



# Développer une procédure et des outils pour la détermination des sources de contamination fécale de l'eau à l'aide de marqueurs génétiques

La contamination de l'environnement par des matières fécales peut représenter un risque pour la santé publique et contribuer à l'augmentation des coûts de traitement de l'eau potable. Bien qu'il existe des indices qui permettent parfois de cibler l'origine potentielle de cette contamination, il est généralement difficile de la déterminer avec certitude. Ce projet avait pour but de développer une procédure permettant d'identifier les espèces animales à l'origine de la contamination fécale de l'eau à l'aide de marqueurs génétiques. La méthode développée devait ainsi être validée non seulement au niveau de la spécificité et de la sensibilité, mais aussi au niveau de sa facilité d'interprétation, de son applicabilité, de sa validité et de son efficacité sur le terrain.

## 1. Choix des marqueurs et mise au point qPCR

La revue de littérature effectuée a mené à la sélection des *Bacteroidetes* comme outil génétique pour la détermination des sources de contamination fécale de l'eau. La mise au point d'une méthode de détection qPCR a été entreprise pour chacun des marqueurs, notamment en mesurant les limites de détection et de quantification, ainsi que leur spécificité dans des échantillons tels que du lisier de porc, lisier et fumier de bovin, fumier de poulet, sol loameux et sableux, eau de surface et souterraine, eaux usées municipales brutes et traitées, ainsi que des échantillons de fèces de chevreuil, d'oies blanches et de bernaches du Canada. Ces essais de laboratoire ont mené à la sélection de cinq marqueurs (Fig.1). BacGen s'est avéré être un bon indicateur de contamination fécale puisqu'il a été retrouvé dans tous les échantillons testés. Le marqueur Chicken/Duck-Bac s'est révélé plutôt difficile à mettre au point, mais les limites quant à son interprétation ont été définies.



Figure 1. Marqueurs étudiés.

## 2. Évaluer l'effet des conditions d'entreposage des fumiers et lisiers

La persistance des marqueurs et d'*E. coli* dans les lisiers et fumiers a été évaluée en conditions contrôlées afin de mieux comprendre l'influence des conditions d'entreposage sur leur décroissance. En effet, la durée et la température de conservation peuvent influencer les populations de *Bacteroidetes* présentes dans ces intrants ainsi que leur impact environnemental après épandage. Les essais ont été réalisés avec quatre matrices : lisier de porc, lisier de bovin, fumier de poulet et fumier de bovin. Des sous-échantillons des matrices ont été entreposés à 4 et 12 °C durant 57 jours à l'obscurité. Les populations d'*E. coli* ont montré une décroissance plus rapide à 12 °C qu'à 4 °C (Fig.2), suivant une décroissance exponentielle variable selon la matrice. Les marqueurs spécifiques ont été plus sensibles à la température que le marqueur BacGen, avec des concentrations significativement moindres à 12 °C. Ces essais ont démontré que les marqueurs génétiques sont relativement stables dans le temps, malgré les différentes conditions d'entreposage.

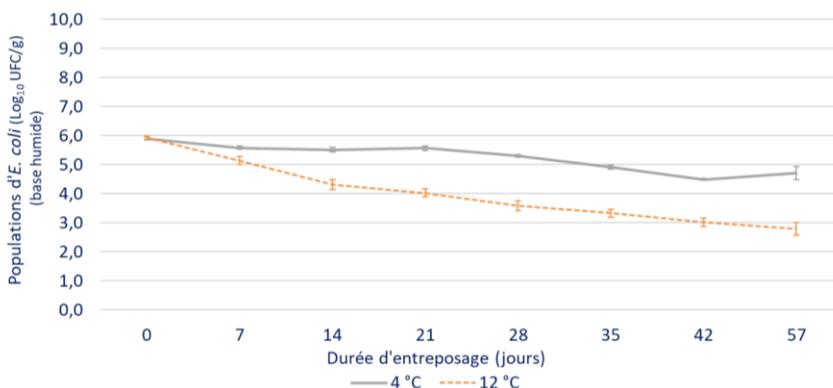


Figure 2. Populations d'*E. coli* dans le lisier de bovin selon la température et la durée d'entreposage en pots en conditions contrôlées.

### 3. Évaluer les contributions relatives des marqueurs dans l'eau en condition contrôlée

Afin de vérifier s'il est possible de retrouver les marqueurs *Bacteroidetes* dans l'eau suivant une contamination fécale récente, des essais en conditions contrôlées ont été réalisées en contaminant des échantillons d'eau de surface et souterraine avec différents intrants : lisier de porc à l'engraissement, lisier de bovin laitier en stabulation libre, fientes de poules pondeuses sans ripe et eau usée municipale non traitée. Les populations d'*E. coli* et les concentrations des six marqueurs à l'étude ont été déterminées avant et après la contamination par les intrants. Les résultats ont montré que la concentration, le taux de recouvrement ainsi que la contribution relative des marqueurs à l'étude variaient davantage dans les échantillons d'eau de surface que dans les eaux de puits. La nature et la composition de l'eau de surface pourraient en être la cause. Aussi, les analyses ont permis d'observer l'impact de la charge fécale ajoutée à l'eau sur la détection des marqueurs : plus la quantité d'ADN de *Bacteroidetes* est élevée, meilleure est la détection et la quantification des marqueurs.

### 4. Évaluer le devenir environnemental des marqueurs en parcelles expérimentales

L'étude du devenir environnemental des marqueurs génétiques *Bacteroidetes* a permis d'évaluer l'impact des types de fumiers et des dates d'épandage sur la persistance des marqueurs *Bacteroidetes* dans le sol. Des parcelles expérimentales en sol de type loam argileux, loam sableux et argile lourde ont été mises en place et instrumentées de façon à recueillir l'eau lessivée via des piézomètres et l'eau de ruissellement. Les marqueurs ont été quantifiés dans le lisier épandu, ainsi que dans le sol et l'eau lors

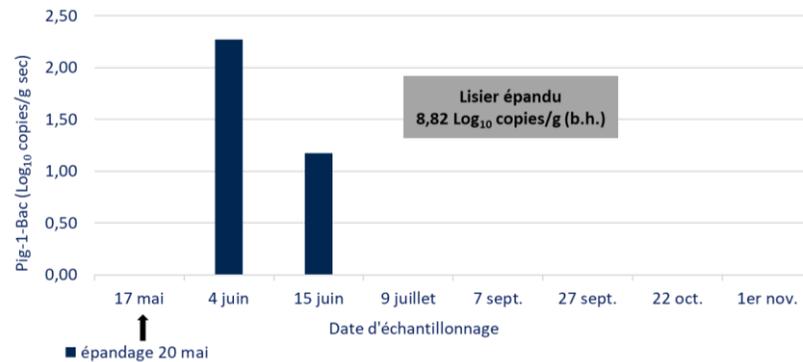


Figure 3. Concentration du marqueur Pig-1-Bac dans les échantillons de sol de type loam argileux.

d'événements de pluie importante. Les épandages ajoutaient des *Bacteroidetes* dans le sol, mais BacGen a été retrouvé à des concentrations élevées avant même que les épandages aient eu lieu, rappelant ainsi qu'il y a d'autres sources fauniques de contamination tel que les chevreuils et les rongeurs. Pig-1-Bac a été retrouvé dans le sol des parcelles qui avaient reçues du lisier de porc jusqu'à 25 jours auparavant (Fig.3). Le marqueur porcin n'a tout de même pas été détecté dans tous les échantillons de sol et d'eau. Le transport des *Bacteroidetes* et leur ADN dans l'eau semble avoir été plus important à l'automne, lorsque les températures moyennes baissent et que les précipitations augmentent.

### 5. Validation de la procédure développée en bassins versants

La validation de la méthode développée a été mise à l'épreuve à l'échelle de trois bassins versants du Québec, soit le Lac Boivin et le ruisseau au Castor en Montérégie, ainsi que la rivière du Chicot dans les Laurentides. Les bassins versants ont été choisis afin de bénéficier de données complémentaires lorsque possible (ex. caractérisation des activités et des sources de contamination du bassin, matières en suspension, populations d'*E. coli*) aidant à l'interprétation des résultats. Les populations d'*E. coli* ont été mesurées en parallèle aux marqueurs génétiques. La visualisation des résultats a permis de confirmer l'intérêt de conserver cette analyse, en raison de sa capacité à indiquer une contamination fécale de l'eau et de son usage répandu dans les analyses de qualité de l'eau. Avec le temps, il sera peut-être possible de déterminer un facteur de conversion entre ces populations bactériennes et les concentrations en marqueurs BacGen, la corrélation entre les deux comptes étant pour l'instant modérée, mais robuste. D'autres marqueurs *Bacteroidetes* pourraient être ajoutés à la méthode pour cibler davantage de sources de contamination fécale et pour distinguer les animaux sauvages des animaux d'élevage. Il serait aussi possible de mieux caractériser la non-spécificité du marqueur Chicken/Duck-Bac en fonction de la provenance et du type de l'échantillon. En conclusion, ce projet a permis de développer une procédure et des outils pour déterminer les sources de contamination fécale de l'eau. En effet, une procédure d'échantillonnage et de conservation des échantillons, un formulaire d'observation terrain, une procédure de conservation de l'ADN, une méthode d'analyse de laboratoire ainsi qu'un rapport d'analyse ont été complétés en guise de synthèse du projet.

Partenaire financier

#### Une réalisation de

Caroline Côté, chercheure  
Élodie Larouche et Mylène Généreux,  
professionnelles de recherche

#### Collaborateurs

INRS  
Agrinova  
Club conseil Profit-Eau-Sol  
OBV de la rivière Yamaska  
Ville de Granby

#### Des questions?

450-653-7368 poste 310  
[caroline.cote@irda.qc.ca](mailto:caroline.cote@irda.qc.ca)