

SYNTHESE OPERATIONNELLE

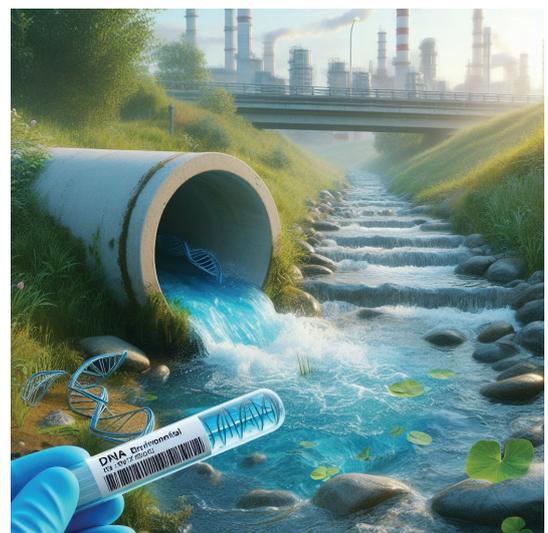
Quels indicateurs de performance utiliser pour déterminer l'impact de la réduction de surverses de déversoirs d'orage sur l'état écologique des cours d'eau intermittents récepteurs

REDACTEURS : Adrien Meynier
Pozzi LEM-BPOE, Laëtitia Bacot
Graie/OTHU, Elodie Brelot Graie,
Benoit Cournoyer, LEM-BPOE ,
EN APPUI SUR LE CONSORTIUM
DU PROJET

Avec le soutien de :

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-------------|
| 1. CONTEXTE ET PROBLÉMATIQUE | . 2 |
| 1.1 Déversoirs d'orage et cours d'eaux intermittents : pourquoi s'y intéresser ? | . 2 |
| 1.2 Existe-t-il de nouveaux indicateurs pour estimer l'effet de la réduction des surverses ? | . 3 |
| 2. QUEL DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL AVONS-NOUS UTILISÉ POUR DÉFINIR DE NOUVEAUX INDICATEURS DE SURVERSE ? | . 4 |
| 2.1 Quel design expérimental le projet Domic a-t-il utilisé ? | . 4 |
| 2.2 Comment définir et détecter ces nouveaux indicateurs de surverses ? | . 4 |
| 3. QUELLES SONT LES PRÉCAUTIONS ET RECOMMANDATIONS UTILES POUR LA DÉTECTION DES INDICATEURS MICROBIENS DE SURVERSE ? | . 6 |
| 3.1 - Quelles sont les espèces bactériennes indicatrices ? | . 6 |
| 3.2 Comment échantillonner ? Quelle matrice et géomorphologie sont recommandées ? | . 7 |
| 3.3 - Comment interpréter les espèces bactériennes indicatrices de surverse ? | . 9 |
| 4. MISE EN ŒUVRE DE LA TROUSSE À OUTILS « DOMIC » ET RETOURS D'EXPÉRIENCE SUR L'ÉTUDE | . 10 |
| 4.1 - Comment mettre en œuvre ces indicateurs ? | . 10 |
| 4.2 Comment lier propriétés hydrologiques, indicateurs microbiens et impact sur le milieu ? | . 11 |
| ; | |
| 5. SYNTHÈSE ET PERSPECTIVES | . 12 |





1. Contexte et problématique

1.1 Déversoirs d'orage et cours d'eaux intermittents : pourquoi s'y intéresser ?

Les déversoirs d'orage (DO) sont des ouvrages permettant la surverse de réseaux unitaires par dérivation, à la conception et aux fonctionnements très hétérogènes. Leur objectif hydraulique initial est d'atténuer l'impact des apports d'eaux pluviales dans ces réseaux. Les DO empêchent la surcharge des réseaux en cas de fortes pluies et les conséquences négatives qui en découlent (inondation des rues, rejets des eaux usées sans traitement et perturbation des stations d'épuration), mais ils produisent également des rejets urbains par temps de pluie (RUTP, mélange non traité d'eaux de ruissellement et d'eaux usées) qui ont un impact sur l'état sanitaire et écologique des masses d'eau réceptrices.

Depuis la directive européenne sur le traitement des eaux résiduaires urbaines (DERU, 91/271/CE), et les directives nationales qui en découlent telles que les arrêtés du 21 juillet 2015 et du 31 juillet 2020, s'ajoute à l'objectif hydraulique initial un objectif de préservation de la qualité du milieu récepteur. Ces réglementations visent à diminuer les impacts des DO par la réduction des rejets (Encadré n°1 : Réglementation).

Les rejets de DO constituent une pression importante sur les cours d'eau intermittents (CEI). Les CEI sont caractérisés par l'absence de débit mesurable pendant une partie de chaque année, ou au moins deux fois tous les cinq ans. Bien qu'au niveau mondial les CEI soient plutôt la règle et les cours d'eau pérennes l'exception, les CEI sont souvent négligés par les autorités et les études, et dépréciés par le public, en raison des périodes à-sec. Ces cours d'eau sont nombreux dans le bassin Rhône Méditerranée Corse, et le seront probablement encore davantage dans le futur selon les scénarios d'évolution climatiques actuels.

Do : Déversoirs d'orage

RUTP : Rejets urbains de temps de pluie

CEI: Cours d'eau intermittents



Lors de fortes précipitations, les volumes importants rejetés par les DO peuvent représenter jusqu'à 100% de l'eau qui transite dans un CEI, ce qui fait d'eux des milieux récepteurs nettement plus sensibles aux surverses de DO que les cours d'eau pérennes dont la capacité de dilution des surverses est plus importante.

RÉGLEMENTATION

Les arrêtés du 21 juillet 2015 et du 31 juillet 2020 définissent les ouvrages soumis à une autosurveillance réglementaire par les collectivités. Selon la charge brute de pollution organique collectée par temps sec au droit d'un DO, les collectivités doivent soit estimer, soit mesurer, ce débit. Les DO comprennent également les trop-pleins de poste de relèvement ≥ 120 kg/j de DBO5 pour lesquels il est nécessaire de mesurer le temps de déversement journalier. Pour les DO ≥ 600 kg/j de DBO5 et déversant plus de 10 j/an en moyenne quinquennale, il est demandé en plus d'estimer la charge polluante (DBO5, DCO, MES, NTK, Ptot).

L'arrêté du 31 juillet 2020 définit la conformité du système de collecte au regard du respect de l'une des options suivantes : les RUTP représentent (i) moins de 5 % des volumes d'eaux usées produits dans la zone desservie, sur le mode unitaire ou mixte, par le système de collecte, ou (ii) moins de 5 % des flux de pollution produits dans la zone desservie par le système de collecte concerné, ou (iii) moins de 20 jours de déversement sont constatés au niveau de chaque DO soumis à autosurveillance réglementaire.

L'objectif du suivi des déversements vers le milieu naturel est de définir la conformité du système d'assainissement dans une perspective de préservation des milieux aquatiques. Pour les DO non-conformes, plusieurs solutions existent : modification hydraulique de l'ouvrage (par exemple rehausse du seuil pour éviter les déversements trop fréquents), voir suppression de l'ouvrage, mais aussi la mise en œuvre d'une stratégie à l'échelle du bassin amont de déconnection et infiltration des eaux pluviales.

1.2 Existe-t-il de nouveaux indicateurs pour estimer l'effet de la réduction des surverses ?

Un indicateur environnemental est un outil d'évaluation et d'aide à la décision, élaboré à partir d'un élément mesurable permettant de considérer l'état et/ou l'évolution d'un environnement (Encadré n°2 : Indicateurs).

La majorité, sinon la totalité, des indicateurs existants pour les DO sont centrés sur une mesure quantitative ou qualitative du rejet (débit, température, conductivité seule ou associée à la turbidité, pH, rédox, O₂, hydrocarbures, NH₄, DBO, NTK, P total, dénombrement de bactéries indicatrices fécales). Peu sont directement transposables à une approche centrée sur une mesure de l'état du milieu récepteur. Mais quelle est leur pertinence vis-à-vis de l'impact sur l'état du cours d'eau récepteur ? Et surtout comment évaluer l'efficacité de la réduction des rejets sur l'amélioration de la qualité du cours d'eau récepteur ?

Le bon état écologique d'une masse d'eau est parfois difficile à mesurer, et les méthodes restent limitées. Des indicateurs tels que les invertébrés benthiques et les poissons existent. Cependant, ils sont peu adaptés à l'évaluation de la qualité de CEI, têtes de bassins versants et masses d'eau urbaines ; en effet, l'hydrologie, les niveaux trophiques ou de pollution de ces milieux sont souvent incompatibles avec la présence d'invertébrés et de poissons indicateurs d'un bon état écologique. Dans de tels cas, les indicateurs microbiens, dont la diversité est représentative des multiples pressions supportées par les milieux, peuvent apporter une solution à l'estimation de la qualité de telles masses d'eau.

QUALITÉS ATTENDUES D'UN INDICATEUR

Un indicateur, qu'il soit physique, chimique ou biologique, doit pouvoir (i) refléter l'état biotique ou abiotique d'un système, (ii) fournir une preuve de l'impact de changements environnementaux, ou (iii) être utilisé pour prédire d'autres propriétés physiques, ou la diversité d'éléments chimiques ou d'espèces biologiques dans une aire donnée. Ils peuvent ainsi permettre de dégager des tendances (amélioration, situation stable, dégradation). La validité intrinsèque d'un indicateur est définie par deux composantes, sa spécificité et sa sensibilité. Dans le cas d'une espèce bactérienne indicatrice de surverses de DO, la spécificité (ou valeur prédictive positive de l'espèce indicatrice) est la probabilité que le cours d'eau étudié a reçu de l'eau de surverse, compte tenu du fait que l'espèce indicatrice a été détectée. La sensibilité (ou fidélité de l'espèce indicatrice) est la probabilité de trouver l'espèce indicatrice dans les eaux de surverse de DO. Un bon indicateur doit être à la fois (i) spécifique, sensible et robuste, pour refléter effectivement les variations de ce qu'il est censé synthétiser, (ii) compréhensible et facilement utilisable par tous les acteurs, (iii) à faible coût.



2. Quel dispositif expérimental avons-nous utilisé pour définir de nouveaux indicateurs de surverses ?

2.1 Quel design expérimental le projet DOmic a-t-il utilisé ?

Un « DO modèle » faisant partie de l'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaines (OTHU) a été suivi sur le long terme (plus de 20 ans), avant et après une modification de l'ouvrage (rehausse du seuil de surverse) qui visait à réduire le nombre de surverse à moins de 20 jours calendaires par an. Ce DO déverse dans la Chaudanne, un CEI dont le bassin versant est à usage mixte et qui est un affluent de la rivière l'Yzeron, elle-même affluent du fleuve Rhône.

Le protocole de suivi sur le cours d'eau récepteur mis en place est le suivant :

- **Matrices** : les eaux superficielles (état instantané du cours d'eau), les sédiments benthiques et les sédiments hyporhéiques (état de plus long terme)
- **Sites** : deux séquences géomorphologiques plat-seuil-mouille situées en amont (référence de l'état du cours d'eau non impacté par l'ouvrage à étudier) et en aval de l'exutoire du DO (évaluation de l'impact du DO étudié sur le cours d'eau),
- **Temporalité** : un an de suivi mensuel avant conformité, et analyse fine de trois périodes de trois semaines chacune avant et après mise en conformité.

La conformité du DO a été étudiée selon le critère de fréquence de rejets annuels.

Un suivi hydrologique a été réalisé sur le long terme (2007 à 2021, sachant que la rehausse du seuil a été réalisée en 2016), avec en moyenne 60 mesures de débit par jour, et 105 mesures de hauteur d'eau par jour.

La mise en conformité a été confirmée, avec 5 à 20 jours calendaires par an avec surverse (intervalle de confiance à 95%, sur 5 ans de mesures). Elle s'est accompagnée d'un changement de régime des surverses : diminution du nombre de surverses, augmentation de la durée et des volumes moyens, mais diminution des durées et volumes maximaux, et saisonnalité presque exclusivement estivale.

2.2 Comment définir et détecter ces nouveaux indicateurs de surverse ?

Une approche de méta-code-barre de l'ADN environnemental (ADNe) permet d'identifier des signatures spécifiques aux différents types d'eau et de milieux, du fait de l'abondance relative de plusieurs centaines d'espèces bactériennes (Figure n°1 : méta-code-barre de l'ADN environnemental). Ainsi, la démarche a consisté à rechercher des signatures spécifiques aux rejets des déversoirs d'orage.

Le protocole pour le séquençage est le suivant :

- ✓ 1. L'ADNe est extrait de chacun des échantillons prélevés dans le cours d'eau (kit commercial). La séquence d'ADN cible permettant l'identification de l'espèce bactérienne (portion du gène *tpm* codant l'enzyme thiopurine-S-méthyltransférase, 220 paires de bases) est amplifiée par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) avec des amorces à façon.
- ✓ 2. Les produits de PCR (amplicons) sont transmis à un prestataire pour effectuer une seconde PCR suivie du séquençage d'amplicon (technologie Illumina MiSeq v3, double brin de 250 paires de bases, profondeur minimum de 30K séquences par échantillon).
- ✓ 3. Les séquences d'ADNe sont classées par espèces bactériennes bien identifiées par comparaison à une base de données.
- ✓ 4. Une analyse bio-informatique permet de convertir les données de séquençage en table de contingence (comptage de chaque espèce par échantillon).

Les espèces bactériennes indicatrices de surverse ont été définies par trois méthodes indépendantes qui ont permis de les distinguer significativement de celles associées à une contamination de fond du cours d'eau (Figure n°2 : Coalescence de communautés microbiennes).

Leur spécificité, leur sensibilité et leur robustesse ont été évaluées, notamment au regard de la constance des réponses en amont et en aval du DO. Leurs réponses à différents polluants a également été évaluée (trois indicateurs de contamination fécale, trois éléments traces métalliques, et 17 HAP).



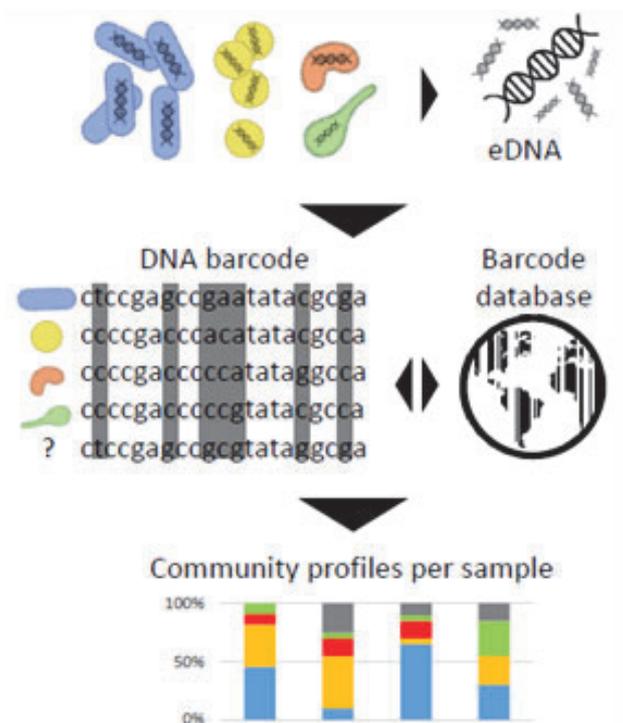
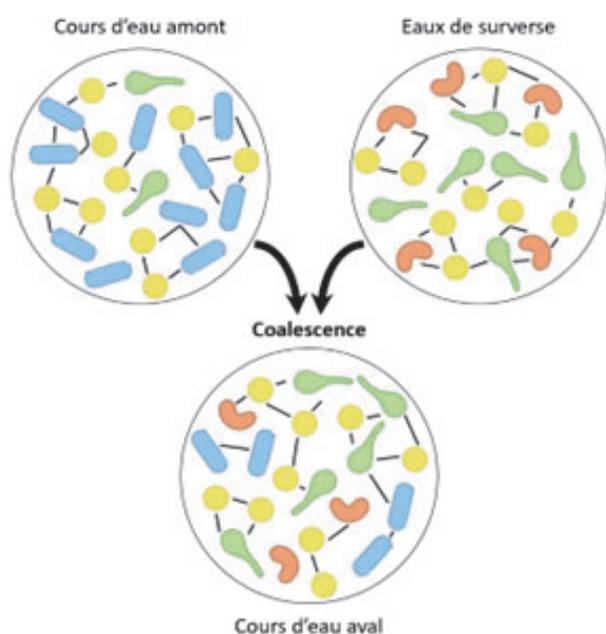


Figure n°1 : Principe du méta-code-barre de l'ADN environnemental (ADNe)

Différentes espèces bactériennes, symbolisées par des couleurs et des formes différentes, coexistent en nombre variable dans un même environnement. Chaque espèce porte dans son ADN une copie du gène cible, ici le gène *tpm* codant la thiopurine-S-méthyltransférase. L'ADNe total est extrait de chacune des cellules simultanément (d'où le préfixe méta). L'ADNe est ensuite amplifié, puis séquencé. Chaque séquence est constituée de bases nucléotidiques (adénine, cytosine, guanine, thymine ; lettres A, C, G et T). Certaines bases nucléotidiques sont invariables d'une séquence à l'autre, tandis que d'autres sont variables (cadre gris foncé). C'est la succession unique de chaque base qui permet d'identifier l'espèce bactérienne par comparaison à une base de données (code-barre). En identifiant l'ensemble des séquences présentes dans un échantillon, on peut déterminer le nombre relatif de chacune des espèces, et obtenir ainsi un profil de communauté (ensemble des espèces). Si l'espèce bactérienne rouge est indicatrice de surverse, les trois premiers échantillons proviennent d'un cours d'eau impacté par un DO, mais pas le dernier.



Les communautés bactériennes (ensemble des espèces symbolisées par des couleurs et des formes différentes) du cours d'eau amont et des eaux de surverse sont différentes dans leur composition (quantité de chaque espèce) et dans leur interaction (liens entre les espèces). Lors d'une surverse de DO, ces deux communautés différentes se rencontrent et forment par coalescence une organisation entièrement nouvelle. Dans le cours d'eau aval, l'espèce bleu est beaucoup moins abondante qu'en amont, l'espèce verte plus abondante qu'en amont, l'espèce jaune aussi abondante qu'en amont mais elle n'établit plus d'interaction avec l'espèce bleu, et l'espèce rouge est détectée. Si l'espèce bactérienne rouge est indicatrice de surverse, sa détection dans le cours d'eau aval fournit la preuve de l'impact environnemental de la surverse, et reflète également l'état biotique perturbé de la communauté bactérienne en aval par rapport à celui de la communauté bactérienne en amont du DO.

Figure n°2 : Coalescence de communautés microbiennes du DO et du cours d'eau récepteur



3. Quelles sont les précautions et recommandations utiles pour la détection des indicateurs microbiens de surverse ?

3.1 - Quelles sont les espèces bactériennes indicatrices ?

Le protocole expérimental nous a permis de resserrer progressivement la liste des bactéries les plus représentatives des rejets des déversoirs d'orage.

| | |
|------|---|
| 100 | Parmi toutes les espèces bactériennes testées, moins d'une centaine peuvent être significativement associée aux eaux de surverse de DO. |
| 34 | 34 ont une spécificité et sensibilité satisfaisantes, parfois subordonnée à la matrice échantillonnée. |
| 5-10 | Un top 10 et un top 5 ont été établis, soit parce que significativement plus abondantes en aval du DO, soit parce que répondant à un ou plusieurs des polluants testés |
| 2 | Enfin, le top 2 est constitué des deux meilleures espèces indicatrices de surverse : <i>Aeromonas media</i> et <i>Pseudomonas oleovorans</i> . Elles sont statistiquement significatives, hautement spécifiques et sensibles. Elles sont indépendantes de la matrice échantillonnée, robustes et corrélées à des polluants. |

La trousse à outils "DOMic" est donc établie sur la base des 34 espèces bactériennes indicatrices de surverses de déversoirs d'orage (Tableau 1). L'annexe 1 synthétise les différents TOPs de bactéries indicatrices proposées pour permettre une analyse moins ciblée mais plus rapide.

Tableau n°1 : Trousse à outils « DOmic », espèces bactériennes les plus pertinentes pour suivre les effets des surverses de déversoir d'orage sur les cours d'eau intermittent.

| | | Haute spécificité et sensibilité pour DO | | | Moins spécifique |
|-------------------------|-----|--|--|---------------------|--------------------------------------|
| | | Toutes matrices | Sédiments | Eaux superficielles | |
| Corrélation polluant(s) | Oui | A. media* P. oleovorens* | A. hydrophila* | A. caviae* | P. extremaustralis P. sagittaria* |
| | Non | S. acidaminiphila* S. daejeonensis* | A. salmonicida A. veronii P. alcaliphila | NA | NA |

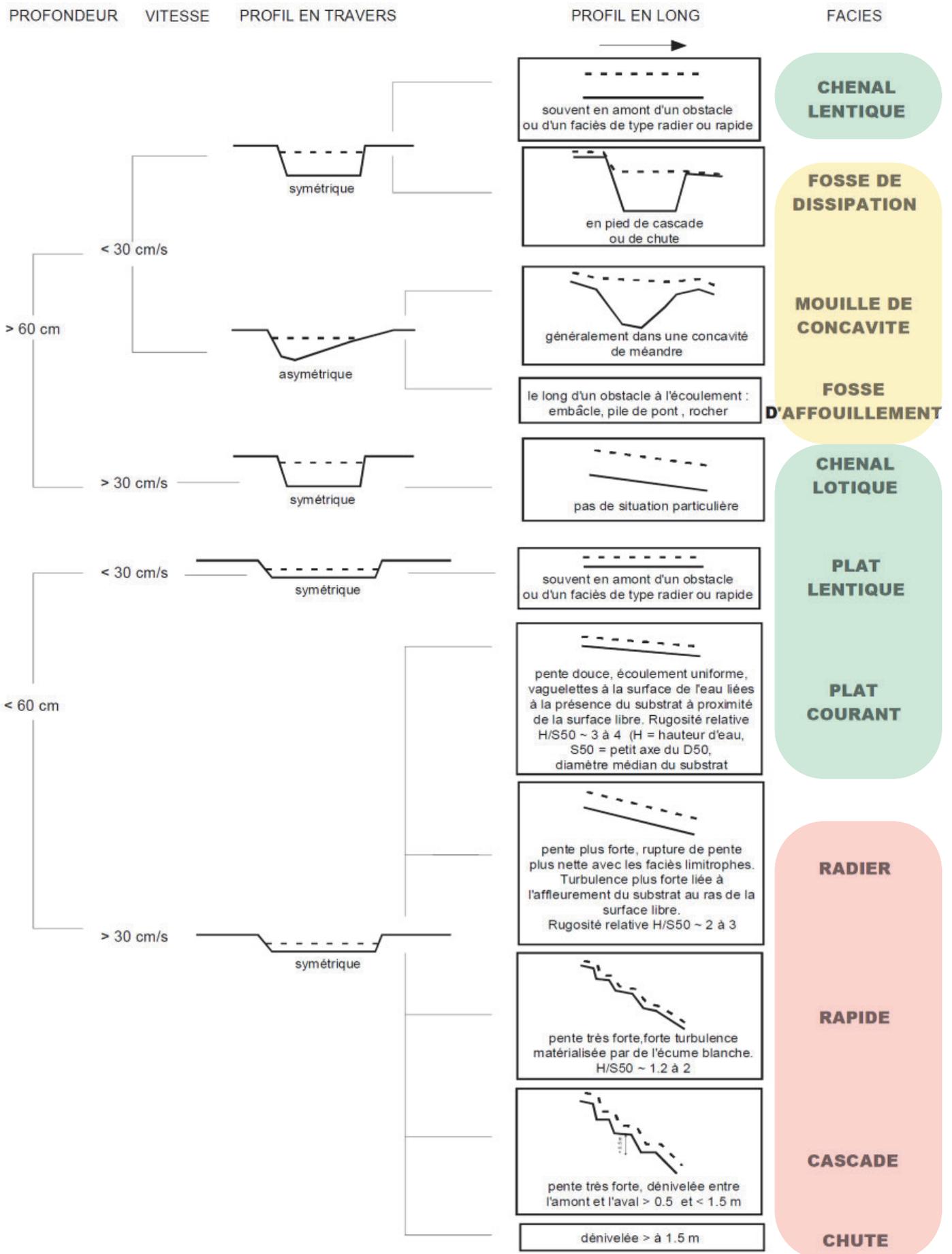
* Espèces indicatrices de surverse robustes (abondance relative amont DO < aval DO). Voir l'Annexe 1 pour une description complète des espèces du top 34. NA : non-applicable.

3.2 Comment échantillonner ? Quelle matrice et géomorphologie sont recommandées ?

Certaines espèces indicatrices de surverse ont été validées quelle que soit la matrice de l'échantillon. D'autres le sont seulement dans les eaux superficielles ou dans les sédiments :

- L'analyse réalisée dans l'eau superficielle sera plutôt indicatrice d'un état à l'instant. Elle pourra être préférée pour rechercher des sources de contamination ou pour une évaluation de la qualité de l'eau pour des usages immédiats, sous réserve de la présence d'eau superficielle, ce qui n'est pas garanti pour un cours d'eau intermittent.
- Une analyse dans les sédiments apportera une vision plus intégrative de l'état du milieu récepteur. Il pourra être préféré pour déterminer quels indicateurs arrivent à coloniser le cours d'eau, et plus généralement quelle pollution chronique est susceptible d'être remobilisée lors de crues déplaçant les sédiments. L'intérêt de ces prélèvements pour les CEI est qu'ils sont accessibles même pendant les périodes à sec.

Dans l'idéal, la zone de prélèvement devra être située à environ 100 m en aval de l'exutoire du DO, dans les sédiments benthiques ou hyporhéiques d'un plat (Figure n°3 : Identification des faciès géomorphologiques). Une étude est en cours pour déterminer la pertinence du prélèvement plus éloigné, jusqu'à 1000 m, sous réserve de ne pas avoir d'autres apports sur le tronçon. En l'absence de plat, la zone de prélèvement pourra être située dans les sédiments d'une mouille. Le prélèvement d'eaux superficielles est envisageable en dernier recours, mais moins significatif que sur sédiment. Deux zones de prélèvement supplémentaires, l'une dans le cours d'eau 100 m en amont de l'exutoire, et l'autre dans le DO (eaux de surverse) pourront compléter le prélèvement aval et servir de référence dans le cas où aucun indicateur de la trousse « DOmic » ne serait détecté au point d'impact.



Clé de détermination des faciès d'écoulement (d'après Malavoi et Souchon, 2002).

+ **VERT** : type de plats à privilégier pour l'échantillonnage Domic ,
JAUNE : géomorphologie alternative pour l'échantillonnage et **ROUGE** : à éviter

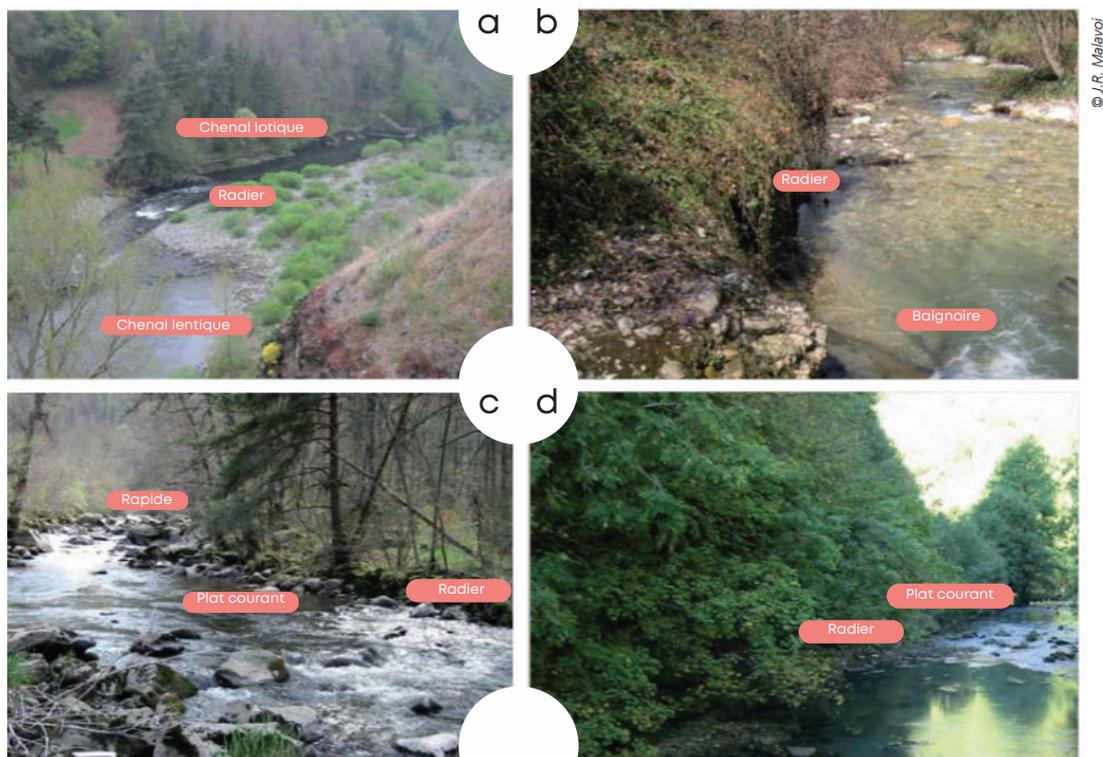


Figure n°3 : Identification et exemples de faciès géomorphologiques (Source : <https://professionnels.ofb.fr/fr/doc-comprendre-agir/elements-dhydromorphologie-fluviale>)

3.3 - Comment interpréter les espèces bactériennes indicatrices de surverse ?

Trois niveaux d'interprétation des espèces bactériennes indicatrices de surverse sont possibles. Les deux premiers peuvent d'ores et déjà être mis en œuvre. La troisième nécessite encore des développements méthodologiques.

1. **Qualitatif** : La présence ou l'absence d'une espèce indicatrice recherchée prouve la présence ou l'absence d'impact lié aux surverses de DO.
2. **Semi-quantitatif** : La présence ou l'absence de n espèces indicatrices / n espèces indicatrices recherchées informe sur l'ampleur de l'impact lié aux surverses de DO.
3. **Quantitatif** : Le dénombrement d'une ou plusieurs espèces indicatrices permet d'estimer plus finement l'ampleur de l'impact lié aux surverses de DO.



4. Mise en œuvre de la trousse à outils « DOmic » & retours d'expérience sur l'étude

4.1 - Comment mettre en œuvre ces indicateurs ?

Les résultats des travaux de recherche conduits dans ce projet, y compris la trousse à outils « DOmic » d'espèces bactériennes indicatrices de surverses de DO, ont été publiés en accès libre. Cette communication permet le partage et l'adaptation de la méthode (y compris commerciale) sous réserve d'attribution (citation des auteurs et indication des modifications effectuées). Ainsi, les collectivités souhaitant utiliser la trousse à outils « DOmic » ou les bureaux d'étude souhaitant proposer une prestation appliquant ou adaptant la méthode sont libre de le faire.

Des prestataires spécialisés proposent de réaliser tout ou partie des étapes nécessaires (Encadré n°3 : Principaux points à vérifier pour la mise en œuvre). Le coût indicatif est de 50 à 100 € TTC pour la détection simultanée des espèces du top 34 dans un échantillon, en fonction du volume d'échantillons et de l'étendue des étapes confiées au prestataire. Il restera à la charge du commanditaire d'interpréter les résultats fournis.

La difficulté de mise en œuvre réside donc encore aujourd'hui dans la technicité et les outils nécessaires, qui ne sont pas encore disponibles pour le plus grand nombre. Cependant, Cette technique est prometteuse et le marché de prestation mêlant analyse et interprétation devrait se développer rapidement dans les prochaines années.

CONNAISSANCES ET SAVOIR-FAIRE NÉCESSAIRES POUR LA MISE EN ŒUVRE DE LA TROUSSE « DOMIC »

- ✓ Savoir utiliser le matériel d'échantillonnage stérile (carottier, pompe Bou-Rouch ; perche, flacons) et identifier la géomorphologie du cours d'eau avant prélèvement.
- ✓ Effectuer un transport d'échantillon réfrigéré à +4°C (réfrigération portable ; glacière et packs réfrigérant).
- ✓ Savoir utiliser un kit d'extraction d'ADN commercial, micropipettes, cônes et centrifugeuse de paillasse, de façon aseptique pour ne pas contaminer les échantillons.
- ✓ Assurer la bancarisation d'ADNe (-20°C court terme ; -80°C long terme).
- ✓ Savoir réaliser une amplification PCR à partir d'un tampon de réactif commercial et d'amorces à façon, utiliser hotte à flux laminaire, micropipettes, cônes thermocycleur, et réaliser un gel d'électrophorèse pour la validation de la PCR ou demander à un prestataire commercial.
- ✓ Savoir utiliser un kit commercial de préparation de banques de séquences pour plateforme Illumina MiSeq v3, micropipettes, cônes, vortex, centrifugeuse de paillasse et thermocycleur, de façon aseptique pour ne pas contaminer les échantillons.
- ✓ Savoir utiliser un séquenceur de paillasse Illumina MiSeq v3, flow cell, cartouches de réactifs ou demander à un prestataire commercial,
- ✓ Savoir réaliser le contrôle de qualité basique des séquences produites en double brin de 250 paires de bases et profondeur de 30K séquences minimum par échantillon. Savoir conduire l'analyse bio-informatique des données de séquençage pour obtenir une table de contingence des espèces indicatrices présentes dans les échantillons ou demander à un prestataire commercial.
- ✓ Savoir interpréter les résultats de détection des espèces indicatrices.

4.2 Comment lier propriétés hydrologiques, indicateurs microbiens et impact sur le milieu ?

Nous avons étudié comment certaines caractéristiques hydrologiques des surverses pouvaient impacter les communautés bactériennes à l'aval du rejet. Nous avons pu caractériser des seuils en termes de fréquences, durées, volumes et débits de pointe des surverses, conduisant à un changement significatif à l'aval.

Les observations ont été réalisées sur des périodes de trois semaines consécutives, avant et après la rehausse du seuil de surverse du DO, avec des contextes différents en termes de surverses et de débits dans le ruisseau (hautes eaux et basses eaux). Les trois périodes étudiées ont permis de mettre en lumière des changements d'état des communautés bactériennes *tpm* dans le cours d'eau.

Il s'avère que l'absence de rejets sur une période de trois semaines, en période de basses eaux, permet une réduction significative de la perturbation des communautés bactériennes *tpm* résidant dans le cours d'eau. Cette amélioration de la qualité du milieu n'était pas observée avant la réhausse, donc avec des rejets plus fréquents. Bien que l'étude n'ait pas été conçue pour comparer les critères de conformité entre eux, il semblerait que des mesures visant à réduire la fréquence de rejet seraient plus efficaces pour la résilience du milieu du point de vue bactériologique (en comparaison avec une réduction des flux, mais avec une fréquence de rejets élevée, renouvelant les apports de contaminants associés aux eaux de surverse).

Notre étude a permis de mettre en lumière des seuils significatifs concernant les surverses de DO sur la composition de la communauté bactérienne *tpm* du cours d'eau en aval de l'exutoire :

- (i) La fréquence de rejet : un seuil au-delà de 7 rejets sur 3 semaines,
- (ii) La durée cumulée de temps de surverses : un seuil au-delà de 65 minutes de surverses sur 3 semaines
- (iii) La dilution moyenne : un seuil au-delà de 1‰ sur 3 semaines (22 m³ en 3 semaines pour un volume annuel moyen de 316.103m³) ,
- (iv) La dilution instantanée : un seuil au-delà de 1% (débit maximal de surverse de 33 L/s dans le cours d'eau récepteur ayant un débit de 2.8 m³/s).
- (v) Durée de la plus longue surverse : un seuil au delà de 42s pour la plus longue surverse sur 3 semaine.

Reproduire ces analyses sur différents sites, sur des périodes annuelles, permettraient de dégager des seuils généralisables et donc, pour les gestionnaires, d'identifier les DO les plus impactant sur les seuls critères de fréquences, temps de surverse, dilution moyenne ou dilution instantanée.

Cette approche par seuil significatif peut cependant d'ors et déjà être utilisée par les gestionnaires d'ouvrage pour classer les DO instrumentés dont ils assurent le suivi en fonction de leur impact potentiel sur la masse d'eau réceptrice. Par exemple, les ouvrages ayant la fréquence de rejet, la durée cumulée de surverse, ainsi que les dilutions moyenne et instantanée les plus élevées risquent d'être les plus impactant pour le milieu récepteur.

5. SYNTHÈSE ET PERSPECTIVES

Les enseignements de ce travail de recherche sont doubles :

- Une meilleure compréhension fondamentale de l'impact de la réduction de la fréquence des déversements grâce à la rehausse de la crête du DO sur la qualité écologique d'un cours d'eau intermittent.
- La proposition de nouveaux indicateurs pertinents pour évaluer l'efficacité des changements de régime de surverse des déversoirs d'orage sur l'état écologique des cours d'eau récepteurs.

L'ADN environnemental est en effet un indicateur pertinent pour juger de l'impact des changements de régime de surverse des DO sur des cours d'eau intermittents. Cependant, les techniques d'analyses et leurs interprétations ne sont pas encore courantes.

Dans le futur, un accompagnement des collectivités et bureaux d'étude pourrait être mis en place sous la forme d'un tableau de bord web dédié à l'analyse et à l'interprétation des données de méta-code-barre de l'ADNe *tpm*. Une telle offre d'analyse centralisée permettrait de créer et de faire croître une base de connaissance partagée sur la microbiologie des cours d'eaux et sur l'efficacité des stratégies de réduction de la fréquence de rejets des déversoirs d'orage sur l'amélioration de la qualité des milieux récepteurs.

Alors que le cadre réglementaire actuel demande le respect d'un critère unique, a priori non modifiable, les résultats de ce travail tendent à démontrer que les critères sont complémentaires et traduisent des modalités d'action différentes :

1. Agir sur la fréquence de rejet en visant moins de 20 jours calendaires de surverse consiste essentiellement à agir sur l'ouvrage par le réglage du niveau de la surverse
2. Agir sur la réduction des volumes déversés, en visant moins de 5% du volume ou du flux, consiste à agir en amont sur les capacités de stockage et de transit du réseau.

Ces deux critères différents peuvent apporter un bénéfice également différent en termes d'amélioration de la qualité écologique de la ou des masses d'eau situées à l'aval du déversoir d'orage.

Il serait pertinent, il nous semble de ne pas choisir un critère unique sur un territoire mais de les adapter selon le contexte et les ouvrages.

Bien entendu, la déconnexion des eaux pluviales à la source, et le traitement des surverses résiduelles peuvent aussi concourir au meilleur état écologique des masses d'eau impactées par les rejets des DO.



POUR ALLER PLUS LOIN

- Directive Eaux Résiduaires Urbaines 91/271/CEE. [CELEX:52023SC0157](#)
- Arrêté du 31 juillet 2020. [JORFTEXT000042413404](#)
- Arrêté du 21 juillet 2015. [JORFTEXT000031052756](#)
- Pozzi et al 2023 Nôvatech Urban Water <http://hal.science/hal-04176993>
- Pozzi et al. 2024 STOTEN [DOI:10.1016/j.scitotenv.2023.167854](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167854)
- Base de classification taxonomique BACtpm [DOI:10.5281/zenodo.4492210](https://doi.org/10.5281/zenodo.4492210)
- OUVRAGE COLLECTIF OTHU- Chapitre ouvrages <https://asso.graie.org/portail/gestion-des-eaux-pluviales-en-ville-20-ans-de-recherche-au-service-de-laction/>
- Fiche GRAIE GT-autosurveillance « Quelle mesure de la qualité et pourquoi » <https://asso.graie.org/portail/fiche-methodologique-n14-autosurveillance-des-systemes-dassainissement-quel-suivi-de-la-qualite-et-pourquoi/>
- Fiche outil ZABR eADN https://www.zabr.assograie.org/wp-content/uploads/2021/10/fiche-outils_ADNe_diatomees_.pdf

ANNEXE 1 : BOITE A OUTILS DOMIC - ESPÈCES BACTÉRIENNES INDICATRICES DE SURVERSE DE DO

| Top | Espèce bactérienne indicatrice de surverse de DO | | Spécificité et sensibilité pour les eaux de surverse de DO selon matrice | | | | Réponse aux polluants testés | | | | Reportée comme | | |
|--------|---|-------------|--|-------------|------------------------|-------------|------------------------------|------------|------------------------|-----------|----------------|-----|-----|
| | | | Sédiments benthiques | | Sédiments hyporhéiques | | Eaux superficielles | | | | | | |
| | Spécificité | Sensibilité | Spécificité | Sensibilité | Spécificité | Sensibilité | BIFs | ETMs | HAPs | Pathogène | Dégradeur | | |
| Top 2 | <i>Aeromonas media</i> bpoe1152 | 0.97 | 1 | 0.98 | 1 | 0.92 | (+) CF | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Pseudomonas oleovorans</i> | 0.98 | 1 | 0.95 | 1 | 0.91 | (+) EC, EI | (+) Cr | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 5 | <i>Aeromonas caviae</i> | 0.83 | 1 | 0.87 | 1 | 0.93 | (-) EC, EI; (+) CF | (-) Cr | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Hyphomicrobium</i> sp. CS1GBMeth3 | 0.89 | 1 | 0.75 | 1 | 0.89 | ns | (+) Cr, Pb | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 10 | <i>Pseudomonas</i> sp. SLBN-2 | 0.94 | 1 | 0.90 | 1 | 0.86 | (+) EC | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| | <i>Aeromonas allosaccharophila</i> | 0.97 | 0.88 | 0.94 | 0.88 | 0.82 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 16 | <i>Pseudomonas</i> sp. Irchel 3E13 | 0.89 | 1 | 0.87 | 1 | 0.95 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| | <i>Stenotrophomonas acidiminiphila</i> ZAC1402_NAIMI4_2 | 0.98 | 1 | 0.97 | 1 | 0.98 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 34 | <i>Stenotrophomonas daejeonensis</i> | 0.98 | 1 | 0.94 | 1 | 1 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Stenotrophomonas humi</i> | 0.86 | 1 | 0.92 | 1 | 0.95 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 34 | <i>Aeromonas hydrophila</i> | 0.88 | 1 | 0.91 | 1 | ns | (+) CF | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Bordetella genomsp. 13</i> | 1 | 0.42 | 0.73 | 0.63 | 0.78 | (+) EC, CF | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas arcuscaelestis</i> | 0.83 | 1 | 0.83 | 1 | 0.92 | ns | ns | (-) BaA, BaP, CHR, PYR | ns | ns | ns | ns |
| | <i>Pseudomonas sagittaria</i> | 0.90 | 0.65 | ns | ns | ns | (+) EC, EI | (+) Cr, Pb | (+) BbF, FLA, PYR | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas</i> sp. PDM16 | 0.88 | 0.88 | 0.92 | 0.88 | 0.95 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| | <i>Pseudoxanthomonas koreensis</i> | 0.87 | 0.62 | ns | ns | 0.95 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 34 | <i>Aeromonas vivipollensis</i> | 0.98 | 0.88 | 1 | 0.88 | 0.94 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | <i>Aeromonas salmonicida</i> 34mel | 0.94 | 1 | 0.97 | 1 | ns | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 34 | <i>Aeromonas veronii</i> | 0.99 | 1 | 0.99 | 1 | 0.83 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Aquaspirillum</i> sp. LM1 | ns | ns | 0.85 | 0.88 | ns | (+) CF | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas alcaliphila</i> | 0.91 | 1 | 1 | 1 | 0.76 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | <i>Pseudomonas anguilliseptica-like</i> H_C32 | 0.83 | 0.73 | 0.68 | 1 | ns | (+) EC | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 34 | <i>Pseudomonas chengduensis</i> DSM26382 | 0.94 | 0.88 | 0.97 | 0.88 | 0.84 | ns | ns | ns | ns | ns | ns | ns |
| | <i>Pseudomonas extremaustralis</i> USB5A15 | ns | ns | 0.83 | 0.69 | ns | ns | ns | (+) PHE | Oui | Oui | Oui | Oui |
| Top 34 | <i>Pseudomonas japonica</i> | 0.90 | 0.75 | 1 | 0.75 | 0.83 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Pseudomonas mangrovi</i> | 0.95 | 0.75 | 1 | 0.75 | 0.78 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas nitroreducens</i> | 0.76 | 0.88 | 0.93 | 0.88 | 1 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Pseudomonas sediminis</i> | 1 | 0.75 | 1 | 0.75 | 0.89 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas simiae</i> PCL1751 | 0.6 | 0.75 | 0.93 | 0.54 | ns | (+) EC, EI | (+) Cr, Pb | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Pseudomonas</i> sp. 1-7 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas</i> sp. ALS1279 | 0.98 | 1 | 0.99 | 1 | 0.99 | ns | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |
| | <i>Pseudomonas</i> sp. s199 | 1 | 0.88 | 1 | 0.88 | 1 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| Top 34 | <i>Pseudomonas toyotomiensis</i> | 1 | 0.75 | 1 | 0.75 | 1 | ns | ns | ns | nd | nd | nd | nd |
| | <i>Stenotrophomonas terrae</i> | 0.88 | 1 | 0.93 | 1 | 0.95 | (+) EC, EI | ns | ns | Oui | Oui | Oui | Oui |

Top 2 : 'best in class' = significatives, robustes, spécificité/sensibilité les plus élevées dans toutes matrices et réponse à polluants

Top 5 : significatives, robustes, spécificité/sensibilité hautes dans toutes matrices et réponse à polluants

Top 10 : significatives, robustes, spécificité/sensibilité hautes dans toutes matrices

Top 16 : significatives, robustes, spécificité/sensibilité satisfaisantes dans certaines matrices

Top 34 : significatives dans au moins une matrice

Le top des espèces bactériennes indicatrices de surverse de DO a été défini selon le niveau de spécificité et de sensibilité dans les trois matrices testées, la robustesse de la différence de proportion entre l'amont et l'aval du DO, et la réponse aux polluants testés. Le nom de l'espèce bactérienne est reporté (nomenclature binominale), ainsi que le nom de souches le cas échéant. Par exemple : "*Aeromonas media* bpoe1152" est la souche bpoe1152 de l'espèce *media* du genre *Aeromonas*, "*Pseudomonas oleovorans*" est l'espèce *oleovorans* du genre *Pseudomonas*, et "*Aquaspirillum* sp. LM1" est la souche LM1 d'une espèce non déterminée du genre *Aquaspirillum*. Pour chaque espèce est précisé si elle a déjà été reportée comme pathogène (de l'homme, de l'animal, ou du végétal), ou dégradeur de polluants. "nd" signifie non-déterminée, quand l'espèce n'était pas décrite dans les bases de données publiques de pathogénie ou de fonctions de dégradation. La spécificité et la sensibilité de chaque espèce est reportée dans chaque matrice échantillonnée. Pour chacune de ces métriques, la valeur peut varier de 0 (mauvais indicateur) à 1 (indicateur parfait) et s'interprète comme une probabilité. Par exemple, une spécificité de 0.97 indique qu'il y a 97% de chance que l'échantillon ait reçu l'impact de surverse de DO quand l'espèce est détectée dans le milieu récepteur, et une sensibilité à 1 indique que l'espèce a été détectée dans 100% des échantillons d'eaux de surverse de DO. "ns" signifie non-significatif statistiquement, quand l'espèce n'était pas significativement indicatrice de surverse de DO (valeur critique, ou p-value, inférieure à 0.05 ; c'est-à-dire plus de 5% de risque que l'association de l'espèce aux eaux de surverse de DO soit uniquement due au hasard). Les polluants testés étant significativement corrélés à l'occurrence et à l'abondance des espèces indicatrices de surverse de DO du top 34 comprenaient (i) des dénombrements de bactéries indicatrices fécales (BIFs) cultivables, dont les coliformes fécaux (CF), entérocoques intestinaux (EI) et *Escherichia coli* (EC), (ii) des concentrations d'éléments trace métalliques (ETMs), dont le chrome (Cr) et le plomb (Pb), et (iii) des concentrations en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), dont le benzo[a]pyrène (BaP), benzo[b]fluoranthène (BbF), benzo[a]anthracène (BaA), chrysène (CHR), fluoranthène (FLA), phénanthrène (PHE), et le pyrène (PYR). Le sens de la corrélation est indiqué par un signe mathématique "+" (corrélation positive, ou directe ; l'espèce indicatrice est d'autant plus présente que la teneur en polluant est grande) ou "-" (corrélation négative, ou inverse ; l'espèce indicatrice est d'autant moins présente que la teneur en polluant est grande). "ns" signifie non-significatif statistiquement, quand l'espèce n'était pas significativement corrélée à la teneur en polluant (valeur critique, ou p-value, inférieure à 0.05 ; c'est-à-dire plus de 5% de risque que la relation éventuellement observée entre l'espèce indicatrice et le polluant soit uniquement due au hasard).



Plus d'informations sur le projet :

http://www.graie.org/othu/progr_domic.htm

Ce programme a été coordonné depuis 2009 par Benoit Cournoyer (LEM-BPOE) avec l'appui de Laëtitia Bacot, Graie (et OTHU), et a impliqué de nombreux collaborateurs cités ci-dessous, et des contributions majeures de collègues de l'unité LEM-BPOE dont Stéphanie Petit sur la période 2009-2012, Benjamin Youenou entre 2016-2018, et Adrien M. Pozzi pour la phase de finalisation (2021-2023) de l'étude sous les termes du projet Domic financé par l'agence de l'eau RMC.

Les partenaires du projets :



Les contributeurs :

Benoit Cournoyer, Adrien Pozzi, Stéphanie Petit, Benjamin Youenou, Bruno Tilly, Wessam Galia, Laurence Marjolet (LEM-BPOE), Flora Branger, Pascal Breil, Philippe Namour (INRAe - RiverLy), Oldrich Navratil (Lyon 2 - EVS), Gislain Lipeme-Kouyi, Serge Naltchayan (INSA - DEEP), Hervé Matthieu (SAGYRC), Muriel Floriat, Olivier Leblanc (Métropole de Lyon), Laëtitia Bacot, Elodie Brelot (GRAIE), Camille Arnault (Agence de l'Eau - Rhône Méditerranée Corse).

(c) Crédits photos : Graie / OTHU - Laëtitia Bacot - Elodie BRELOT, OFB, IA bing

2024

ÉDITION GRAIE

graie
PÔLE
EAU & TERRITOIRES

Avec le soutien de :


RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE
Liberté
Égalité
Fraternité


agence
de l'eau
RHÔNE
MÉDITERRANÉE
CORSE


OTHU