

Diversité microbienne des zones de baignade : le cas de la baignade urbaine de METZ

Microbial diversity in bathing areas: the case of the METZ urban bathing area

Léopoldine Tairou¹, Pierre Le Cann¹, Anne Gerard¹, Jean Causse², Marion Porcherie³ et Marie-Florence Thomas¹

¹Univ Rennes, EHESP; Irset - UMR_S 1085, F 35000 Rennes, France

²Transcender, Rennes, France

³Univ Rennes, EHESP, Arènes, UMR CNRS 6051, Rennes, France

leopoldine.tairou@ehesp.fr ; pierre.lecann@ehesp.fr ; anne.gerard@ehesp.fr

jeancausse@gmail.com; marion.porcherie@ehesp.fr ; marie-florence.thomas@ehesp.fr

RÉSUMÉ

Dans le contexte du changement climatique et d'urbanisation croissante, les plans d'eau et rivières urbains sont reconsidérés pour des usages récréatifs, tel que la baignade. Ce travail réalisé dans le cadre du projet URB-Bain, évalue les défis de la réintroduction de la baignade dans les eaux urbaines, en prenant la ville de Metz comme exemple. Elle examine les risques sanitaires et la diversité microbienne dans les rivières urbaines, en se concentrant sur la variabilité spatiale et temporelle. Deux campagnes de prélèvements ont été menées : l'une en septembre 2022, avec 20 échantillons prélevés en amont et dans le site de baignade pressenti, et l'autre pendant l'été 2023, avec des prélèvements sur huit jours dans cinq points différents. L'étude a étudié les paramètres sanitaires et analysé la diversité microbienne en utilisant la métagénomique. Les résultats montrent des variations significatives dans les concentrations des paramètres sanitaires, influencées par des facteurs locaux et météorologiques, soulignant l'importance d'une surveillance renforcée pour garantir la sécurité des baigneurs. De plus, aucune tendance spatiale n'a été observée pour la diversité microbienne. À l'inverse, une variation temporelle claire a été notée, possiblement liée à des paramètres physico-chimiques et hydrométéorologiques. Bien qu'aucun lien direct n'ait été établi entre la qualité sanitaire de l'eau et la diversité microbienne, l'étude met en avant les opportunités et les obstacles liés à l'utilisation de la métagénomique pour étudier la diversité microbienne dans les eaux douces.

ABSTRACT

In the context of climate change and increasing urbanization, urban water bodies are being reconsidered for recreational use, such as swimming. This study, part of the URB-Bain project, assesses the challenges of reintroducing swimming in urban waters, using the city of Metz as an example. It investigates sanitary risks and microbial diversity in urban rivers, focusing on spatial and temporal variability. Two sampling campaigns were conducted: one in September 2022, with 20 samples from five sites, and another during the summer of 2023, with eight-day sampling at five locations. The study measured sanitary parameters and analysed microbial diversity using metagenomics. The results show significant variations in the concentrations of sanitary parameters, influenced by local and meteorological factors, underlining the importance of regular and appropriate monitoring to ensure public safety. Additionally, whereas no spatial patterned were observed for microbial diversity, it followed a clear temporal variation possibly linked to physico-chemical and hydrometeorological parameters. Although no direct link has been established between water sanitation and microbial diversity, the study highlights the opportunities and obstacles in using metagenomics to study microbial diversity in freshwater.

MOTS CLÉS

Baignade urbaine, Diversité microbienne, Métagénomique, Qualité de l'eau, Surveillance

Urban bathing, Microbial diversity, Metagenomic, Water quality, Monitoring

1 INTRODUCTION

Dans un contexte de changement climatique et d'urbanisation croissante, la question des eaux dans la ville (rivière, canal, ...) comme zone potentielle de baignade ou de loisirs s'impose de plus en plus dans la réflexion commune. La baignade en rivières urbaines soulève des questions cruciales en matière de santé publique et d'environnement. Accompagner cette nouvelle pratique est un enjeu de santé publique et demande de s'interroger sur les risques sanitaires associés tout en tenant compte de la préservation des milieux aquatiques. Avec l'essor d'approche holistique tel que le concept « One health » prenant en compte à la fois les objectifs sanitaires et environnementaux, on observe une volonté de questionner les outils et méthode actuels de suivi de la qualité de l'eau. (Van Bruggen et al., 2019) Le travail présenté s'inscrit dans le projet URB-Bain qui vise à étudier la faisabilité du retour de la baignade en milieu urbain en prenant comme exemple la ville de Metz. Le projet interroge notamment la pertinence des paramètres sanitaires (microbiologiques) dans un contexte urbain plus vulnérable aux rejets urbains tout en s'intéressant à sa diversité microbienne et en analysant les liens possibles entre l'état sanitaire d'un cours d'eau et cette diversité.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 Campagnes et points de prélèvements

Pour étudier à la fois la variabilité spatiale et la variabilité temporelle deux campagnes de prélèvement ont eu lieu. Durant la 1^{ère} campagne en septembre 2022, 20 prélèvements ponctuels ont été réalisés (septembre 2022) répartis entre 5 sites d'étude (Le Plan d'Eau, le Bain des remparts, le long de la Moselle, le long du Canal de Jouy et le Bras mort) incluant le site pressenti comme lieu de baignade (le Plan d'Eau). Lors de la 2^{ème} campagne, des prélèvements ont été réalisés durant 8 jours différents pendant la période estivale entre juin et septembre 2023 sur 5 points géographiques proches et incluant le point de baignade (uniquement dans le Plan d'Eau et le Bain des remparts).

2.2 Paramètres sanitaires, séquençage et métagénomique

Lors de la 1^{ère} et de la 2^{ème} campagne, les concentrations en *Escherichia coli* (*E. coli*) et Entérocoques intestinaux ont été mesurées. De plus, lors de la 2^{ème} campagne, les concentrations en norovirus (G1 et G2) et rotavirus du groupe A ont été mesurées.

Pour tous les échantillons, 100 mL d'eau de rivière ont été filtrés sur membrane en polycarbonate à 0,22 µm afin de concentrer les microorganismes puis une extraction d'ADN a été réalisée directement sur le filtre avec le kit Dneasy power water de QIAGEN. Les extraits d'ADN ont été séquencés avec la méthode shotgun sur un séquenceur Illumina NovaSeq 6000. L'identification et la quantification des taxons présents dans les échantillons ont été réalisés à l'aide d'une suite logicielle développée pour le projet s'appuyant sur l'outil d'analyse bioinformatique Metaphlan4.

2.3 Exploitation des résultats

Le logiciel R a été utilisé pour l'exploitation des données en sortie d'analyse de séquences. Deux types de diversité microbienne ont été calculés. La diversité alpha, c'est-à-dire la diversité des espèces dans les différents sites en se concentrant principalement sur le nombre d'espèces dans des habitats locaux homogènes, a été estimée à l'aide de trois indicateurs : le nombre d'espèces, l'indice de Shannon et l'indice de Simpson. L'indice de Shannon mesure l'incertitude : est-il difficile de prédire correctement l'espèce du prochain individu tiré au sort ? Plus la valeur est grande plus l'incertitude est grande et plus la diversité est grande. Il donne plus d'importance aux espèces rares et aux nombres d'espèces. L'indice de Simpson mesure la probabilité que deux individus pris au hasard proviennent de la même espèce. Il donne plus d'importance à la distribution des espèces. Pour faciliter l'interprétation des valeurs, la valeur 1-D a été utilisée. Les valeurs sont comprises entre 0 (faible diversité) et 1 (forte diversité). La diversité beta qui analyse la différence de composition entre les échantillons a été estimée par la technique de la distance de Bray-Curtis. Une ACoP (Analyse des coordonnées principales) a été utilisée pour représenter graphiquement cette diversité beta.

3 RESULTATS

3.1 Sanitaire

La figure 1 représente la variabilité spatiale de *E. coli* le long des cours d'eau et au sein du site de baignade

pressenti ainsi que l'évolution temporelle durant la période estivale. La concentration en *E. coli* est significativement plus importante dans le Plan d'eau que sur tous les autres sites. Les valeurs analysées vont de 510 à 9000 MPN/100 mL tandis que les valeurs sur tous les autres sites confondus varient de 15 à 390 MPN/100 mL. La concentration en Entérocoques intestinaux suit la même tendance. On observe une variabilité interne au Plan d'Eau avec les deux plus fortes valeurs au niveau de l'entrée Sud-Est (figure 1.A).

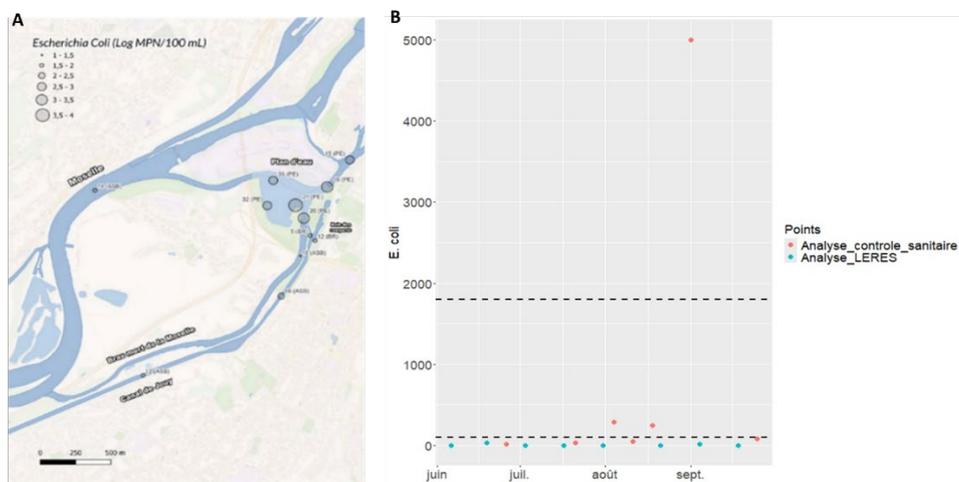


Figure 1: Variabilité spatiale (A) et temporelle au niveau du point de baignade (B) de la concentration d'*E. coli*

Pendant la 2^{ème} campagne, le contrôle sanitaire du point de baignade a également été réalisé par un autre laboratoire. Les dates exactes des échantillons du contrôle sanitaire et celle de l'étude n'étant pas les mêmes, il a été décidé de les ajouter sur un même graphique pour obtenir une plus grande résolution temporelle. Tous les échantillons de l'étude étaient dans la catégorie « bonne qualité » pour la concentration en *E. coli* (figure 1.B) et celle en Entérocoques intestinaux mais certains échantillons du contrôle sanitaire étaient dans la catégorie « moyenne qualité » et surtout l'échantillon du 1^{er} septembre était dans la catégorie « mauvaise qualité » et présentait une concentration en *E. coli* et Entérocoques intestinaux très élevée. Par ailleurs, pour tous les échantillons de la 2^{ème} campagne, les concentrations de norovirus et rotavirus étaient inférieures au seuil de détection (<2500 UG/L).

3.2 Diversité microbienne

Lors de la 1^{ère} campagne, il n'a pas été mis en évidence de variabilité inter-sites (figure 2.A) ou d'une tendance spatiale le long de la Moselle de la diversité microbienne. A l'inverse, une grande variabilité intra-site a été observée (figure 2.A). Ces résultats contrastent avec les résultats de la caractérisation sanitaires des sites d'étude qui avaient mis en évidence une différence de concentration d'*E. coli* et d'entérocoques intestinaux entre les différents sites. De plus, aucun lien n'a pu être établi entre le statut sanitaire de l'eau et le niveau de diversité microbienne.

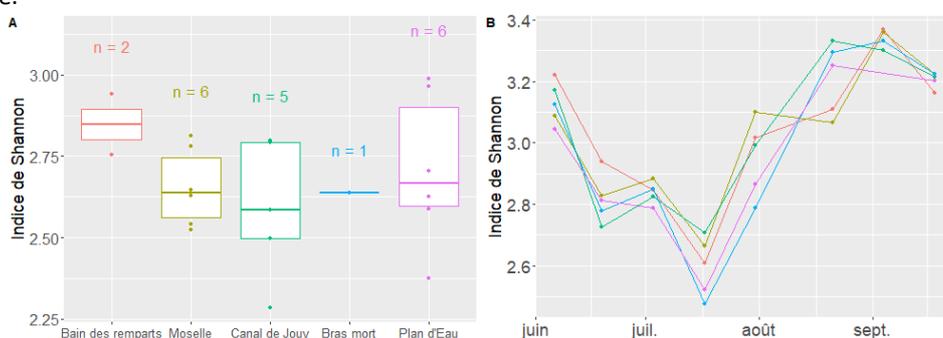


Figure 2: Variabilité spatiale (A) et temporelle (B) de la diversité alpha représentée par l'indice de Shannon

Lors de la 2^{ème} campagne, la même tendance temporelle est observable pour les indices de Shannon et Simpson pour tous les points géographiques. La diversité diminue jusqu'à atteindre un minimum mi-juillet avant d'augmenter (figure 2.B) L'analyse de la beta-diversité, a permis de mettre en avant un changement de communautés microbiennes entre les échantillons de juin 2023 et ceux des mois suivants ; bien que les niveaux de diversité de juin et de septembre soient les mêmes, les communautés microbiennes ne sont pas identiques.

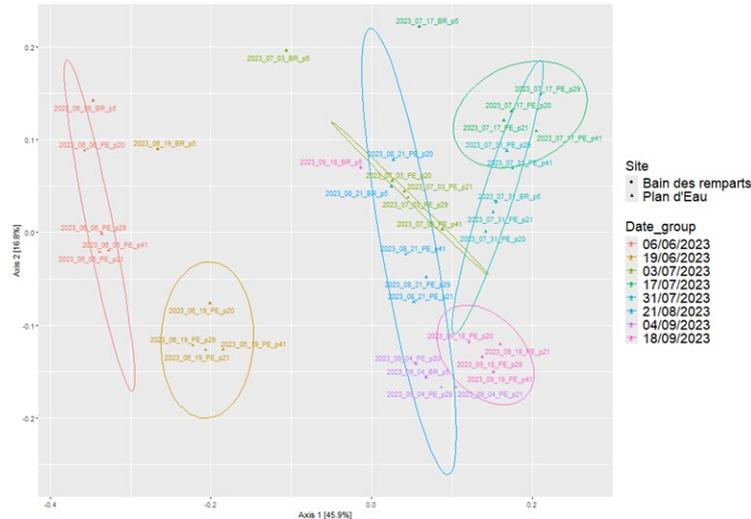


Figure 3 : Analyse de la diversité bêta des échantillons de la 2^{ème} campagne selon la date d'échantillonnage. Graphique PCoA basé sur la matrice de distance Bray-Curtis, illustrant les modèles de regroupement des différentes dates de prélèvement

4 DISCUSSION

4.1 Contrôle sanitaire en milieu urbain

La contamination en *E. coli* de la 1^{ère} campagne est probablement interne au Plan d'eau. Etant donné la présence d'un mouillage de bateaux à proximité de l'entrée Sud-Est au niveau de laquelle se situaient les fortes valeurs, on peut supposer que la variabilité en *E. coli* est due à des rejets de bateaux. Les résultats de la 2^{ème} campagne montrent le besoin d'une surveillance régulière et d'adapter le contrôle aux conditions hydrométéorologiques. L'analyse des conditions météorologiques préalables à l'échantillon à fort taux de bactéries pathogène a montré qu'il faisait suite à un évènement de pluie intense les jours précédents. Par ailleurs, il serait utile d'augmenter les points de surveillance (pas uniquement le point de baignade) afin d'identifier les sources de pollutions. Le profil de baignade devrait aider à définir ces points. La mesure des virus n'a pas mis en évidence de contaminations ce qui laisse supposer qu'actuellement la technique n'est pas pertinente à ajouter au contrôle sanitaire. Il faut cependant noter que le seuil de détection est élevé (<2500 UG/L) et qu'un développement de la technique augmenterait peut-être la pertinence de son utilisation comme outil de surveillance sanitaire.

4.2 Diversité microbienne dans une rivière

L'ordre de grandeur des niveaux de diversité alpha est le même pour les deux campagnes. Le nombre d'espèces mesuré dans les échantillons est bas en comparaison à d'autres études (<110 espèces par échantillon). Les valeurs de l'indice de Shannon sont moyennes tandis que celles de l'indice de Simpson sont élevées. (Pérez-Cobas et al., 2020; Premke et al., 2022; Sekizuka et al., 2022; Song et al., 2022) L'indice de Shannon donne plus d'importance aux nombres d'espèces et celui de Simpson à l'homogénéité de la population. Cela indique qu'un faible nombre d'espèces semble être présent mais réparti de façon homogène. L'interprétation des indicateurs de diversité reste complexe. L'étude de la diversité microbienne dans les eaux douces de surface est compliquée car peu d'espèces sont bien caractérisées. Sachant que les résultats varient en fonction de la banque de données utilisée, le manque de consensus dans les méthodes à utiliser rend les comparaisons entre les résultats de différentes études difficiles. La tendance temporelle observée lors de la deuxième campagne est possiblement expliquée par la variation de paramètres physico-chimiques et hydrométéorologiques. En effet, des anti-corrélations significatives entre les indices de diversité et la température de l'eau, la concentration de chlorophylle et les précipitations cumulées sur 3 jours sont observées.

5 CONCLUSION

La présente étude met en évidence les défis liés à la réintroduction de la baignade urbaine, notamment la gestion de la qualité de l'eau. Les résultats montrent des variations significatives des concentrations de microorganismes, influencées par des facteurs locaux et météorologiques, soulignant l'importance d'une surveillance régulière et adaptée. Bien qu'aucun lien direct n'ait été établi entre l'état sanitaire de l'eau et la diversité microbienne, cette étude montre les opportunités et obstacles de l'utilisation de la métagénomique pour l'étude de la diversité microbienne dans l'eau douce et nécessite une analyse sur un nombre plus conséquent d'échantillons.

BIBLIOGRAPHIE

Pérez-Cobas, A. E., Gomez-Valero, L., & Buchrieser, C. (2020). Metagenomic approaches in microbial ecology : An update on whole-genome and marker gene sequencing analyses. *Microbial Genomics*, 6(8), mgen000409. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000409>

Premke, K., Wurzbacher, C., Felsmann, K., Fabian, J., Taube, R., Bodmer, P., Attermeyer, K., Nitzsche, K. N., Schroer, S., Koschorreck, M., Hübner, E., Mahmoudinejad, T. H., Kyba, C. C. M., Monaghan, M. T., & Hölker, F. (2022). Large-scale sampling of the freshwater microbiome suggests pollution-driven ecosystem changes. *Environmental Pollution*, 308, 119627. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119627>

Sekizuka, T., Itokawa, K., Tanaka, R., Hashino, M., Yatsu, K., & Kuroda, M. (2022). Metagenomic Analysis of Urban Wastewater Treatment Plant Effluents in Tokyo. *Infection and Drug Resistance*, 15, 4763-4777. <https://doi.org/10.2147/IDR.S370669>

Song, D., Huo, T., Zhang, Z., Cheng, L., Wang, L., Ming, K., Liu, H., Li, M., & Du, X. (2022). Metagenomic Analysis Reveals the Response of Microbial Communities and Their Functions in Lake Sediment to Environmental Factors. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(24), 16870. <https://doi.org/10.3390/ijerph192416870>

van Bruggen, A. H. C., Goss, E. M., Havelaar, A., van Diepeningen, A. D., Finckh, M. R., & Morris, J. G. (2019). One Health—Cycling of diverse microbial communities as a connecting force for soil, plant, animal, human and ecosystem health. *Science of The Total Environment*, 664, 927-937. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.091>