- BLSE = Pour β-lactamases à Spectre Étendu, soit la recherche de toutes les bactéries résistantes à tous les antibiotiques du genre β-lactamines. Ce terme renvoie potentiellement à plusieurs milieux, ici ont été utilisé des milieux Drigalski/McConkey en bi-compartiment. Un antibiotique marqueur est principalement utilisé, le cefpodoxime (céphalosporine), révélateur de ce mécanisme de résistance. Grace à la chromogénéité du milieu, on peut détecter et différencier *E. coli* de et des « KESC ».

- Mac Conkey + Ofloxacine = Ce milieu de culture est un milieu sélectif inhibant les bactéries « gram+ » et permettant de distinguer les bactéries capables de dégrader le lactose. Il a été associé à de l'ofloxacine pour détecter les résistances à celle-ci. Un très grand nombre de bactéries peuvent développer cette résistance, auquel cas aucune spéciation n'est possible (Cattoir, 2012).

- Mac Conkey = Même milieu de culture que pour la première étape sans l'ajout d'ofloxacine. Ici est recherché la caractéristique de dégradation du lactose.

- CNA = Autrement appelé « Columbia Agar », ce milieu où seuls des bactéries résistantes à la colymicine peuvent se développer est utilisé ici pour détecter le caractère hémolytique des bactéries élevées lors de la première étape.

Annexe 3 : Résultats bruts de la campagne d'échantillonnage bactérien

Date	Site	Nom_colonie	Morphologie	Identification	Lactose +/-	Type Hémolyse
19/02/2020	1	BB 1.1.1.1	267	?	-	
19/02/2020	1	BB 1.1.1.2	petite verte	?	-	
19/02/2020	10	BB 1.10.1.1	vert kaki	?	-	
19/02/2020	10	BB 1.10.1.2	vert foncé	?	-	
19/02/2020	10	BB 1.10.1.3	vert clair	?	-	
19/02/2020	11	BB 1.11.1.1	kaki	?	-	
19/02/2020	11	BB 1.11.1.2	vert foncé	?	-	
19/02/2020	11	BB 1.11.1.3	vert clair	?	-	
19/02/2020	12	BB 1.12.1.1	violet	?	-	
19/02/2020	12	BB 1.12.1.2	vert	?	-	
19/02/2020	12	BB 1.12.2.1	grande verte	?	-	
19/02/2020	13	BB 1.13.1.1	kaki	?	-	
19/02/2020	13	BB 1.13.1.2	grande verte	?	-	
19/02/2020	13	BB 1.13.1.3	petite verte	?	-	
19/02/2020	14	BB 1.14.1.1	vert clair	?	-	
19/02/2020	14	BB 1.14.1.2	vert foncé	?	-	
19/02/2020	8	BB 1.8.1.1	petite verte	?	-	
19/02/2020	8	BB 1.8.1.2	grande vert foncé	?	-	
19/02/2020	8	BB 1.8.1.3	grande vert clair	?	-	
19/02/2020	9	BB 1.9.1.1	vert caca d'oie	?	-	
19/02/2020	9	BB 1.9.1.2	petite vert foncé	?	-	
19/02/2020	9	BB 1.9.2.3	vert pale	?	-	
19/02/2020	1	C 1.1.1.1	petite rose	E.Coli	-	
19/02/2020	1	C 1.1.2.1	grande rose	E.Coli	-	
19/02/2020	13	C 1.13.1.2	rose pale	E.Coli	-	
19/02/2020	14	C 1.14.1.1	rose	E.Coli	-	

19/02/2020	8	C 1.8.1.1	grande rose	E.Coli	-	
19/02/2020	9	C 1.9.1.1	grande rose clair	E.Coli	-	
19/02/2020	1	Ox 1.1.2.1	petite rose	E.Coli	-	
19/02/2020	11	Ox 1.11.2.1	rose	E.Coli	-	
19/02/2020	13	Ox 1.13.1.1	petite rose	E.Coli	-	
19/02/2020	14	Ox 1.14.1.1	rose	E.Coli	-	
19/02/2020	8	Ox 1.8.1.1	petite rose	E.Coli	-	
19/02/2020	9	Ox 1.9.1.1	rose foncé	E.Coli	-	
19/02/2020	9	Ox 1.9.1.2	rose clair	E.Coli	-	
19/02/2020	1	V 1.1.1.1	caca d'oie foncé	E.faecalis		☐
19/02/2020	1	V 1.1.2.2	verte	E.faecalis		☐
19/02/2020	11	V 1.11.1.1	turquoise	E.faecalis		☐
19/02/2020	12	V 1.12.2.1	vert	E.faecalis		☐
19/02/2020	12	V 1.12.2.3	bleu	E.faecalis		☐
19/02/2020	13	V 1.13.1.2	?	E.faecalis		☐
19/02/2020	13	V 1.13.2.2	turquoise	E.faecalis		☐
19/02/2020	8	V 1.8.1.1	petite verte	E.faecalis		☐
19/02/2020	9	V 1.9.2.3	turquoise	E.faecalis		☐
19/02/2020	10	V 1.10.1.1	rose	E.faecium		☐
19/02/2020	11	V 1.11.1.2	violet	E.faecium		☐
19/02/2020	12	V 1.12.2.2	violet	E.faecium		☐
19/02/2020	13	V 1.13.1.1	rose	E.faecium		☐
19/02/2020	14	V 1.14.1.1	rose clair	E.faecium		☐
19/02/2020	8	V 1.8.1.2	petite rose	E.faecium		☐
19/02/2020	9	V 1.9.1.1	rose clair	E.faecium		☐
19/02/2020	9	V 1.9.2.1	violet	E.faecium		☐
19/02/2020	12	MO 1.12.1.1	rose	Entérobactéries	+	
19/02/2020	12	MO 1.12.1.2	rose foncé	Entérobactéries	+	
19/02/2020	14	MO 1.14.1.1	transparente à rose pâle (à 48h)	Entérobactéries		
19/02/2020	8	MO 1.8.1.1	transparente à rose pâle (à 48h)	Entérobactéries		

19/02/2020	9	MO 1.9.1.1	transparente à rose pâle (à 48h)	Entérobactéries	☐	
19/02/2020	1	BR 1.1.1.1	grande rose	KESC	-	
19/02/2020	1	BR 1.1.2.2	petite rose	KESC	-	
19/02/2020	10	BR 1.10.1.1	rose	KESC	-	
19/02/2020	10	BR 1.10.2.2	rose foncé	KESC	-	
19/02/2020	11	BR 1.11.1.2	rose foncé	KESC	-	
19/02/2020	12	BR 1.12.1.1	rose clair	KESC	+	
19/02/2020	12	BR 1.12.1.2	rose pale	KESC	-	
19/02/2020	12	BR 1.12.2.1	petite rose foncé	KESC	+	
19/02/2020	13	BR 1.13.1.1	rose pale	KESC	-	
19/02/2020	14	BR 1.14.1.1	rose clair	KESC	-	
19/02/2020	8	BR 1.8.1.1	grande rose foncé	KESC	-	
19/02/2020	8	BR 1.8.1.2	grande rose clair	KESC	-	
19/02/2020	9	BR 1.9.1.1	grand rose	KESC	-	
19/02/2020	9	BR 1.9.1.2	grande rose (différente 1.9.1.1)	KESC	-	
20/02/2020	10	C 1.10.1.1	turquoise	KESC	-	
19/02/2020	11	C 1.11.1.1	violet	KESC	-	
19/02/2020	11	C 1.11.2.1	turquoise	KESC	+	
19/02/2020	11	C 1.11.2.2	vert	KESC	-	
19/02/2020	12	C 1.12.1.1	?	KESC	-	
19/02/2020	12	C 1.12.2.1	violet	KESC	-	
19/02/2020	13	C 1.13.1.1	violette	KESC	-	
19/02/2020	9	C 1.9.2.1	bleu	KESC	-	
19/02/2020	9	C 1.9.2.2	violet	KESC	-	
20/02/2020	10	Ox 1.10.1.1	violette	KESC	-	
19/02/2020	11	Ox 1.11.1.1	violet	KESC	-	
19/02/2020	1	M 1.1.1.1	grande rose	S.Aureus		☐
19/02/2020	1	M 1.1.1.2	petite rose	S.Aureus		☐
19/02/2020	1	M 1.1.2.1	grande rose	S.Aureus		☐

19/02/2020	10	M 1.10.1.1	rose	S.Aureus		☐
19/02/2020	10	M 1.10.2.1	violet	S.Aureus		☐
19/02/2020	11	M 1.11.1.1	violet (?)	S.Aureus		☐
19/02/2020	12	M 1.12.1.1	pourpre	S.Aureus		☐
19/02/2020	12	M 1.12.1.2	magenta	S.Aureus		☐
19/02/2020	13	M 1.13.1.1	petite rose	S.Aureus		☐
20/02/2020	13	M 1.13.2.1	rose foncé	S.Aureus		☐
19/02/2020	14	M 1.14.2.1	rose foncé	S.Aureus		☐
19/02/2020	8	M 1.8.1.1	grande rose	S.Aureus		☐
19/02/2020	9	M 1.9.1.1	rose foncé	S.Aureus		☐
19/02/2020	9	M 1.9.1.2	rose clair	S.Aureus		☐

-

Annexe 4 : Implication personnelle

Intervenant	Idée originale	Bibliographie	Mise en place du protocole	Terrain jaugeage	Campagne microbiologique	Élaboration du modèle	Rédaction
Principal	MVQ, OBN	FFE	MVQ, OBN	FFE	FFE	FFE, OBN	FFE
Secondaires		MVQ, OBN	FFE	ATS	ATS		MVQ, OBN

FFE : Florian Ferchiche, stagiaire
MVQ : Marion Vittecoq, maître de stage
OBN : Olivier Boutron , maître de stage
ATS: Aides techniques

Durant mon stage, j'ai été impliqué personnellement dans toutes les tâches liées à ce projet. À partir de données préexistantes, j'ai construit et raffiné le maillage du modèle, ainsi que la bathymétrie. À partir du modèle d'un projet précédent, j'ai paramétré le modèle actuel et modifié les fichiers associés, en transformant et implémentant nos variables et des paramètres spécifiques. En concertation avec Olivier Boutron, j'ai testé et amélioré le modèle tout le long du stage jusqu'à sa forme finale.
Je me suis impliqué dans toutes les sorties terrains de jaugeage et de prélèvement d'eau, ainsi que les séances de filtration, culture et sélection repiquage pour la campagne microbiologique.
In fine, j'ai traité les résultats et entamé l'écriture de ce rapport en autonomie durant le confinement dû à l'épidémie de covid-19. J'ai par ailleurs effectué un travail de recherche bibliographique afin de déterminer différents paramètres de l'étude (valeur de T90, variables environnementales,…) et de discuter les résultats obtenus.

Du 17 mars au 15 juin, j'ai dû effectuer mon stage en télétravail du fait de la crise du Covid-19. Cette crise a modifié le sujet de mon stage, limité l'accessibilité du terrain et nécessité un travail en forte autonomie.
En plus des activités liées au stage, j'ai eu la chance de pouvoir participer à des activités d'autres projets scientifiques portés à la Tour du Valat, ou encore de participer à un colloque sur la qualité de l'eau à Polytech Montpellier.

Annexe 5 : Calendrier du projet

