



**SYNDICAT MIXTE DU BASSIN DE THAU**

# OUTIL DE MANAGEMENT ENVIRONNEMENTAL ET DE GESTION DE L'AVERTISSEMENT

## BASSIN DE THAU - OMEGA-THAU

### *PHASE 1 / Etape 2*

### *Etude des contaminations microbiologiques par temps sec de l'étang de Thau*

*Décembre 2008 – RST/LER/LERLR/08-06*



# **Etude des contaminations microbiologiques par temps sec de l'étang de Thau**

**Projet OMEGA Thau – étape 2**



## Fiche documentaire

<b>Numéro d'identification du rapport</b> : RST/LER/LERLR/08-006 <b>Diffusion</b> : libre : <input checked="" type="checkbox"/> restreinte : <input type="checkbox"/> interdite : <input type="checkbox"/>		<b>date de publication</b> : janvier 2009 <b>nombre de pages</b> : 111 pages <b>bibliographie</b> : oui <b>illustration(s)</b> : 62 figures, 6 tableaux <b>Annexe(s)</b> : 6 <b>langue du rapport</b> : F
<b>Validé par</b> : Jean-Claude Le Saux Adresse électronique : Jean.Claude.Le.Saux@ifremer.fr		
<b>Titre de l'article</b> : "Etude des contaminations microbiologiques par temps sec de l'étang de Thau"		
Contrat n°073210937      Rapport intermédiaire <input type="checkbox"/> Rapport définitif <input checked="" type="checkbox"/>		
<b>Auteur(s) principal(aux)</b> : Serais O., Derolez V., Caprais M.-P. <b>Collaborateurs</b> : Geoffroy T., Fiandrino A., Rufray X., Lequette C., Couton P., Le Saux J.-C., Cesmat L., Pommepey M., Malet N., Pernet F. <b>Cartographie</b> : G. Messiaen <b>Terrain</b> : Martin D., Geoffroy T., Serais O., Laugier T., Derolez V., Cesmat L., Besrest P., Malet N., Fiandrino A., Le Gall P., Rufray X., Brocard G., Fortuné M. <b>Analyses</b> : Quenot E., Granger A., Serais O., Caprais M.-P.	<b>Organisme / Direction / Service, laboratoire</b> Ifremer/DOPLER/LERLR RST/LER/LERLR/08-06	
<b>Cadre de la recherche</b> : Projet OMEGA Thau – étape 2		
<b>Résumé</b> <p>Les données acquises dans le cadre du réseau REMI sur la lagune de Thau ont permis de révéler des dégradations récurrentes de la qualité sanitaire des coquillages en élevage suite à des épisodes pluvieux mais également par temps sec. Le projet OMEGA Thau (Outil pour le Management Environnemental et la Gestion des Avertissements), initié en 2007, à maîtrise d'œuvre SMBT<sup>1</sup>, et dans le cadre duquel ce rapport a été réalisé, s'attache à mieux connaître les sources de pollutions microbiologiques sur l'ensemble du bassin versant de la lagune et à étudier leur mode de transfert et leur impact sur la qualité de l'eau de la lagune et des coquillages en élevage, dans différentes conditions météorologiques.</p> <p>Les suivis hebdomadaires de la contamination en <i>Escherichia coli</i> de l'eau et des coquillages réalisés dans le cadre de l'étape 2 du projet OMEGA ont permis de confirmer la récurrence des contaminations microbiologiques des coquillages par temps sec en différents secteurs de la lagune.</p> <p>Des campagnes de mesures par temps sec, mises en œuvre en 2008 simultanément sur le bassin versant (suivi des apports) et la lagune (suivis hydrologiques, microbiologiques, comptages d'oiseaux) montrent, qu'en l'absence d'apports d'eau douce du bassin versant et de dessalure des eaux de la lagune, des contaminations microbiologiques sont observées dans les coquillages en élevage sous les tables conchylicoles constituant des dortoirs pour d'importants regroupements d'oiseaux marins (Goélands, Mouettes, Cormorans et Sternes).</p> <p>Les niveaux de contamination des coquillages mesurés au niveau des tables dortoirs sont significativement plus élevés que ceux des tables témoins, indiquant que l'hypothèse d'une origine aviaire peut être privilégiée. Les premiers résultats des génotypages des bactériophages F + ARN dans les coquillages orientent également vers une origine animale des contaminations.</p> <p>L'hypothèse d'une source aviaire des contaminations par temps sec des coquillages demande cependant à être confirmée par des investigations complémentaires sur la contamination fécale avec un plan d'échantillonnage mieux contrôlé (nombres d'oiseaux,...), par la poursuite des recherches et génotypages de bactériophages F + ARN, ainsi que par la recherche de pathogènes portés par les oiseaux.</p>		
<b>Mots-clés</b> : Etang de Thau, contamination microbiologique, contamination aviaire, <i>E. coli</i> , coquillages.		

<sup>1</sup> SMBT : Syndicat Mixte du Bassin de Thau.

## Sommaire

<b>1. Introduction</b>	<b>9</b>
<b>2. Hypothèses de contamination par temps sec</b>	<b>13</b>
<b>2.1. Résultats acquis par temps sec dans le cadre du REMI (1997-2007)</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Inventaire des sources de pollution par temps sec</b>	<b>16</b>
2.2.1. Sources anthropiques à mode de transfert superficiel	17
2.2.2. Source aviaire	18
2.2.3. Source anthropique ou animale à mode de transfert souterrain	24
<b>3. Matériel et méthodes</b>	<b>25</b>
<b>3.1. Protocole d'échantillonnage et de suivi</b>	<b>25</b>
3.1.1. Suivi annuel OMEGA par temps sec	25
3.1.2. Campagnes de temps sec OMEGA	26
<b>3.2. Méthodes de prélèvements</b>	<b>30</b>
<b>3.3. Mesures de la température et de la salinité</b>	<b>31</b>
<b>3.4. Acquisition des données météorologiques</b>	<b>31</b>
<b>3.5. Méthodes d'analyses microbiologiques</b>	<b>31</b>
3.5.1. Recherche et dénombrement des <i>Escherichia coli</i>	32
3.5.2. Recherche de l'origine de la contamination fécale par utilisation des bactériophages F ARN spécifiques	32
<b>4. Résultats</b>	<b>37</b>
<b>4.1. Résultats acquis sur la lagune et par temps sec, dans le cadre du suivi annuel OMEGA</b>	<b>37</b>
4.1.1. Résultats microbiologiques et hydrologiques	37
4.1.2. Dénombrements et génotypage de bactériophages	40
<b>4.2. Résultats acquis dans le cadre des campagnes temps sec OMEGA</b>	<b>43</b>
4.2.1. Conditions météorologiques et hydrologiques	43
4.2.2. Apports du bassin versant par temps sec	43
4.2.3. Observations et dénombrements des oiseaux	44
4.2.4. Contamination en <i>E. coli</i> de l'eau et des coquillages lors des campagnes de temps sec	45
4.2.5. Analyse de l'impact des contaminations aviaires	48
<b>5. Discussion</b>	<b>53</b>
<b>6. Conclusions</b>	<b>57</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>59</b>
<i>Annexe 1 : Caractéristiques des oiseaux observés sur les tables conchyliques de l'étang de Thau (Issa N., 2007)</i>	<b>65</b>
<i>Annexe 2 : Organisation des secteurs conchyliques de Bouzigues, Mèze et Marseillan</i>	<b>67</b>
<i>Annexe 3 : Résultats des dénombrements et génotypages des bactériophages F + ARN</i>	<b>71</b>
<i>Annexe 4 : Résultats des campagnes temps sec réalisées dans le cadre d'OMEGA</i>	<b>73</b>
<b>1. Première campagne de mesures (secteur de Marseillan - 14 et 15 mars 2008)</b>	<b>73</b>

1.1. Conditions météorologiques et hydrologiques	73
1.2. Localisation et dénombrement des oiseaux	75
1.3. Contamination microbiologique	78
2. <i>Deuxième campagne de mesures (secteur de Marseillan - 27 et 28 mars 2008)</i>	83
2.1. Conditions météorologiques et hydrologiques	83
2.2. Etat initial	85
2.3. Localisation et dénombrement des oiseaux	87
2.4. Contamination microbiologique	89
3. <i>Troisième campagne de mesures (secteur de Marseillan - 30 et 31 juillet 2008)</i>	94
3.1. Conditions météorologiques et hydrologiques	94
3.2. Etat initial	96
3.3. Localisation et dénombrement des oiseaux	97
3.4. Contamination microbiologique	99
4. <i>Quatrième campagne de mesures (secteur de Bouzigues - 26 et 27 août 2008)</i>	103
4.1. Conditions météorologiques et hydrologiques	103
4.2. Etat initial	104
4.3. Localisation et dénombrement des oiseaux	105
4.4. Contamination microbiologique	107
<i>Annexe 5 : Résultats des investigations menées sur le cours d'eau des Fontanilles</i>	111
<i>Annexe 6 : Revue bibliographique sur les pathogènes humains présents dans les fientes</i>	113





# 1. Introduction

Parmi la trentaine d'étangs du littoral méditerranéen en Languedoc-Roussillon, la lagune de Thau est la plus grande (75 km<sup>2</sup>) et la plus profonde. Outre son intérêt écologique, cet écosystème côtier constitue une ressource économique exploitée par diverses activités dont la navigation, la pêche, les activités portuaires, les loisirs nautiques et l'aquaculture (Abadie *et al.*, 2004).

La conchyliculture, implantée dès 1880 à Sète, est l'activité dominante sur l'étang. Elle génère 2000 emplois directs et autant d'indirects. La production annuelle, estimée à 13000 tonnes d'huîtres (*Crassostrea gigas*) et 4000 tonnes de moules (*Mytilus galloprovincialis*), est la plus importante en Méditerranée et représente 10 % de la production nationale (Abadie *et al.*, 2004). Les huîtres élevées dans la lagune de Thau atteignent le meilleur taux de croissance national (Ifremer, 2007c).

En Europe, l'autorité compétente classe les zones de production dans lesquelles elle autorise la récolte des mollusques bivalves selon trois classes en fonction des niveaux de contamination fécale mesurés dans les coquillages. La zone d'élevage de la lagune de Thau est classée par arrêté préfectoral en B depuis juin 2004. Cette classe permet la mise sur le marché pour la consommation humaine des mollusques bivalves vivants après traitement des coquillages dans un centre de purification en vue de satisfaire aux normes sanitaires définies par la réglementation. Les concentrations mesurées dans la chair et le liquide intervalvaire (C.L.I.) des mollusques bivalves vivants issus de zones d'élevage classées en B, avant l'étape de purification, ne peuvent dépasser le seuil de 4 600 *Escherichia coli* / 100 g que dans 10 % des échantillons. Dans les zones de bonne qualité microbiologique classées en A, les concentrations de doivent pas dépasser le seuil de 230 *E. coli* / 100 g de C.L.I. dans 100 % des échantillons, et la mise sur le marché pour la consommation humaine est autorisée directement après la récolte (Règlement CE, 2006). En France, l'autorité compétente s'appuie sur les résultats acquis dans le cadre du réseau de contrôle microbiologique des zones de production de coquillages (REMI), mis en œuvre par l'Ifremer pour définir les classements sanitaires des zones de production. Dans la zone d'élevage de la lagune de Thau, 9 points de prélèvements de mollusques bivalves filtreurs, répartis dans les parcs conchylicoles des trois secteurs exploités de la zone, sont échantillonnés à une fréquence mensuelle en surveillance régulière par le laboratoire Ifremer LER/LR<sup>2</sup> de Sète (Ifremer, 2008b). Le traitement des données acquises en surveillance régulière dans le cadre du REMI dans la zone d'élevage de la lagune de Thau entre 1997 et 2006, montre que 84.7 % des 3 465 résultats acquis sont inférieurs au seuil de 230 *E. coli* / 100 g de C.L.I., 13.5 % se situent entre 230 et 4 600 *E. coli* / 100 g de C.L.I. et 1.8 % sont supérieurs au seuil de 4 600 *E. coli* / 100 g de C.L.I. La zone d'élevage de la lagune de Thau est donc impactée ponctuellement par des sources de pollutions microbiologiques d'origine fécale qui dégradent significativement la qualité sanitaire des coquillages en élevage. L'étude des résultats par année ne montre pas de tendance générale à l'amélioration ou la dégradation de la qualité sanitaire de la zone d'élevage au cours de cette période de 10 ans (Ifremer, 2007c). Tous les points de suivi, et par conséquent tous les secteurs de la lagune

<sup>2</sup> LER/LR : Laboratoire Environnement Ressources du Languedoc-Roussillon.

sont impactés par des sources de pollution microbiologique d'origine fécale. Huit d'entre eux présentent des profils similaires de contamination, et l'un des points localisé à l'extrémité sud-ouest des parcs conchylicoles (Figure 1) affiche des niveaux de contamination significativement plus élevés que les autres, avec seulement 62 % des résultats inférieurs au seuil de 230 *E. coli* / 100 g de C.L.I (Ifremer, 2007c).

Le bassin de Thau est soumis au climat méditerranéen qui est caractérisé par un régime de précipitations très particulier, avec dans le quart Sud-Est de la France l'occurrence de précipitations extrêmes, particulièrement en automne. Ce type de pluviométrie conditionne fortement les apports du bassin versant de la lagune de Thau, essentiellement d'origine anthropique, en mobilisant et drainant lors des crues les pollutions microbiologiques accumulées dans le lit des cours d'eaux pendant les périodes d'étiage (PNEC, 2005). Les précipitations peuvent également provoquer des dysfonctionnements des ouvrages d'assainissement, entraînant des rejets ponctuels d'effluents peu ou pas traités, via les réseaux d'eaux usées et d'eaux pluviales. La prise en compte des résultats acquis en alerte à une fréquence hebdomadaire, en cas de risque de contamination (incident sur un réseau d'assainissement, épisode orageux-pluvieux intense, ...) ou en cas de contamination détectée lors de la surveillance régulière, au cours de la période 1997-2006, a permis d'étudier la relation entre la pluviométrie et les épisodes de contamination des coquillages. Cette étude met en évidence l'impact croissant des épisodes pluvieux selon l'importance de leurs cumuls pluviométriques enregistrés à la station météorologique de Sète, sur la dégradation de la qualité sanitaire des coquillages en élevage. Par temps sec ou dans les 48 heures qui suivent la fin d'un épisode pluvieux dont le cumul est inférieur à 10 mm, 85.8 % des résultats sont inférieurs au seuil de 230 *E. coli* / 100 g de C.L.I. Pour des épisodes de 10 à 20 mm, 20 à 30 mm, 30 à 40 mm, 40 à 60 mm et supérieurs à 60 mm, le pourcentage de résultats inférieurs au seuil de 230 *E. coli* / 100 g de C.L.I est respectivement de 75.2, 64.1, 61.1, 33.3 et 14.3 (Ifremer, 2007a).

Les sources de pollution sur le bassin versant à l'origine des dégradations ponctuelles de la qualité sanitaire des coquillages en élevage de la lagune de Thau, mises en évidence dans le cadre du REMI par temps sec et suite à des épisodes pluvieux ne sont pas clairement identifiées. Le projet OMEGA Thau (Outil pour le Management Environnemental et la Gestion des Avertissements), initié en 2007, à maîtrise d'ouvrage SMBT<sup>3</sup>, et dans le cadre duquel ce rapport a été réalisé, s'attache à mieux connaître les sources de pollutions microbiologiques sur l'ensemble du bassin versant de la lagune, à étudier leur mode de transfert et leur impact sur la qualité de l'eau de la lagune et des coquillages en élevage, dans différentes conditions météorologiques. Les deux principaux objectifs assignés à ce projet sont 1) de disposer d'un outil de management environnemental pour orienter et hiérarchiser les investissements publics en termes d'aménagement d'un territoire d'interface entre terre et mer pour atteindre une qualité optimale des milieux, et 2) d'élaborer un système d'avertissement précoce pour avertir les usagers des risques de contamination microbiologique et permettre une gestion préventive des activités conchylicoles.

---

<sup>3</sup> SMBT : Syndicat Mixte du Bassin de Thau.



Ce rapport restitue l'ensemble des résultats acquis par temps sec dans le cadre de l'étape 2 du projet OMEGA Thau, étape d'acquisition de mesures simultanément sur le bassin versant et la lagune au cours de la période septembre 2007 - octobre 2008.

Pour cerner plus finement la problématique de contamination par temps sec, le bilan des résultats acquis par temps sec dans le cadre du REMI au cours de la période 1997-2007 est présenté dans la première partie du rapport, et les sources potentielles de pollution par temps sec inventoriées et hiérarchisées sur le bassin versant dans l'étape 1 du projet sont rappelées.





## 2. Hypothèses de contamination par temps sec

### 2.1. Résultats acquis par temps sec dans le cadre du REMI (1997-2007)

Au cours de la période 1997-2007, 2 508 résultats de dénombrements d'*E. coli* dans les coquillages prélevés au niveau des 9 points de suivi de la zone d'élevage de la lagune de Thau (Figure 1) ont été acquis dans le cadre du REMI en surveillance régulière et en alerte par conditions de temps sec, c'est-à-dire suite à une période d'au moins 4 jours consécutifs de pluviométrie nulle enregistrée à la station météorologique de Sète. Toutes les années sont marquées par temps sec par des épisodes récurrents de dégradation de la qualité sanitaire des coquillages en élevage de la lagune de Thau (dépassement du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I.). Excepté en 1997 et 2000, les pics de pollution dépassent ponctuellement le seuil de 4 600 *E. coli* dans 100 g de C.L.I. Ces épisodes de contamination ont donné lieu à différentes mesures de gestion de la zone conchylicole prises par l'Administration en 1998, 1999, 2000, 2003, 2004, 2005 et 2007, d'obligation de passage en bassin de purification agréé avant commercialisation des coquillages pour les arrêtés préfectoraux publiés avant juin 2004, puis d'interdictions temporaires de commercialisation ou de restrictions d'exploitation des coquillages de la zone d'élevage après juin 2004.

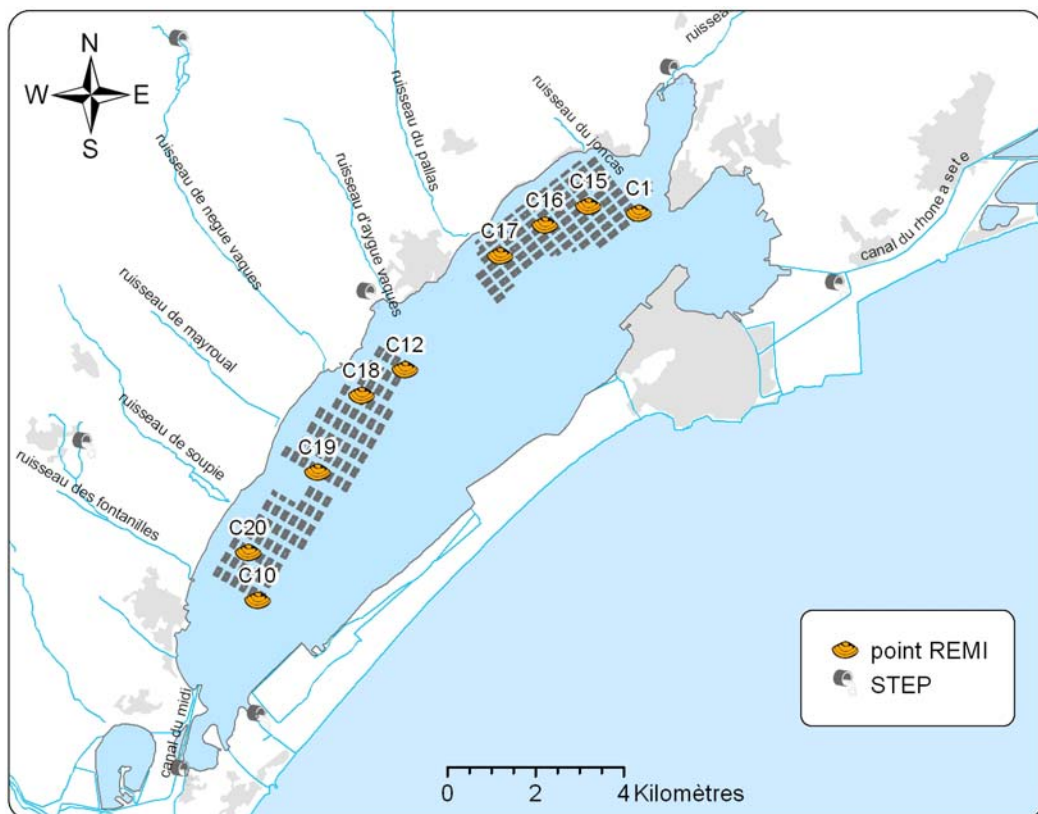


Figure 1. Localisation des 9 points du suivi mensuel REMI sur Thau.

En moyenne, 18 % des résultats acquis par temps sec au cours de la période 1997-2007 dans la zone d'élevage dépassent 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I. On note des différences significatives de contaminations entre les neuf points de suivi. Les deux points de

prélèvement d'huîtres les plus assujettis à des sources de contamination par temps sec sont C10 sur le secteur de Marseillan et C17 sur le secteur de Bouzigues, avec respectivement 33 et 24 % de dépassements du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I., alors que le point le moins exposé aux sources de pollution par temps sec est C19 dans le secteur de Mèze (8 %).

La Figure 2 présente la distribution mensuelle des dépassements du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I. (en % du nombre de résultats) enregistrés par temps sec de 1997 à 2007 sur l'ensemble de la zone l'élevage et pour chacun des 9 points de suivi. Globalement, si l'on observe les résultats cumulés sur l'ensemble de la zone, la période la plus fréquemment impactée par des dépassements du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I. s'étale d'août à janvier, avec une fréquence maximale de 26.3 % de dépassements du seuil en septembre, le mois le moins impacté étant juin avec seulement 6.5 % de dépassements. Si la saisonnalité des épisodes de pollutions par temps sec n'est pas marquée pour l'ensemble de la zone, l'étude des profils mensuels de contamination point par point permet de distinguer des différences significatives de saisonnalité en fonction des points. Le point C10, localisé à l'ouest du secteur de Marseillan, enregistre de novembre à mai des fréquences élevées de dépassement du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I. (75 % en mars), significativement supérieures aux autres points de suivi (C12, C15, C16, C17, C18, C19 et C20) qui sont essentiellement impactés par des pollutions par temps sec pendant les périodes estivale et automnale.

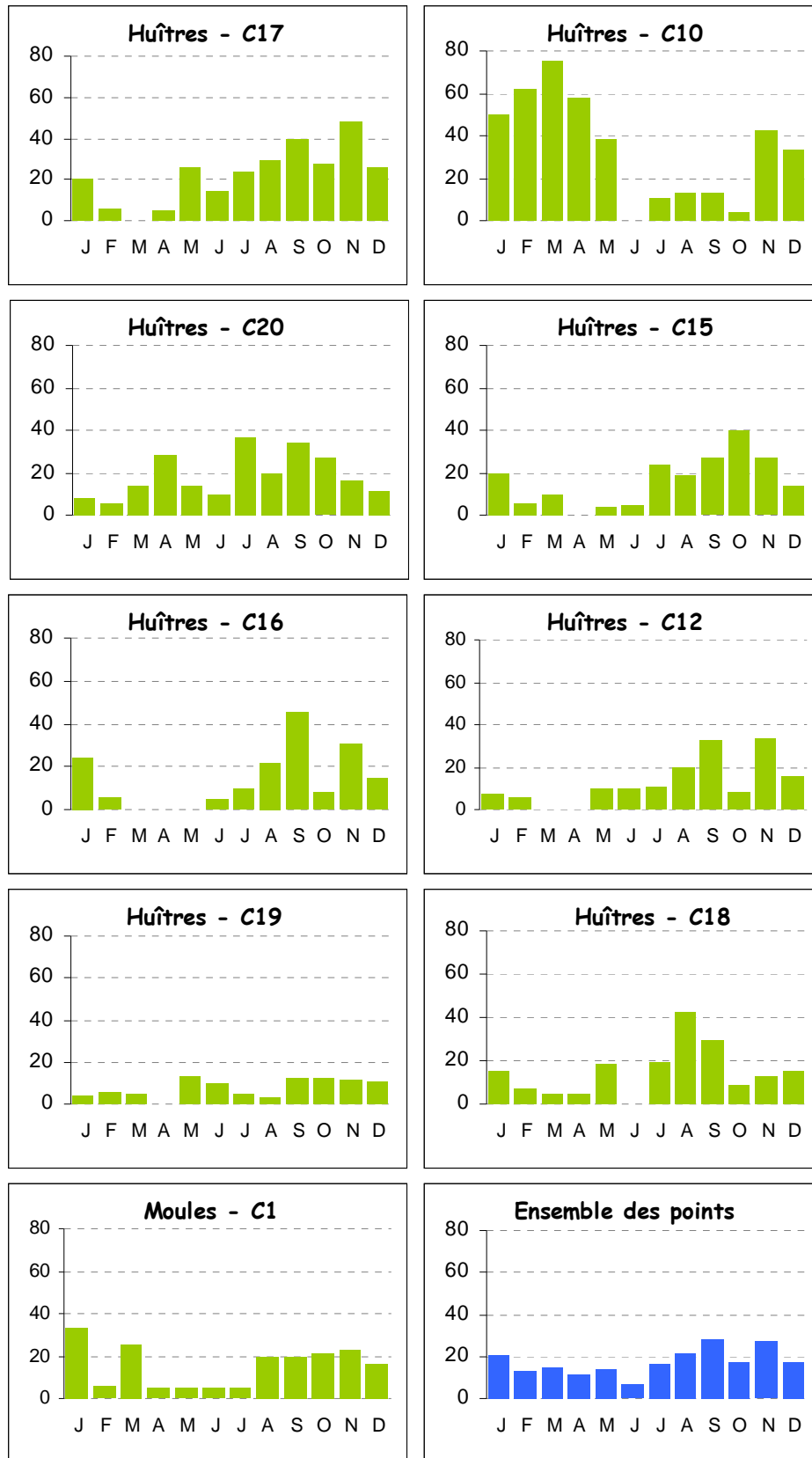


Figure 2. Pourcentage mensuel sur la période 1997-2007 de résultats REMI acquis par temps sec supérieurs au seuil de 230 E. coli/100 g de CLI, pour chacun des 9 points de suivi de la zone d'élevage de la lagune de Thau (vert) et pour l'ensemble des points (bleu).



Les pics de pollution enregistrés par temps sec ne sont pas observés simultanément sur l'ensemble des points de suivi. Parmi les 307 tournées de prélèvements REMI organisées par temps sec au cours de la période 1997-2007 dans la zone d'élevage de la lagune de Thau, 217 ont fait l'objet de prélèvements sur l'ensemble des 9 points de suivi. Des dépassements du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I. sont enregistrés pour 152 des 217 séries complètes. Dans 44 % des cas, seul l'un des 9 points de suivi est concerné par un dépassement du seuil, alors que moins de 18 % des séries présentent simultanément des dépassements au niveau de 4 ou plus de points de suivi (Figure 3).

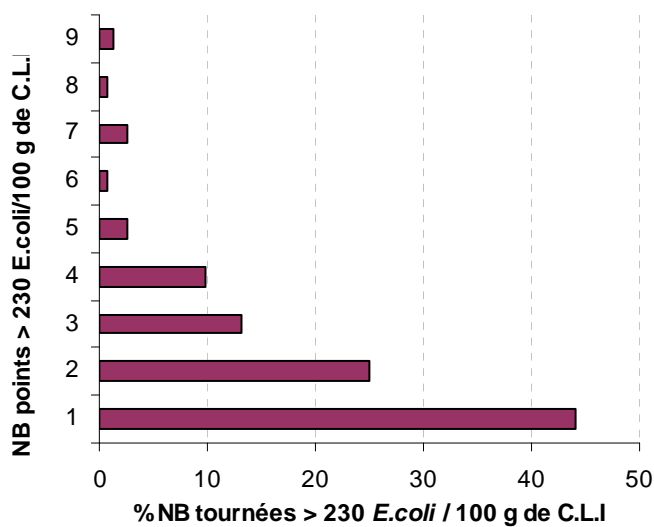


Figure 3. Nombre de points présentant simultanément un dépassement du seuil de 230 *E. coli*/100 g de CLI pour chacune des 152 tournées (en %) de 9 points de prélèvements effectuées dans le cadre du REMI par temps sec au cours de la période 1997-2007.

Ces épisodes de pollution microbiologique par temps sec des coquillages en élevage constituent une véritable problématique de gestion de la zone de production en raison de leur caractère hétérogène temporellement et spatialement, de leur fréquence d'apparition et des niveaux atteints qui peuvent être localement élevés. Les points de rejet des différentes sources de pollution d'origine fécale qui impactent ponctuellement et localement par temps sec la qualité sanitaire des coquillages en élevage de la lagune de Thau semblent par conséquent multiples et répartis dans différents secteurs géographiques, et sont de ce fait difficiles à identifier.

## 2.2. Inventaire des sources de pollution par temps sec

Plusieurs sources peuvent être à l'origine des contaminations microbiologiques détectées par temps sec dans les coquillages de l'étang de Thau :

1. une ou des sources anthropiques localisées sur le bassin versant et se rejetant par mode de transfert superficiel, directement dans l'étang ou via un cours d'eau,
2. la source anthropique liée aux rejets superficiels des bateaux ou pénichettes qui transitent dans la lagune,

3. la source aviaire : les zones humides périphériques de l'étang de Thau sont fréquentées par un grand nombre d'oiseaux, ainsi que les tables conchylicoles qui constituent pour certaines espèces des reposoirs ou dortoirs,
4. des sources de contamination localisées sur le bassin versant se rejetant dans l'étang selon un mode de transfert souterrain.

### 2.2.1. Sources anthropiques à mode de transfert superficiel

Selon les estimations réalisées dans le cadre de l'étape 1 du projet OMEGA (BRLi, Egis Eau, 2007), les principales sources de contamination par temps sec identifiées sur les bassins versants des secteurs conchylicoles de la lagune de Thau sont :

- les postes de refoulement / relèvement des eaux usées : certains secteurs sont sensibles même par temps sec (ex : Tennis / Fringadelle à Bouzigues, réseau sous vide à Loupian, les Onglous à Marseillan, Pinet-Pomérois,...). En 2006, le flux **potentiel** estimé à partir des alarmes de niveau haut est de l'ordre de **12.6 log *E. coli* / jour** en moyenne (15.2 log *E. coli* apportés au total en 2006) ;
- l'assainissement non collectif et les secteurs de cabanisation (dans une bande de 500 m autour de l'étang) : le nombre d'installations non conformes est *a priori* marginal (résultats du SPANC<sup>4</sup>). Néanmoins, cette source de contamination représente un flux total estimé à **13.4 log *E. coli* / jour**, soit 46 % des apports par temps sec à l'étang, variant de 10 pour le bassin versant du Soupié à 11.2 log *E. coli* / jour pour le bassin versant de la Vène ;
- les mas conchylicoles non raccordés : les flux apportés par cette source sont estimés de l'ordre de **10 à 11 log *E. coli* / jour** ;
- les ports et la plaisance : la contribution des ports de pêche et de plaisance aux apports microbiologiques à la lagune par temps sec est estimée à environ **12 log *E. coli* / jour**, soit moins de 10 % des apports par temps sec à l'étang. Néanmoins, elle peut être localement prépondérante comme au niveau du bassin versant de l'Aygues-Vacques (83 % des apports en saison estivale). Des pénichettes transitent dans l'étang de Thau d'avril à octobre (jusqu'à 700 bateaux par jour). Le canal du Midi n'étant pas équipé en pompe de récupération des eaux noires, cette activité touristique est susceptible de générer des pollutions microbiologiques, le flux estimé étant de **9 log *E. coli* / jour** en période estivale ;
- les élevages : 4 élevages sont recensés sur le bassin versant des Fontailles, 2 sur celui du Sesquier et 2 sur celui du Pallas. La contribution de cette source de contamination peut être considérée comme négligeable par temps sec. Cependant, elle est rappelée ici à titre indicatif du fait de possibles dysfonctionnements ;

<sup>4</sup> Schéma de Planification de l'Assainissement Non Collectif.

- les lagunages et les stations d'épuration : les apports du lagunage de Mèze-Loupian, sont estimés de **9.8 à 11.5 log *E. coli* / jour**, soit 0.6 % en saison estivale et 28.5 % hors saison estivale, des apports à la lagune par temps sec du bassin versant de l'Aygues-Vacques. Les rejets des lagunages de Montbazin, Gigean et de l'ASF à Poussan sont estimés de **9.7 à 10.7 log *E. coli* / jour** par temps sec à l'étang, après transit dans la Vène, cours d'eau permanent du bassin versant. Les rejets moyens du lagunage de Poussan-Bouzigues sont estimés de 9 à 11 log *E. coli* / jour et transitent dans l'étang des Moulières avant de se jeter dans l'étang de Thau. Le phénomène d'auto-épuration qui se produit dans l'étang des Moulières est considéré comme suffisamment important pour permettre de réduire significativement les apports bactériologiques à l'étang de Thau par temps sec. Les estimations effectuées dans le cadre de l'étape 1 indiquent que les contributions aux apports microbiologiques des autres stations d'épuration ou lagunages situés sur le bassin versant de Thau (Pinet-Pomerols, Villeveyrac, Marseillan) sont négligeables par temps sec ;
- les activités industrielles et artisanales : les rejets de ces activités engendrent un apport à l'étang par temps sec estimé à **9.7 log *E. coli* / jour**, apporté essentiellement par les caves coopératives.

L'assainissement non collectif (et la cabanisation) représente donc en moyenne la principale contribution en apports bactériologiques du bassin versant à l'étang de Thau, mais les dysfonctionnements ponctuels des réseaux d'assainissement, ainsi que les rejets d'eaux noires liées aux activités de pêche et de plaisance sont susceptibles de représenter localement et ponctuellement des apports plus importants.

Du fait des flux en *E. coli* non négligeables susceptibles d'être apportés à l'étang par certaines sources anthropiques listées ci-dessus, des investigations sont nécessaires pour préciser le niveau des apports dans le cadre des campagnes de temps sec de l'étape 2 du projet OMEGA.

### 2.2.2. Source aviaire

Selon les estimations réalisées dans le cadre de l'étape 1 du projet OMEGA (BRLi, Egis Eau, 2007), les apports de la faune aviaire sauvage (zones humides périphériques de l'étang et tables conchylicoles) seraient de **12.4 log *E. coli* / jour** en saison estivale à **13.3 log *E. coli* / jour** hors saison estivale, soit de 6 à 35 % des apports microbiologiques à la lagune par temps sec, l'essentiel étant apporté directement au niveau de la zone d'élevage.

La surface exploitée de la zone d'élevage de la lagune de Thau, qui représente 1/5<sup>ème</sup> de la superficie totale de l'étang, est subdivisée en trois secteurs conchylicoles Bouzigues-Loupian, Mèze et Marseillan, localisés d'est en ouest le long de la bordure nord de l'étang (Figure 1). Dans chacun de ces secteurs sont implantés des unités de production, dites tables conchylicoles, qui servent de support pour les cultures, et dont la partie émergée d'environ à 1,50 m au-dessus du niveau de l'eau constitue également des reposoirs ou dortoirs pour la faune aviaire. Le nombre de tables exploitées est d'environ 1900 sur le bassin de Thau (Annexe 2).



Un suivi ornithologique est réalisé depuis le début des années 1980 sur la lagune de Thau dans le cadre du programme Wetlands (effectué par le GRIVE<sup>5</sup> jusqu'en 2004 et par le CEN L-R<sup>6</sup> depuis 2005), essentiellement sur les zones humides périphériques. Sur l'étang, des comptages des dortoirs d'oiseaux sur les tables conchylicoles sont réalisés dans la mesure où les conditions météorologiques le permettent (absence de vent fort de secteur Nord ou Sud Est). Ces comptages n'ont lieu que d'octobre à mars et aucune donnée n'existe sur les dortoirs d'avril à septembre. Les espèces concernées sont toutes protégées au niveau national (article du 17 avril 1981) et certaines figurent même à l'annexe I de la directive Oiseaux, listant les espèces d'intérêt communautaire et justifiant la désignation des Zones de Protection Spéciale (Tableau 1).

Les caractéristiques des principales espèces d'oiseaux présents sur les tables conchylicoles de la lagune de Thau sont présentées en Annexe 1.

Depuis 2001, ces comptages permettent de donner les effectifs journaliers suivants en automne et hiver (Figure 6):

- en moyenne 1 100 Grands Cormorans sont dénombrés sur l'étang. 400 à 600 individus ont pour dortoir les tables en bois du secteur de Marseillan et environ 1 500 sont localisés sur la partie ouest des parcs de Bouzigues (en face de Mèze) (Figure 5),
- au maximum 3 000 à 4 000 Goélands leucophées sont répartis de façon homogène sur les tables des 3 secteurs conchylicoles,
- environ 10 000 à 15 000 Mouettes rieuses et mouettes mélanocéphales sont localisées essentiellement sur le secteur de Bouzigues.

Tableau 1. Espèces concernées par une protection réglementaire au niveau national ou européen.

Espèces concernées	Protection nationale	Protection européenne (annexe 1 Dir. Oiseaux)	Période concernée
Grand cormoran	Oui, mais soumis à dérogation	Non	Automne, hiver
Goéland leucophée	Oui, mais soumis à dérogation	Non	Toute l'année
Mouette rieuse	Oui	Non	Toute l'année avec pic en automne hiver
Mouette mélanocéphale	Oui	Oui	Toute l'année
Sterne caugek	Oui	Oui	Printemps, été et un peu en hiver
Sterne pierregarin	Oui	Oui	Printemps, été

<sup>5</sup> Groupe de Recherche et d'Information sur les Vertébrés et leur Environnement

<sup>6</sup> Conservatoire des Espaces Naturels du Languedoc- Roussillon



Les tendances actuelles observées pour ces espèces sont très variables :

- le Goéland leucopnée est en augmentation croissante depuis les années 60 avec des taux variant entre 4 et 9 % par an suivant les sites (Figure 4),
- le Grand Cormoran, après une phase de croissance importante, a un effectif héraultais stabilisé autour de 3 000 individus hivernant depuis 4 ans (comptage à la mi-janvier),
- la Mouette mélanocéphale a des effectifs croissants en période de reproduction depuis 20 ans, résultant d'un déplacement des populations de Méditerranée orientale vers la Méditerranée occidentale. La population camarguaise et languedocienne avoisine les 3 800 couples en 2008,
- la Mouette rieuse, est aujourd'hui en régression en période de reproduction en Méditerranée, mais l'espèce reste très commune en automne et en hiver, car les individus méditerranéens sont rejoints par de nombreux individus d'Europe du Nord dès le mois de septembre,
- la Sterne caugek est une espèce rare, avec des effectifs reproducteurs de l'ordre de 500 couples en Languedoc. L'espèce est en déclin en Méditerranée depuis dix ans.

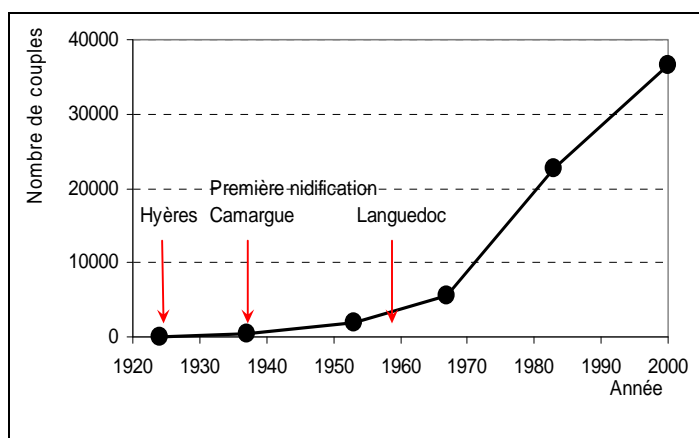


Figure 4. Evolution du nombre de couples nicheurs de Goéland leucopnée sur la façade méditerranéenne française (source : GISOM).

De nombreuses études, réalisées dans des milieux faiblement anthropisés et exposés à la présence de grands regroupements d'oiseaux, au Canada et aux États-Unis notamment, mettent en évidence des dégradations de la qualité sanitaire de milieux aquatiques suite à des pollutions fécales d'origine aviaire.

Dans le comté de Westchester, le réseau de surveillance du département de protection environnemental de New-York a mis en évidence une relation significative entre la présence d'oiseaux perchés en effectifs denses en différents sites du réservoir d'eau douce de Kensico et les niveaux élevés de coliformes fécaux mesurés dans les échantillons d'eau prélevés au niveau de ces sites, alors que dans les sites où les oiseaux ne sont pas présents, les dénombrements de coliformes fécaux sont inférieurs à 1 FC<sup>7</sup> / 100 mL (New-

<sup>7</sup> FC : unité format colonie.

York City DPE, 1993). En Ecosse, les détériorations hivernales de la qualité bactériennes de la réserve d'eau pour l'agglomération de Glasgow du Loch Katrine ont été associées à la présence nocturne d'oiseaux (*Larus sp.*) sur le réservoir. Les investigations menées montrent une corrélation significative entre le nombre d'oiseaux et le nombre d'*Escherichia coli* présent dans l'eau (Benton, 1983). Pour étudier l'impact de la présence de Goélands à bec cerclé (*Larus delawarensis*) sur la qualité des eaux récréatives du fleuve Saint Laurent au Canada, des dénombrements de coliformes fécaux dans les eaux du fleuve, à proximité de la rive, ont été réalisés en l'absence d'oiseaux et suite à l'attraction d'oiseaux sur la plage par de la nourriture. La concentration des coliformes fécaux dans l'eau est corrélée au nombre d'oiseaux présents sur la plage. Après 2 jours de présence de 30 oiseaux, le seuil de qualité de 200 FC / 100 mL pour les eaux de baignade canadiennes est systématiquement dépassé (Levesque, 1993). La présence prédominante de Goélands à bec cerclé (*Larus delawarensis*), de Bernaches du Canada (*Branta canadensis*), de Canard Colvert (*Anas platyrhynchos*) et de pigeons (*Columba livia*) sur le rivage de l'un des sites de baignade du Lac Michigan fréquemment fermé pour cause de pollution microbiologique, explique en partie les niveaux élevés d'*Escherichia coli* mesurés à proximité du rivage, par temps sec et suite à des événements pluvieux (McLellan, 2003). Une étude menée sur la qualité de la rivière Rideau en Ontario, en aval et en amont de l'un des nombreux ponts qui franchissent la rivière et sur lesquels résident des oiseaux (pigeons, canards, goélands, cygnes), a permis de montrer la contribution des oiseaux pendant la saison sèche à la charge en coliformes fécaux de la rivière, elle représente entre 17 et 35 % de la charge totale (Palmer, 1982). Une étude menée sur le littoral de Toronto (Canada) a montré que les dégradations de la qualité des eaux de baignade avaient pour principale origine les déjections aviaires (grands regroupements de Goélands et d'Oies du Canada), représentant de 30 à 66 % de la charge totale en *E. coli* apportée aux plages (Edge *et al.*, 2007).

Les quantités de fientes excrétées quotidiennement par différentes espèces d'oiseaux, citées dans la bibliographie, ainsi que leur concentration en coliformes thermotolérants, permettent d'estimer les flux journaliers théoriques de coliformes thermotolérants pour ces espèces (Tableau 2). Les flux moyens quotidiens de coliformes thermotolérants des Goélands bruns, argentés, cendrés et de la mouette rieuse ( $0.017$  à  $5.01 \cdot 10^9$ ) sont du même ordre de grandeur de celui calculé par Geilgreich (1996) pour l'humain ( $2.14 \cdot 10^9$ ).

Du fait des dénombrements importants d'oiseaux recensés sur les dortoirs des parcs conchylicoles de la lagune de Thau, de leur répartition hétérogène, et par conséquent du risque de générer localement pendant la nuit des flux conséquents d'*E. coli*, mais également des temps de transfert très réduits des fientes vers les coquillages en élevage, la source de pollution aviaire constitue une source prioritaire à investiguer dans le cadre des campagnes temps sec du projet OMEGA Thau.



Tableau 2. Flux quotidien de coliformes thermotolérants (CT) excrétés par différentes espèces d'oiseaux et par les humains calculés à partir de données disponibles dans la bibliographie. [a] Geldreich, 1966. [b] Hussong, 1978. [c] Palmer, 1982. [d] Pourcher, 1991. [e] Gould, 1978. [f] Fogarty, 2003. [g] Alderisio, 1999. \*pour *E. coli*

Espèce	Nombre de fientes excrétées par jour	Excrétion (g /jour)	10 <sup>6</sup> CT / g	Flux 10 <sup>9</sup> CT / jour
Humain		150 [a]	0.1 - 400 [d]	0.015 -60
Canard		336 [a]	33 [a]	1110
Poulet		182 [a]	1.3 [a], 60 - 300 [d]	0.237- 54.6
Cygne		317 [b]	2.5 [b]	0.793
Dinde		448 [a]	0.29 [a]	0.13
Pigeons		28 - 52.5 [c]	20 - 2900 [c]	0.56 - 152
Mouette rieuse	52 [e]	11.2 [e]	27.1 [e]	0.304
Goéland brun	41 [e]	13.4 [e]	374 [e]	5.01
Goéland argenté	34 [e]	24.9 [e]	0.711 [e]	0.017
Goéland cendré	62 [e]	11.8 [e]	52.6 [e]	0.621
Goéland à bec cerclé		/	<0.1 - 1900 [f], *368 [g]	/
Bernache du Canada		250 [b]	0.036 [b], *0.0154 [g]	0.004 - 0.009



Figure 5. Grands cormorans au large de Bouzigues (photo Ifremer, février 2008).

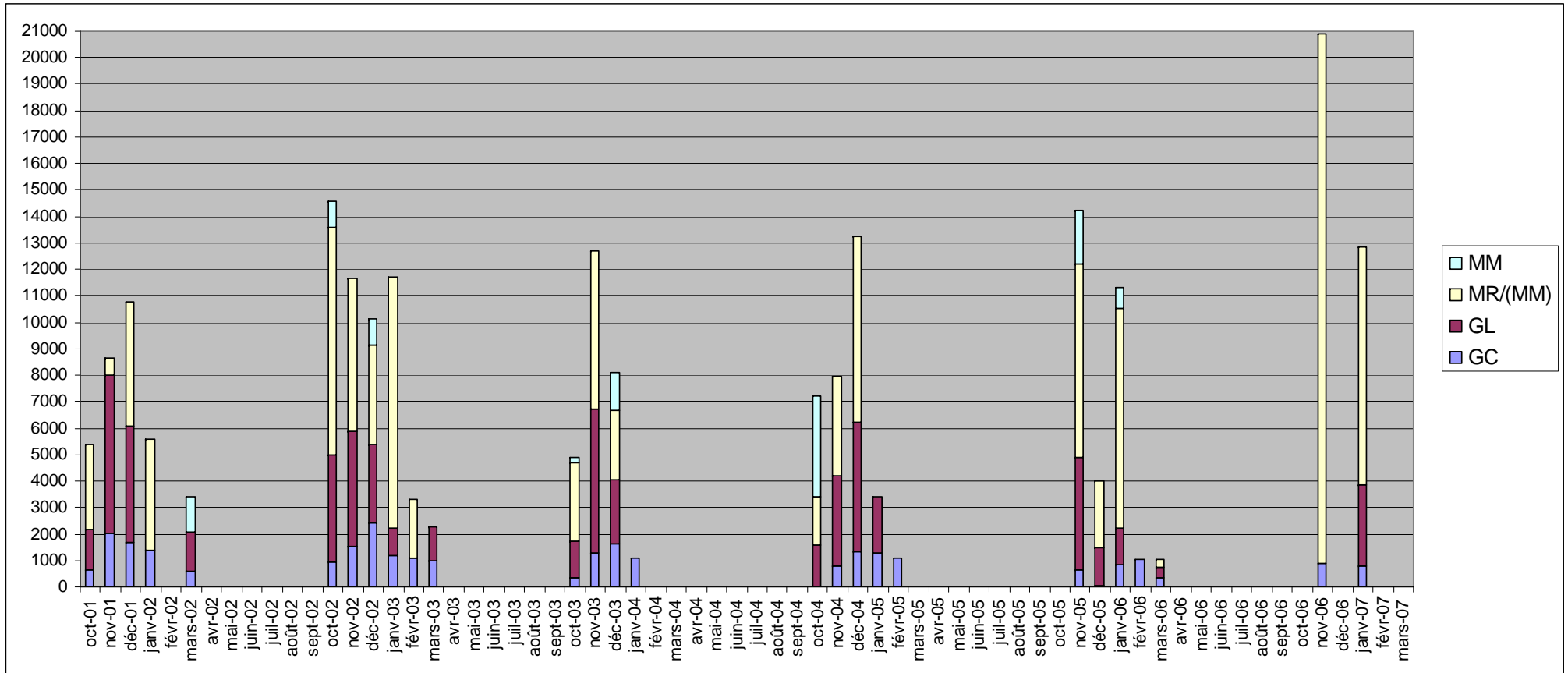


Figure 6. Effectifs des différentes espèces observées sur les tables de Marseillan et Bouzigues à la tombée de la nuit d'octobre à mars (années 2001 à 2007) (données CEN L-R). MM : Mouette mélanocéphale, MR : Mouette rieuse, GL : Goéland leucophée, GC : Grand Cormoran.

### 2.2.3. Source anthropique ou animale à mode de transfert souterrain

Les informations géologiques et hydrologiques recueillies dans le cadre d'une étude menée par le BRGM (BRGM, 2000) ont permis de montrer que l'hypothèse d'un transfert de contamination microbiologique, depuis le bassin versant jusqu'aux secteurs conchylicoles, *via* un ou plusieurs aquifères, était possible. Les chenaux fluviaux du Quaternaire ancien, connectés au plateau continental et orientés préférentiellement NNW-SSE, constitueraient la formation sédimentaire la plus susceptible de véhiculer une pollution microbiologique depuis sa source jusqu'au fond de l'étang. La seconde partie du transfert de la pollution, des chenaux jusqu'au niveau des secteurs conchylicoles, pourrait s'effectuer de manière privilégiée au droit de cadoules (amas coquilliers), pouvant constituer des structures verticales de forte perméabilité. Les contaminations se produiraient alors suite à des épisodes pluvieux suffisamment importants pour générer l'infiltration d'eaux contaminées dans les anciens chenaux fluviaux, les temps de transfert jusqu'aux secteurs conchylicoles étant estimés de 50 à 150 jours.

Ces hypothèses n'ont jamais été vérifiées sur le terrain. Pour cela, il serait nécessaire d'effectuer :

- l'analyse de la géométrie des formations géologiques potentiellement aquifères grâce au traitement des données géophysiques et géologiques disponibles et à l'acquisition de données de sondages mécaniques et de profils géophysiques,
- l'analyse des conditions hydrauliques de transfert (sondages piézométriques, analyses chimiques et microbiologiques),
- la recherche des sources de pollution : localisation en basses eaux des zones d'affleurements de roches perméables permettant de charger les aquifères en eaux contaminées.

De telles campagnes d'acquisition de données n'ont pas été réalisées dans le cadre du projet OMEGA Thau. Dans une première étape, seules les hypothèses de contamination par mode de transfert superficiel ont été investiguées.

Une surveillance en continu de la salinité et de la température de l'eau au niveau des points C2 et C10 a cependant été mise en œuvre afin de détecter un éventuel apport d'eau douce souterrain au cours de la période des suivis.

## 3. Matériel et méthodes

### 3.1. Protocole d'échantillonnage et de suivi

#### 3.1.1. Suivi annuel OMEGA par temps sec

Les mesures prévues dans le cadre de l'étape 2 du projet OMEGA permettent d'acquérir des informations sur la qualité microbiologique de l'eau et des coquillages par temps sec :

- des prélèvements hebdomadaires d'eau et de coquillages sont effectués au niveau de deux points (C2 et C10) en sub-surface et à mi-profondeur, en vue d'analyses microbiologiques. Ces deux points sont équipés de sondes d'acquisition à haute fréquence de la température et de la salinité, positionnées en sub-surface et au fond de la colonne d'eau, afin de détecter d'éventuelles dessalures provoquées par des apports issus du bassin versant ou souterrains,
- lors des états initiaux réalisés avant les épisodes pluvieux, des prélèvements d'eau et de coquillages sont réalisés afin d'évaluer le niveau de contamination des secteurs d'étude par temps sec (Figure 7). Les résultats acquis au cours des premiers états initiaux ont permis de compléter la stratégie du suivi annuel avec l'ajout en décembre 2007 puis janvier 2008 de 2 points de prélèvements, au niveau desquels des contaminations par temps sec ont été détectées (C11 puis C21).

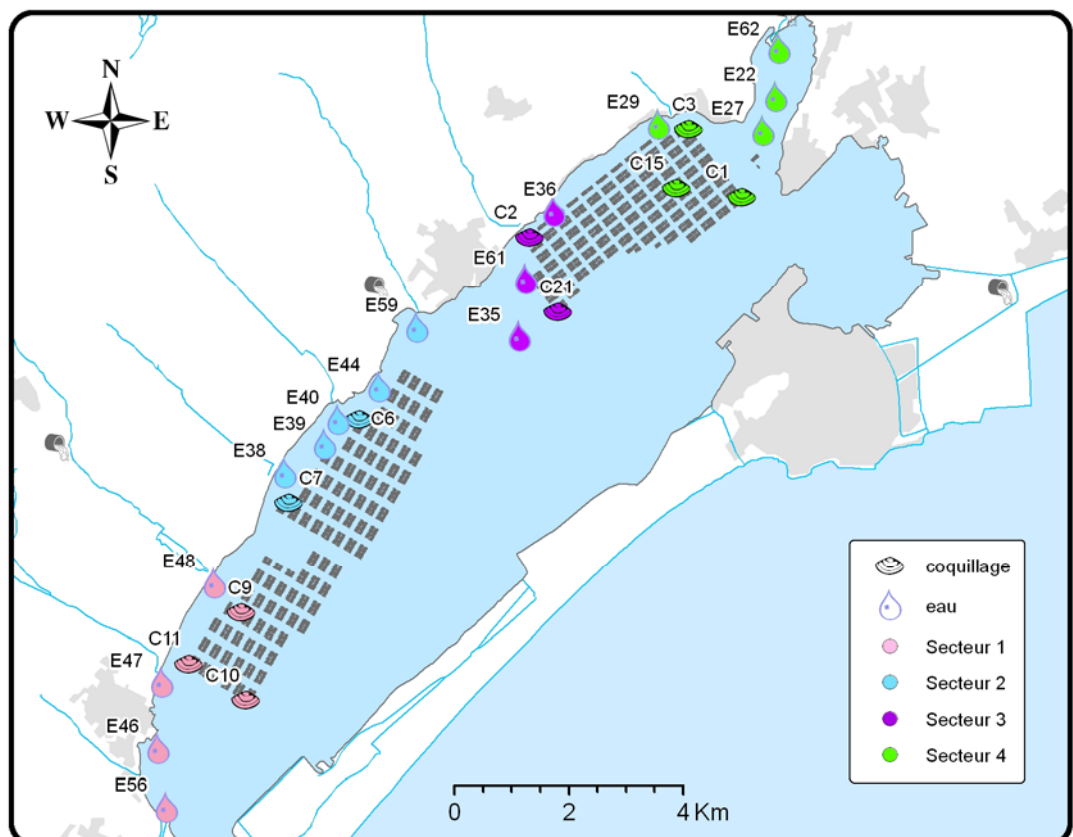


Figure 7. Localisation des points de prélèvement pour l'état initial des campagnes OMEGA.

### 3.1.2. Campagnes de temps sec OMEGA

Dans le protocole OMEGA de l'étape 2 (Ifremer, 2007b), il est prévu qu'hors période pluvieuse, des campagnes ponctuelles et localisées puissent être déclenchées suite à des informations venant du bassin versant indiquant un risque fort de contamination microbiologique de la lagune (incident sur le système d'assainissement, casse de réseau, résultats des suivis mensuels CQEL<sup>8</sup>,...), provoquant un passage en pré-alerte (Figure 8). Les résultats obtenus dans le cadre du suivi hebdomadaire sur la lagune indiquant une contamination des coquillages en élevage peuvent également déclencher le passage en alerte.

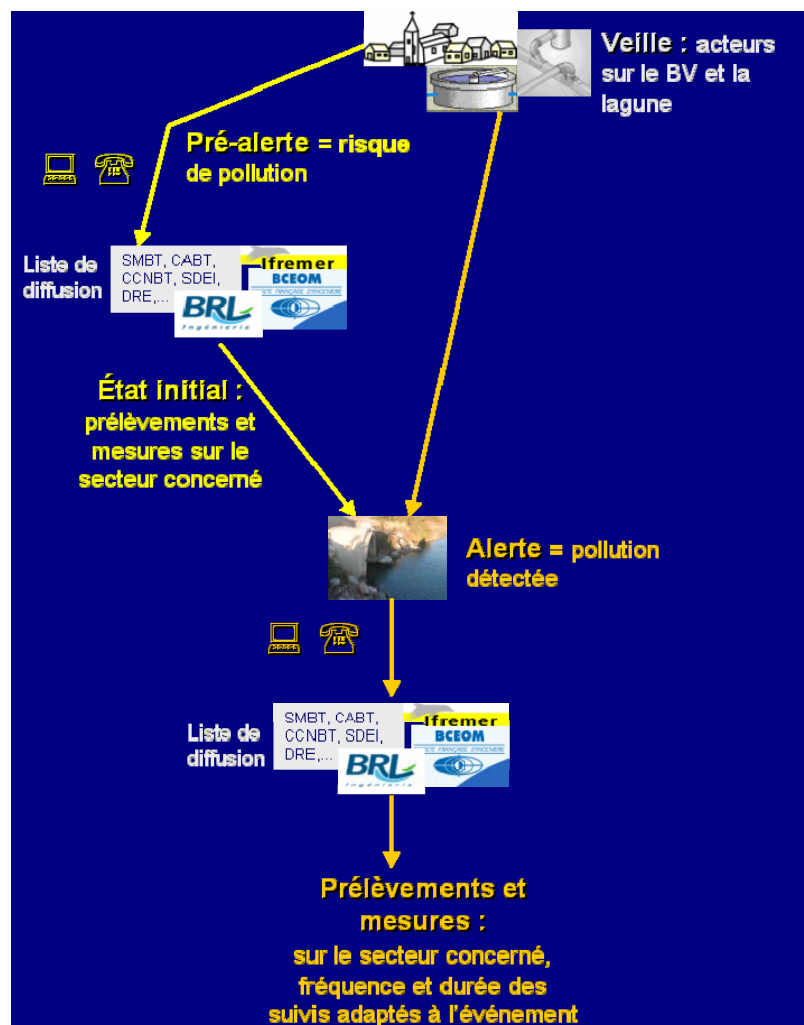


Figure 8. Protocole de passage en pré-alerte et en alerte dans le cadre des campagnes OMEGA de mesures par temps sec.

Les résultats obtenus dans le cadre du suivi annuel ont permis de confirmer l'existence de pics de contamination des coquillages par temps sec. Des campagnes de mesures ont ainsi été menées par Egis Eau en novembre et décembre 2007 sur le bassin versant au droit du secteur de Marseillan, concerné par des pollutions récurrentes.

<sup>8</sup> CQEL : Cellule Qualité des Eaux Littorales (Direction Régionale de l'Équipement – DRE).



Ces campagnes de mesures sur le bassin versant ont été complétées en mars et juillet 2008 par 3 campagnes de mesures par temps sec ciblées sur le secteur de Marseillan (les 14 et 15 mars (1<sup>ère</sup> campagne), les 27 et 28 mars (2<sup>ème</sup> campagne) et les 30 et 31 juillet (3<sup>ème</sup> campagne)), et les 26 et 27 août par une quatrième campagne sur le secteur de Bouzigues, visant à mesurer le niveau de contamination microbiologique de l'eau et des coquillages de la lagune et à évaluer les flux microbiologiques apportés par les sources potentielles identifiées : source terrestre (suivi des apports du bassin versant), souterraine (suivi des dessalures surface/fond) et source aviaire (observations des peuplements d'oiseaux présents sur les tables conchylicoles).

### Etat initial de la contamination de l'eau et des coquillages

Lors des 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> campagnes, un **état initial** de la qualité microbiologique de l'eau et des coquillages a été effectué, consistant en la réalisation par l'Ifremer de respectivement 13, 17 et 14 prélèvements d'eau et de coquillages, en vue d'analyses microbiologiques (Tableau 3). Les prélèvements ont été effectués l'après-midi, en l'absence d'oiseaux sur les tables conchylicoles.

### Suivi des apports du bassin versant

Lors des 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> campagnes, un suivi des apports des principaux tributaires des secteurs d'étude a été effectué. Des mesures hydrologiques (mesure des débits au moyen de d'installations fixes sur les Fontanilles, le Soupié, le Sesquier, le Pallas, le Bourbou, l'étang des Moulières et la Vène, mesure de la température et salinité) et des prélèvements d'eau ont été réalisés par le SMBT et la CQEL en vue d'analyses microbiologiques au niveau :

- pour le secteur de Marseillan : du vieux port de Marseillan, des Fontanilles, du Soupié (points CQEL) et du canal du Midi,
- pour le secteur de Bouzigues : du Sesquier, du Pallas, de la Vène, du port de Mèze et de la zone humide (Moulières).

### Suivi de la salinité en surface et au fond de l'étang

Afin de détecter d'éventuelles dessalures provoquées par des apports issus du bassin versant ou d'origine souterraine, les sondes d'acquisition à haute fréquence de la température et de la salinité ont été positionnées pendant la durée des campagnes de temps sec au niveau des points C2 et C10, en sub-surface (- 1 m de la surface) et au fond (1 m du fond) de la colonne d'eau, (Figure 7),

### Dénombrements d'oiseaux sur les tables conchylicoles

A la tombée de la nuit, depuis les embarcations Ifremer (Gryphéa en mars, complété par le Chlamys en juillet et août), les regroupements d'oiseaux sur les tables conchylicoles (voir Annexe 2 pour la localisation des lignes et colonnes) ont été localisés par le LER/LR, aidé du CEN-LR pour la 3<sup>ème</sup> campagne et du SMBT pour la 4<sup>ème</sup> campagne. L'identification des espèces et le comptage des individus ont été effectués au moyen de jumelles (mises à disposition par l'ADENA<sup>9</sup>).

<sup>9</sup> ADENA : Association de Défense de l'Environnement et de la Nature du pays d'Agde.



Pour les deux premières campagnes, les dénombrements n'ont concerné que les tables des points prélevés lors de l'état initial et les regroupements d'oiseaux de plus de 50 individus. Pour la troisième campagne, un dénombrement de chaque table du secteur de Marseillan a été réalisé. Pour la quatrième campagne effectuée sur le secteur de Bouzigues, les dénombrements ont concerné toutes les tables, exceptées celles des rangs 1 à 4 de la colonne 7, non observées à cause de la tombée de la nuit.

Pour analyser l'impact des contaminations aviaires sur la qualité microbiologique des coquillages en élevage et de l'eau, le nombre total d'oiseaux présents dans un cercle d'un rayon de 100 mètres autour de chaque point de prélèvement a été calculé, avec une légère différence pour les représentations graphiques et pour les traitements statistiques :

- pour les représentations graphiques, ce nombre correspond à la somme des dénombrements d'oiseaux présents sur toutes les tables **dont au moins une partie** est incluse dans le cercle de rayon de 100 mètres (Figure 9, partie gauche),
- pour le traitement statistique des données, ce nombre correspond à la somme des dénombrements d'oiseaux présents sur toutes les tables **dont le centre** est inclus dans le cercle de rayon de 100 mètres (Figure 9, partie droite).

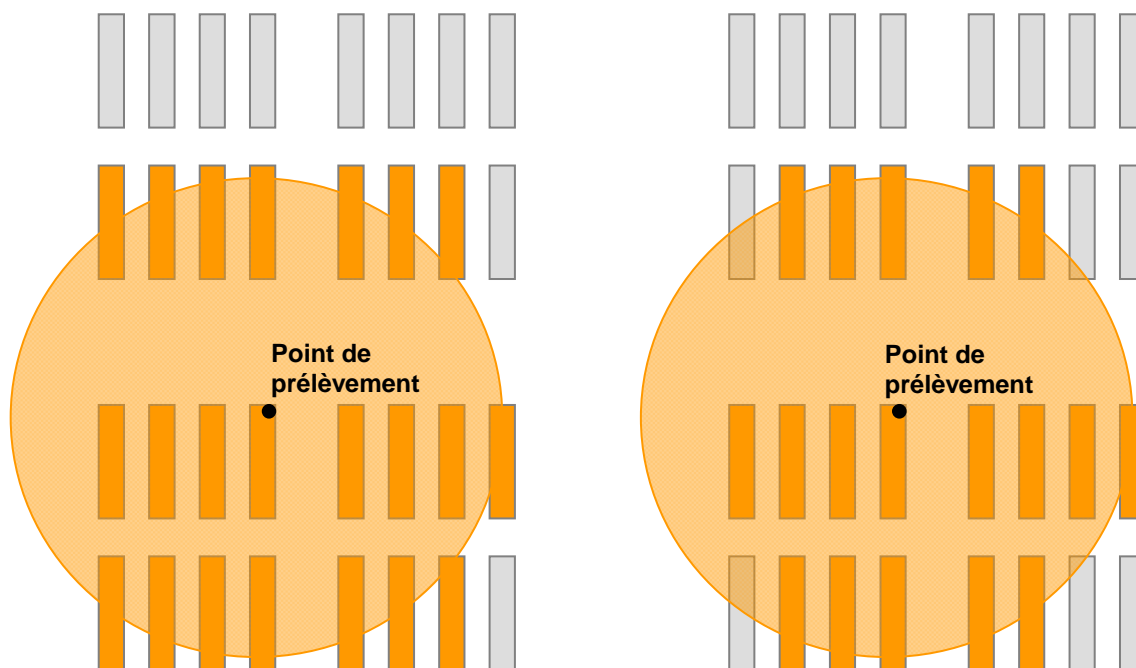


Figure 9. Méthodes de calcul du nombre d'oiseaux présents dans un rayon de 100 mètres autour d'un point de prélèvement. A gauche : méthode appliquée pour la représentation graphique (SIG). A droite : méthode appliquée pour le traitement statistique des données. En orange : tables prises en compte pour le calcul du nombre d'oiseaux. En gris : tables non prises en compte pour le calcul du nombre d'oiseaux.

Ces estimations du nombre d'oiseaux présents dans un cercle d'un rayon de 100 mètres autour de chaque point de prélèvement nous ont permis de définir deux catégories de tables :

- les tables dortoirs, présentant un nombre d'oiseaux supérieur à 30,
- des tables témoins présentant un nombre d'oiseaux inférieur à 30.

Le seuil de 30 oiseaux est fixé arbitrairement pour la définition des tables dortoirs et témoins, il correspond à un flux maximum estimé à  $9.6 \log$  d'*E. coli* / jour pour les Mouettes ou les Goélands, soit **l'équivalent de 9/10<sup>ème</sup> des apports journaliers humains** (en prenant  $10.5 \log E. coli / j$  comme valeur moyenne pour les apports humains).

### Prélèvements post-observations

Le lendemain des observations d'oiseaux, au lever du jour, le LER/LR a effectué des prélèvements d'eau en surface et de coquillages (10 huîtres creuses) en sub-surface (à - 1 m de la surface) en vue d'analyses microbiologiques au niveau des "**tables dortoirs**", sur lesquelles des oiseaux avaient été localisés la nuit précédente et au niveau de "**tables témoins**", sans présence d'oiseaux. Pour quelques points, le prélèvement de surface a été accompagné d'un prélèvement en profondeur (à 1 m du fond), en vue de mettre en évidence une éventuelle différence de contamination le long de la colonne d'eau.

Lors des 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> campagnes, les tables échantillonnées lors des états initiaux n'ayant pour la plupart pas été fréquentées par les oiseaux, des points de prélèvements sous les tables identifiées en tant que dortoirs ont été rajoutées aux points des états initiaux, en vue d'équilibrer le plan d'échantillonnage (tables dortoirs / tables témoins) (Tableau 3).

Tableau 3. Nombre de stations échantillonnées en eau et coquillages lors des états initiaux et le lendemain des observations d'oiseaux, pour les quatre campagnes de suivi par temps sec

Campagne	Etat initial (EI)		Post-observations			Total
	Surface (S)	Fond (F)	Tables dortoirs		Tables témoins	
			Surface	Fond	Surface	
1) Bouzigues - 15/03/08	/		7	1	7	14 S + 1 F
2) Bouzigues - 27 et 28/03/08	12	1	6 (3 idem EI)	2 (1 idem EI)	10 (9 idem EI)	16 S + 2 F
3) Bouzigues - 30 et 31/07/08	15	2	12 (5 idem EI)	3 (1 idem EI)	11 (8 idem EI)	23 S + 3 F
4) Marseillan - 26 et 27/08/08	11	3	9 (4 idem EI)	6 (1 idem EI)	7 (idem EI)	16 S + 6 F



Pour les campagnes 3 et 4, des pochons d'huîtres (mis à disposition par la SRCM<sup>10</sup>) ont été installés quelques jours avant l'état initial sur les secteurs de Marseillan puis Bouzigues afin de pouvoir prélever sur des points définis au préalable.

### 3.2. Méthodes de prélèvements

Les prélèvements pour les analyses microbiologiques (*E. coli*, bactériophages) ont été effectués par le LER/LR à partir de l'embarcation en aluminium Gryphea dans la lagune (Figure 10), et par la CQEL et le SMBT sur le bassin versant.

Les prélèvements d'eau sont effectués à l'aide d'une perche à prélèvement pour les échantillons de sub-surface et d'une bouteille Hydrobios pour les échantillons en profondeur, préalablement rincés au niveau du point de prélèvement. Les échantillons sont transférés, en évitant toute contamination, dans des flacons stériles de 500 mL, identifiés par un numéro unique.

Les prélèvements de coquillages sont effectués à partir d'huîtres de taille commerciale (2 à 4), collées ou en pochons et mises à disposition par les conchyliculteurs exploitant les tables concernées par les prélèvements. La quantité d'huîtres prélevée est de 10 pour les analyses de *E. coli* et de bactériophages. Les coquillages prélevés sont placés dans des sacs en plastique étanches identifiés par un numéro unique.



Figure 10. Embarcations de l'Ifremer utilisées sur la lagune de Thau dans le cadre des campagnes de suivi de l'étape 2.

Le transport des échantillons d'eau et de coquillages est effectué dans des glacières maintenues par des blocs de froid à une température comprise entre 1 et 4°C pour les échantillons d'eau, et 2 à 15°C pour les échantillons de coquillages. Le délai maximal à ne pas dépasser entre l'heure de prélèvement des échantillons et l'analyse est de 24 heures.

<sup>10</sup> SRCM : Section Régionale de la Conchyliculture Méditerranée.

### 3.3. Mesures de la température et de la salinité

Les mesures de la température et de la salinité ponctuelles dans la lagune ont été réalisées à partir des embarcations nautiques au moyen de sondes WTW LF 197 S. Les mesures de ces paramètres à haute fréquence (acquisition de la donnée toutes les 10 minutes), ont été réalisées à partir de sondes TPS35 NKE-MICREL (Figure 11) fixées et suspendues sur deux tables conchylicoles (pour chaque station : une sonde en sub-surface et une à mi-profondeur). Les données ont été récoltées toutes les semaines lors de la maintenance de la sonde.



Figure 11. Capteur/enregistreur TPS Micrel.

### 3.4. Acquisition des données météorologiques

Les mesures de vent (vitesse et direction) présentées dans ce rapport correspondent pour le mois de mars, aux données tri-horaires enregistrées par Météo France au sémaphore de Sète, et pour les mois de juillet et août aux données fournies par la station d'acquisition automatique Campbell installée par le CNRM (Centre National de Recherche Météorologique) de Météo France sur une table conchylicole de Marseillan.

Les données sont présentées sous forme d'hodographe<sup>11</sup> et accompagnées des intensités et directions moyennes calculées sur la période des suivis.

Les mesures de pluviométrie ont été réalisées au niveau de pluviographes localisés au sémaphore de Sète (pluviographe de Météo France) et au niveau des lagunages de Mèze, de Poussan-Bouzigues et des Onglous à Marseillan (pluviographes installés par BRLi dans le cadre du projet OMEGA).

### 3.5. Méthodes d'analyses microbiologiques

Les recherches et dénombrements d'*Escherichia coli* dans l'eau et les coquillages ont été effectués par le LER/LR de Sète. Les dénombrements et génotypages de bactériophages F + ARN ont été réalisés par le laboratoire EMP-MIC<sup>12</sup> de Brest.

<sup>11</sup> Diagramme où figurent la direction suivie et la distance parcourue par une particule sous l'effet du vent.

### 3.5.1. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli*

Les échantillons d'eau ont été analysés selon la méthode normalisée NF EN ISO 9308-3, méthode du nombre le plus probable, miniaturisée pour ensemencement en milieu liquide. L'échantillon d'eau dilué est ensemencé dans une série de puits d'une microplaque contenant le milieu de culture MUG (4-méthylumbelliféryl- $\beta$ -D-glucuronide) déshydraté. Les microplaques sont examinées sous rayonnement ultraviolet à 366 nm dans l'obscurité après une période d'incubation de 36 h minimum et 72 h maximum à 44°C +/- 0.5°C. La présence d'*E. coli* est indiquée par une fluorescence bleue résultant de l'hydrolyse du MUG. Les résultats sont donnés en nombre le plus probable (NPP) par 100 mL (Afnor, 1999).

Les échantillons de coquillages ont été analysés selon la méthode normalisée NF V08-106 (Afnor, 2002), technique indirecte par impédancemétrie directe de dénombrement des *E. coli* dans les coquillages vivants. Après broyage et décantation 15 à 30 minutes, d'une suspension composée de 75 à 100 g de chair et de liquide intervalvaire de coquillages diluée au 1/3 dans du tryptone sel, une dilution au 1/10<sup>ème</sup> de cette suspension est introduite dans deux cellules de milieux de culture sélectif Bac Trac. Les cellules de milieux équipées d'électrodes sont ensuite incubées à 44°C dans l'auto-analyseur microbiologique Bac Trac 4300, qui mesure en continu la variation d'impédance du milieu induite par la croissance des *E. coli*. La variation de conductance du milieu de culture, en fonction du temps, est comparable à une courbe de croissance microbienne classique. La durée de la phase de latence (exprimée à travers le temps de détection) est proportionnelle au nombre de bactéries ensemencées initialement dans le milieu.

### 3.5.2. Recherche de l'origine de la contamination fécale par utilisation des bactériophages F ARN spécifiques

Pour explorer la piste d'une origine aviaire des contaminations, l'Ifremer a mis en œuvre plusieurs expérimentations :

- à partir de février 2008, la recherche, le dénombrement et l'identification de bactériophages F + ARN spécifiques ont été réalisés par le laboratoire de microbiologie de Brest sur les échantillons de coquillages recueillis lors du suivi hebdomadaire OMEGA. Encore au stade de la recherche, le génotypage des bactériophages pourrait permettre d'estimer l'origine (humaine ou animale) de la contamination microbiologique,
- des prélèvements de fientes de Goélands ont été effectués afin d'y dénombrer et génotyper les bactériophages F + ARN spécifiques et de compléter les données de la bibliographie sur les gènes spécifiques des animaux.

---

<sup>12</sup> EMP-MIC : Département Environnement Microbiologie et Phycotoxines – Microbiologie.

### 3.5.2.1. Les bactériophages et l'identification de l'origine de la contamination

Les bactériophages sont des virus qui infectent les bactéries d'origine fécale. Ils sont présents dans tous les écosystèmes et en particulier dans les eaux. En milieu hydrique, trois groupes de bactériophages sont souvent recherchés : les coliphages somatiques (dont l'hôte est *Escherichia coli*), les bactériophages F + ARN spécifiques (dont les hôtes sont des bactéries Gram négatif) et les phages de *Bacteroides fragilis*.

### 3.5.2.2. Les bactériophages F + ARN spécifiques

Les bactériophages F + ARN spécifiques sont des phages qui infectent *E. coli* et certaines bactéries Gram négatif par adsorption sur des pili sexuels. Ils ne sont pas spécifiques de l'espèce humaine et reflètent une contamination aussi bien animale qu'humaine. Leur détection est relativement simple à effectuer. Deux principaux génotypes se distinguent chez les bactériophages F + ARN spécifiques : le génotype IV, que l'on retrouve exclusivement chez les animaux et le III, détecté principalement dans les selles humaines et les effluents d'origine urbaine, signant une source de contamination humaine. Les deux autres génotypes, plus abondants, sont également plus diversifiés, le I étant plutôt à dominante animale (oiseaux) et le II à dominante humaine (Hsu *et al.*, 1995 ; Noble *et al.*, 2003 ; Long *et al.*, 2005).

Dans le cadre de cette étude, seule la période comprise entre la mi-février et la fin avril 2008 a été suivie pour ces paramètres ; elle inclut ainsi les deux premières campagnes de temps sec OMEGA réalisées au mois de mars sur le secteur de Marseillan.

### 3.5.2.3. Principe du dénombrement de bactériophages F + ARN spécifiques

La technique de la double couche, décrite dans la norme ISO NF 10705-1 (1995), a été utilisée pour le dénombrement des bactériophages. L'analyse consiste à mettre en présence l'échantillon à analyser et la cellule hôte *Salmonella Typhimurium* WG 49 dans un milieu semi-solide (Tryptone Yeast Glucose Agar : TYG A). A 37°C, la cellule-hôte forme un tapis de colonies et les phages présents se développent en lysant les bactéries. Le résultat est exprimé en nombre d'unités formant plaques par 100 g de CLI ou par UFP<sup>13</sup> / 100 mL d'eau.

### 3.5.2.4. Protocole analytique

#### Préparation des échantillons : cas des coquillages

A l'arrivée au laboratoire, les broyats de coquillages (30 à 40 mL du surnageant ayant servi à l'analyse d'*E. coli*) sont transférés dans des tubes à centrifuger (type Falcon de 50 mL), centrifugés 15 min, à la vitesse de 2 500 g et à une température de 4°C. Le surnageant est conservé à 4°C jusqu'à l'analyse. Dans le cas d'échantillons très contaminés, les surnageants sont dilués.

Pour les échantillons faiblement contaminés, l'analyse est réalisée sur les glandes digestives des coquillages après dissection. Dans ce cas, les coquillages sont soigneusement lavés sous courant d'eau potable dès l'arrivée au laboratoire. Après

<sup>13</sup> UFP : Unité Formant Plaque.

ouverture, les hépato-pancréas et le tube digestif sont prélevés et homogénéisés en présence de deux volumes d'eau peptonée, à l'aide d'un mixer Polytron. L'analyse est réalisée également sur le surnageant après centrifugation comme indiqué ci-dessus.

#### Préparation des échantillons : cas des eaux

A l'arrivée au laboratoire, les échantillons sont analysés directement ou concentrés lorsqu'une faible contamination est suspectée. Le protocole de concentration, décrit dans la publication de Mendez *et al.*, (2004) et consistant à ajouter à l'échantillon du chlorure de magnésium à une concentration finale de 0,05 M, a été appliqué.

#### Préparation des échantillons : cas des fécès ou fientes

Les fécès d'origine animale sont analysées dès l'arrivée au laboratoire. Dans le cas des fientes prélevées à partir d'un individu, le poids prélevé est généralement très faible. Si le prélèvement est fait sur un écouvillon, le poids prélevé est estimé. En règle générale, l'échantillon de fiente est dilué dans 4 volumes de tampon phosphate additionné de 15 % de glycérol et de 0.2 % de Tween 20. Ce mélange est agité pendant 2h à 4°C, puis centrifugé à 3 500 g pendant 15 min à 4°C. Le surnageant est récupéré pour l'analyse.

#### Transfert des bactériophages F + ARN spécifiques

Afin de génotyper les bactériophages, une fois le dénombrement terminé, les plaques de lyse sont transférées sur des membranes de nylon chargées positivement (Schaper *et al.*, 2000). Les boîtes de Pétri présentant des plaques de lyse sont placées au moins 30 minutes à 4°C pour durcir la gélose. La membrane est appliquée 1 minute sur la gélose. Lorsque plusieurs transferts sont réalisés à partir d'une même boîte, la perte de matériel due au précédent transfert est compensée par un temps de contact plus long (2 minutes pour la deuxième membrane, 3 pour la troisième, etc...). Les membranes sont ensuite traitées dans différents bains afin de dénaturer les acides nucléiques présents et de neutraliser les membranes. La membrane est exposée aux UV afin de fixer les acides nucléiques puis séchée sur papier absorbant Whatman.

Si l'échantillon est peu contaminé (moins de 30 plages de lyse sur la boîte de Pétri), on procède alors au prélèvement individuel des quelques phages présents ; la technique décrite par Long et Sobsey (2004) est appliquée et les phages isolés et conservés à -20°C sont déposés ultérieurement et génotypés.

#### Hybridation et révélation

Le principe de cette méthode repose sur l'hybridation spécifique de deux molécules d'acides nucléiques grâce à des séquences complémentaires (Beekwilder *et al.*, 1996). De nombreux génogroupes existent chez les bactériophages F + ARN, mais les séquences décrites par Beekwilder *et al.* (1996) et disponibles au laboratoire Ifremer EMP-MIC ne couvrent que les 4 principaux génogroupes (I à IV).

A l'issue des hybridations avec les sondes des 4 principaux génogroupes, les pourcentages de chacun des génogroupes présents sont calculés (Figure 12).



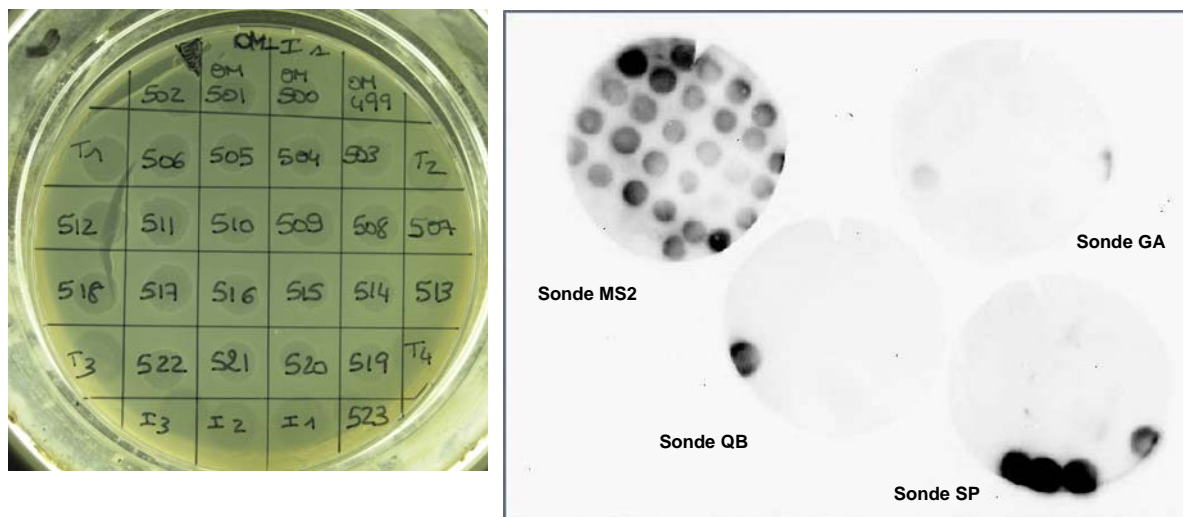


Figure 12. Boîte de Pétri comportant des isolats et résultats des membranes hybridées.

Suite aux conclusions obtenues lors du projet européen Interreg ICREW (Improved Coastal and Recreational Waters), le nombre minimal d'isolats nécessaires pour obtenir un résultat représentatif et fiable a été évalué à 20 (Piriou *et al.*, 2006). Pour les échantillons où le nombre d'isolats est inférieur à 20, le résultat n'est donné qu'à titre informatif.



## 4. Résultats

### 4.1. Résultats acquis sur la lagune et par temps sec, dans le cadre du suivi annuel OMEGA

#### 4.1.1. Résultats microbiologiques et hydrologiques

Les résultats des dénombrements d'*E. coli* obtenus par temps sec (plus de 4 jours après des pluies) sur les points C2 et C10 en surface et en profondeur, C11 et C21 en surface, dans l'eau et les coquillages sont présentés sur la Figure 13. Des pics de pollution microbiologique d'origine fécale sont détectés dans les coquillages par temps sec au niveau de ces 4 points. La fréquence de dépassement du seuil de 230 *E. coli* dans 100 g de C.L.I est respectivement en surface de 14 %, 43.5 %, 53.3 % et 61.1 % pour les points C2, C10, C21 et C11, et en profondeur de 16.7 % et 40 % pour les points C2 et C10. Les résultats des analyses microbiologiques effectuées au niveau des points C2 et C10 simultanément en surface et au fond ne mettent pas en évidence de différence significative des concentrations en *E. coli* mesurées dans les coquillages à ces deux niveaux (test du rang signé sur les médianes en C2 :  $p\text{-value}^{14} = 0.6140$ , en C10  $p\text{-value} = 0.8314$ ). Sur les 46 séries de prélèvements réalisées à une fréquence hebdomadaire de septembre 2007 à septembre 2008, 6 présentent un ou plusieurs résultats dépassant le seuil de 4 600 *E. coli* / 100 g de C.L.I. de mise en alerte de la zone d'élevage. Pour les 4 points suivis, les valeurs maximales de pollution dans les coquillages enregistrées au cours de la période de suivi sont de 56 000, 47 000 et 7 700 *E. coli* / 100 g de C.L.I le 10/03/2008 en C2, C10 et C11 et de 19 000 *E. coli* / 100 g de C.L.I le 04/12/2007 en C11. Ces contaminations des coquillages sont par conséquent de nature à impacter significativement l'activité conchylicole sur la lagune.

Les profils de contamination des 4 points suivis à une fréquence hebdomadaire par temps sec ne sont pas similaires. La période la plus exposée à la source de pollution fécale du point C10 s'étend de décembre à mars, ce qui corrobore les résultats acquis dans le cadre du REMI. Le point C2, bien que moins soumis à des pollutions fécales que les autres points, semble plus exposé d'octobre à mars. Enfin, les points C11 et C21 suivis de novembre à septembre, semblent impactés de manière récurrente tout au long de la période, avec une période de plus faible exposition au printemps. Ces résultats permettent de subodorer l'existence de différents points d'entrées des pollutions dans la lagune par temps sec.

Les résultats acquis dans l'eau contrastent avec ceux des coquillages. La majorité des résultats de dénombrement des *E. coli* dans l'eau, en surface et en profondeur, sont inférieurs à la valeur guide pour les eaux de baignade de 100 *E. coli* / 100 mL, caractérisant des eaux de bonne qualité microbiologique pour un usage de baignade. Tous les résultats acquis au niveau des points C21 en surface et C2 en profondeur sont

<sup>14</sup> La  $p\text{-value}$  correspond à la probabilité de se tromper en rejetant l'hypothèse nulle (ici, c'est l'hypothèse d'égalité des concentrations en surface et au fond). On considère que le risque de se tromper est tolérable si la  $p\text{-value}$  est inférieure à 5 % (0.05), et que l'on peut donc rejeter l'hypothèse nulle et considérer qu'il y a une différence significative.

inférieurs au seuil de 100 *E. coli* dans 100 mL. La fréquence de dépassement du seuil de 100 *E. coli* dans 100 mL est respectivement en surface de 6.1 %, 5.1 % et 13.8 % pour les points C2, C10 et C11, et en profondeur de 5.2 % pour le point C10. Aucun résultat ne dépasse la valeur impérative de pour les eaux de baignade de 2 000 *E. coli* / 100 mL, qui caractérise les eaux de mauvaise qualité.

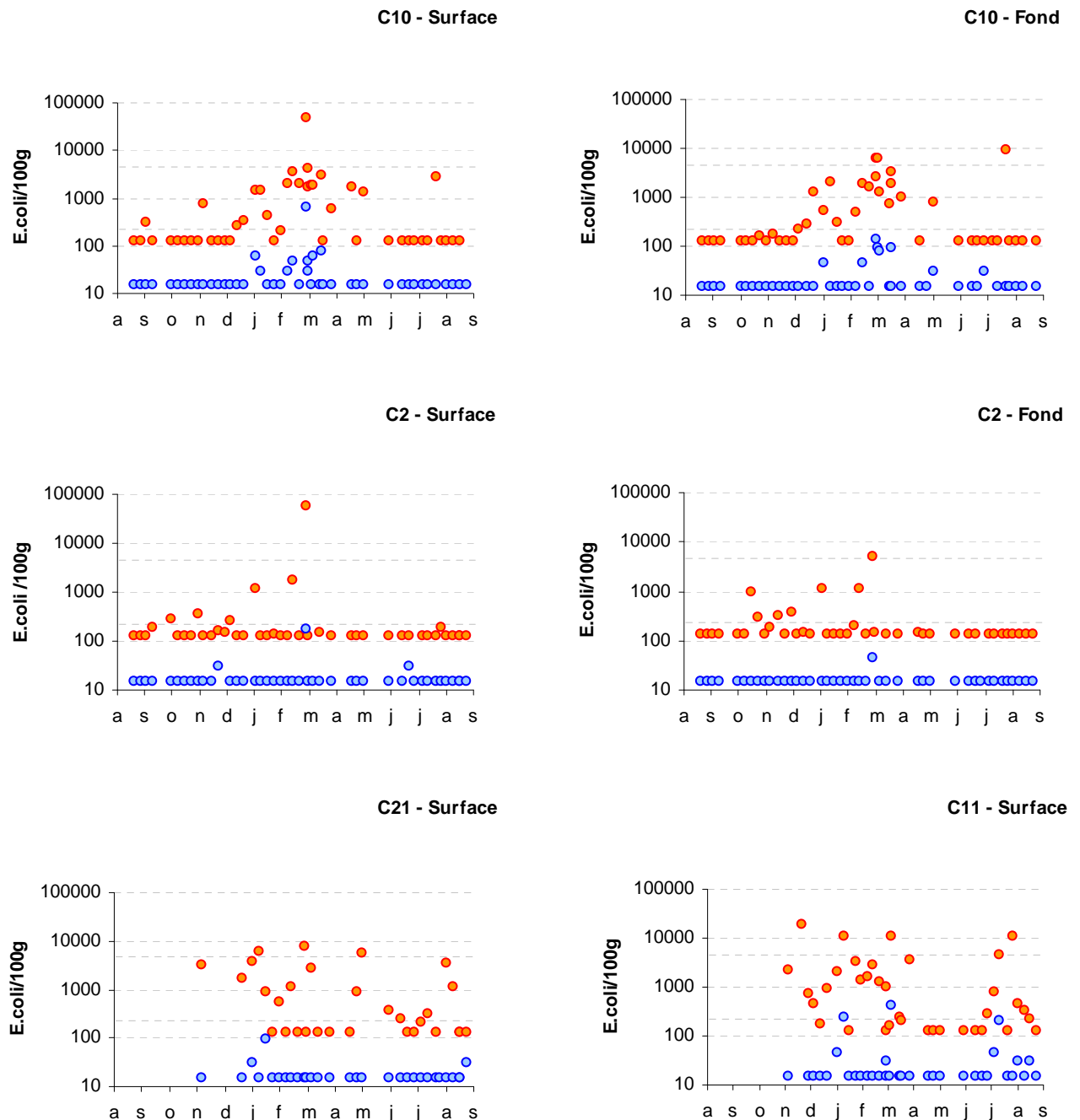


Figure 13. Résultats des dénombrements d'*E. coli* effectués sur les échantillons de coquillages (en orange) en nb / 100 g de CLI et d'eau (en bleu) en nb / 100 mL par temps sec au cours de l'étape 2 d'OMEGA, d'août 2007 à septembre 2008, au niveau des points C10 et C2 en surface et profondeur, C21 et C11 en surface.

En Europe, il n'existe pas de critère microbiologique sur le "compartiment eau" des zones conchylicoles. A titre indicatif, le seuil réglementaire américain à respecter pour les zones conchylicoles correspondant aux zones A européennes est de 14 *E. coli* / 100 mL (US EPA, 2001). Les résultats obtenus dans le cadre du suivi annuel OMEGA montrent que les critères de la réglementation européenne (Directive 2006/7/CE du Parlement européen et du Conseil du 15 février 2006) sur les eaux de baignade (valeur guide : 100 *E. coli*/100 ml) ne sont pas suffisamment restrictifs pour garantir des résultats de bonne qualité microbiologique dans les coquillages. Pour leur besoin énergétique, les huîtres peuvent filtrer jusqu'à 5 litres d'eau par heure, et par conséquent concentrent dans leur tractus digestif les micro-organismes fixés sur les particules en suspension ou libres. La Figure 14 représente pour les points C10, C2 en surface et profondeur, C11 et C21 en surface, la concentration des *E. coli* dans les coquillages en fonction de leur concentration mesurée simultanément dans l'eau, dans des conditions de temps sec. On ne met pas en évidence une relation linéaire entre les concentrations mesurées simultanément dans les deux compartiments, bien qu'au-dessus du seuil de 50 *E. coli* / 100 mL une corrélation positive semble se dégager. Le nombre de résultats acquis dans cette gamme de résultats est cependant insuffisant pour étudier cette relation. Du fait du seuil élevé de détection de la méthode de dénombrement des *E. coli* dans les eaux (15 *E. coli* / 100 mL), des processus écophysiologicals, hydrodynamiques et biologiques et complexes qui gouvernent les échanges entre les compartiments eau/coquillage, le transport et la survie des entérobactéries en milieu marin, les résultats de dénombrements ponctuels des *E. coli* dans les échantillons d'eaux ne permettent pas d'estimer les niveaux de contaminations des coquillages.

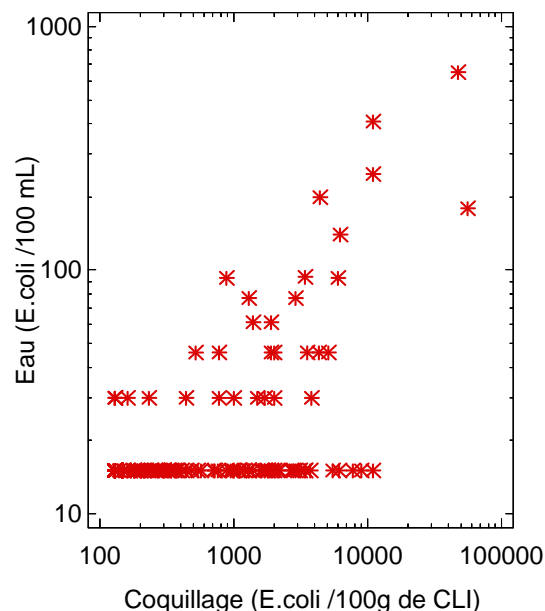


Figure 14. Concentrations en *E. coli* dans l'eau en fonction de la concentration en *E. coli* dans les coquillages, pour les points C10, C2, C11 et C21 échantillonnés simultanément dans l'eau et dans les coquillages par temps sec de septembre 2007 à septembre 2008.

Par temps sec, la surveillance microbiologique annuelle est complétée par un suivi hydrologique haute fréquence en sub-surface et à mi-profondeur sur une table

conchylicole localisée au niveau des points C10 et C2, afin de détecter d'éventuels apports d'eau douce souterraine. De septembre 2007 à septembre 2008, ces suivis n'ont pas permis de déceler par temps sec des dessalures pouvant expliquer ces contaminations.

#### 4.1.2. Dénombrements et génotypage de bactériophages

Seuls les prélèvements effectués sur la période comprise entre la mi-février et la fin avril 2008 ont fait l'objet de dénombrement et génotypage de bactériophages. Les résultats sont repris sur la Figure 15 et analysés ci-dessous pour chaque point suivi :

- point C10 :
  - o huîtres : ce point a été analysé pour les bactériophages 11 fois en surface et 9 en profondeur de la mi-février à fin avril 2008. En limite de détection lors de 3 échantillonnages aussi bien en surface qu'en profondeur, ce point montre pour les autres prélèvements des concentrations assez élevées en bactériophages F + ARN spécifiques avec des valeurs légèrement plus importantes en surface (moy = 2 900 UFP / 100 g de CLI) qu'en profondeur (moy = 1 640 UFP / 100 g). Le génotypage des isolats prélevés pour 73 % des points en surface et en profondeur révèle essentiellement la présence de génogroupes I (de 91 à 100 % de GI, 18 % et un mélange de GI (82%) et de GII (18 %) le 25/02/08),
  - o eau : 6 prélèvements (surface et fond) durant le mois de février (11, 18 et 25) ont montré des concentrations très faibles de bactériophages F + ARN spécifiques, qui n'ont pas permis d'appliquer la méthode de génotypage. Le protocole de concentration n'a pas été appliqué sur les eaux prélevées ;
- point C2 :
  - o huîtres : ce point a été analysé pour les bactériophages 7 fois en surface et 6 en profondeur de la mi-février à fin avril 2008. En limite de détection aussi bien en surface qu'en profondeur pour la plupart des échantillonnages (77 %), ce point montre des concentrations très faibles en bactériophages F + ARN spécifiques, qui n'ont pas permis d'obtenir un nombre suffisant de plages de lyse pour identifier l'origine de la contamination fécale. Seuls deux isolats prélevés le 10 mars 2008 ont montré la présence de génogroupe I. Ce trop petit nombre d'isolats ne permet pas de conclure quant à l'éventuelle origine de la contamination,
  - o eau : échantillonné à 5 reprises, 2 fois en surface et 3 en profondeur en février, ce point comme, pour l'eau prélevée en C10, n'a pas montré de présence de bactériophages F + ARN spécifiques ;
- point C11 :
  - o huîtres : ce point a été analysé 11 fois et a montré des concentrations allant de la limite de détection (45 % des échantillons) à des valeurs assez faibles (moy = 950 UFP / 100 g) pour le reste des échantillons. Trois prélèvements ont été génotypés (11 et 18 février ; 15 mars 2008) et ont

- aussi montré majoritairement la présence de génogroupes I (64 à 100 % de GI),
- eau : les 3 prélèvements effectués en février sur ce point n'ont pas montré la présence de bactériophages F +ARN spécifiques ;
- point C21 :
- huîtres : échantillonné à 8 reprises, ce point a montré lors des premiers prélèvements une forte concentration en bactériophages F + ARN spécifiques (5 060 UFP / 100 g lors du prélèvement du 11 février). Les 4 premiers échantillonnages ont donné lieu à des génotypages et ont montré la présence de génogroupes I (60 à 100 % de GI) ainsi que du génogroupe II (40 % le 25 février et 5 % le 3 mars),
  - eau : les 3 prélèvements effectués en février sur ce point n'ont pas montré la présence de bactériophages F +ARN spécifiques.

En complément des échantillons d'eau et d'huîtres prélevés dans l'étang, 13 échantillons de fientes de goélands ont été analysés. Ils ont été prélevés du mois de février au mois de juillet 2008. Des bactériophages ont été obtenus dans 3 échantillons (23 %) avec des concentrations allant de 80 000 à 983 000 UFP / 100 g. Le génotypage réalisé sur ces fientes a montré la présence exclusive de génogroupe I pour un échantillon, la présence exclusive de génogroupe II pour le deuxième échantillon et un mélange de génogroupes II et III (35 % et 61 % respectivement) et de génogroupe I en moindre quantité (4 %) pour le troisième.

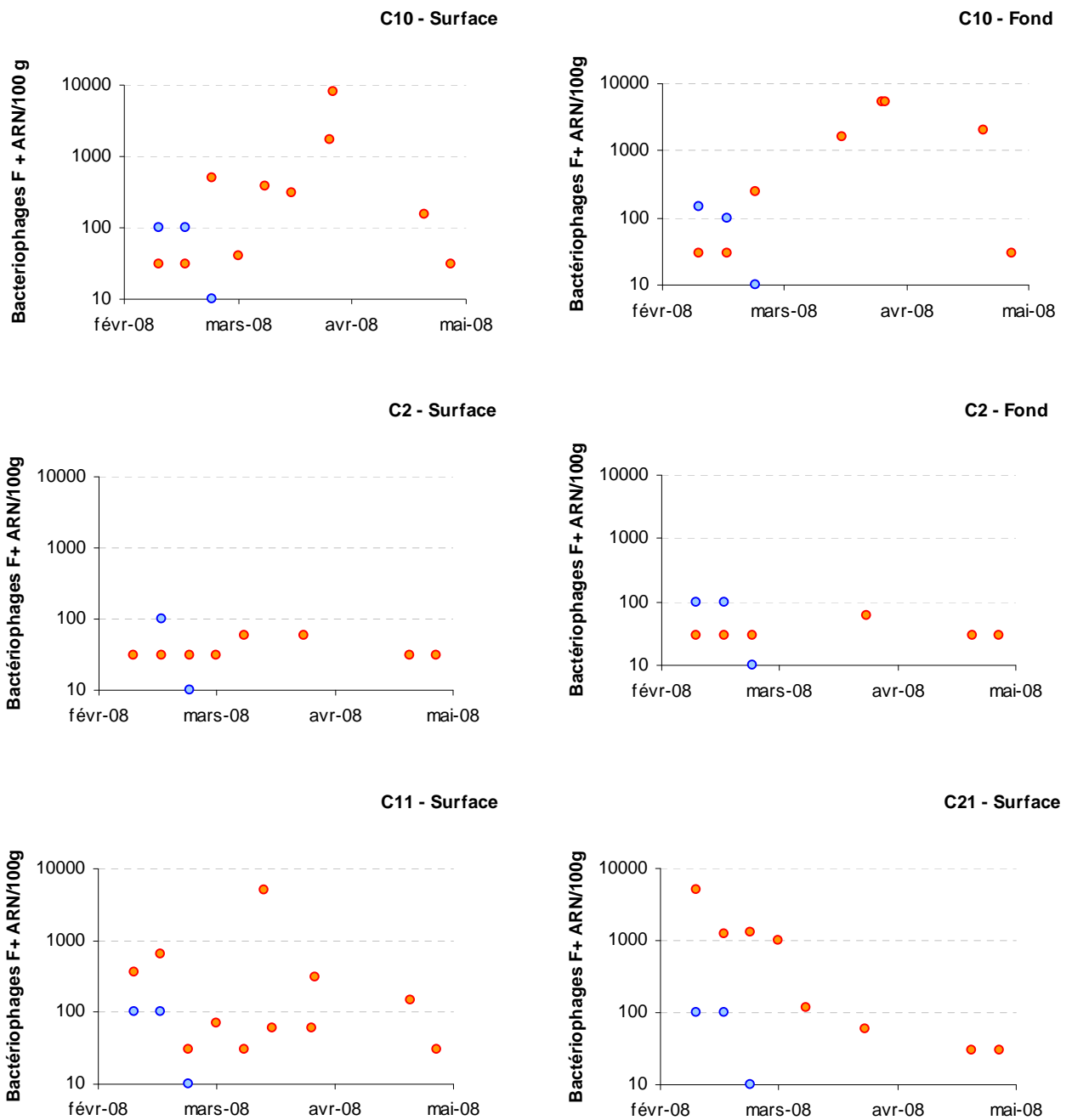


Figure 15. Résultats des dénombrements de bactériophages F + ARN effectués de février à avril 2008 sur les échantillons de coquillages (en orange) en nb / 100 g de CLI et d'eau (en bleu) en nb / 100 mL par temps sec au cours de l'étape 2 d'OMEGA, au niveau des points C10 et C2 en surface et profondeur, C21 et C11 en surface.



## 4.2. Résultats acquis dans le cadre des campagnes temps sec OMEGA

Les résultats acquis dans le cadre des quatre campagnes réalisées par temps sec en 2008 sont détaillés par campagne dans l'Annexe 4.

### 4.2.1. Conditions météorologiques et hydrologiques

Pour les quatre campagnes, les précipitations des quatre jours précédents les observations et les jours des mesures sont nulles ou non significatives et associées à des débits des principaux exutoires négligeables.

Les mesures de salinité à haute-fréquence et ponctuelles, réalisées en différents points des secteurs étudiés, permettent de confirmer qu'il n'y a pas eu d'apports d'eau douce significatifs à l'étang par un mode de transfert superficiel. Les salinités sont stables entre l'état initial et le jour des observations. Les salinités mesurées au niveau des points fixes ne mettent pas en évidence de stratification verticale significative.

### 4.2.2. Apports du bassin versant par temps sec

Les résultats de dénombrement des *E. coli* réalisés lors des campagnes de temps sec au niveau des principaux tributaires, ainsi que les estimations des flux d'*E. coli* associés, sont présentés dans le Tableau 4. Globalement, les flux d'*E. coli* en provenance du bassin versant pendant les campagnes d'observations sont faibles et ne sont pas de nature à impacter la qualité microbiologique des coquillages en élevage des secteurs étudiés. Ces flux sont associés à une absence de contamination des coquillages et de l'eau prélevés lors des états initiaux au niveau des secteurs étudiés.

Les suivis réalisés sur le bassin versant par temps sec ont cependant permis de mettre en évidence, des concentrations en *E. coli* ponctuellement élevées au niveau de certains exutoires tels que le Soupié, le Vieux Port de Marseillan, le Sesquier, et La Vène (voir Annexe 5). Bien que ces fortes concentrations soient généralement associées à des débits faibles à nuls par temps sec, des investigations doivent être menées au niveau de chaque sous-bassin versant concerné afin d'identifier les sources de pollution.

Tableau 4. Volumes d'eau écoulés, concentrations en *E. coli* mesurées dans l'eau et flux d'*E. coli* estimés pour les principaux exutoires, lors des 4 campagnes de temps sec.

	14 et 15/03/08		27 et 28/03/08		30 et 31/07/08			26 et 27/08/08		
	volume écoulé (m <sup>3</sup> /48h)	volume écoulé (m <sup>3</sup> /48h)	[ <i>E. coli</i> ]/100 mL	estimation du flux journalier ( <i>E. coli</i> /l)	volume écoulé (m <sup>3</sup> /48h)	[ <i>E. coli</i> ]/100 mL (30/07 PM)	estimation du flux journalier ( <i>E. coli</i> /l)	volume écoulé (m <sup>3</sup> /48h)	[ <i>E. coli</i> ]/100 mL (26/08 PM)	estimation du flux journalier ( <i>E. coli</i> /l)
Canal du Midi	ND	ND	le 27/03 AM : 38 le 27/03 PM : 38 le 28/03 AM : 38	ND	ND	250	ND	ND	ND	ND
Vieux Port de Marseillan	ND	85	le 27/03 AM : 61 000 le 27/03 PM : 13 000 le 28/03 AM : 6 100	1,13E+10	ND	30	ND	ND	ND	ND
Les Fontanilles	~ 0	2 500	le 27/03 AM : 130 le 27/03 PM : 38 le 28/03 AM : 130	1,63E+09	0	30	0	0	ND	0
Le Soupié	~ 0	~ 0	le 27/03 AM : 130 le 27/03 PM : 38 le 28/03 AM : 97	~ 0	0	1200	0	0	ND	0
Port de Mèze	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15	ND
Le Sesquier	0	0	ND	0	0	ND	0	0	2 800	0
Le Pallas	5 000	5 000	ND	ND	0	ND	0	5 000	820	2,05E+10
Le Bourbou	0	0	ND	0	0	ND	0	0	ND	0
Etang des Moulières	2 500	0	ND	0	9 000	ND	ND	1 000	15	7,50E+07
La Vène	10 000	7 500	ND	ND	15 000	ND	ND	20 000	2 100	2,10E+11

#### 4.2.3. Observations et dénombrements des oiseaux

Les quatre campagnes d'observations de la présence d'oiseaux au niveau des tables conchyliques, réalisées en mars, juillet et août 2008 dans les secteurs de Marseillan, Mèze et Bouzigues ont permis de mettre en évidence la formation, à la tombée de la nuit, de regroupements importants d'oiseaux marins sur les tables conchyliques.

Dans le secteur de Marseillan, les espèces observées sont des Goélands, Mouettes et Cormorans en mars et des Goélands, Mouettes et Sternes en juillet. Les grands regroupements d'oiseaux se concentrent en particulier sur les tables au large de la colonne 29 à l'Ouest du secteur conchylicole, et comptent de 10 à 500 individus généralement de la même espèce (Figure 16). Des petits rassemblements d'oiseaux, de moins de cinq individus, sont également observés de manière éparse dans l'ensemble du secteur. La répartition de ces petits rassemblements varie selon les campagnes de prélèvement n°1, 2 et 3, mettant en évidence le caractère relativement aléatoire de la distribution spatiale des oiseaux. Selon les campagnes, entre 600 et 1 100 Goélands, 330 et 2 200 Mouettes, environ 60 Sternes et 150 Cormorans sont dénombrés à la tombée de la nuit dans le secteur de Marseillan. Excepté les Cormorans, la majorité des oiseaux ne sont plus présents à l'aube au niveau des tables dortoirs identifiées la veille.

La campagne réalisée en août sur le secteur de Bouzigues a permis le repérage de grands regroupements de Mouettes au niveau des tables situées au Sud-Est du secteur (première colonne) et de petits regroupements de Goélands répartis sur le reste du secteur. Au total, environ 4 400 Goélands et 1 000 Mouettes ont été dénombrés dans le secteur de Bouzigues lors de la 4<sup>ème</sup> campagne.





Figure 16. Mouettes observées le soir du 27/03/2008 au niveau de la colonne 29 à Marseillan (photo Ifremer).

#### 4.2.4. Contamination en *E. coli* de l'eau et des coquillages lors des campagnes de temps sec

##### 4.2.4.1. Etats initiaux

Un état initial a été réalisé, lors des trois dernières campagnes du 27/03, 30/07 et du 26/08/08, quelques heures avant le début des formations des regroupements d'oiseaux en différents points, permettant de quadriller les secteurs d'étude. Lors de chaque état initial, une dizaine de prélèvements d'eau et de coquillages ont été effectués en vue d'analyses microbiologiques. Des échantillons de coquillages et d'eau ont été prélevés en surface au niveau de 38 points, dont 6 prélevés également en profondeur, portant le nombre total d'échantillons à 44.

Tous les échantillons d'eau sont caractérisés par des concentrations en *E. coli* inférieures au seuil de détection de la méthode (15 *E. coli* / 100 mL). 91 % des échantillons de coquillages présentent des concentrations en *E. coli* inférieures au seuil de détection de la méthode (130 *E. coli* / 100 g de CLI). 3 points de prélèvement (dont 1 prélevé en surface et en profondeur) enregistrent des niveaux faibles à moyens de contaminations (valeur maximale de 710 *E. coli* / 100 g de CLI) (Tableau 5). Ces contaminations sont observées lors de la campagne du 27/03 au niveau des tables au large de la colonne 29.

Ces résultats mettent en évidence la quasi-absence de contamination de l'eau et des coquillages de la lagune les après-midis des 3 dernières campagnes d'observations.

##### 4.2.4.2. Prélèvements du lendemain

Le lendemain matin des observations d'oiseaux, à l'aube, des prélèvements d'eau et de coquillages sont réalisés dans les secteurs d'étude, au niveau de tables échantillonnées lors de l'état initial. Ces prélèvements sont complétés par un échantillonnage au niveau

des tables identifiées la veille en tant que dortoirs pour les oiseaux marins (voir Annexe 4 pour les résultats détaillés).

Pour les coquillages, 81 échantillons sont prélevés (68 en surface, et 13 associés à des prélèvements en profondeur). Au niveau de tous les points de prélèvements de coquillages, des échantillons d'eau sont prélevés en surface et en profondeur, sauf au niveau d'un point le 31/07/08. 3 points complémentaires font l'objet de prélèvements d'eau uniquement, portant le nombre total d'échantillons d'eau à 84 (71 en surface et 13 associés à des prélèvements en profondeur).

Pour la première campagne du 15/03/08, 60 % des concentrations en *E. coli* dans les coquillages prélevés le lendemain des observations sont supérieures au seuil de 230 *E. coli* / 100 g de CLI et 2 résultats dépassent le seuil d'alerte de la zone d'élevage de 4 600 *E. coli* / 100 g de CLI (Tableau 5). Dans l'eau, le seuil de détection n'est dépassé qu'au niveau d'un point.

Pour les 3 dernières campagnes ayant fait l'objet d'un état initial, 36 % des concentrations en *E. coli* dans les coquillages sont supérieures au seuil de 230 *E. coli* / 100 g de CLI le lendemain des observations, contre 6.8 % la veille, et 3 résultats dépassent le seuil d'alerte de la zone d'élevage de 4 600 *E. coli* / 100 g de CLI (Tableau 5). Pour les échantillons d'eau prélevés le lendemain des observations, 27.5 % (19/69) des résultats dépassent la limite de détection de la méthode (15 *E. coli* / 100 mL) et 7 % dépassent 100 *E. coli* / 100 mL, alors que tous les résultats sont inférieurs au seuil de détection lors de l'état initial.

Tableau 5. Répartition des résultats des dénombrements d'*E. coli* réalisés dans les échantillons de coquillages pour les 4 campagnes de temps sec, lors des états initiaux et le lendemain des observations (sur les tables dortoirs et les tables témoins). Nombre de prélèvements : \* au fond ; (x) effectués sur les points identiques à ceux de l'état initial.

14 et 15/03/08			
[ <i>E. coli</i> ] / 100 g CLI	état initial	dortoir	témoin
< 230		2*	4
230 à 1 000			
1000 à 4 600		4	3
> 4 600		2	
	0	8	7

27 et 28/03/08			
[ <i>E. coli</i> ] / 100 g CLI	état initial	dortoir	témoin
< 230	10	2 (1)	9 (9)
230 à 1 000	3*		1 (1)
1000 à 4 600		5** (2)	
> 4 600		1	
	13	8	10

30 et 31/07/08			
[ <i>E. coli</i> ] / 100 g CLI	état initial	dortoir	témoin
< 230	17**	3 (3)	8 (7)
230 à 1 000		4 (2)	1
1000 à 4 600		6** (1)	2 (1)
> 4 600		2*	
	17	15	11

26 et 27/08/08			
[ <i>E. coli</i> ] / 100 g CLI	état initial	dortoir	témoin
< 230	14***	14***** (5)	6 (6)
230 à 1 000		1*	1 (1)
1000 à 4 600			
> 4 600			
	14	15	7



Si l'on prend en compte l'ensemble des résultats acquis lors des 3 dernières campagnes de suivi, les niveaux de contaminations des coquillages prélevés en surface le lendemain matin des observations (moyenne = 281 *E. coli* / 100 g de CLI, n = 55) sont significativement plus élevés que ceux de l'état initial (moyenne = 136 *E. coli* / 100 g de CLI, n = 38) (test de Mann-Whitney sur les médianes : *p-value* = 0,00024). Pour les échantillons d'eau, la différence est également significative, avec des concentrations au niveau du seuil de détection pour les états initiaux (n = 38) et des concentrations moyennes de 22.5 *E. coli* / 100 mL (n = 57) le lendemain des observations (test de Mann-Whitney sur les médianes : *p-value* = 0,00172).

Lorsque l'on ne retient que les résultats des prélèvements effectués à la fois lors de l'état initial et le lendemain des observations, pour les coquillages et l'eau en surface, la différence entre les concentrations en *E. coli* est significative (test du rang signé sur les médianes, pour les coquillages : *p-value* = 0,005 avec n = 36 et pour l'eau : *p-value* = 0,035 avec n = 38).

**Ces résultats indiquent que les secteurs d'étude ont été exposés à une ou des sources de pollution microbiologique fécale, probablement au cours de la nuit.**

Lorsque l'on ne retient que les résultats des prélèvements effectués en surface sous les tables dortoirs, à la fois lors de l'état initial et le lendemain des observations, la différence entre les concentrations en *E. coli* est en limite de significativité pour les coquillages et non significative pour l'eau (test du rang signé sur les médianes, pour les coquillages : *p-value* = 0.0592 avec n = 12 et pour l'eau : *p-value* = 0.3711 avec n = 13). Ces résultats sont insuffisants pour conclure sur l'origine aviaire des contaminations nocturnes de l'eau et des coquillages.

#### 4.2.4.3. Comparaison surface / fond

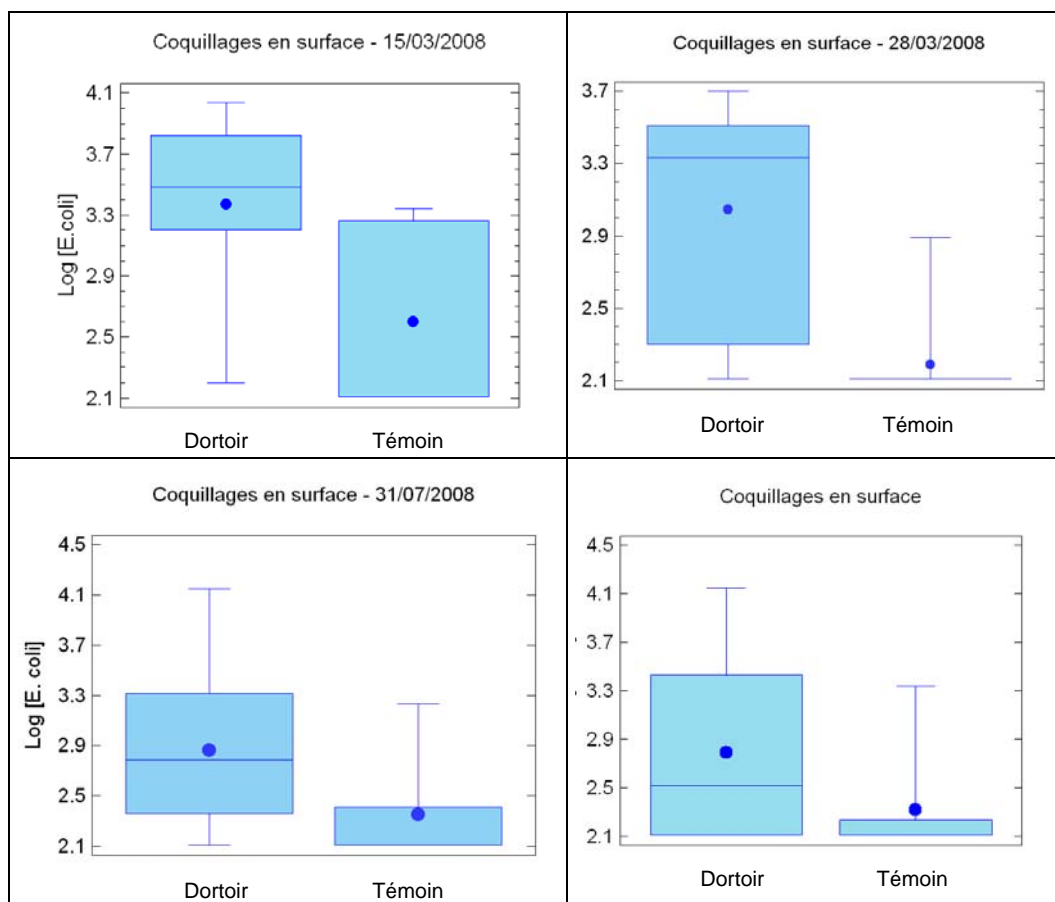
Les résultats des analyses microbiologiques effectuées au niveau des tables dortoirs dans les coquillages prélevés simultanément en surface et au fond, lorsque les données des quatre campagnes de mars à août sont cumulées, ne mettent pas en évidence de différence significative des concentrations en *E. coli* (test du rang signé sur les médianes : *p-value* = 0.9187 ; n = 13). Il en est de même pour les résultats dans l'eau (*p-value* = 0.4017 ; n = 13). Lors des campagnes réalisées de mars à août sur les secteurs de Marseillan et Bouzigues, **l'impact sur la qualité microbiologique de l'eau et des coquillages de la présence d'oiseaux sur les tables n'est pas différent quelque soit le niveau de la colonne d'eau.**

## 4.2.5. Analyse de l'impact des contaminations aviaires

### 4.2.5.1. Comparaison tables dorts / tables témoins

Un test statistique indique **que les niveaux de contamination d'*E. coli* mesurés dans les coquillages sous les tables témoins sont significativement plus faibles que ceux mesurés sous les tables dorts**, si l'on compare les prélèvements effectués en surface pour lesquels plus et moins de 30 oiseaux sont dénombrés sur les tables environnantes dans un rayon de 100 m (Figure 17) :

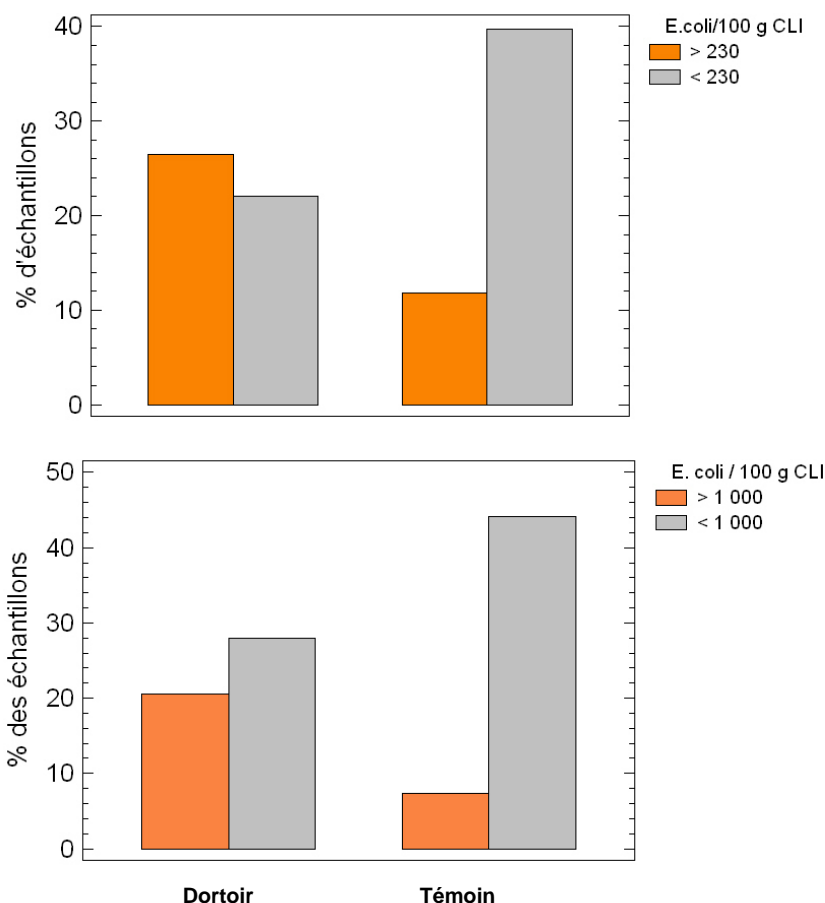
- pour chacune des 3 campagnes effectuées sur le secteur de Marseillan de mars à juillet (test de Mann-Whitney sur les médianes : *p-value* respectivement de 0.0247, 0.0041 et 0.0263 ; n = 13, 16 et 23) mais pas pour la campagne effectuée en août sur le secteur de Bouzigues (n = 16),
- lorsque les résultats des 4 campagnes sont cumulés (test de Mann-Whitney sur les médianes : *p-value* = 0.0008 ; n = 68).



**Figure 17.** Répartition en boîte à moustache<sup>15</sup> des valeurs de concentrations en *E. coli* (en log<sub>10</sub>) dans les coquillages prélevés en surface au niveau de tables dorts ou des tables témoins les 15 et 28 mars, 31 juillet 2008 et pour les 4 campagnes cumulées.

<sup>15</sup> Boîte à moustache : représentation graphique de la répartition des valeurs d'une variable. La boîte comprend 50 % des valeurs, le rond la position de la moyenne et le trait horizontal la position de la médiane.

Un autre test statistique réalisé sur les résultats des quatre campagnes indique que la **différence entre les nombres de cas où les coquillages présentent des concentrations supérieures à 230 ou 1 000 *E. coli* / 100 g de CLI est significative si l'on compare les résultats des points des tables témoins et dortoirs** (test du Chi2 avec correction de Yates : *p-value* respectivement de 0.0148 et 0.0207 ; n = 68) (Figure 18).



**Figure 18.** Pourcentage des échantillons de coquillages prélevés en surface lors des 4 campagnes, pour lesquels les niveaux de contamination sont supérieurs ou inférieurs à 230 et 1 000 *E. coli* / 100 g CLI au niveau des tables dortoirs et des tables témoins.

Dans l'eau prélevée en surface simultanément aux coquillages, les niveaux moyens de contamination en *E. coli* mesurés sous les tables témoins et sous les tables dortoirs sont faibles et non significativement différents, pour chacune des quatre campagnes (n = 14, 16, 25 et 16) et pour les résultats des quatre campagnes cumulés (n = 71). L'impact de la présence d'oiseaux sur la contamination microbiologique est difficile à mettre en évidence dans l'eau, du fait du seuil de détection de la méthode (15 *E. coli* / 100 mL), des phénomènes de dilution et de dispersion dus aux courants et du faible temps de survie des bactéries dans l'eau salée. Au contraire, les coquillages, du fait de leur capacité de filtration de l'eau environnante, concentrent les bactéries présentes dans le milieu.

#### 4.2.5.2. Estimation des flux d'*E. coli* apportés par les oiseaux

Les quantités d'*Escherichia coli* apportées par les oiseaux présents la nuit sur les tables conchylicoles peuvent être estimées pour les quatre campagnes sur la base des dénombrements effectués et des données bibliographiques sur les apports journaliers moyens des oiseaux (8.5 log *E. coli* / j pour les Mouettes et les Goélands - cf § 2.2.2).

Les apports estimés au niveau des secteurs étudiés, rapportés à la période de présence nocturne des oiseaux sur les tables (de 9h30 à 12h40 en fonction des campagnes), se situent entre **11.2 et 11.9 unités log *E. coli*** en fonction des campagnes. Le dénombrement le plus important observé dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvement atteint 1 835 oiseaux, ce qui correspond à un flux maximum estimé de 11.3 log *E. coli* / nuit.

Bien que les concentrations les plus élevées soient associées aux flux les plus importants, il n'y a pas de relation linéaire entre l'apport en *E. coli* estimé dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvements et la concentration en *E. coli* mesurée dans les coquillages le lendemain des observations (Figure 19). En effet, un même flux peut correspondre à une large gamme de concentrations en *E. coli* dans les coquillages. Ceci peut être expliqué par les incertitudes sur les dénombrements d'oiseaux, sur les estimations de flux apportés par les oiseaux (flux moyen, sans prise en compte de la variabilité entre espèces), mais également par le volume d'eau sous les tables (profondeur de 3 à 8 mètres en fonction des points), les conditions hydrodynamiques (vent, courants) et la vitesse de sédimentation des fientes.

Sur les quatre campagnes de prélèvements, **le flux nocturne minimal conduisant à un dépassement du seuil de 230 *E. coli* / 100 g CLI est de 9.7 log** et correspond à la présence de 45 oiseaux autour du point pendant 9h30. Le seuil de 30 oiseaux utilisé pour distinguer les tables témoins des tables dortoirs paraît donc pertinent pour évaluer l'effet de la présence d'oiseaux sur la contamination microbiologique puisqu'il est inférieur au nombre théorique d'oiseaux susceptibles d'impacter les coquillages (cf § 4.2.5.1).

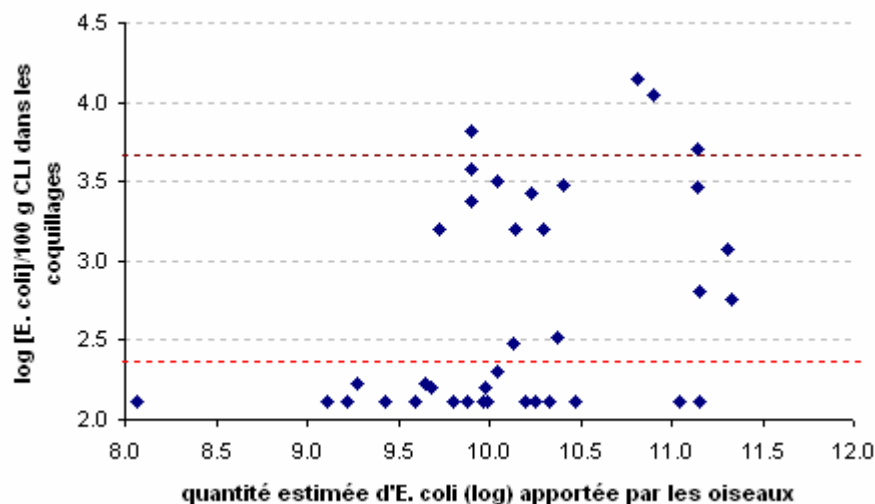


Figure 19. Concentration en *E. coli* dans les coquillages (log /100 g CLI) en fonction de la quantité estimée d'*E. coli* (log) apportée dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvements par les oiseaux pendant la nuit. Seules les données concernant les points autour desquels des oiseaux ont été observés sont représentés.



### 4.2.5.3. Dénombrements et géotypages de bactériophages

#### 4.2.5.3.1 Dénombrements de bactériophages

Dans les coquillages prélevés par temps sec sur l'étang de Thau de février à avril 2008, les concentrations en bactériophages F + ARN spécifiques obtenues vont de la limite de détection 30 UFP / 100 g de CLI à  $10^{4.4}$  UFP / 100 g de CLI. L'ensemble des résultats est repris dans l'Annexe 3.

Les résultats des dénombrements effectués lors de la première campagne de prélèvements effectuée sur le secteur de Marseillan (15/03/08) vont de 150 à 5 070 UFP / 100 g de CLI pour les tables dortoirs et de 30 à 20 700 UFP / 100 g de CLI pour les tables témoins. Lors de la deuxième campagne de prélèvements réalisée sur le secteur de Marseillan (28/03/08), les concentrations prennent des valeurs de 60 à 28 200 UFP / 100 g de CLI pour les tables dortoirs et de 60 à 1 560 UFP / 100 g de CLI pour les tables témoins (Figure 20). **La différence entre les concentrations de bactériophages obtenues au niveau des tables témoins et des tables dortoirs est significative pour les résultats des deux campagnes cumulés** en limite de significativité pour les résultats du 15/03 et du 28/03/08 (test de Mann-Whitney sur les médianes : respectivement  $p$ -value = 0.0026, 0.0598 et 0.0534 ; n = 29, 13 et 16).

Les résultats obtenus les 27 et 28/03/08 ne mettent pas en évidence de différence significative entre les concentrations de bactériophages mesurées lors de l'état initial et le lendemain pour les prélèvements effectués au niveau des tables dortoirs (test du rang signé sur les médianes :  $p$ -value = 0.5896).

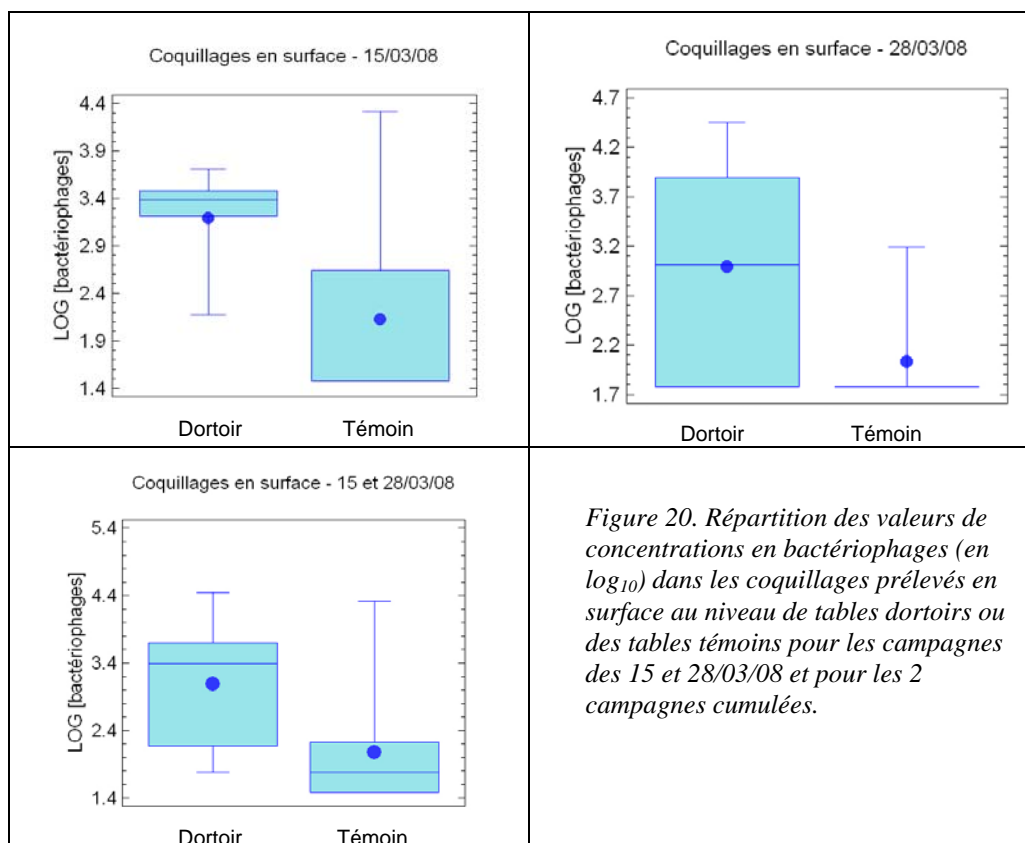


Figure 20. Répartition des valeurs de concentrations en bactériophages (en  $\log_{10}$ ) dans les coquillages prélevés en surface au niveau de tables dortoirs ou des tables témoins pour les campagnes des 15 et 28/03/08 et pour les 2 campagnes cumulées.

#### 4.2.5.3..2 Génomages des bactériophages

Trois fientes de goélands récoltées non loin de l'étang de Thau ont montré la présence de génogroupe I (100 %) pour l'une d'entre elles, de génogroupe II (100 %) pour la seconde et d'un mélange de génogroupes I, II et III pour la dernière. Ces résultats sont importants et doivent être confirmés, car ils remettent en cause la possibilité d'utiliser le génotype pour discriminer l'origine aviaire de la contamination (§3.5.2)

Les résultats obtenus sur les 28 prélèvements de bactériophages génotypables (sur 89 échantillons de coquillages prélevés de février à avril 2008, soit 31 % d'échantillons génotypables) montrent la présence majoritaire de génogroupe I d'origine animale dans les coquillages (de 56 à 100 % de GI pour les 28 échantillons). Cette origine identifiée peut correspondre à la présence confirmée d'oiseaux sur ces sites (§ 3.5.2.2). Cependant, la présence de génogroupe II est identifiée au niveau des points C21 (40 % le 25/02 et 5 % le 03/03/08), C10 (18 % le 25/02/08) et sur un point situé sur la colonne 29 à Marseillan (4 % le 15/03/08). Du fait des résultats sur la présence de ce génotype dans les fientes, il est difficile de conclure. Des analyses complémentaires seraient nécessaires pour valider les techniques utilisées et conclure sur la possibilité de portage de génotype humain (GII) par les animaux.



## 5. Discussion

Les résultats des campagnes de temps sec montrent l'existence d'une contamination microbiologique nocturne des coquillages. Les contaminations ayant été observées en l'absence d'apports d'eau douce du bassin versant et de dessalure des eaux de la lagune, l'hypothèse d'une source anthropique terrestre, *via* un transfert superficiel, peut être écartée. Les résultats des quatre campagnes réalisées par temps sec pour rechercher l'origine des contaminations indiquent que l'hypothèse d'une origine aviaire peut être privilégiée. Les deux autres hypothèses possibles (résurgence et trafic fluvial et maritime) n'ont cependant pas fait l'objet d'investigations spécifiques et suffisantes pour pouvoir les écarter complètement.

Des campagnes de mesures complémentaires sont nécessaires pour conforter l'hypothèse d'une origine aviaire des contaminations par temps sec des coquillages. Plusieurs limites portant sur la stratégie des prélèvements et les méthodes d'observation et d'analyse des résultats adoptées pour les campagnes de temps sec peuvent être soulevées :

Les comptages d'oiseaux ayant été effectués depuis les embarcations à la tombée de la nuit, parfois avec une visibilité très faible, les données de dénombrements sont à prendre avec précaution. De plus, les groupements d'oiseaux observés au crépuscule ont pu évoluer au cours de la nuit, du fait de l'arrivée de nouveaux oiseaux, de déplacements ou de dérangements (bruit, passages de bateaux,...). Les dénombrements d'oiseaux utilisés pour étudier l'impact sur la contamination des coquillages sont donc associés à une incertitude importante. Il paraît donc important de suivre plus finement les populations d'oiseaux pendant la nuit, afin de pouvoir conclure quant à leur impact sur les contaminations observées.

En raison des difficultés liées à l'impossibilité de prévoir la répartition des oiseaux sur les tables, du fait du caractère relativement aléatoire de cette répartition, il a été difficile de positionner des points de prélèvement à l'état initial garantissant un plan d'échantillonnage équilibré (tables témoins *vs* tables dortoirs) pour les prélèvements du lendemain. Ainsi, deux tiers (24 / 36) des points échantillonnés lors de l'état initial se sont avérés être des tables témoins (moins de 30 oiseaux dénombrés) le soir des observations, diminuant la robustesse des tests de comparaison.

Les résultats acquis lors des 4 campagnes ne permettent pas de mettre en évidence l'impact de la présence d'oiseaux sur la contamination microbiologique de l'eau. La dynamique de contamination et décontamination est plus rapide dans l'eau que dans les coquillages, qui filtrent l'eau environnante et concentrent les bactéries présentes dans le milieu. Dans le cadre de prochaines campagnes, des prélèvements à plus haute fréquence pourraient être effectués afin de préciser cette dynamique.

Les paramètres choisis pour tester l'effet de la présence des oiseaux (plus ou moins de 30 individus dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvements) sur la contamination microbiologique doivent être précisés dans le cadre d'expérimentations complémentaires.

Les résultats acquis sur les bactériophages F + ARN spécifiques dans le cadre des campagnes de prélèvement effectuées de février à avril 2008 sur l'étang de Thau complètent les résultats des programmes de recherche en cours sur la recherche de marqueurs de l'origine des contaminations microbiologiques.

Une différence significative entre les concentrations de bactériophages mesurées dans les coquillages prélevés au niveau des tables témoins et des tables dortoirs a été trouvée pour les résultats des deux campagnes du mois de mars cumulés. Les bactériophages F + ARN spécifiques retrouvés dans les coquillages pourraient éventuellement provenir de fientes d'oiseaux de mer. En effet, nos résultats et ceux d'une étude de Calci *et al.* (1998) montrent que des échantillons de fientes de mouettes et de goélands pouvaient contenir des concentrations en bactériophages F + ARN spécifiques s'étalant entre 4 000 et 10 000 UFP / g de fiente.

Les résultats obtenus sur les échantillons présentant des bactériophages en quantité suffisante pour être génotypés montrent la présence majoritaire de génogroupe I. Ce génogroupe principalement retrouvé chez les animaux suggère une contamination d'origine animale dans les coquillages analysés. Cependant, ces résultats méritent d'être confortés car le fait de trouver du GII dans des fientes d'oiseaux est surprenant. Il serait nécessaire, avant d'aller plus loin dans l'interprétation de ces résultats, de confirmer ou non si ce génotypes, *a priori* humain, est couramment porté par les oiseaux. Les observations d'oiseaux sur les tables conchylicoles et la présence de bactériophages dans les coquillages montrent que cette contamination animale peut sans doute être d'origine aviaire. Toutefois, la méthode de génotypage des bactériophages F + ARN spécifiques ne permet pas pour l'instant d'affirmer qu'une contamination avec du génogroupe I soit uniquement d'origine aviaire. Les données acquises au laboratoire Ifremer EMP-MIC de Brest sur les fientes d'oiseaux du bord de mer du Finistère de Normandie et de Méditerranée sont très limitées (difficulté de disposer de fientes fraîches, faible volume de fientes par individu, etc...). En effet, l'étude de fientes d'oiseaux de mer (goélands, mouettes, etc...) au laboratoire a montré que sur 46 échantillons étudiés, seuls 6 (13 %) contenaient suffisamment de bactériophages (plus de 20 isolats) pour conduire à un génotypage. Les résultats obtenus montrent la présence du génogroupe I dans 4 échantillons (8,7 %), celle du génogroupe II dans 2 échantillons (4,3 %) et des génogroupes III et IV dans l'un d'entre eux (2,2 %). Des analyses complémentaires de fientes d'oiseaux de mer prélevées sur le site permettraient d'apporter un éclairage sur ces résultats.

Très peu d'études concernant le génotypage des bactériophages F + ARN spécifiques dans les coquillages ont été publiées. L'étude de Vantarakis *et al.* (2006) a montré, dans des moules et des coques, la présence majoritaire de génogroupes IV (indiquant une contamination fécale d'origine animale) et une plus faible présence des génogroupes II et III (suggérant une contamination d'origine humaine). On peut également citer une étude réalisée aux Etats-Unis (Newfound Creek, Caroline du Nord) en 2003 au cours de laquelle cette méthode a été appliquée pour identifier des sources de contamination humaine et animale (Giddings *et al.*, 2004). En raison du faible nombre de coliphages présents, seuls deux sites ont pu être discriminés, le premier étant plutôt d'origine animale et le second associé à des sources humaines de pollution. Au laboratoire Ifremer EMP-MIC de Brest, des coquillages (palourdes de

la région de Daoulas, Finistère) analysés à plusieurs reprises présentaient des bactériophages du génogroupe I pour 44 à 86 % et des génogroupes II et III pour 6 à 32 % des bactériophages isolés selon les lots, suggérant une contamination d'origine mixte mais à prédominance animale (2007, M.P. Caprais, *comm. pers.*).

La méthode de géotypage des bactériophages F + ARN spécifiques apporte dans le cas de cette étude des pré-résultats intéressants. Elle permet d'orienter les hypothèses vers une contamination d'origine animale sur les sites étudiés de Marseillan et de Bouzigues (point C21). Toutefois, au vu du faible nombre de résultats obtenus, des échantillonnages supplémentaires seraient nécessaires pour acquérir un nombre plus important de données concernant en particulier la présence des génogroupes de bactériophages F + ARN spécifiques dans les fientes des oiseaux. En outre, la méthode de géotypage des bactériophages ne permet pas de discriminer les différentes contaminations d'origine animale (porcs, ruminants, oiseaux). Aussi, il serait utile d'associer d'autres techniques de discrimination de la contamination fécale permettant de différencier plus spécifiquement une contamination d'origine aviaire dans les coquillages et les eaux de l'étang de Thau (utilisation d'autres marqueurs bactériens par exemple).

Les dénombrements d'oiseaux marins réalisés dans le cadre des campagnes de temps sec complètent les observations du programme Wetlands et indiquent que les tables conchylicoles sont probablement fréquentées toute l'année par des oiseaux et en nombres localement conséquents. Toutefois, les peuplements sont différents selon les périodes de l'année, les espèces exclusivement hivernantes (en particulier le Cormoran) étant remplacées au printemps et en été par des espèces migratrices comme les Sternes caugek et pierregarin. Malgré la localisation de quelques secteurs dortoirs privilégiés (colonnes 1 et 29), les résultats des campagnes mettent en évidence le caractère relativement aléatoire de la distribution spatiale des oiseaux sur les tables. Des observations complémentaires sont à prévoir pour mieux évaluer l'occupation nocturne des tables pendant l'année (répartition des espèces selon les saisons) et mieux comprendre les éventuels facteurs influant (conditions météorologiques, saison, localisation et matériau des tables,...).



## 6. Conclusions

Les données acquises dans le cadre du réseau REMI sur la lagune de Thau ont permis de révéler des dégradations récurrentes de la qualité sanitaire des coquillages en élevage suite à des épisodes pluvieux, mais également par temps sec. Les suivis hebdomadaires de la contamination en *Escherischia coli* de l'eau et des coquillages, réalisés à une fréquence hebdomadaire dans le cadre de l'étape 2 du projet OMEGA, ont permis de confirmer la récurrence des contaminations microbiologiques des coquillages par temps sec en différents secteurs de la lagune, dont la fréquence et les niveaux sont susceptibles d'impacter l'activité conchylicole de façon significative.

Des campagnes de mesures ont été mises en œuvre dans le cadre du projet afin d'étudier l'origine des contaminations par temps sec des coquillages. Les observations réalisées sur les secteurs conchylicoles de Marseillan (mars et juillet 2008) et de Bouzigues (août 2008) ont permis de localiser d'importants regroupements d'oiseaux marins (Goélands, Mouettes, Cormorans et Sternes) sur les tables conchylicoles, constituant des dortoirs. Les contaminations ayant été observées en l'absence d'apports d'eau douce du bassin versant et de dessalure des eaux de la lagune, l'hypothèse d'une source anthropique terrestre, *via* un transfert superficiel, semble pouvoir être écartée. Les résultats des quatre campagnes de temps sec indiquent que l'hypothèse d'une origine animale peut être envisagée. Des investigations complémentaires, nécessitant la mise en œuvre d'un plan d'échantillonnage mieux contrôlé (dénombrements et comportements des oiseaux), en collaboration avec des spécialistes de l'avifaune, sont nécessaires pour consolider cette hypothèse.

Les campagnes de mesures par temps sec réalisées dans le cadre du projet OMEGA Thau ont également permis d'appliquer une méthode de recherche de l'origine des contaminations microbiologiques. Les résultats des génotypages des bactériophages F + ARN semblent montrer une origine animale des contaminations détectées dans les coquillages. Ces résultats doivent cependant être pris avec précaution et nécessiteraient d'être complétés par des données locales supplémentaires, en particulier sur les oiseaux et sur les fientes, pour être validés. En outre, la méthode de génotypage des bactériophages ne permet pas de discriminer les différentes contaminations d'origine animale (porcs, ruminants, oiseaux). Aussi, il serait utile d'associer d'autres techniques de discrimination de la contamination fécale permettant de différencier plus spécifiquement une contamination d'origine aviaire dans les coquillages et les eaux de l'étang de Thau.

Les oiseaux sauvages servent de réservoirs et/ou de vecteurs de nombreux microorganismes pathogènes pour l'homme et peuvent être impliqués dans leur transmission dans l'environnement marin (*cf.* Annexe 6). Il peut donc exister un danger sanitaire potentiel associé aux contaminations fécales d'origine aviaire. Les données disponibles dans la bibliographie et acquises sur l'étang de Thau ne sont pas suffisantes pour évaluer le risque sanitaire lié à la consommation de coquillages soumis à des contaminations aviaires sur l'étang de Thau. La recherche et le dénombrement, dans les coquillages de la lagune de Thau, de microorganismes pathogènes pour l'homme pourraient alors être réalisés (*Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, ...). Une meilleure évaluation de l'exposition (quantité d'oiseaux, répartition spatiale et temporelle, surface impactée, niveaux de contamination des coquillages,...) est également à entreprendre avant d'envisager la mise en œuvre de mesures de gestion relatives à la présence nocturne



d'oiseaux sur les tables conchylicoles de l'étang de Thau, dans le cas où l'origine aviaire des contaminations serait confirmée.





## Bibliographie

- Abadie E., Belsher T., Derolez V. *et al.* (2004). Synthèse des connaissances acquises sur la lagune de Thau et son bassin versant (France). DITTY deliverable D3, 59 p.
- Albarnaz, J.D, Toso, J, Correa, A.A, Simoes C.M.O., Barardi C.R.M. (2007). Relationship between the contamination of gulls (*Larus dominicanus*) and oysters (*Crassostrea gigas*) with *Salmonella* serovar Typhimurium by PCR-RFLP. *International Journal of environmental health research*. Vol.17, issue 2, p.133-140.
- Afnor (1999). Norme NF EN ISO 9308-3. Mars 1999. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux de surface et résiduaires. Partie 3 : méthode miniaturisée (NPP) pour ensemencement en milieu liquide. 21 p.
- Afnor (2002). Norme NFV08-106. Janvier 2002. Dénombrement des *Escherichia coli* dans les coquillages marins vivants. Technique indirecte par impédancemétrie directe.
- Alderisio K.A and DeLuca N. (1999). Seasonal enumeration of fecal coliform bacteria from the feces of Ring-Billed Gulls (*Larus delawarensis*) and Canada Geese (*Branta canadensis*). *Applied and Environmental Microbiology*, 5628-5630.
- Beekwilder J., Nieuwenhuizen R., Havelaar AH. and J. van Duin (1996). An oligonucleotide hybridization assay for the identification and enumeration of F-specific RNA phages in surface water. *Journal of Applied Bacteriology*, 80, 179-186.
- Benton C., K Khan F., Monagha, P., Richards W.N. & Shedden C. B. (1983). The contamination of a major supply by gulls (*Larus sp.*): a study of the problem and remedial actions taken. *Water Research*, 17, 789-798.
- Beucher M. (1993). Etude de l'accumulation, de la rétention et du relargage de bactéries entériques par l'huître *Crassostrea gigas*. Diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes. pp. 122.
- Broman T., Palmgren H., Bergstrom S. *et al.* (2002). *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*): Prevalence, genotypes, and influence on *C. jejuni* epidemiology. *Journal of Clinical Microbiology*, 40, 4594-4602.
- BRGM (octobre 2000). Relations entre la structure hydrogéologique de l'étang de Thau (Hérault) et les pollutions bactériologiques observées autour des tables conchylicoles de la partie sud-ouest de l'étang. BRGM/RP-50421-FR.Ifremer, 2004.
- BRLi, Egis Eau (2007). Rapport OMEGA Thau (Outil de Management Environnemental et de Gestion de l'avertissement - Bassin de Thau) – Phase1 - Etape 1, juillet 2007. 379 p. + annexes.
- Calci KR., Burkhardt W III., Watkins WD. and SR Rippey (1998). Occurrence of male-specific bacteriophage in feral and domestic animal wastes, human feces, and human-associated wastewaters. *Applied Environmental Microbiology*, 64, 5027-5029.
- Cole D., Long SC. & MD Sobsey (2003). Evaluation of F + RNA and DNA coliphages as source-specific indicators of fecal contamination in surface waters. *Applied Environmental Microbiology*, 69 (11), 6507-6514.



- Directive 2006/7/CE du Parlement européen et du Conseil du 15 février 2006 concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE.
- Dobbin G, Hariharan H, Daoust P-Y, Hariharan S, Heaney S, Coles M, *et al.* (2005). Bacterial flora of free-living double-crested cormoran (*Phalacrocorax auritus*) chicks on Prince Edward Island, Canada, with reference to enteric bacteria and antibiotic resistance. *Comp Immunol Microbiol Infec Dis*, 28, 71-82.
- Duarte E.L., Guerra M. M. and Bernardo F.M. (2002). *Salmonella* and *Listeria spp.* carriage by gulls (larids). *Resista portuguesa de ciencias veterinarias*, 97, 181-187.
- Fenlon D. R. (1981). Seagulls (*Larus spp.*) as vectors of salmonellae: An investigation into the range of serotypes and numbers of salmonellae in gull faeces. *Journal of Hygiene*, 86,195–202.
- Ferns P. N., Mudge G.P. (2000). Abundance, diet and *Salmonella* contamination of gulls feeding at sewage outfalls. *Water Research*, 34 (10), 2653-2660.
- Federighi M. (1999). Campylobacter et Hygiène des Aliments. Eds Polytechnica, Paris, 159 p.
- Fogarty L.R, Haack S.K., Wolcott M.J and Whitman R.L. (2003) Abundance and characteristics of the recreational water quality indicator bacteria *Escherichia coli* and *Enterococci* in gull faeces. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 865-878.
- Forsythe, S.J. (2000). The microbiology of safe food. Blackwell Science Ltd., Blackxell Publishing Compagny. p.412.
- Gangnery A. (2003). Etude et modélisation de la dynamique des populations de bivalves en élevage (*Crassostrea gigas* et *Mytilus galloprovincialis*) dans le bassin de Thau (Méditerranée, France) et des ascidies solitaires associées. Thèse de doctorat de l'Université de Montpellier II. 174 p. + annexes.
- Geldreich E. E. (1966). Sanitary significance of faecals coliforms in the environnement. U.S. dept. *Int. Fedn Wat. Pollut. Contr. Admin., Wat. Pollut. Control Res. Ser. Publ.* N° WP-20-3.
- Giddings EM. and CJ Oblinger (2004). Fecal indicator bacteria in the Newfound Creek watershed, western North Carolina, during a high and low streamflow condition, 2003: U.S. Geological Survey Scientific Investigations, report 2004-5257. <http://pubs.water.usgs.gov/sir2004-5257>.
- GISOM (2004). Oiseaux marins nicheurs de France métropolitaine (1960-2000). Editions Parthénope. Mèze, 218 p.
- Girrwood W.A, Fricker C.R, Munro D. (1985). The incidence and significance of salmonella carriage by gulls (*Larus spp.*) in Scotland. *Journal of Hygiene*, 95, 229-241.
- Gould D.J. and Flectcher M. R. (1978). Gull droppings and their effects on water quality. *Water Research*, 12, 665-672.
- Graczyk T. K., Majewska A. C and Schwab K. J. (2007). The role of birds in dessimination of human waterborne enteropathogens. *Trends in Parasitology*, 24 (2), 55-59.



- Hamont P.Y., Pichot Y. (1994). La conchyliculture en Méditerranée. 1<sup>re</sup> partie. *Equinox*, 52, 25-35.
- Hsu FC., Shieh YS., van Duin J., Beekwilder MJ., Sobsey MD (1995). Genotyping male-specific RNA coliphages by hybridization with oligonucleotide probes. *Applied Environmental Microbiology*, 61, 3960-3966.
- Ifremer (2006). Rapport de Mission embarquée du Mercredi 05 Avril 2006. Avril 2006 - R.INT.DOP/LER/LR 2006-06. 5 p.
- Ifremer (2007a). Rapport OMEGA Thau (Outil de Management Environnemental et de Gestion de l'avertissement - Bassin de Thau), 2007. Phase 1 – Etape 1. Synthèse des résultats REMI – Etang de Thau – Période 1997-2006. RST/LER/LR/07-04, 50 p.
- Ifremer (2007b). OMEGA. PHASE 1 / Etape 1. Protocole de suivi de l'étape 2 : campagnes de mesures dans la lagune de Thau. Octobre 2007 – RST/LER/LERLR/07, 42 p.
- Ifremer (2007c). Réseau de Suivi Lagunaire du Languedoc-Roussillon : Bilan des résultats 2006. Rapport RSL-07/2007, 484 p.
- Ifremer (2008a). Evaluation de la qualité des zones de production conchylicole. Départements Hérault et Gard. Edition 2008. ST/LER/LR/08-005. 55 p.
- Ifremer (2008b). Document de prescription surveillance microbiologique. Cahier des spécifications techniques et méthodologiques REMI. 58 p.
- Ifremer, IFOP, Région Languedoc-Roussillon (2004). Etude de l'hétérogénéité spatio-temporelle de la masse d'eau lagunaire de l'étang de Thau sous contraintes de contaminations bactériologiques ou de phytoplancton toxique (*Alexandrium sp.*). 60 p.
- International Standardisation Organisation (1995). Detection and enumeration of bacteriophages. Part 1: Enumeration of F specific RNA bacteriophages. ISO 10705-1. International Standardisation Organisation, Geneva, Switzerland.
- Issa N. (2007). Les oiseaux marins en Méditerranée française. *Soumis à publication*.
- J.O.C.E., L 320 du 18 novembre 2006. Règlement (CE) n° 1666/2006 de la Commission du 6 novembre 2006 modifiant le règlement (CE) n°2076/2005 portant dispositions d'application transitoires des règlements du parlement européen et du Conseil (CE) n°853/2004, (CE) n°854/2004 et (CE) n°882/2004.
- J.O.C.E., L 139 du 30 avril 2004. Règlement (CE) n° 854/2004 du Parlement Européen et du Conseil du 29 avril 2004 fixant les règles spécifiques d'organisation des contrôles officiels concernant les produits d'origine animale destinés à la consommation humaine.
- Jones K. (2001). Campylobacters in water, sewage and the environment. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 68-79.
- Kaneuchi C., Shibata M., Kawasaki T., Kariu T., Kanzaki M. and Maruyama T. (1989). Occurrence of *Yersinia spp.* in migratory birds, ducks, seagulls and wallows in Japan. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 51, 805-808.
- Levesque B., Brousseau P., Simard P., Dewailly E., Meisels M., Ramsay D. and Loly J.(1993). Impact of the Ring-Billed Gull (*Larus delawarensis*) on the Microbiological

- Quality of Recreational Water. *Applied and Environmental Microbiology* 59 (4), 1228-1230.
- Levesque B., Brousseau P., Simard P., Dewailly E., Meisels M., Ramsay D. and Loly J. (1993). Impact of the Ring-Billed Gull (*Larus delawarensis*) on the Microbiological Quality of Recreational Water. *Applied and Environmental Microbiology* 59, (4), 1228-1230.
- Long S., El Khoury SS., Oudejans SJG., Sobsey MD., Vinje J. (2005). Assessment of sources and diversity of male specific coliphages for source tracking. *Environmental Engineering Science*, 22, 367-377.
- Long SC. and MD Sobsey (2004). A comparison of the survival of F+RNA and F+DNA coliphages in lake water microcosms. *Journal of water and health*, 02-1, 15-22.
- McLellan S.L, Salmore A.K (2003). Evidence for localized bacterial loadings as the cause of chronic beach closings in a freshwater marina. *Water Research* 37, 2700-2708.
- Mendez J., Audicana A., Isern A., Llana J., Moreno B., Tarancon ML., Jofre J., Lucena F. 2004. Standardised evaluation of the performance of a simple membrane filtration-elution method to concentrate bacteriophages from drinking water. *Journal of Virological Methods*, 117, 19-25.
- Newell D. (2002). The ecology of *Campylobacter jejuni* in avian and human hosts in the environment. *International Journal of Infectious Diseases*, 6, S16-S21.
- New-York City Departement of Environnemental Protection (DPE). 1993. Kensico watershed study, 1991-1993. New-York City Department of Environnemental Protection, Valhalla, N6Y.
- Noble RT., Moore DF., Leecaster MK., Mc Gee CD., Weisberg SB. (2003). Comparison of total coliform, fecal coliform, and enterococcus bacterial indicator response for ocean recreational water quality testing. *Water Research*, 37, 1637-1643.
- Ogg JE, Ryder RA, Smith Jr HL (1989). Isolation of *Vibrio cholerae* from aquatic birds in Colorado and Utah. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (1), 95-99.
- Pacha R.E., Clark G.W, Williams E.A. and Carter A.M. Migratory birds of central Washington as reservoirs of *Campylobacter jejuni* (1987). *Canadian Journal of Microbiology*, 34, 80-82.
- Palmer Merv D., 1982. Fecal coliform loadings from birds on bridges. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 10, 241-247.
- Palmgren H, Aspan A, Broman T, Bengtsson K, Blomquist L, Bergstrom S, Sellin M, Wollin R, Olsen B (2006). *Salmonella* in Black-headed gulls (*Larus ridibundus*) ; prevalence, genotypes and influence on *Salmonella* epidemiology. *Epidemiology and Infection*, 134 (3), 635-644.
- Piriou J., Caprais MP, Gourmelon M., Le Mennec C., Casseron R., Ségura R. (2006). Développement d'outils d'analyse pour l'identification des sources de contamination fécale RST Rapport de résultats de recherches scientifiques et / ou techniques LERCC/06.06: 79pp.



- PNEC (Programme National Environnement Côtier) (2005). Chantier "Lagunes Méditerranéennes" - Rapport d'activité à mi-parcours du chantier. 49 p.
- Quessy S. and Messier. S (1992). Prevalence of *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* and *Listeria spp.* in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*). *Journal of Wildlife Diseases* 28, 526-531.
- Schieh Y. C. *et al.* (2003). Molecular surveillance of enterovirus and Norwalk virus in Oysters relocated to a municipal-sewage-impacted Golf estuary. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (12), 7130-7136.
- Schaper M. and J. Jofre (2000). Comparison of methods for detecting genotypes of F-specific RNA bacteriophages and fingerprinting the origin of faecal pollution in water samples. *Journal of Virological Methods*, 89, 1-10.
- Schaper M., Duran AE. and J. Jofre (2002). Comparative resistance of phage isolates of four genotypes of F-Specific RNA bacteriophages to various inactivation processes. *Applied Environmental Microbiology*, 68, 3702-3707.
- Sixl W., Karpiskova R., Hubalek Z., Halouzka J., Mikulaskova M., Salava J. (1997). *Campylobacter spp.* and *Salmonella spp.* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*). *Central European Journal of Public Health Cent Eur J Publ Health*, 5 (1), 6-24.
- Sulaeman S., Tresse O., Dé E, Federighi M. (2008). *Campylobacter jejuni* et maladies infectieuses d'origine alimentaire. *Bulletin de la société Française de Microbiologie*, 23 (1), 26-34.
- Tsiodras S., Kelesidis T., Kelesidis I., Bauchingerc U. and Falagas M. E. (2008). Human infections associated with wild birds. *Journal of Infection*, 56, 83-98.
- U.S. Environmental Protection Agency (2001). Protocol for developing pathogen TMDLs. Washington DC, U.S.EPA : 134 p..
- Vantarakis A., Venieri D., Komninou G., Papapetropoulou M. (2006). Hybridization of F+RNA coliphages detected in shellfish samples with oligonucleotide probes to assess the origin of microbiological pollution of shellfish. *Water Science and Technology*, 54, 21-223.
- Whelan C.D., Monaghan P., Girdwood P. *et al.* (1988). The significance of wild birds (*Larus sp.*) in the epidemiology of campylobacter infections in humans. *Epidemiology and infection*, 101 (2), 259-267.
- Williams B. M., Richards D.W. and Lewis J. (1976). *Salmonella* infection in the herring gull (*Larus argentatus*). *The Veterinary Recorder*, 98, 51 p.



## Annexe 1 : Caractéristiques des oiseaux observés sur les tables conchylicoles de l'étang de Thau (Issa N., 2007)

### Mouette rieuse (*Larus ridibundus*)



Source du dessin :  
www.oiseaux.net

La Mouette rieuse est un migrateur et un hivernant commun nichant localement sur le littoral Méditerranéen. Elle se reproduit essentiellement des Bouches-du-Rhône à l'Hérault. Les principales colonies se situent dans les salins d'Aigues-Mortes (1 800 c. en 1998), en Camargue (1 300 c. en 2000) et l'Etang de Thau (930 c. en 1998) (Sadoul *In* Lascève *et al.*, 2004 ; Yésou *et al.*, *In* Cadiou *et al.*, 2004). Ailleurs, des colonies beaucoup plus modestes sont installées

sur les salins de Berre, les salins de Fos (60-80 c. en 2001), les salins d'Hyères (1-5 c., LPO PACA) (Sadoul *In* Lascève *et al. op. cit.*) et l'Etang de Leucate (30 c.). Les zones méditerranéennes représentent également une région importante pour l'hivernage de l'espèce en France, notamment au niveau des Bouches-du-Rhône (180 000 individus en 1997) et de l'Hérault (27 310 en 2005) (Créau & Dubois *op. cit.*, Dubois & Jiguet *op. cit.*). Dans les Alpes-Maritimes, le Var, l'Aude et les Pyrénées-Orientales, elle est d'observation régulière en période d'hivernage et migratoire, avec des effectifs pouvant atteindre plusieurs centaines d'individus.

### Mouette mélanocéphale (*Larus melanocephalus*)



Source du dessin :  
www.oiseaux.net

Le littoral méditerranéen constitue la principale zone de reproduction pour l'espèce, dont la totalité des couples nicheurs est localisée au niveau de la Camargue. L'effectif reproducteur, estimé à environ 3 000 couples en 2006, représente les deux tiers de la population française (Sadoul & Pin *In* Riegel *et al.*, 2007). Les régions méditerranéennes accueillent également durant la période hivernale des effectifs conséquents à l'échelle

nationale, concentrés sur quelques sites principaux entre le Var et l'Hérault : 2 000 individus sur les étangs héraultais (Dubois & Jiguet, 2006) avec un maximum de 2 500 le 16 janvier 2005 sur l'Etang de Thau, 1 800 au Cap Sicié/Var (Créau & Dubois, 1997), jusqu'à 1 500 sur une même localité des Bouches-du-Rhône avec la Crau et l'Etang de Berre comme secteurs privilégiés. Sa présence hivernale est nettement plus discrète dans l'Aude et les Pyrénées-Orientales (Dubois & Jiguet *op. cit.*). Le passage pré-nuptial, s'étalant de février à avril, est remarqué sur l'ensemble des zones côtières. Dans le Languedoc-Roussillon, plusieurs centaines d'oiseaux sont notées en migration chaque printemps à partir des sites littoraux audois et roussillonnais, jusqu'à 600 en une séance le 8 février 2001 à Leucate. Dans le Golfe du Lion, l'espèce est communément observée lors des sorties en mer au large de l'Hérault ou en halte migratoire sur les étangs et les salins héraultais et gardois. En région PACA, le passage est remarqué en mars-avril dans les Alpes-Maritimes, au niveau de l'Embouchure du Var (1 000 le 15 mars 2003) et de Saint-Jean-Cap-Ferrat (Misiek, 1992), dans le Var au niveau du complexe portuaire de Toulon, du Cap Sicié, de Saint-Elme, de la Baie du Lazaret ainsi que dans Bouches-du-Rhône sur l'Etang de Berre (4 600 le 12 mars 2003), le Golfe de Fos et la Camargue (Misiek *op. cit.*). Le passage post-nuptial semble nettement plus discret.

### Goéland leucophée (*Larus michaellis*)



Source du dessin :  
www.oiseaux.net

Le Goéland leucophée est un nicheur commun réparti sur l'ensemble du littoral méditerranéen. Suite à son expansion démographique et géographique depuis les années 1980, il niche désormais dans la totalité des départements méditerranéens, pour une population totale estimée à 40 000 couples en 1997-2001 (Vidal *et al.* In Cadiou *et al.*, 2004). En période hivernale, de gros rassemblements en dortoir sont observés sur les zones

côtières méditerranéennes (84 280 individus en 1997). L'espèce se concentre principalement dans les Bouches-du-Rhône (55 686 individus en 1997) et dans l'Hérault (22 550 en 2005) (Créau et Dubois *op. cit.* ; Dubois & Jiguet *op. cit.*).

### Grand Cormoran (*Phalacrocorax carbo*)



Source du dessin :  
www.oiseaux.net

Le Grand Cormoran est un nicheur rare et un hivernant commun en Méditerranée. La seule colonie provençale se situe au niveau de la Camargue (16 couples en 2000) où l'espèce niche depuis 1998 (Kayser *et al.*, 2003). En période hivernale, le littoral méditerranéen constitue une importante zone d'hivernage en Europe de l'Ouest, notamment au niveau de la Camargue, des îles d'Hyères et des lagunes littorales du Languedoc-Roussillon. L'effectif hivernant en PACA a toutefois tendance à décliner depuis les années 1990, suite à la diminution des populations nicheuses en Europe du Nord, passant de 10 000 individus en 1993 à 3 800 en 2001 (Girard In Lascève *et al.*, 2006).

### Sterne caugék (*Sterna sandvicensis*)



Source du dessin :  
www.oiseaux.net

La Sterne caugék est un nicheur rare et localisé connaissant de fortes fluctuations d'effectifs suivant les années. Les seules zones de reproduction sur le littoral méditerranéen sont les Salins-de-Giraud et l'Etang des Impériaux en Camargue, les salins d'Aigues-Mortes (Sadoul In Lascève *et al.*, 2006) et occasionnellement l'Etang de Pissevaches dans l'Aude. En dehors de la période de reproduction, des rassemblements postnuptiaux dépassant le millier d'oiseaux sont notés de juillet à octobre en

Camargue (1 500 le 2 octobre 2001, 700 le 26 août 2007) et de manière moins importante sur les salins de Berre (500 en juillet-août 2003). Dans les Alpes-Maritimes et le Var, l'espèce est présente toute l'année le long de la côte et sur les différentes zones humides littorales. Dans l'Aude et les Pyrénées-Orientales, elle régulièrement notée en migration lors du passage pré-nuptial avec des effectifs conséquents (1 000 le 23 avril 2002 devant l'embouchure de l'Aude). Durant la période hivernale, l'espèce est peu commune à rare, notée en faible effectif sur l'ensemble du littoral méditerranéen.



## Annexe 2 : Organisation des secteurs conchylicoles de Bouzigues, Mèze et Marseillan

Sur l'étang de Thau, les tables conchylicoles mesurent 50 m de long sur 10 à 12 m de large, et sont constituées de trois rangées de onze rails plantés verticalement, soutenant des traverses, celles-ci supportent 102 perches sur lesquelles sont amarrées des cordes. Les cordes permettent l'élévation en suspension de moules en filets tubulaires et d'huîtres en "pignes" ou "collées" (Hamont *et al.*, 1994). Les tables sont séparées les unes des autres par des couloirs de 10 m. Quatre tables forment un bloc séparé de son voisin par des couloirs de 25 m. Ces blocs forment eux-mêmes des îlots distants entre eux de 100 m (Figure 21). Ces îlots sont ensuite disposés en colonnes et en lignes au sein de trois secteurs conchylicoles : Bouzigues, Mèze et Marseillan. Le nombre de tables exploitées est d'environ 1900 sur le bassin de Thau.

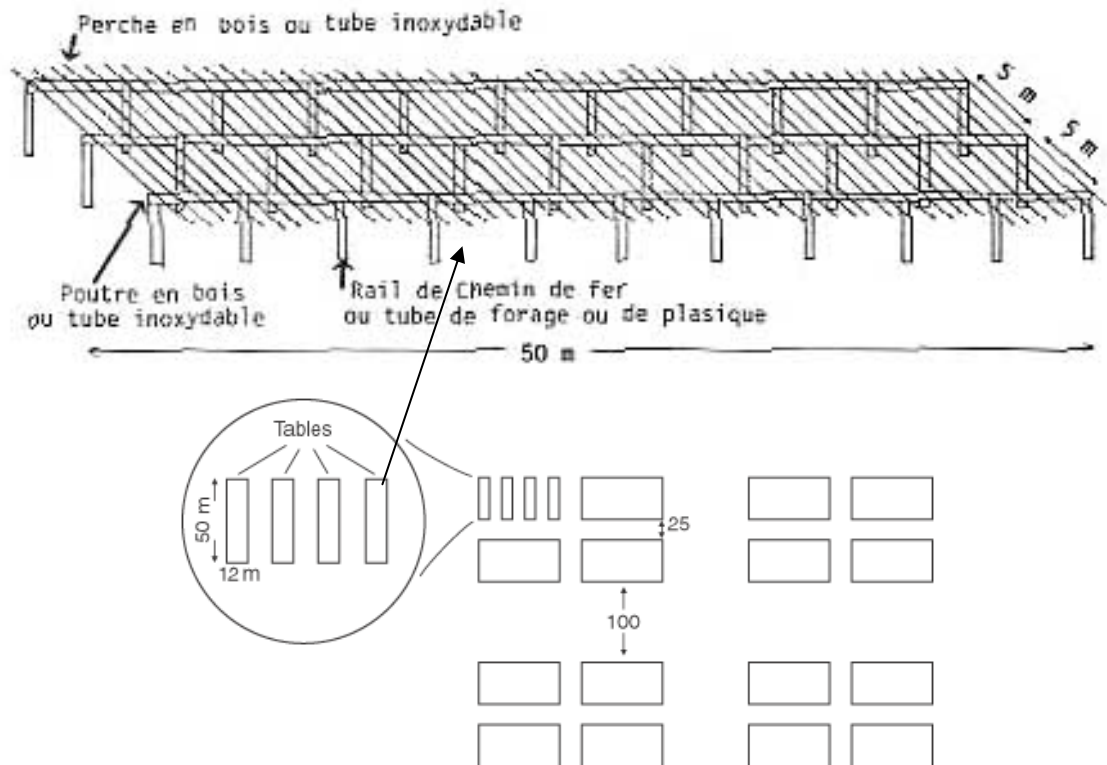
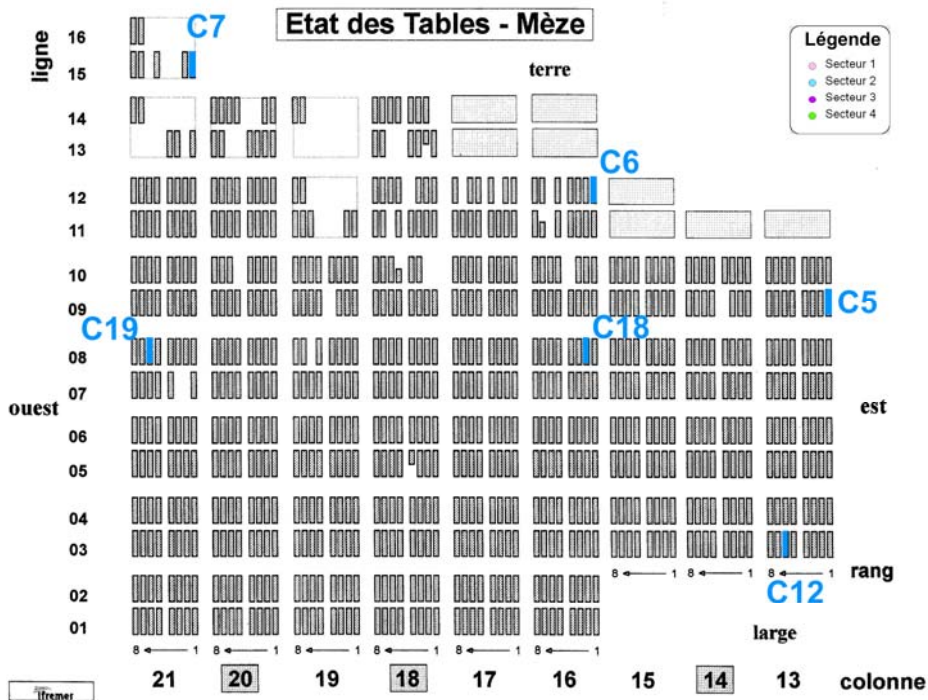
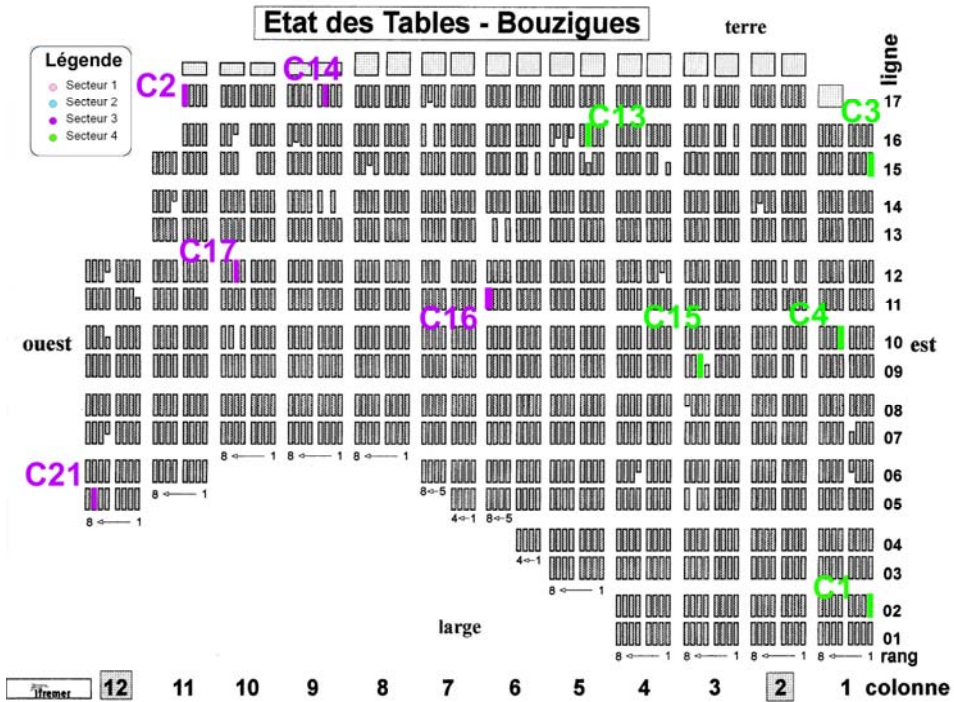
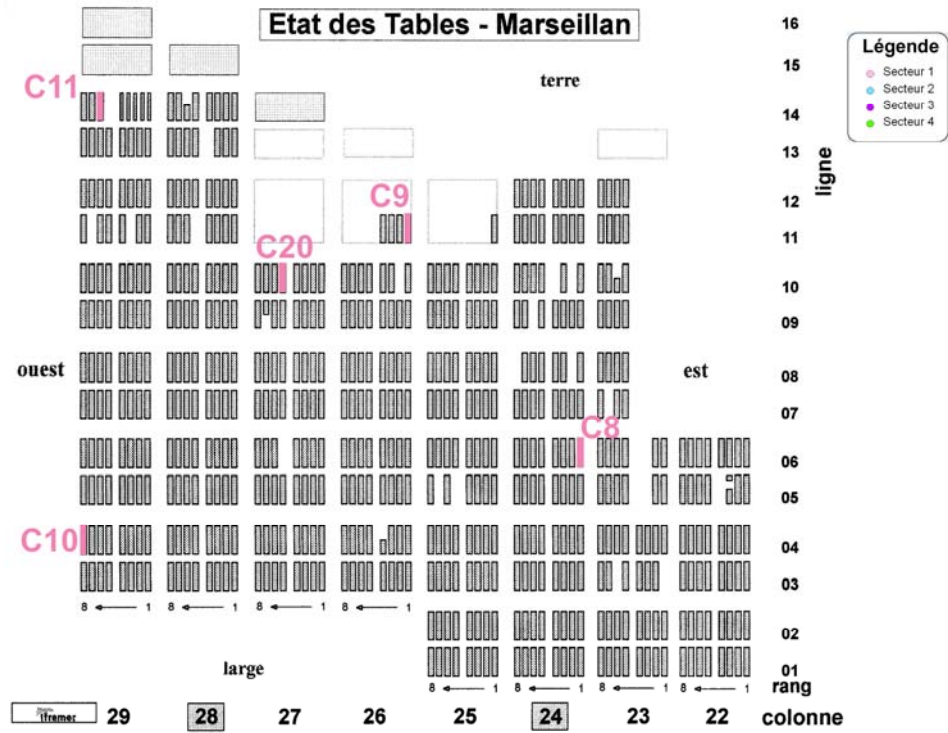


Figure 21. Disposition des tables dans les parcs conchylicoles (Hamon *et al.*, 1994).







## Annexe 3 : Résultats des dénombrements et géotypages des bactériophages F + ARN

Tableau 6. Résultats des dénombrements et géotypages réalisés sur les échantillons de coquillages, d'eau et de fientes prélevés de février à avril 2008 sur l'étang de Thau. <sup>(1)</sup> Géotypage possible à partir de 20 isolats (en-dessous, le géotypage est donné à titre indicatif). <sup>(2)</sup> Résultats du géotypage non disponibles.

Point	Niveau	Support	Date de prélèvement	[bactériophages] (UFC/100 g CLI ou 100 mL)	Nb d'isolats pour le géotypage <sup>(1)</sup>	Génogroupe identifié (%)						
						GI	GII	GIII	GIV	Non Identifié		
Suivi régulier	C10	surface	Huitres	11/02/2008	<30	0						
				18/02/2008	<30	0						
				25/02/2008	495	33	82%	18%	0%	0%	0%	
				03/03/2008	40	1						
				10/03/2008	390	12						
				17/03/2008	300	0						
				27/03/2008	1740	23	100%	0%	0%	0%	0%	
				28/03/2008	7920	25	100%	0%	0%	0%	0%	
				21/04/2008	150	0						
		28/04/2008	<30	0								
		profondeur	Huitres	11/02/2008	<30	0						
				18/02/2008	<30	0						
				25/02/2008	<30	0						
				25/02/2008	250	20	100%	0%	0%	0%	0%	
				17/03/2008	1620	21	100%	0%	0%	0%	0%	
				21/04/2008	2010	23	100%	0%	0%	0%	0%	
				28/04/2008	<30	0						
				surface	Eau	11/02/2008	100	0				
	18/02/2008					<100	0					
	25/02/2008	<10	0									
	profondeur	11/02/2008	150			5						
		18/02/2008	<100			0						
		25/02/2008	10			1						
	C11	surface	Huitres	11/02/2008	370	22	100%	0%	0%	0%	0%	
				18/02/2008	630	21	100%	0%	0%	0%	0%	
				25/02/2008	<30	1						
				03/03/2008	70	2						
				10/03/2008	30	1						
				17/03/2008	<60	0						
				21/04/2008	150	0						
				28/04/2008	<30	0						
				Eau	11/02/2008	100	0					
		18/02/2008	<100		0							
		25/02/2008	<10		0							
		C2	surface		Huitres	18/02/2008	<30	0				
						25/02/2008	<30	0				
						03/03/2008	<30	0				
				10/03/2008		60	2					
	25/03/2008			60		0						
	21/04/2008			<30		0						
	28/04/2008	<30		0								
	profondeur	Huitres		11/02/2008		<30	0					
18/02/2008				<30		0						
25/02/2008			<30	0								
25/03/2008			60	0								
21/04/2008			<30	0								
28/04/2008			<30	0								
surface	Eau	18/02/2008	<100	0								
		25/02/2008	<10	0								
		profondeur	11/02/2008	100	0							
			18/02/2008	<100	0							
			25/02/2008	<10	0							
		C21	surface	Huitres	11/02/2008	5060	24	100%	0%	0%	0%	0%
18/02/2008	1260				32	100%	0%	0%	0%	0%		
25/02/2008	1290				34	33%	67%	0%	0%	0%		
03/03/2008	1000				25	96%	4%	0%	0%	0%		
10/03/2008	120				4							
25/03/2008	<60				0							
21/04/2008	<30				0							
28/04/2008	<30				0							
Eau	11/02/2008				100	0						
	18/02/2008			<100	0							
	25/02/2008			<10	0							

	Point	Niveau	Support	Date de prélèvement	[bactériophages] (UFC/100 g CLI ou 100 mL)	Nb d'isolats pour le géotypage <sup>1)</sup>	Génogroupe identifié (%)					
							GI	GII	GIII	GIV	Non Identifié	
1ère campagne (secteur de Marseillan - 15/03/08)	C10	surface	Huitres	15/03/2008	20700	30	100%	0%	0%	0%	0%	
	C11			15/03/2008	5070	30	100%	0%	0%	0%	0%	
	O30			15/03/2008	150	12	56%	0%	0%	0%	44%	
	O31			15/03/2008	<30	16						
	O32			15/03/2008	30	10	100%	0%	0%	0%	0%	
	O33			15/03/2008	1650	30	96%	4%	0%	0%	0%	
	O34			15/03/2008	3030	31	100%	0%	0%	0%	0%	
	O35			profondeur	15/03/2008	<30	0					
	O35			surface	15/03/2008	<30	1					
	O36				15/03/2008	170	27	100%	0%	0%	0%	0%
	O37	15/03/2008			1110	19	58%	0%	0%	0%	42%	
	O38	15/03/2008			2430	27	100%	0%	0%	0%	0%	
	O39			15/03/2008	<30	24	100%	0%	0%	0%	0%	
	O40			15/03/2008	<30	1						
2ème campagne (secteur de Marseillan - 27 et 28/03/08)	C10	profondeur	Huitres	27/03/2008	5460	24	100%	0%	0%	0%	0%	
	C11			27/03/2008	<60	0						
	OA	surface		27/03/2008	<60	0						
	OB			27/03/2008	180	0						
	OC			27/03/2008	<60	0						
	OD			27/03/2008	<60	13	92%	0%	0%	0%	0%	
	OE			27/03/2008	<60	0						
	OF			27/03/2008	6000	22	100%	0%	0%	0%	0%	
	OG			27/03/2008	480	32	100%	0%	0%	0%	0%	
	C8			27/03/2008	<60	0						
	C9			27/03/2008	<60	0						
	C20			27/03/2008	<60	0						
	C10	profondeur		28/03/2008	5340	23	91%	0%	0%	0%	0%	
	C11			28/03/2008	300	0						
	OA	surface		28/03/2008	<60	0						
	OB			28/03/2008	<60	0						
	OC			28/03/2008	<60	0						
	OD			28/03/2008	<60	0						
	OE			28/03/2008	<60	0						
	OF			28/03/2008	1560	25	100%	0%	0%	0%	0%	
	OG			28/03/2008	720	8	100%	0%	0%	0%	0%	
	C8			28/03/2008	<60	0						
	C9			28/03/2008	<60	0						
	12			28/03/2008	<60	0						
12BIS		28/03/2008	<60	24	100%	0%	0%	0%	0%			
4		28/03/2008	28200	24	100%	0%	0%	0%	0%			
4	profondeur	28/03/2008	1620	19	85%	0%	0%	0%	15%			
3		28/03/2008	3600	25	84%	0%	0%	0%	16%			
C20	surface	28/03/2008	<60	0								
Fientes	Thau	Goéland	Fientes	21/02/2008	<10	0						
				22/02/2008	<10	0						
				22/02/2008	<10	0						
				14/03/2008	983000	22	0%	100%	0%	0%	0%	
				06/05/2008	1000	25	4%	35%	61%	0%	0%	
				27/05/2008	<10	0						
				03/06/2008	<10	0						
				03/06/2008	<10	0						
				07/06/2008	<10	0						
				14/06/2008	<10	0						
				06/08/2008	194000	24	100%	0%	0%	0%	0%	
				08/07/2008	<10	0						
				Cormoran		25/04/2008	<30	1				

## Annexe 4 : Résultats des campagnes temps sec réalisées dans le cadre d'OMEGA

### 1. Première campagne de mesures (secteur de Marseillan - 14 et 15 mars 2008)

#### 1.1. Conditions météorologiques et hydrologiques

Les données acquises par les pluviographes de Sète, Poussan, Marseillan et Mèze indiquent que les pluies tombées sur le bassin versant de l'étang de Thau sont non significatives pendant les quatre jours précédant la campagne de mesures (Figure 22).

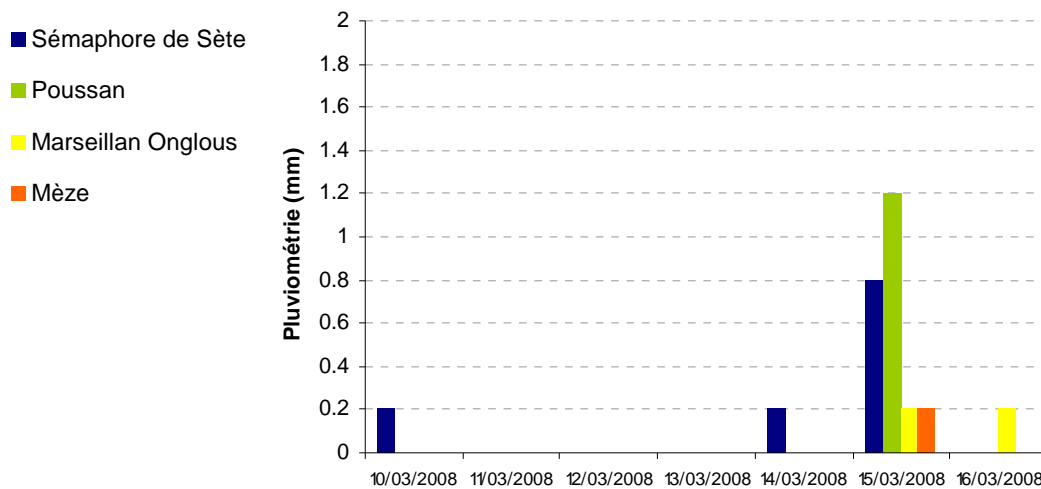


Figure 22 : Cumuls pluviométriques (en mm) enregistrés du 10/03/2008 au 16/03/2008 au niveau du sémaphore de Sète (Météo France) et des 3 pluviographes de BRLi installés au niveau des lagunages de Poussan, Mèze et Marseillan.

Les vents mesurés au niveau du sémaphore de Sète du 14 au 15/03/08 présentent une intensité moyenne de 27.9 km/h et une direction moyenne de 137°N (orientation SW puis E) (Figure 23).

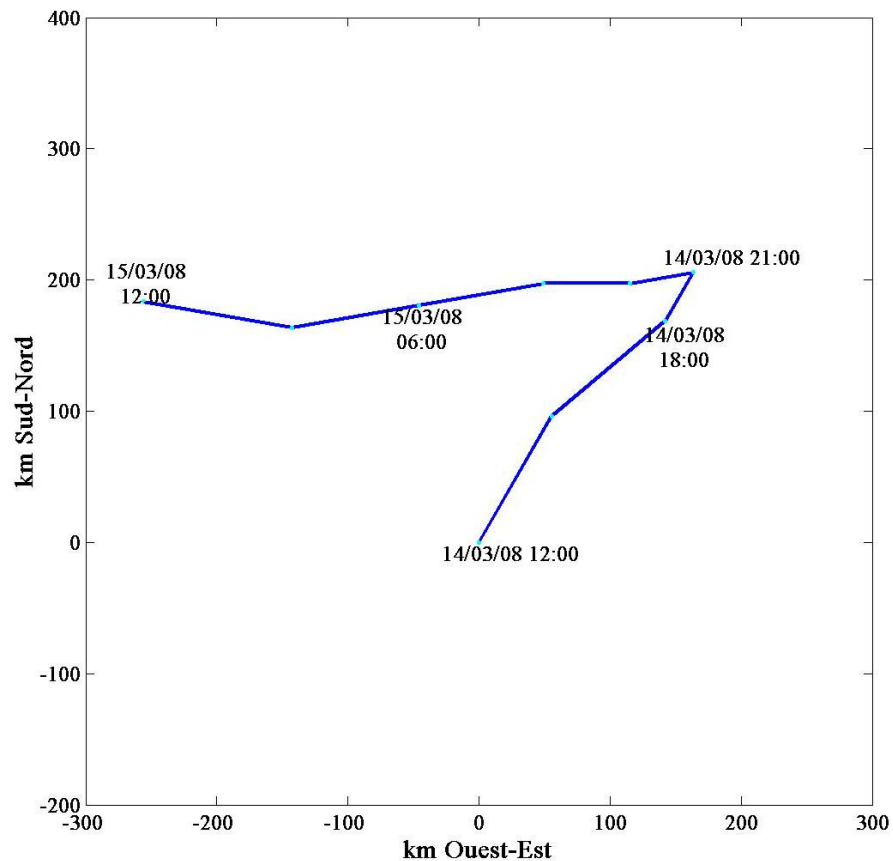


Figure 23. Hodographe du 13/03/2008 à 12h00 au 14/03/2008 à 12h00 des vents mesurés à la station météorologique du sémaphore de Sète (données Météo France).

Les volumes d'eau douce enregistrés par les débitmètres aux points de suivi continu du bassin versant au cours de la période du 7 au 16 mars 2008 sont synthétisés sur la Figure 24. Les volumes faibles indiquent que les apports du bassin versant sont négligeables sur la période du suivi.

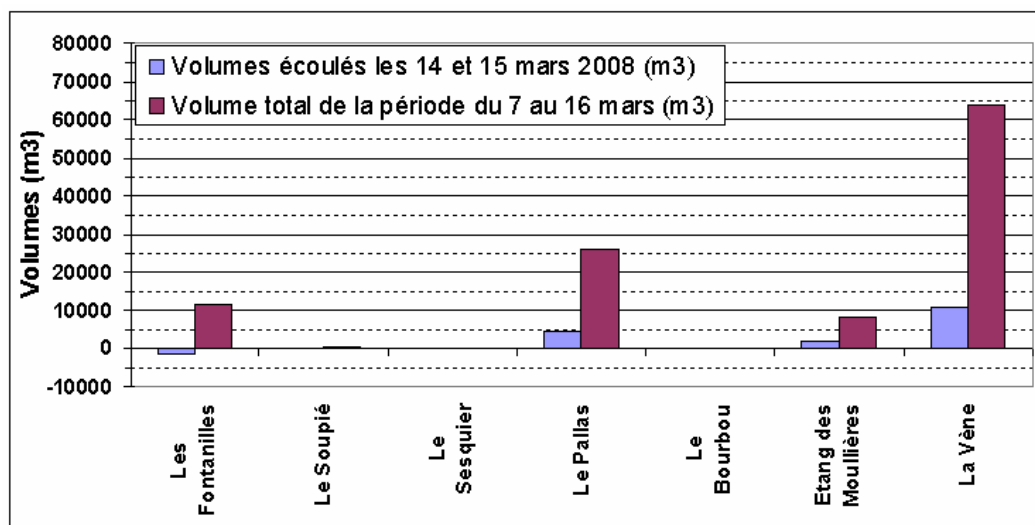


Figure 24. Volumes d'eau douce apportés par les cours d'eau du bassin versant de l'étang de Thau sur la période du 7 au 16 mars 2008.



La salinité enregistrée au niveau des points C10 et C2 ne présente pas de baisse significative sur la période des suivis (Figure 25 et Figure 26). Nous pouvons voir sur ces profils que la salinité au fond est légèrement plus élevée qu'en surface (0.3 unité en C2 et 0.1 unité en C10) et que les valeurs sont très stables, avec des moyennes de 37.7 en C10 et 37.5 en C2. Ceci confirme donc qu'il n'y a pas d'arrivée d'eau douce significative à l'étang, notamment le 14, 15 et 16 mars 2008.

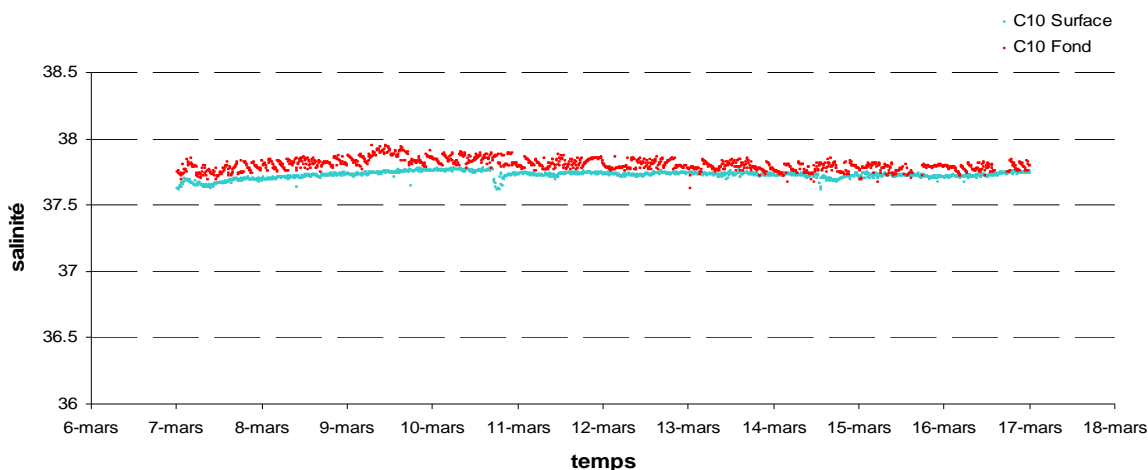


Figure 25. Salinité enregistrée au niveau du point C10, en surface et en profondeur, du 06/03/08 au 17/03/08.

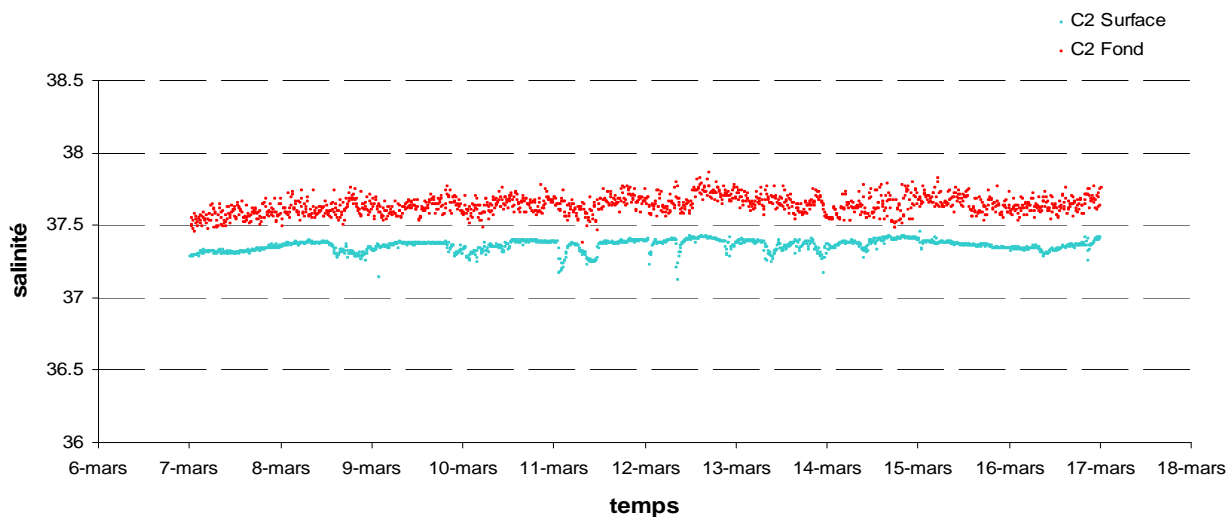


Figure 26. Salinité enregistrée au niveau du point C2, en surface et en profondeur, du 06/03/08 au 17/03/08.

## 1.2. Localisation et dénombrement des oiseaux

Les premiers comptages d'oiseaux sur les tables conchylicoles du secteur conchylicole de Marseillan, rendus difficile par la brume marine, sont effectués par une équipe Ifremer à bord du Gryphea le 14/03/2008 de 18h20 à 19h10.

Des regroupements d'oiseaux marins de trois espèces (Goéland, Mouette et Cormoran) sont observés sur une trentaine de tables parmi les 700 tables que compte le secteur de Marseillan. Les principaux regroupements se concentrent sur la colonne 29 et sur les rangs du large, et comptent de 10 à 500 individus généralement de la même espèce (Figure 30). Les Mouettes et Goélands ne sont pas effrayés par le passage du Gryphéa et se reposent sur les tables, contrairement aux cormorans de la colonne 24 qui s'échappent à l'approche du bateau. Quelques petits rassemblements d'oiseaux, de moins de cinq individus, sont également observés de manière éparse dans l'ensemble du secteur.

Le lendemain à l'aube, le bateau quadrille le secteur de Mèze entre 6h30 et 7h. Deux regroupements de cormorans sont repérés au large des colonnes 20 et 16, respectivement d'environ 125 et 50 individus. Tous les oiseaux observés la veille dans le secteur de Marseillan ne sont plus présents le 15/03/2008 à 7h20.

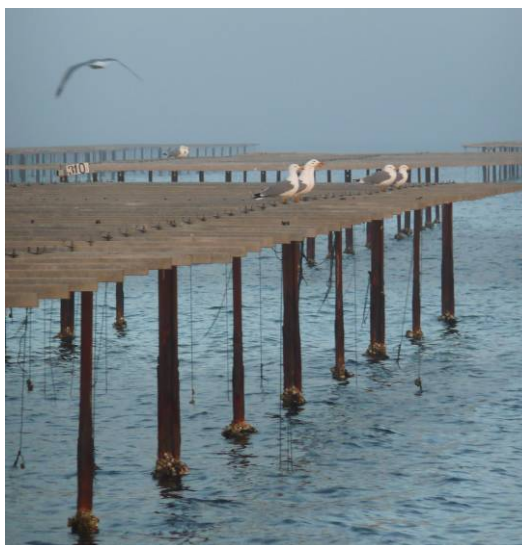


Figure 27. Petits groupes de Goélands dispersés sur quelques tables dans le secteur de Marseillan (photo Ifremer).



Figure 28. Regroupement de Goélands observé sur une table de Marseillan le 14/03/08(photo Ifremer).



*Figure 29. Grand regroupement de mouettes (300 à 500 individus) observé le 14/03/08 sur les tables de la colonne 29 à Marseillan (photo Ifremer).*

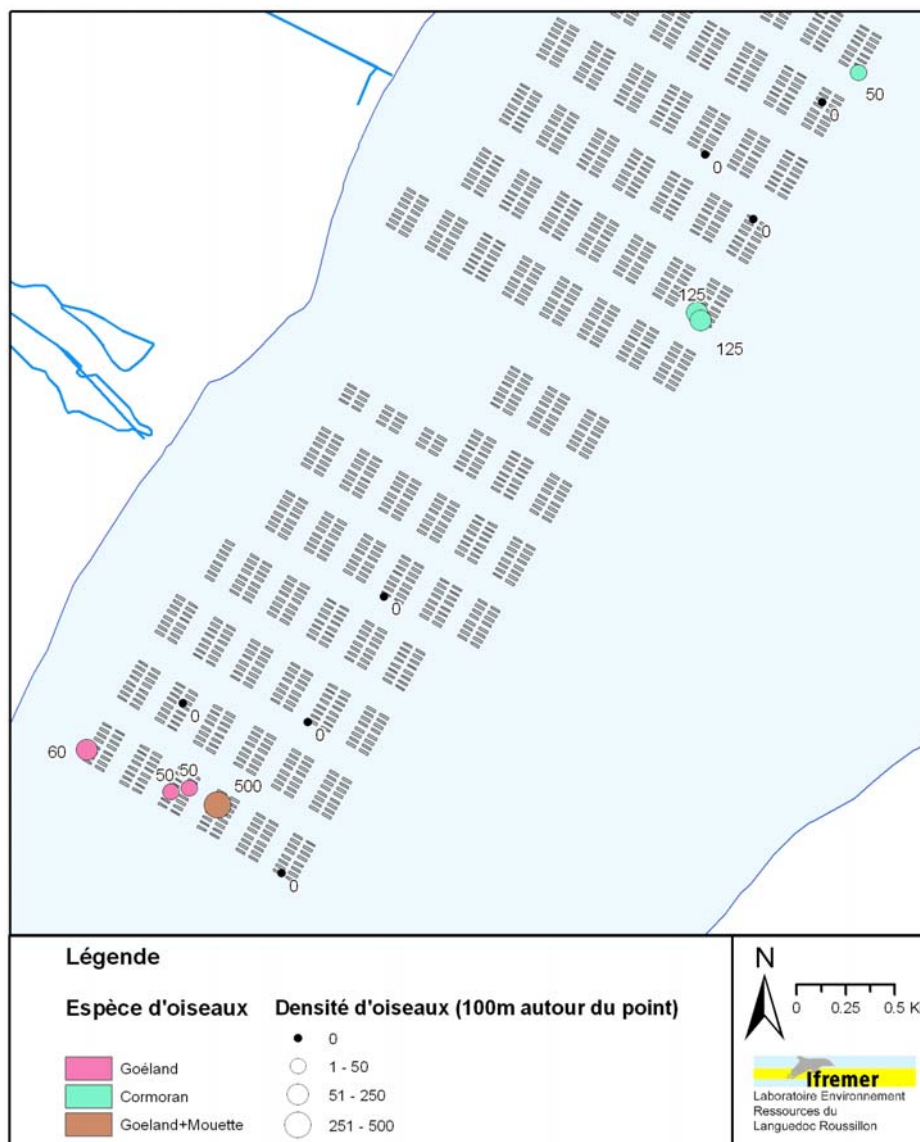


Figure 30. Localisation des regroupements d'oiseaux observés dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvement au crépuscule le 14/03/2008 dans le secteur de Marseillan et à l'aube le 15/03/2008 dans le secteur de Mèze.

### 1.3. Contamination microbiologique

Le 15/03/08 entre 7h30 et 9h30, 14 points de prélèvements d'eau et de coquillages sont échantillonnés en surface sur les secteurs de Marseillan et de Mèze, dont 1 également échantillonné en profondeur. Six de ces points sont localisés au niveau de "tables dortoirs", où la présence d'oiseaux a été observée la veille et 8 localisés au niveau de "tables témoins", où l'absence d'oiseau a été constatée (Figure 30).

Les mesures hydrologiques effectuées simultanément aux prélèvements d'eau et de coquillages indiquent une salinité de 37.1 à 37.4 et une température de 10.6 à 12°C signant une relative homogénéité des masses d'eau. Les relevés ne mettent pas en évidence de différence significative entre la surface et le fond.

La contamination microbiologique enregistrée dans l'eau est inférieure ou égale au seuil de détection de la méthode (15 *E. coli* / 100 mL), sauf pour 1 point à Marseillan, au

niveau duquel des Goélands sont repérés la veille, mais où la concentration reste cependant faible (45 *E. coli* / 100 mL) (Figure 32 et Figure 31).

Les résultats des analyses des coquillages prélevés par temps sec dans les secteurs de Mèze et Marseillan le 15/03/2008 indiquent sur certains points des dégradations marquées de la qualité microbiologique. Les points les plus proches du rivage, et donc les plus exposés aux apports du bassin versant, ne sont pas contaminés. Cependant, l'hypothèse d'une source terrestre de pollution ne peut pas être complètement écartée en l'absence de données sur la qualité des apports du bassin versant et d'état initial de la qualité de la lagune lors de cette campagne.

Les niveaux de contamination relevés sur les coquillages des points témoins sont en-dessous du seuil de détection (130 *E. coli* / 100 g C.L.I) au niveau de 5 points, mais dépassent 1 000 *E. coli* / 100 g C.L.I au niveau de 3 points. Les pics de pollution décelés au niveau de ces 3 points témoins ne peuvent être expliqués. On ne peut pas exclure que des oiseaux se soient déposés au dessus de ces tables le 14/03 après les observations, ou que ces niveaux de contaminations résultent d'apports antérieurs (nuit du 13/03 au 14/03).

Pour les coquillages prélevés en surface au droit des tables où des oiseaux sont observés la veille, le seuil de 1 000 *E. coli* / 100 g C.L.I. est dépassé. Pour deux de ces points, les résultats dépassent le seuil de mise en alerte de 4 600 *E. coli* / 100 g de C.L.I. pour cette zone d'élevage classée en B. La valeur maximale de contamination de 11 000 *E. coli* / 100 g C.L.I est atteinte en-dessous de la table de Marseillan où 300 à 500 mouettes sont dénombrées (Figure 31). Les coquillages prélevés au fond, sous la table du secteur conchylicole de Mèze où des Cormorans sont observés le 14/03, présentent un niveau de contamination en-dessous du seuil de détection, contrairement aux coquillages prélevés en surface, qui atteignent une concentration de 2 400 *E. coli* / 100 g de C.L.I. Au total, 960 oiseaux sont dénombrés le 14/03 au-dessus des tables dortoirs au niveau desquelles des prélèvements sont effectués le 15/03.

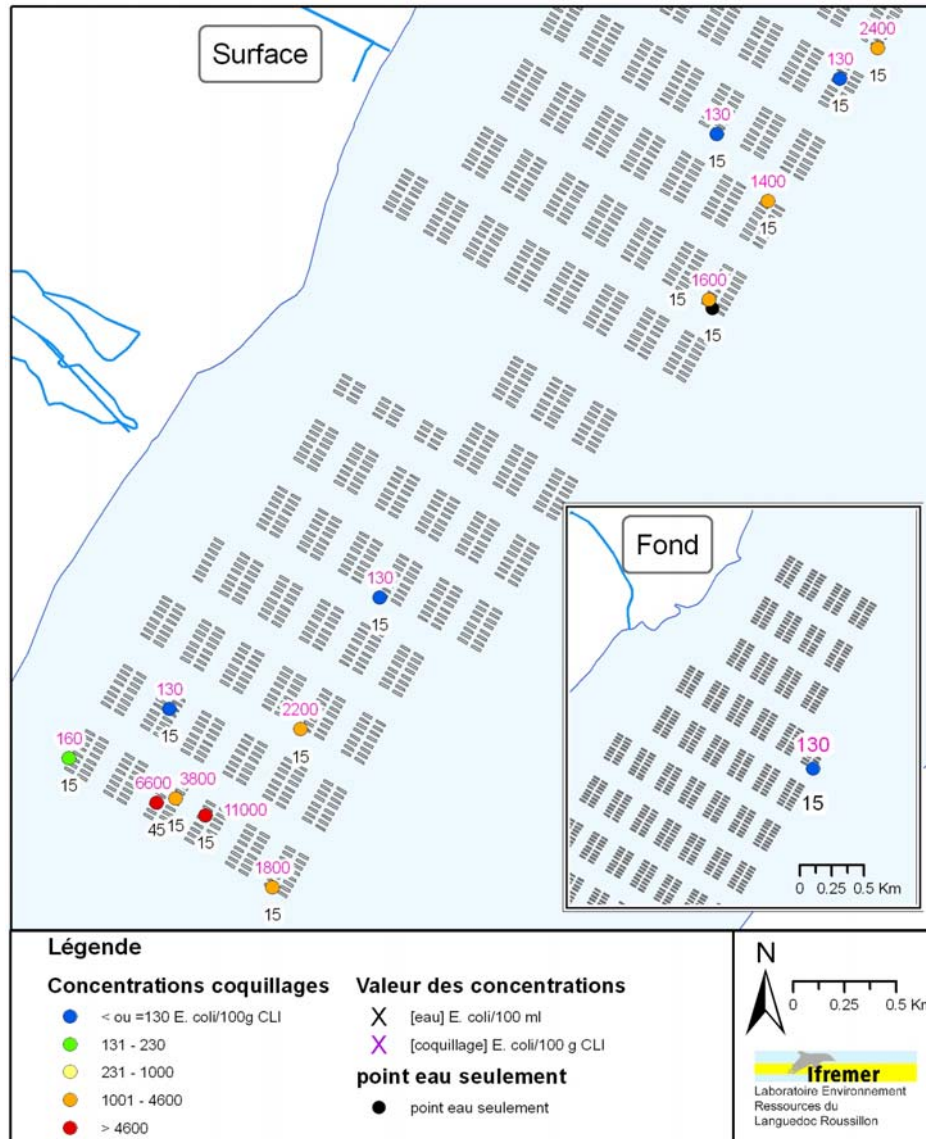


Figure 31. Résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages et l'eau prélevés dans les secteurs de Marseillan et Mèze la matinée du 15/03/2008.

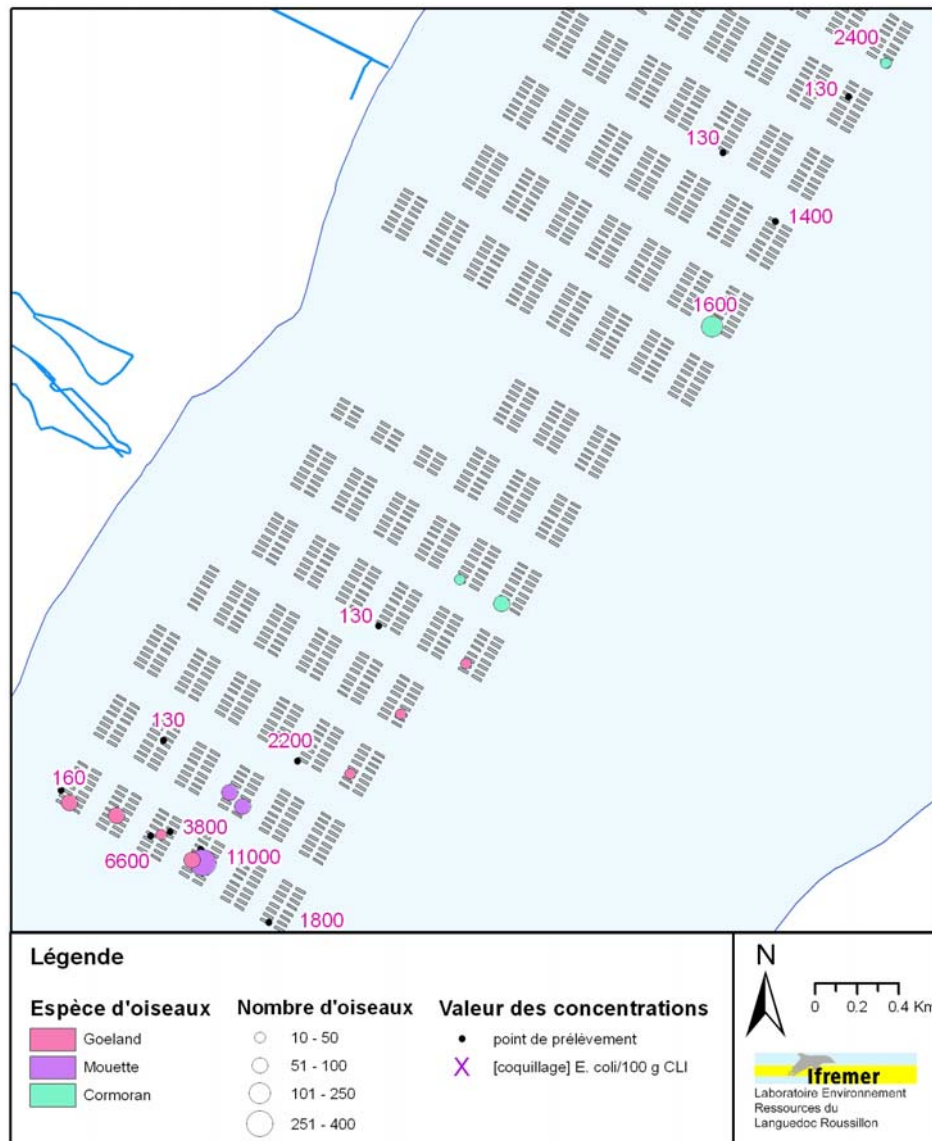


Figure 32. Localisation des regroupements d'oiseaux observés au crépuscule le 14 et à l'aube le 15/03/08 dans les secteurs de Marseillan et de Mèze, et résultats des dénombrements d'E. coli dans les coquillages prélevés à l'aube le 15/03/2008.

En ce qui concerne les résultats acquis en appliquant la méthode de recherche de la contamination fécale par génotypage des bactériophages F + ARN spécifiques sur cette campagne du 15 mars 2008, parmi les 14 prélèvements de coquillages analysés, 6 échantillons sont situés en limite de détection. Pour les 6 autres prélèvements, les concentrations en bactériophages s'étalent de 150 à 20 700 UFP / 100 g de CLI (Figure 33). Des isolats en nombre suffisant pour le génotypage (> 20), obtenus pour 6 prélèvements, montrent la présence dominante du génogroupe I (56 à 100 % de GI). Quelques isolats du génogroupe II ont été également trouvés en nombre minoritaire (4 %) sur un échantillon prélevé au milieu de la colonne 29 (teneur en bactériophages : 1 650 UFP / 100 g de CLI). On peut également noter que d'autres isolats n'ont pas pu être génotypés : les quatre sondes disponibles au laboratoire Ifremer EMP-MIC de Brest ne couvrant pas tous les génotypes existants.

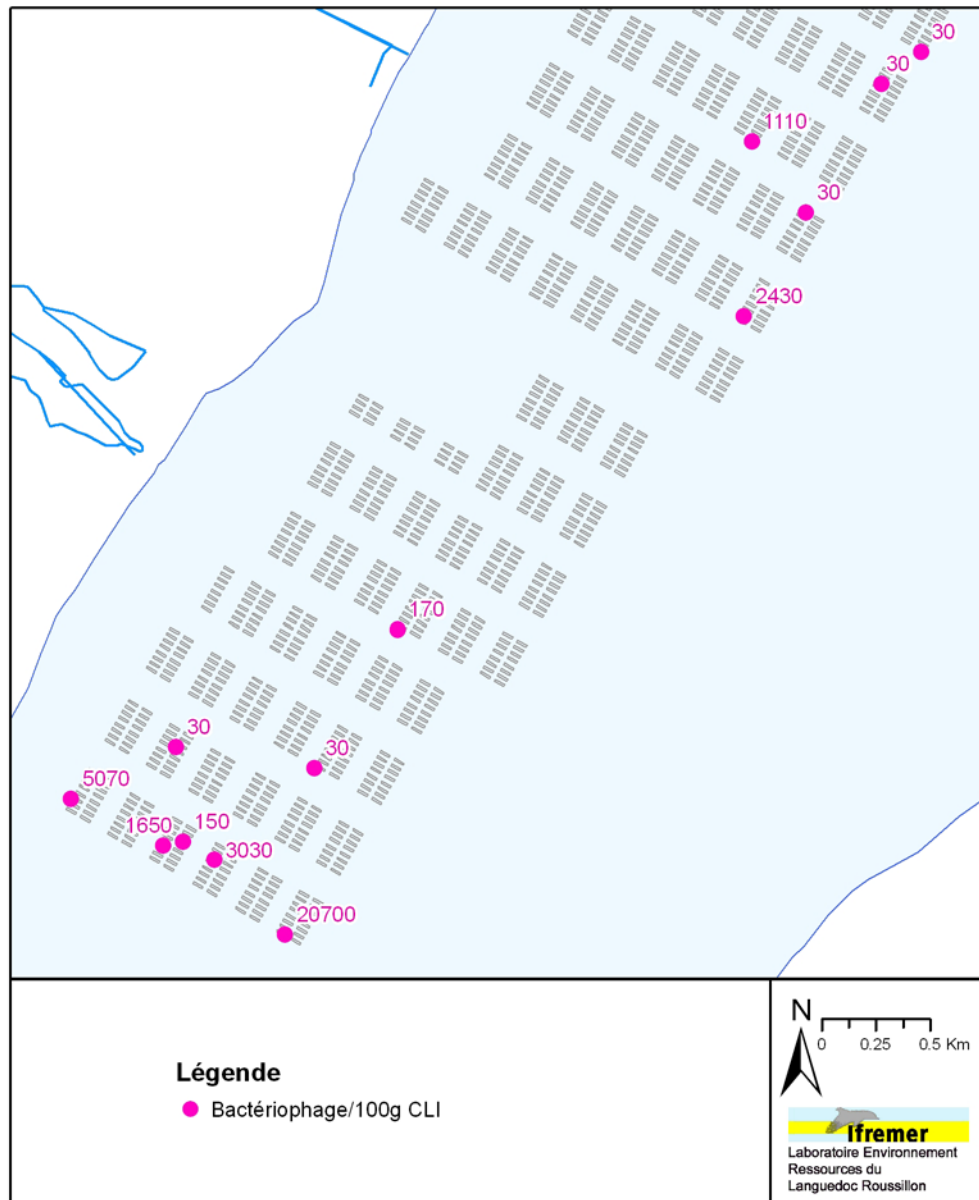


Figure 33. Résultats des dénombrements de bactériophages effectués dans les coquillages prélevés le matin du 15/03/2008.



## 2. Deuxième campagne de mesures (secteur de Marseillan - 27 et 28 mars 2008)

### 2.1. Conditions météorologiques et hydrologiques

Les données acquises par les pluviographes de Sète, Poussan, Marseillan et Mèze indiquent que les pluies tombées sur le bassin versant de l'étang de Thau sont non significatives pendant les quatre jours précédant la campagne de mesures (Figure 34).

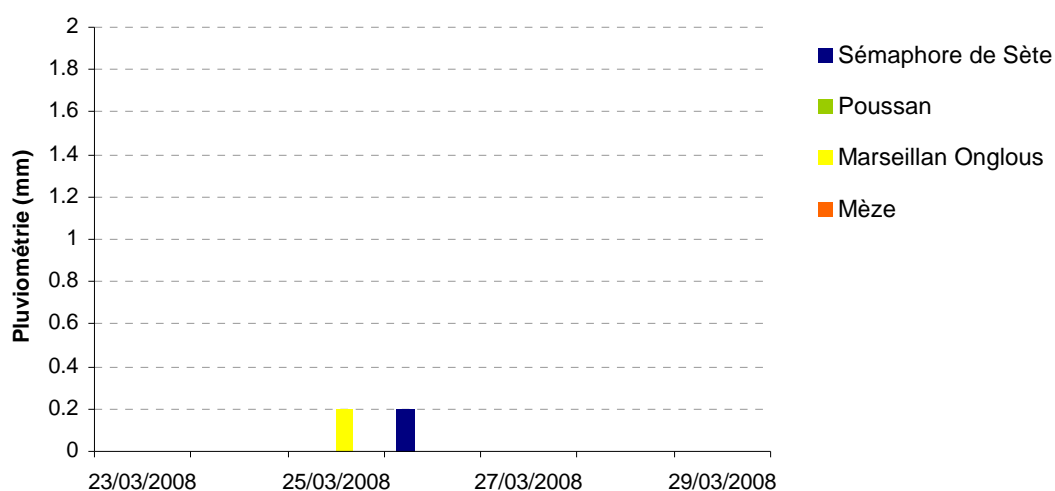


Figure 34. Cumuls pluviométriques (en mm) enregistrés du 23/03/2008 au 29/03/2008 au niveau du sémaphore de Sète (Météo France) et des 3 pluviomètres de BRLi installés au Mas Plagnol, à Poussan et à Mèze.

Les vents mesurés au niveau du sémaphore de Sète du 27 au 28/03/08 présentent une intensité moyenne de 31.7 km/h et une direction moyenne de 304°N (orientation N-NW) (Figure 35).

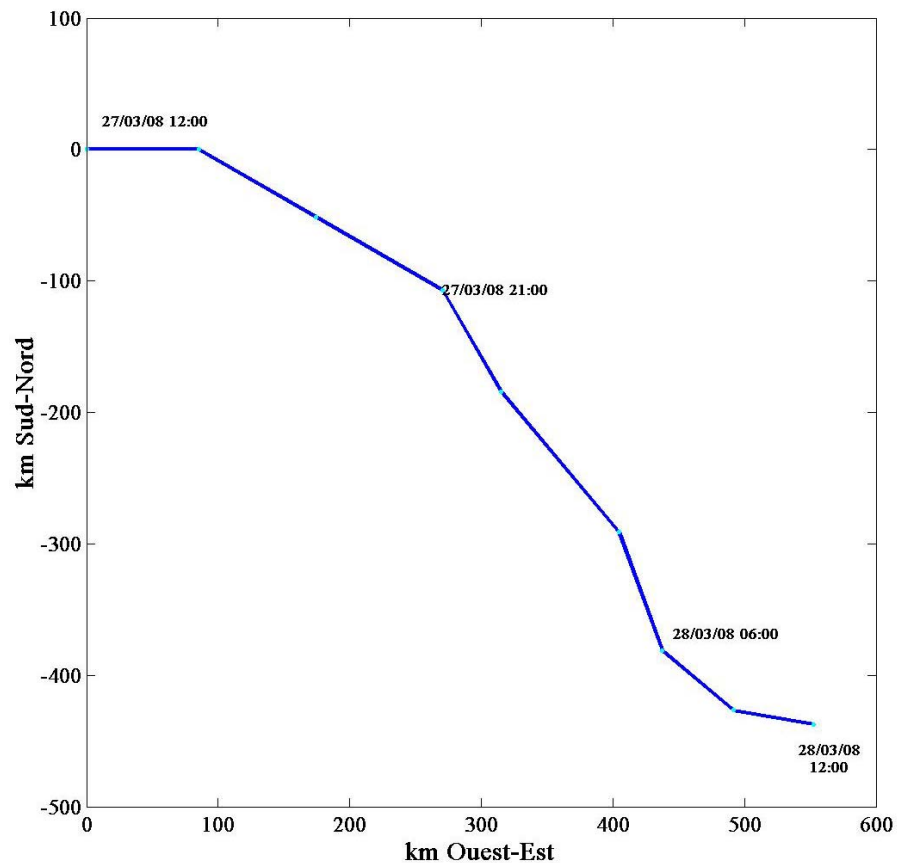


Figure 35. Hodographe du 27/03/2008 à 12h00 au 28/03/2008 à 12h00 des vents mesurés à la station météorologique du sémaphore de Sète (données Météo France).

Les volumes d'eau douce enregistrés par les débitmètres aux points de suivi continu du bassin versant au cours de la période du 20 au 29 mars 2008 sont synthétisés sur la Figure 36. Les volumes faibles indiquent que les apports du bassin versant sont négligeables sur la période du suivi.

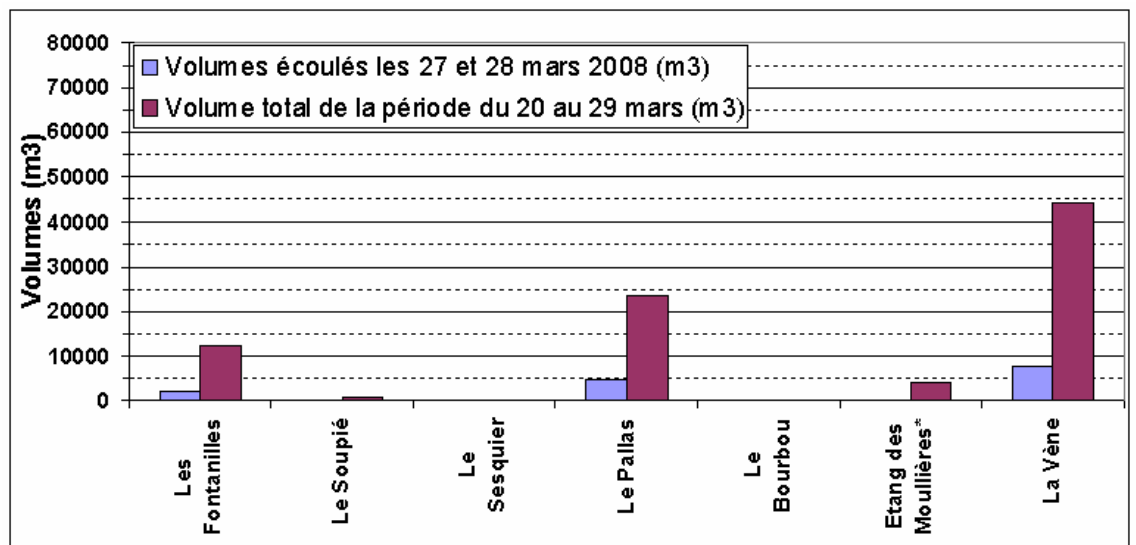


Figure 36. Volumes d'eau douce apportés par les cours d'eau du bassin versant de l'étang de Thau sur la période du 20 au 29 mars 2008.

La salinité enregistrée au niveau des points C10 ne présente pas de baisse significative (Figure 37), elle se situe autour de 38 (+/- 0.1) sur la période du 19/03 au 31/03/2008. De plus, nous n'observons pas de stratification surface / fond. Ces observations permettent de confirmer qu'il n'y a pas eu d'apports d'eau douce significatifs à l'étang sur cette période dans ce secteur.

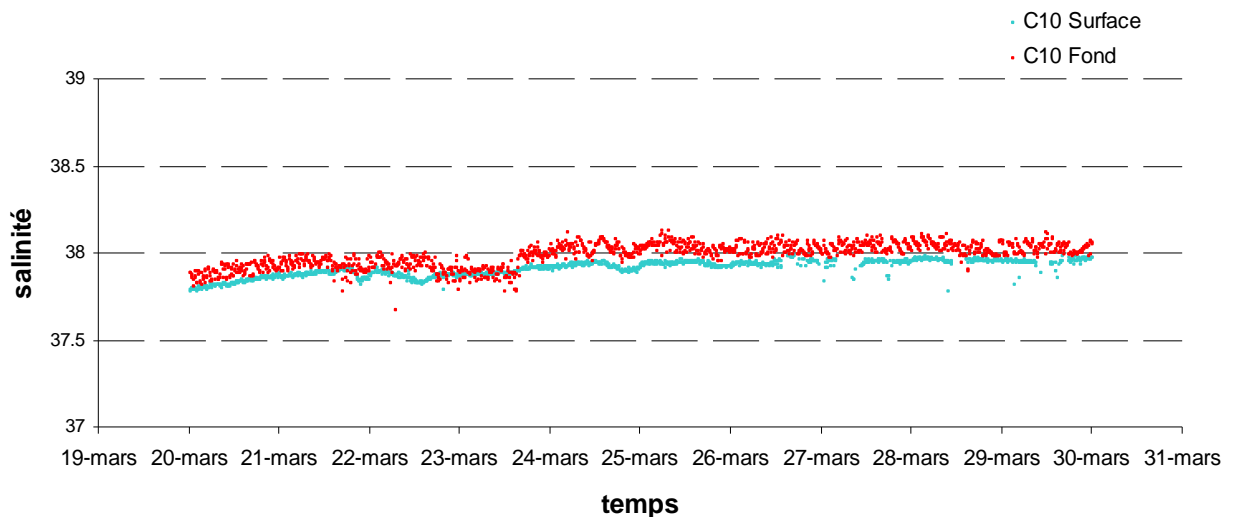


Figure 37. Salinité enregistrée au niveau du point C10, en surface et en profondeur, du 19/03/08 au 31/03/08.

## 2.2. Etat initial

### a) Sur le bassin versant

Le 27/03/2008, deux séries de prélèvements d'eau sont réalisées le matin (de 10 à 11h) et l'après-midi (de 15 à 16h) sur le bassin versant à l'exutoire des 4 principaux tributaires identifiés dans le secteur de Marseillan : canal du Midi (en amont de l'écluse du Bagnas), Vieux Port de Marseillan, cours d'eau des Fontanilles et du Soupié.

Des contaminations très élevées sont mises en évidence au niveau du Vieux Port de Marseillan (61 000 *E. coli* / 100 mL à 10h15 et 13 000 *E. coli* / 100 mL à 15h15), où la salinité est de 36 (Figure 38). A proximité du point de prélèvement, un écoulement est identifié au niveau d'une buse, d'un débit estimé à 0.5 L/s. Au regard des résultats des simulations réalisées dans le cadre de l'étude sur l'hétérogénéité des masses d'eau de l'étang de Thau, ce flux n'impacterait pas la qualité microbiologique de l'eau au niveau des tables du secteur conchylicole de Marseillan.

Au niveau des autres tributaires (canal du Midi, cours d'eau des Fontanilles et du Soupié), les niveaux de contamination sont faibles, et se situent entre 38 et 130 *E. coli*/100mL avec un débit nul pour le Soupié, et inférieur à 50 L/s pour les Fontanilles, correspondant à des flux en *E. coli* négligeables en terme d'impact sur les coquillages en élevage.

### b) Sur la lagune

L'après-midi, entre 15h30 et 17h, 12 points de prélèvements d'eau et de coquillages sont échantillonnés en surface dont 1 également en profondeur dans le secteur des parcs conchylicoles de Marseillan.

Les mesures de salinités effectuées au niveau des points de prélèvement dans la lagune se situent entre 37.3 et 37.7 en surface. Localement, au niveau du point C10 (au large de la colonne 29), une dessalure est observée en profondeur où la salinité est de 35.6, non détectée par la sonde haute-fréquence, dont la précision est meilleure (2.2-b)). La température de l'eau dans le secteur de Marseillan prend des valeurs entre 10.3 et 10.6°C.

Lors de l'état initial, les 12 points qui quadrillent le secteur des parcs conchylicoles de Marseillan sont caractérisés par une absence de contamination dans l'eau. Dans les coquillages, les résultats sont également inférieurs au seuil de détection de la méthode pour 9 points. Des niveaux faibles à moyens sont détectés en trois points de la colonne 29, dont 1 en surface et profondeur. La valeur maximale de contamination est enregistrée au point C10 en profondeur, et atteint 710 *E. coli* / 100 g de C.L.I., indiquant la présence d'apports d'origine fécale (Figure 39).

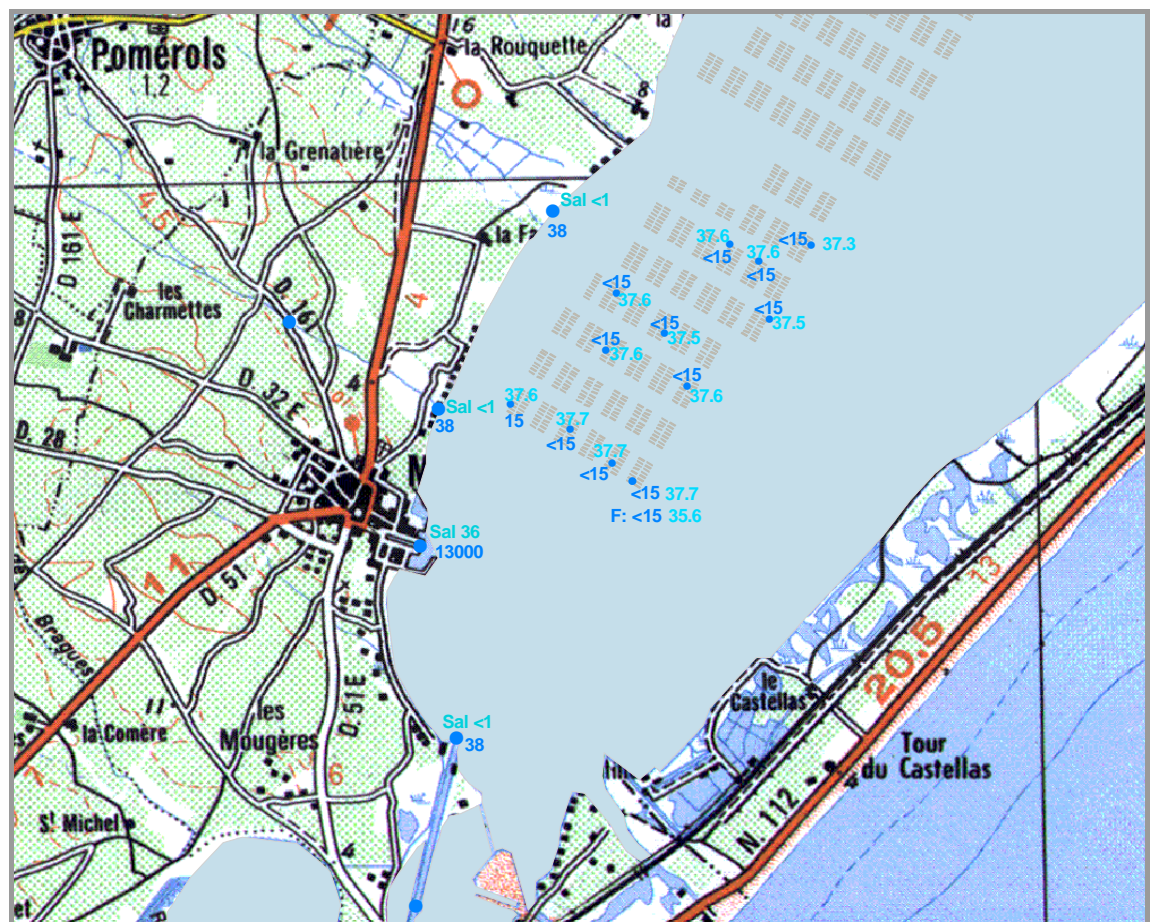


Figure 38. Résultats des analyses microbiologiques (en bleu foncé) réalisées sur les échantillons d'eau prélevés l'après-midi du 27/03/2008 sur le bassin versant dans la lagune dans le secteur de Marseillan et mesures de salinité associées (en bleu ciel).

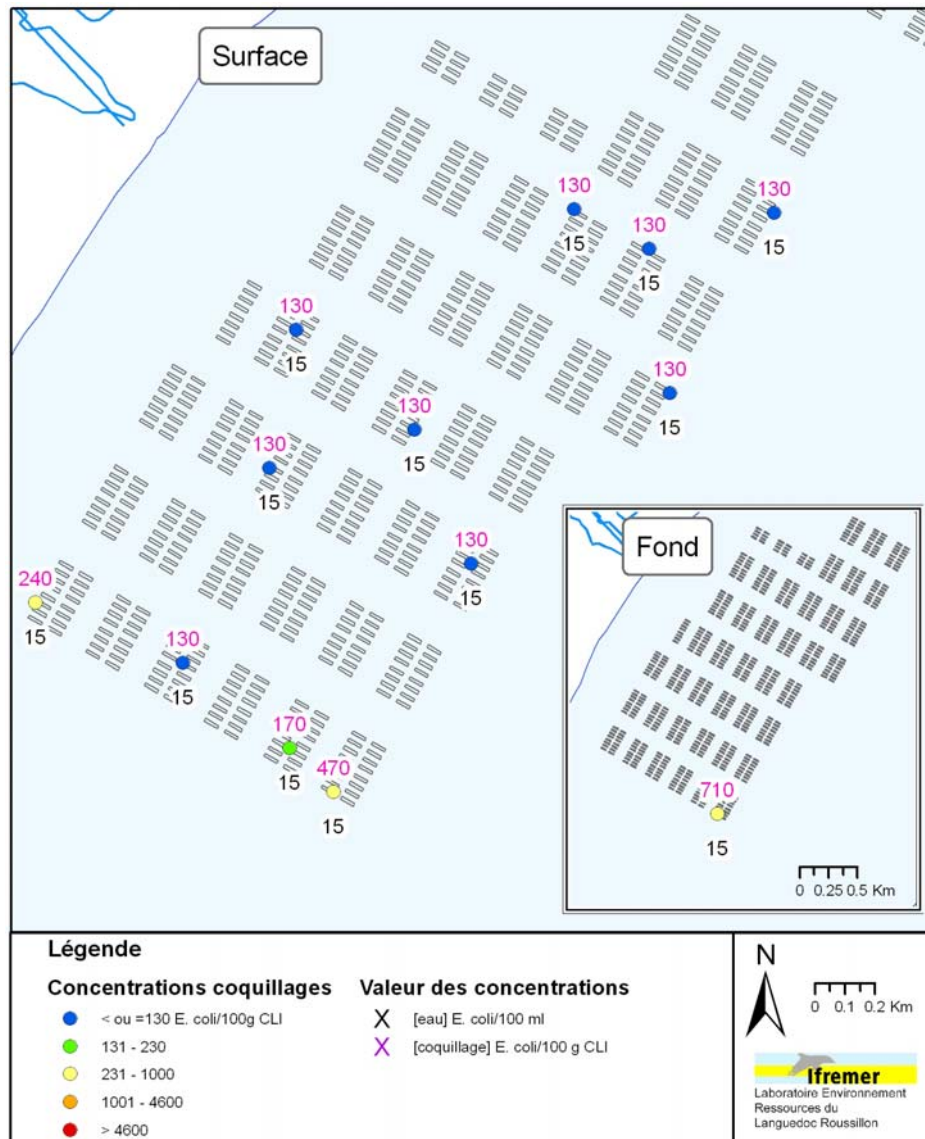


Figure 39. Résultats des analyses microbiologiques réalisées sur les échantillons de coquillages et d'eau prélevés l'après-midi du 27/03/2008 dans le secteur de Marseillan.

La totalité des échantillons de coquillages prélevés le 27/03 a fait l'objet de la recherche de bactériophages F + ARN. Parmi ces 13 échantillons, 8 sont inférieurs à la limite de détection. Pour les 5 autres prélèvements, les concentrations en bactériophages s'étalent de 180 à 6 000 UFP / 100 g de CLI. Des isolats en nombre suffisant (> 20) pour le génotypage, obtenus pour ces 5 prélèvements, montrent la présence quasi-exclusive du génogroupe I (92 à 100 % de GI).

### 2.3. Localisation et dénombrement des oiseaux

Des observations et dénombrements d'oiseaux sont effectués le 27/03/2008 par une équipe Ifremer à bord du Gryphea. L'ensemble du secteur des parcs conchylicoles de Marseillan (colonnes 22 à 29) est sillonné d'ouest en est de 18 à 19h30. Depuis la terre, un agent Ifremer dénombre et observe le comportement des oiseaux localisés sur les colonnes 29 et 28 des parcs conchylicoles de Marseillan, à l'aide d'une longue vue.

Dès 18h, la présence de Goélands et de Mouettes est observée sur certaines tables du secteur de Marseillan. Avec la tombée de la nuit, les regroupements d'oiseaux marins se densifient progressivement. A titre d'exemple, le regroupement de Goélands localisé sur la colonne 29 à terre, composé d'une dizaine d'individus à 18h30, atteint environ 80 individus à 19h30. Sur l'ensemble des tables du secteur de Marseillan, environ 1 050 mouettes et 500 Goélands sont dénombrés dans la soirée du 27/03/08. Les principaux regroupements, composés principalement d'une seule espèce, se concentrent sur la colonne 29, et dans une moindre mesure, sur la colonne 28 et sur les rangs du large des colonnes 22, 23 et 24 (Figure 40). Au large de la colonne 29, le regroupement majeur d'oiseaux observé dans le secteur de Marseillan représente environ 1 000 individus (Figure 16).

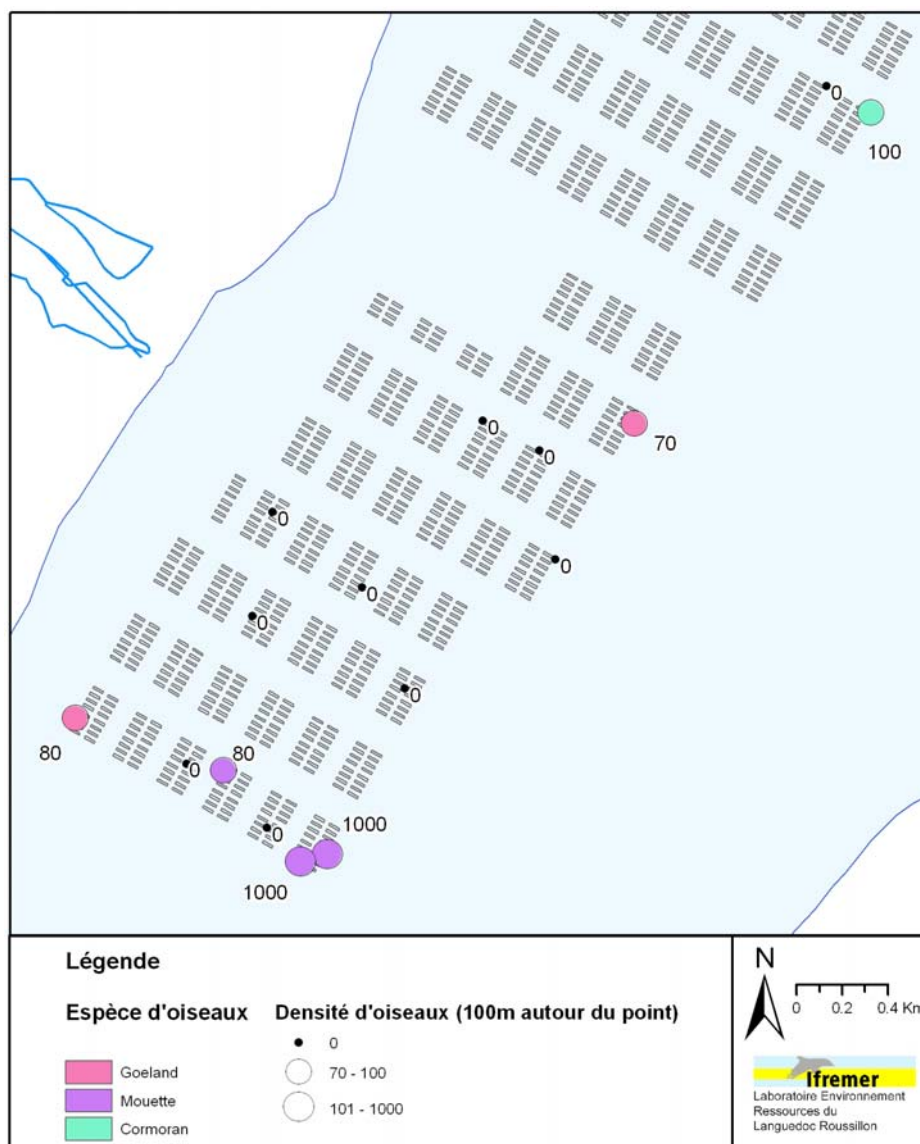


Figure 40. Localisation des regroupements d'oiseaux observés dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvement le soir du 27/03/08 dans le secteur de Marseillan.



Figure 41. Mouettes mélanocéphales observées le soir du 27/03/2008 au niveau de la colonne 29 à Marseillan (photo Ifremer).

Quelques petits regroupements d'oiseaux, de moins de cinq individus, sont également observés de manière éparse dans l'ensemble du secteur. Sur les colonnes 28 et 29, ces regroupements représentent environ une centaine d'oiseaux.

Dans le secteur de Mèze, lors du retour de l'équipe à la station Ifremer de Sète, les repérages complémentaires sont effectués à l'est du secteur conchylicole de Mèze (colonnes 16 à 21). Un regroupement d'une centaine de cormorans est localisé sur les tables du large de la colonne 19.

Le lendemain à 6h30, ces cormorans sont toujours présents sur les tables. En revanche, les Goélands et Mouettes observés la veille sur le secteur de Marseillan ne sont plus présents à 7h00.

## 2.4. Contamination microbiologique

### a) Sur le bassin versant

Le 28/03/2008, les prélèvements effectués le matin au niveau des 4 exutoires échantillonnés la veille et complétés par 2 points plus en amont dans le canal du Midi et sur les Fontanilles, présentent toujours des niveaux faibles de contamination, associés à des débits nuls aux exutoires du Soupié et des Fontanilles. En revanche, la concentration mesurée au niveau du vieux Port de Marseillan est encore élevée (6 100 *E. coli* / 100 mL) (Figure 42).

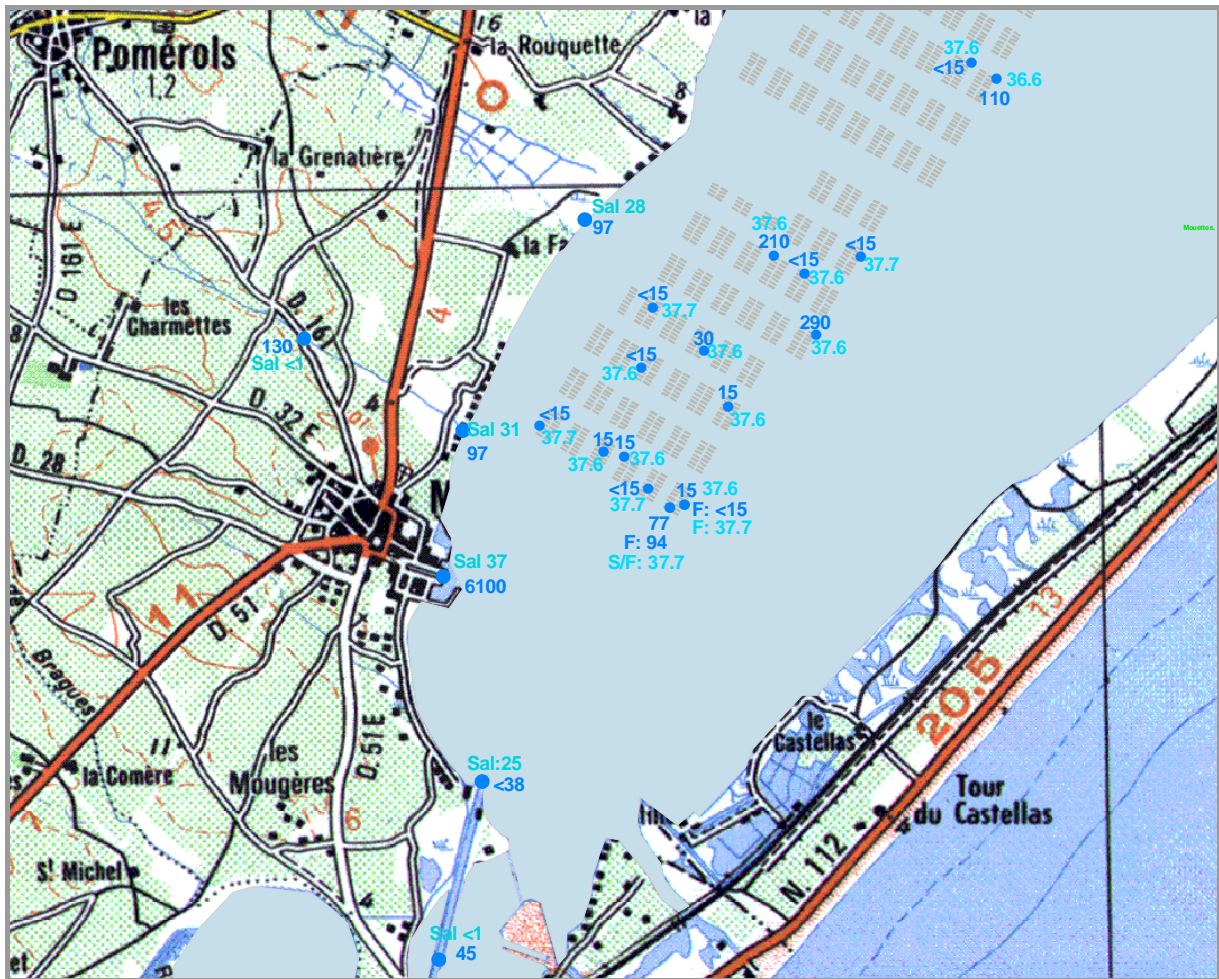


Figure 42. Résultats des analyses microbiologiques réalisées sur les échantillons d'eau prélevés dans la matinée du 28/03/2008 sur le bassin versant et dans la lagune de Thau dans le secteur de Marseillan (en *E. coli* /100 mL) et mesures de salinité associées.

#### b) Sur la lagune

Des prélèvements d'eau et de coquillages sont effectués en surface au niveau de 16 points (dont 2 également au fond) sur la lagune de 6h45 à 9h40.

Les mesures hydrologiques effectuées en surface, et en profondeur pour l'un des points, indiquent une salinité entre 36.6 et 37.7, et une température entre 9.9 et 10.3 °C. Le léger gradient entre la surface et le fond relevé la veille au niveau du point C10 n'est plus observé.

Le 28/03, 10 des 12 échantillons de coquillages prélevés le 28/03 matin sous les tables témoins (pas d'oiseau observé la veille) ne sont pas contaminés. Pour 2 points témoins, situés sur la colonne 29, à proximité de tables dorts observées la veille, les valeurs de contamination atteignent 200 et 770 *E. coli* / 100 g de C.L.I.). Ces deux points présentent la veille des niveaux comparables, respectivement de 210 et 170 *E. coli* / 100 g de C.L.I (Figure 43 et Figure 44).

Les prélèvements de coquillages effectués sous les 4 tables dorts d'oiseaux marins montrent une contamination marquée en surface et en profondeur, les 6 résultats de dénombrement sont compris entre 1 600 et 5 000 *E. coli* / 100 g de C.L.I. Au total, 2 330



oiseaux sont dénombrés le 27/03 au-dessus des tables d'ortoirs au niveau desquelles des prélèvements sont effectués le 28/03.

Parmi les 4 points de prélèvement d'eau échantillonnés sous les tables d'ortoirs d'oiseaux marins, 2 points dont 1 en surface et fond, présentent des niveaux moyens de contamination, dont la valeur maximale est de 110 *E. coli* / 100 mL. Seuls 2 des 14 échantillons témoins présentent des valeurs de contamination de 210 et 290 *E. coli* / 100 mL, associées à l'absence de contamination des coquillages. Ces valeurs de contamination sont difficiles à expliquer en l'absence de source de contamination identifiée à proximité (pas d'oiseaux repérés sur les tables, absence de dessalure, distance à la côte).

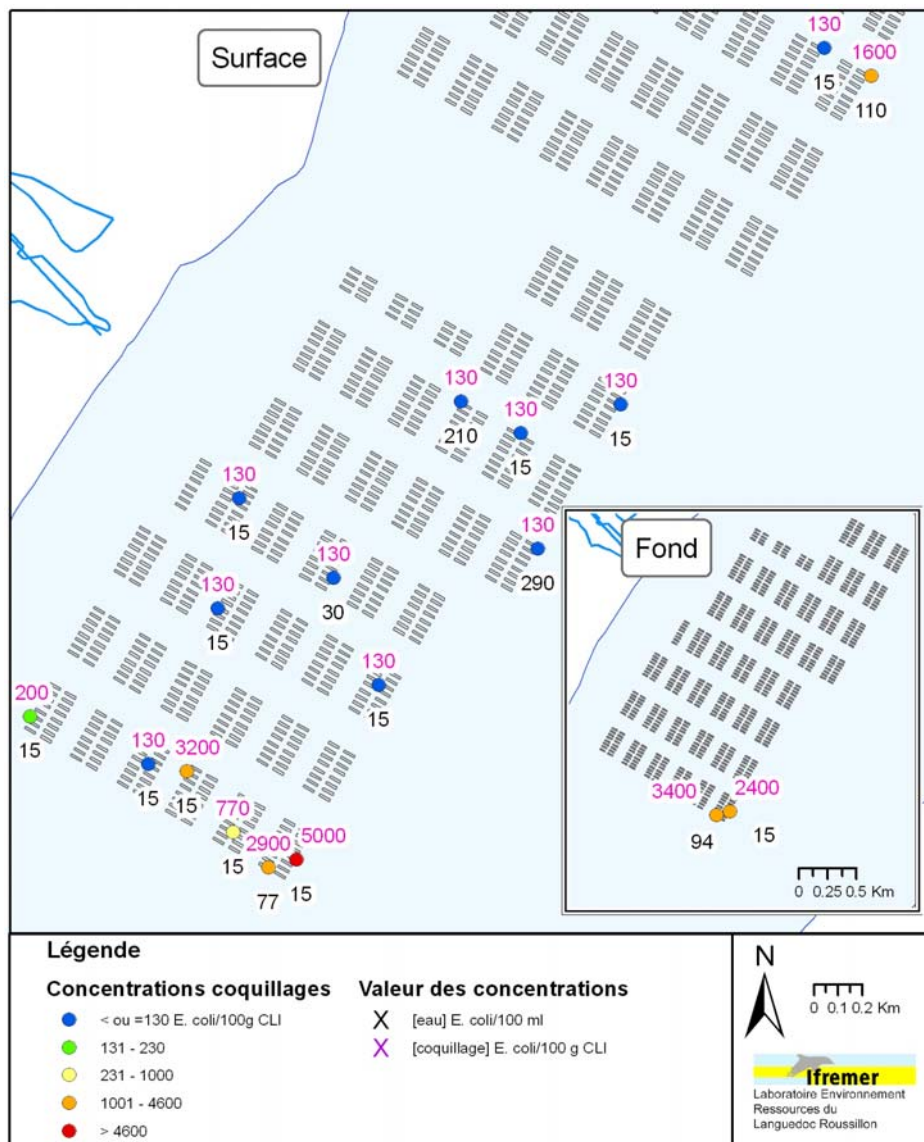


Figure 43. Résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages et dans l'eau prélevés le matin du 28/03/2008.

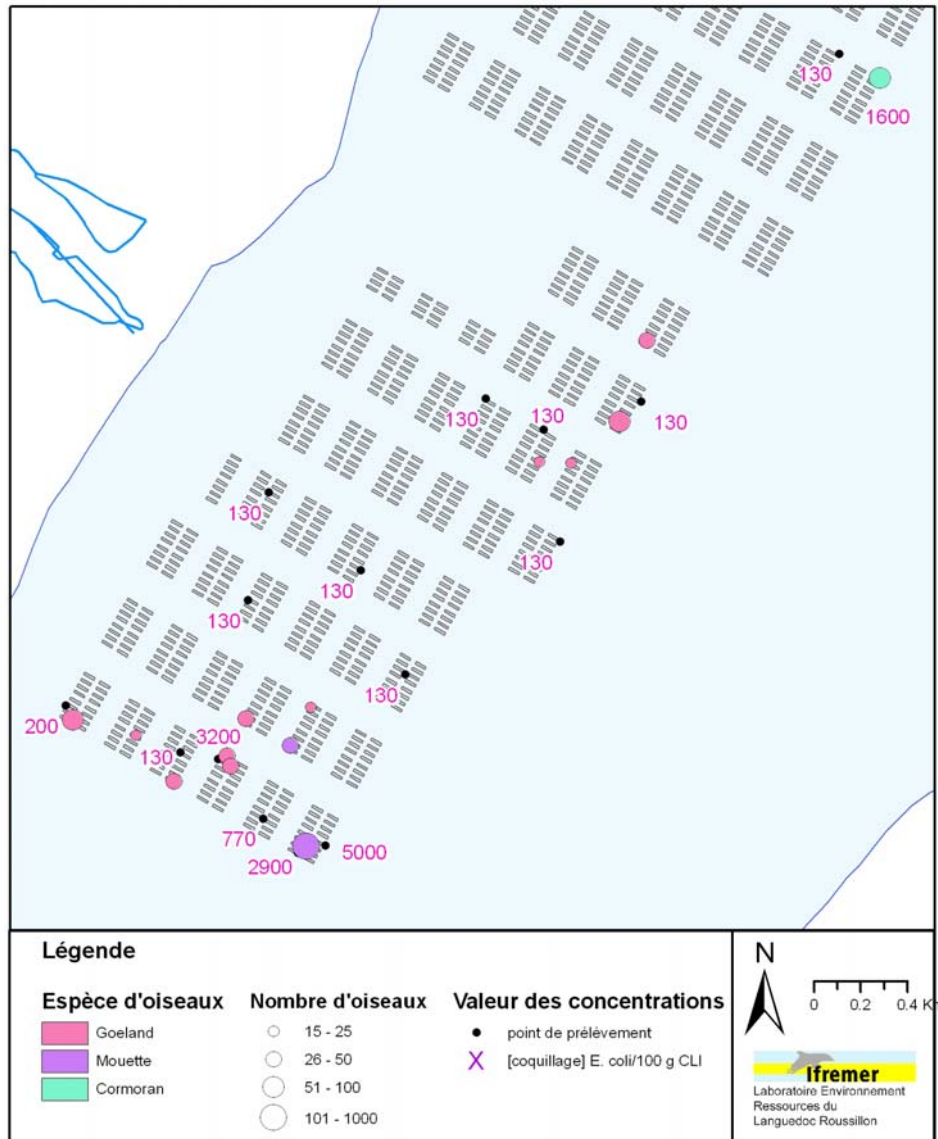


Figure 44. Localisation des regroupements d'oiseaux observés le soir du 27/03/2008 dans le secteur de Marseillan, et résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages prélevés le matin du 28/03/2008.

En ce qui concerne les résultats acquis en appliquant la méthode de recherche de la contamination fécale par génotypage des bactériophages F + ARN spécifiques sur cette campagne du 28 mars 2008, parmi les 18 prélèvements de coquillages analysés, 10 échantillons sont inférieurs à la limite de détection. Pour les 8 autres prélèvements, les concentrations en bactériophages s'étalent de 300 à 28 200 UFP / 100 g de CLI (Figure 45). Des isolats en nombre suffisant (> 20) pour le génotypage, obtenus pour 4 prélèvements, montrent la présence quasi-exclusive du génogroupe I (84 à 100 % de GI).

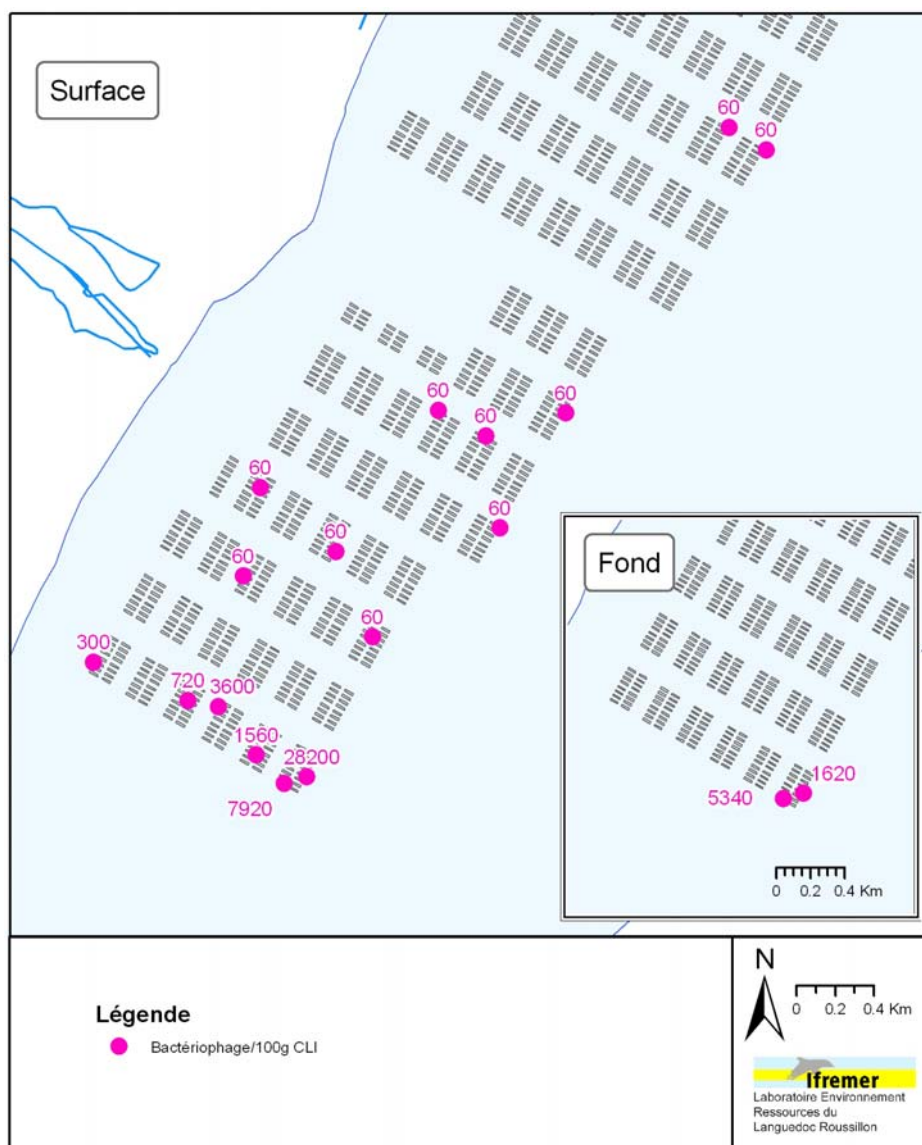


Figure 45. Résultats des dénombrements de bactériophages effectués sur les coquillages prélevés le matin du 28/03/2008.

### 3. Troisième campagne de mesures (secteur de Marseillan - 30 et 31 juillet 2008)

#### 3.1. Conditions météorologiques et hydrologiques

Les données acquises par les pluviographes de Sète, Poussan, Marseillan et Mèze indiquent que les pluies tombées sur le bassin versant de l'étang de Thau sont non significatives pendant les quatre jours précédant la campagne de mesures, sauf à Mèze, où un cumul de 12 mm est enregistré 2 jours avant les prélèvements (Figure 46).

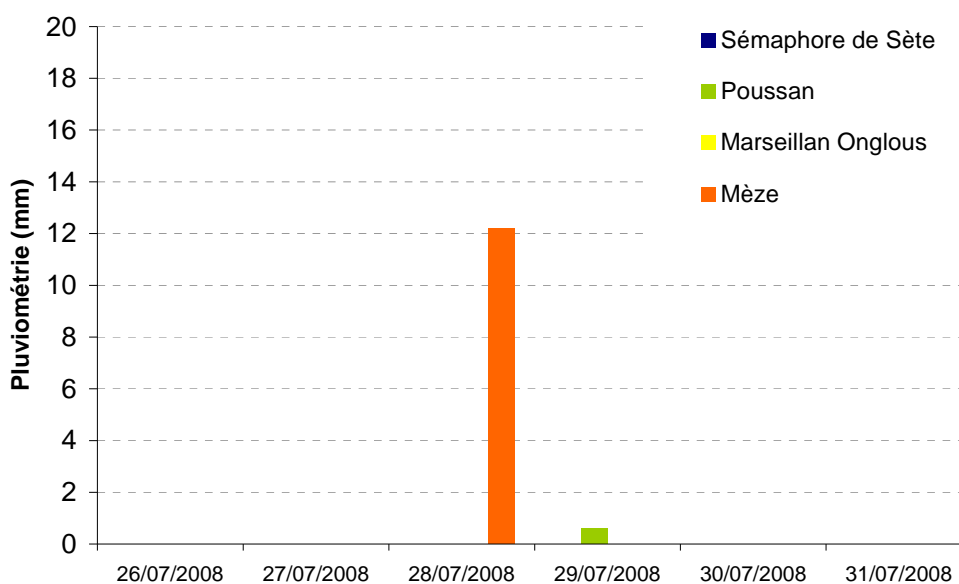


Figure 46. Cumuls pluviométriques (en mm) enregistrés du 27/07/2008 au 31/07/2008 au niveau du sémaphore de Sète (Météo France) et des 3 pluviomètres de BRLi installés au Mas Plagnol, à Poussan et à Mèze.

Les vents mesurés au niveau de la station du CNRM implantée sur une table conchylicole de Marseillan du 30 au 31/07/08 présentent une intensité moyenne de 19.8 km/h et une direction moyenne de 89°N (orientation E) (Figure 47).

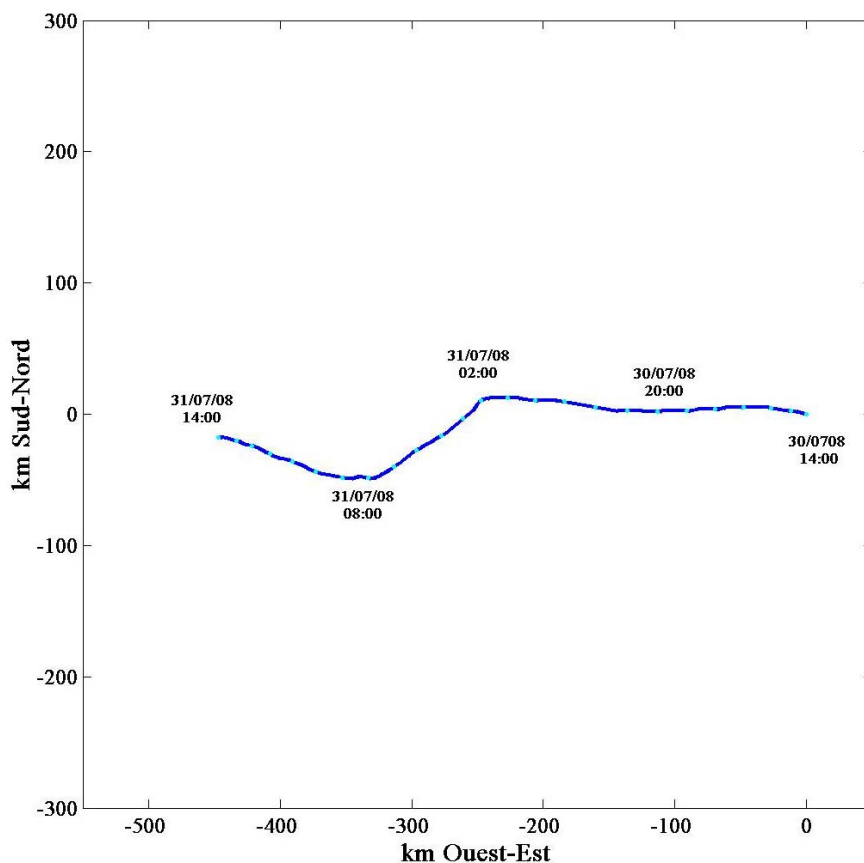


Figure 47. Hodographe du 30/07/2008 à 12h00 au 31/07/2008 à 12h00 des vents mesurés au niveau de la station automatique Campbell du CNRM implantée sur une table conchylicole de Marseillan.

Les volumes d'eau douce enregistrés par les débitmètres aux points de suivi continu du bassin versant au cours de la période du 23 au 31 juillet 2008 sont synthétisés sur la Figure 48. Les volumes faibles indiquent que les apports du bassin versant sont négligeables sur la période du suivi, y compris pour le Pallas, situé à l'Est de Mèze, où 12 mm de pluie sont enregistrés le 28/07/2008.

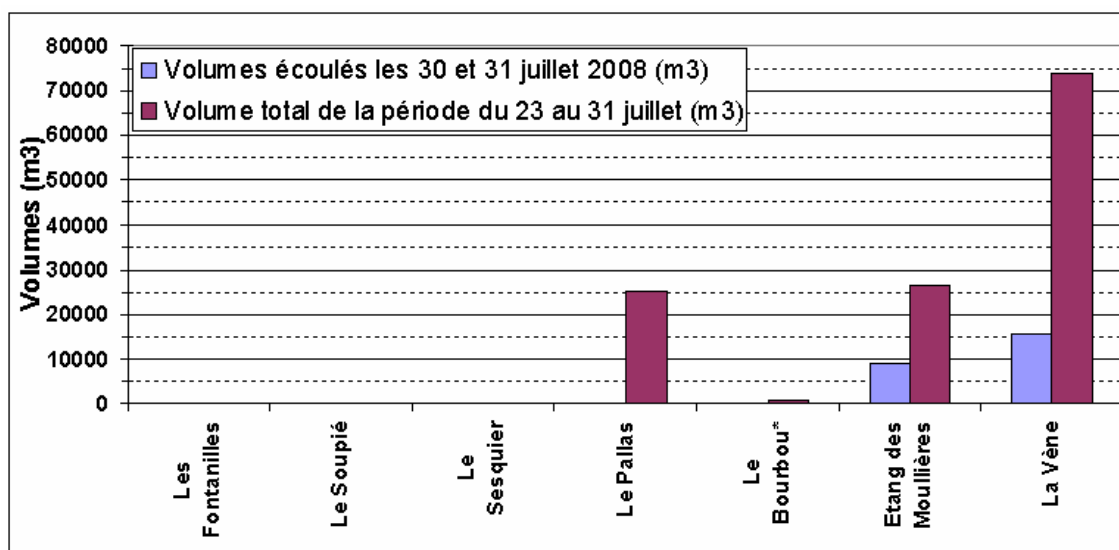


Figure 48. Volumes d'eau douce apportés par les cours d'eau du bassin versant de l'étang de Thau sur la période du 23 au 31 juillet 2008.



La salinité enregistrée en C10 surface du 22/07 au 01/08/08 est représentée sur la Figure 49. Cette figure montre que la salinité oscille autour de 39.4 sur l'ensemble de la période et qu'il n'y a pas de dessalure significative susceptible d'indiquer des apports d'eau douce. Notons que le signal est moins stable à partir 29/07/08. Ceci est dû au fooling, très important pendant la période estivale dans la lagune de Thau. Cependant, les variations restent relativement faibles (moins de 0.5 unité de salinité). Par ailleurs, le profil de salinité au fond n'est pas représenté car la sonde a subi une forte dérive.

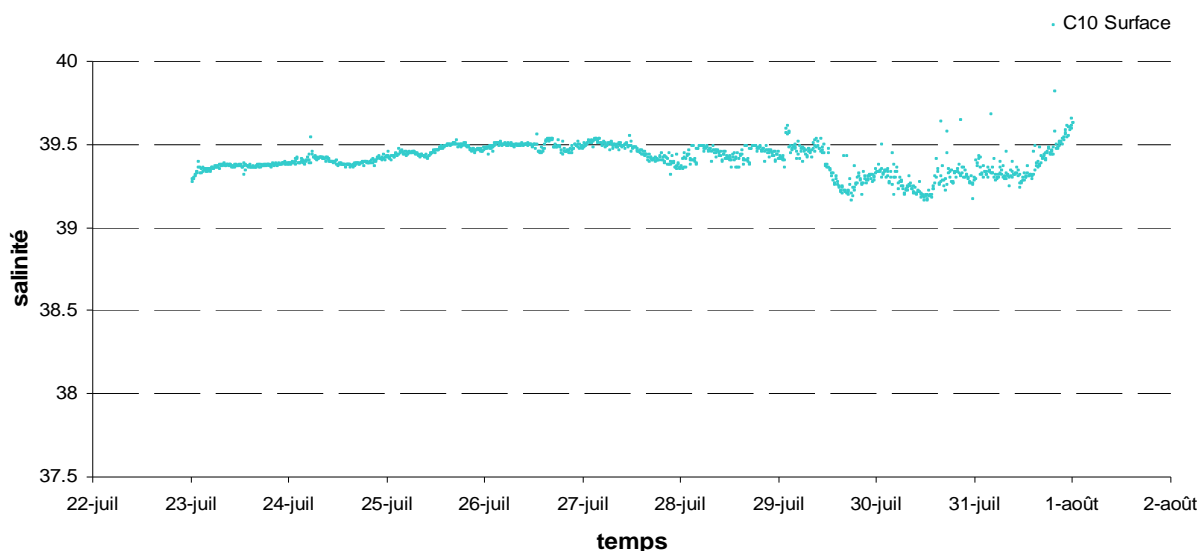


Figure 49. Salinité enregistrée au niveau du point C10, en surface, du 22/07/08 au 02/08/08.

### 3.2. Etat initial

#### a) Sur le bassin versant

Le 30/07/2008, des prélèvements d'eau sont réalisés l'après-midi (de 16h20 à 16h) sur le bassin versant à l'exutoire des 4 principaux tributaires identifiés dans le secteur de Marseillan : canal du Midi (en amont de l'écluse du Bagnas), Vieux Port de Marseillan, cours d'eau des Fontanilles et du Soupié.

Une contamination est mise en évidence au niveau de l'exutoire du Soupié (1 200 *E. coli* / 100 mL), dont le débit est nul pendant la période des suivis (Figure 48). Au niveau des autres tributaires (canal du Midi, cours d'eau des Fontanilles et Port de Marseillan), les niveaux de contamination sont faibles, et se situent entre 30 et 250 *E. coli* / 100 mL, associés à un débit nul pour les Fontanilles (Figure 50).

#### b) Sur la lagune

L'après-midi, entre 16h15 et 17h40, 15 points de prélèvements d'eau et de coquillages sont échantillonnés en surface dont 2 également en profondeur dans le secteur des parcs conchylicoles de Marseillan. Les prélèvements de coquillages sont réalisés dans les pochons installés une semaine auparavant sur le secteur de Marseillan (cf. § 3.1.2).

Les salinités mesurées au niveau des points de prélèvement dans la lagune se situent entre 38.7 et 39.6 en surface. La température de l'eau dans le secteur de Marseillan prend des

valeurs entre 26.1 et 27.6°C. On ne note pas de stratification haline ou thermique sur la hauteur de la colonne d'eau.

Les coquillages et l'eau prélevés dans le secteur des parcs conchylicoles de Marseillan sont caractérisés par des concentrations en *E. coli* inférieures au seuil de détection des méthodes, indiquant une bonne qualité microbologique du milieu à l'état initial (Figure 50).

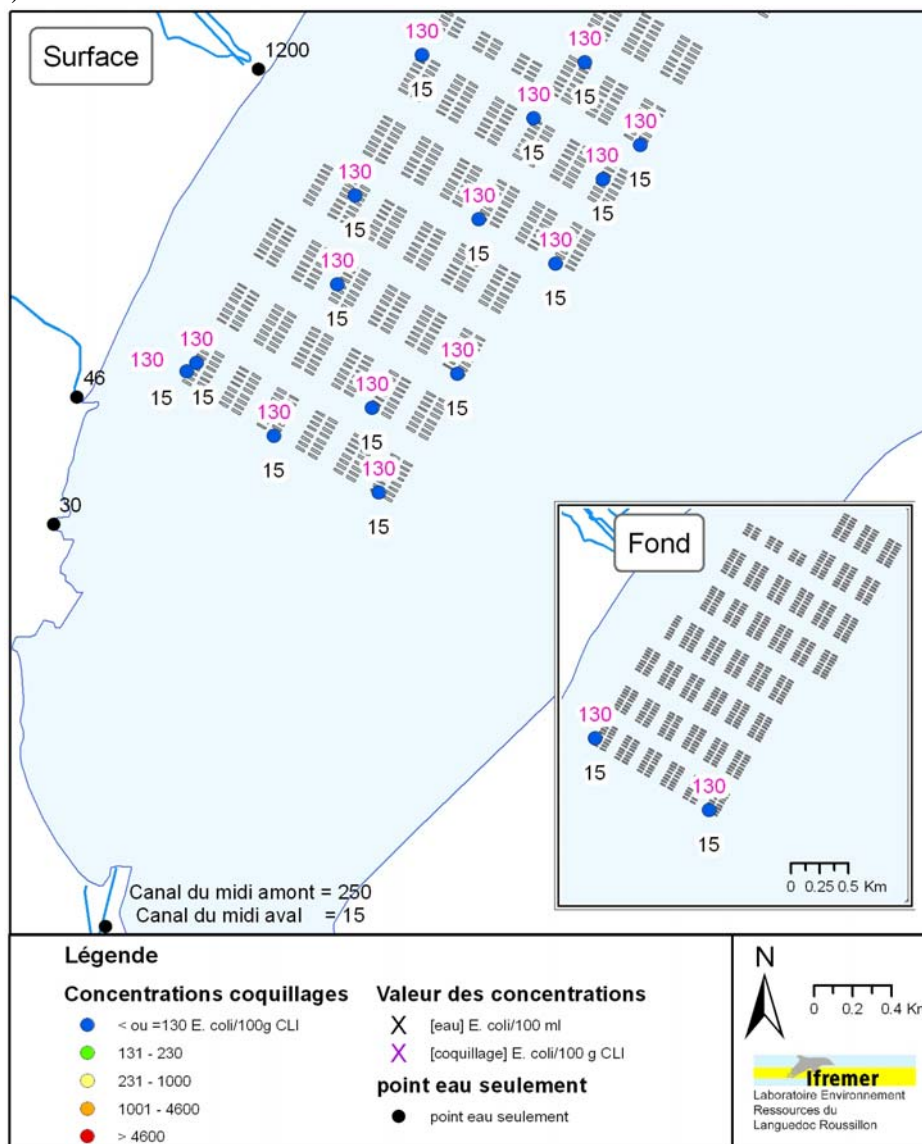


Figure 50. Résultats des analyses microbiologiques réalisées sur les échantillons de coquillages et d'eau prélevés l'après-midi du 30/07/08 sur le bassin versant et dans la lagune de Thau dans le secteur de Marseillan.

### 3.3. Localisation et dénombrement des oiseaux

Des observations et dénombrements d'oiseaux sont effectués le 30/07/2008 par deux équipes Ifremer/CEN-LR à bord du Gyphea et du Chlamys. L'ensemble des tables conchylicoles de Marseillan est sillonné une première fois de 20h à 21h45, le Chlamys parcourant les colonnes 29 à 26 et le Gyphea les colonnes 22 à 26. Un deuxième passage est effectué par les équipes à partir de 21h45.

L'équipe du Gryphéa réalise une observation exhaustive des tables lors de son premier passage et revient ensuite sur les 15 points échantillonnés lors de l'état initial. La présence de Goélands est relevée sur l'ensemble du secteur, les oiseaux se répartissant sur les tables de façon isolée ou par groupes de 10 à 50 individus. L'équipe ne remarque pas d'arrivée massive d'oiseaux entre les deux périodes d'observation, seuls quelques individus (maximum 15 oiseaux en colonne 24, 12<sup>ème</sup> ligne) se rajoutant aux groupes déjà installés (Figure 51).

Lors de sa première période d'observation, l'équipe du Chlamys note la présence de Goélands, de Sternes et de Mouettes (mélanocephales et rieuses). A partir de 21h40, une arrivée importante de Sternes et de Mouettes (première vague de 130 oiseaux, puis de 750 oiseaux en 4 vagues) est observée. Ces oiseaux volent au ras de l'eau et semblent provenir du Bagnas. Ils se posent sur la colonne 29 et forment des groupes de 50 à 500 individus par table (Figure 51).

Le lendemain matin à 6h (31/07/2008), l'équipe en charge des prélèvements observe la présence d'oiseaux non présents la veille sur des tables de la colonne 29.

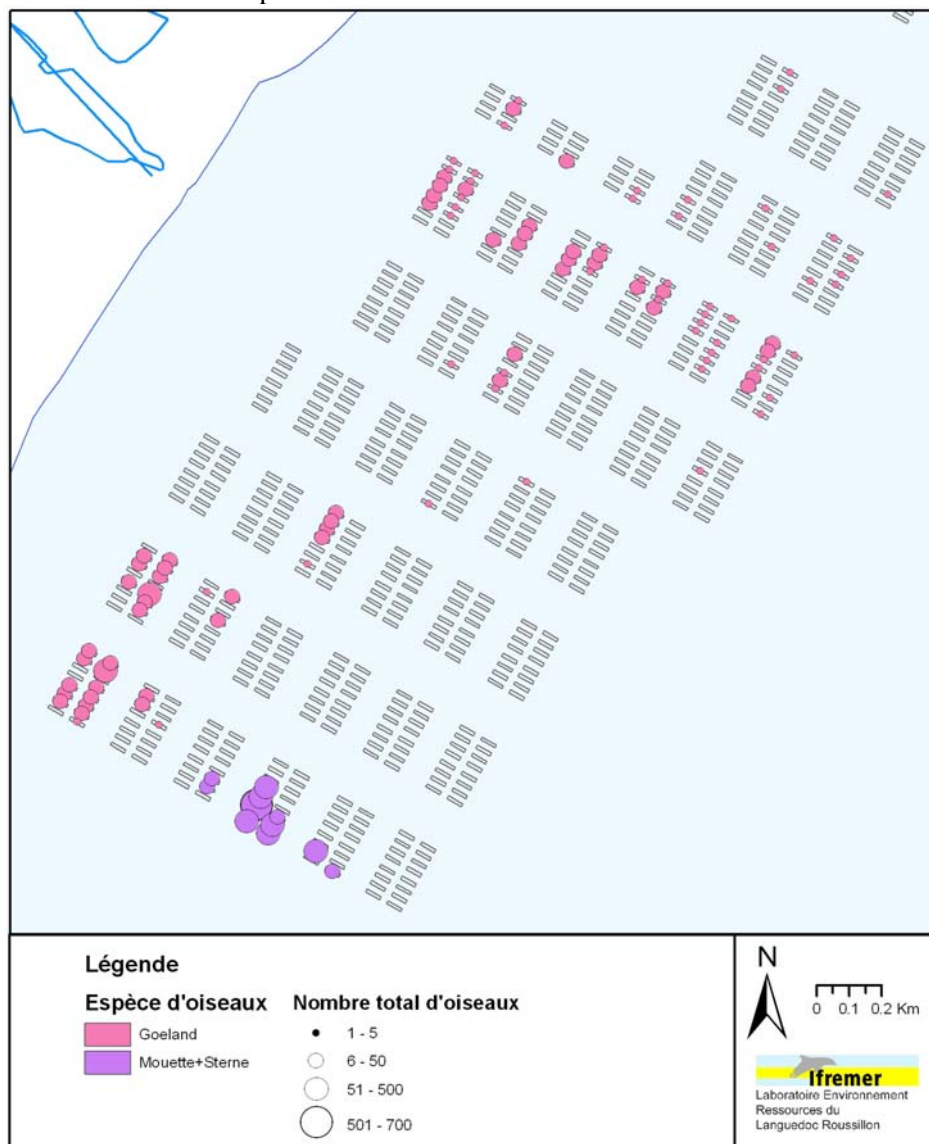


Figure 51. Localisation des regroupements d'oiseaux observés au niveau des tables du secteur de Marseillan le soir du 30/07/2008.



### 3.4. Contamination microbiologique

Des prélèvements d'eau et de coquillages sont effectués en surface au niveau de 25 points (dont 4 également au fond) sur la lagune de 6h15 à 9h15.

Parmi les 15 points échantillonnés lors de l'état initial du 30/07, 6 sont caractérisés par la présence d'oiseaux sur les tables situées dans un périmètre de 100 m autour des points, et 4 par la présence de plus de 30 individus (Figure 52). Ce constat conduit à ne prélever que 13 de ces points et à positionner 10 points de prélèvements complémentaires en fonction des observations du 30/07/2008, afin d'équilibrer le plan d'échantillonnage (tables témoins vs tables dortoirs). Au total, 6 594 oiseaux sont dénombrés le 30/07 au-dessus des tables dortoirs au niveau desquelles des prélèvements sont effectués le 31/07.

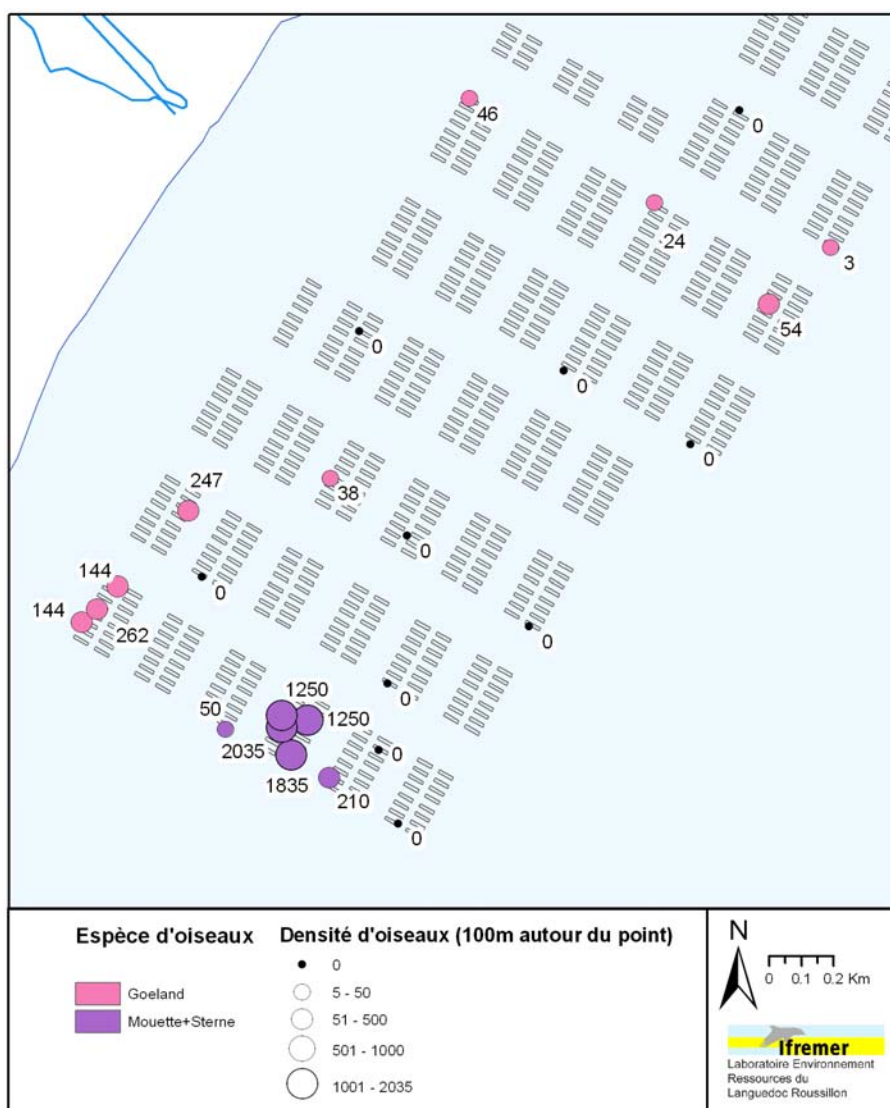


Figure 52. Localisation des points de prélèvements du 31/07/2008 et résultats des comptages d'oiseaux effectués dans un rayon de 100 m autour des points le soir du 30/07/2008 dans le secteur de Marseillan.

Les mesures hydrologiques effectuées au niveau des 23 points de la lagune en surface, et en profondeur pour 4 des points, indiquent une salinité entre 40.4 et 40.6, et une température entre 26.0 et 26.5°C.

Les niveaux de contamination des coquillages sont élevés pour plusieurs points de prélèvements, avec :

- le dépassement du seuil de mise en alerte de la zone classée B (4 600 *E. coli* / 100 g de C.L.I.) en surface, ainsi qu'en profondeur pour un point situé sur la colonne 29,
- 6 dépassements du seuil de 1 000 *E. coli* / 100 g de C.L.I. (Figure 53 et Figure 54).

Pour la plupart de ces points, les concentrations en *E. coli* dans l'eau sont supérieures au seuil de détection de la méthode, 5 des échantillons présentant une contamination élevée (~ ou > 100 *E. coli* / 100 mL).

Les points caractérisés par un niveau de contamination élevé dans les coquillages sont localisés au niveau de tables dorts (présence d'oiseaux observée le soir du 30/07), sauf pour 3 points pour lesquels les concentrations en *E. coli* vont de 260 à 1 700 / 100 g de C.L.I. dans les coquillages et de 30 à 140 / 100 mL dans l'eau. Ces niveaux sont difficiles à expliquer pour ces tables témoins (pas d'oiseaux repérés sur les tables à moins de 200 m) et en l'absence de source de contamination identifiée à proximité du secteur conchylicole (absence de dessalure, état initial correct).

De même, les prélèvements effectués au droit des tables dorts ne sont pas systématiquement associés à des contaminations microbiologiques. C'est le cas pour 3 points de prélèvements, au niveau desquels moins de 55 oiseaux sont dénombrés la veille dans un rayon de 100 m, et qui présentent des concentrations inférieures à 130 *E. coli* / 100 g de C.L.I.

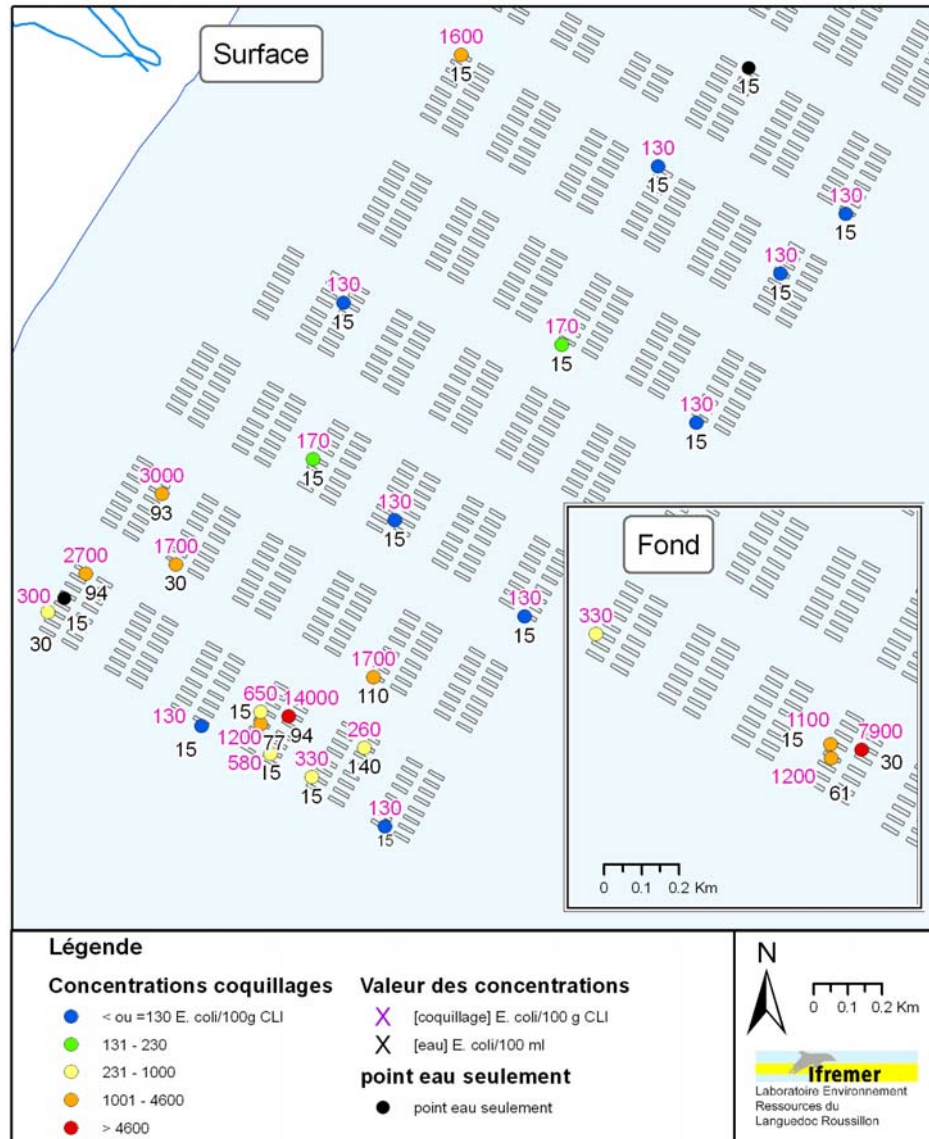


Figure 53. Résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages et dans l'eau prélevés le matin du 31/07/2008.

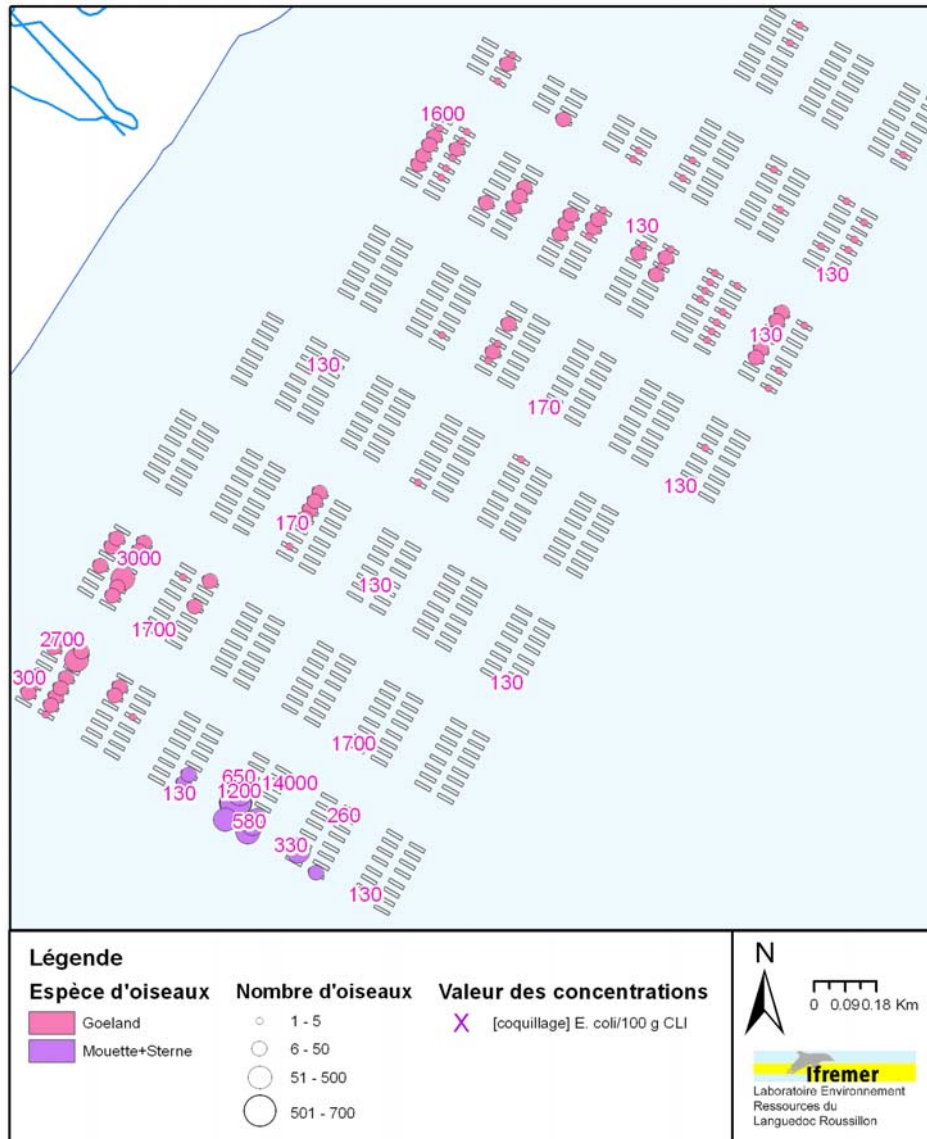


Figure 54. Localisation des regroupements d'oiseaux observés le soir du 30/07/2008 dans le secteur de Marseillan, et résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages prélevés le matin du 31/07/08.

## 4. Quatrième campagne de mesures (secteur de Bouzigues - 26 et 27 août 2008)

### 4.1. Conditions météorologiques et hydrologiques

Pour la période du 24 au 29 août 2008, les pluviographes de Sète, Poussan, Marseillan et Mèze indiquent des cumuls pluviométriques nuls.

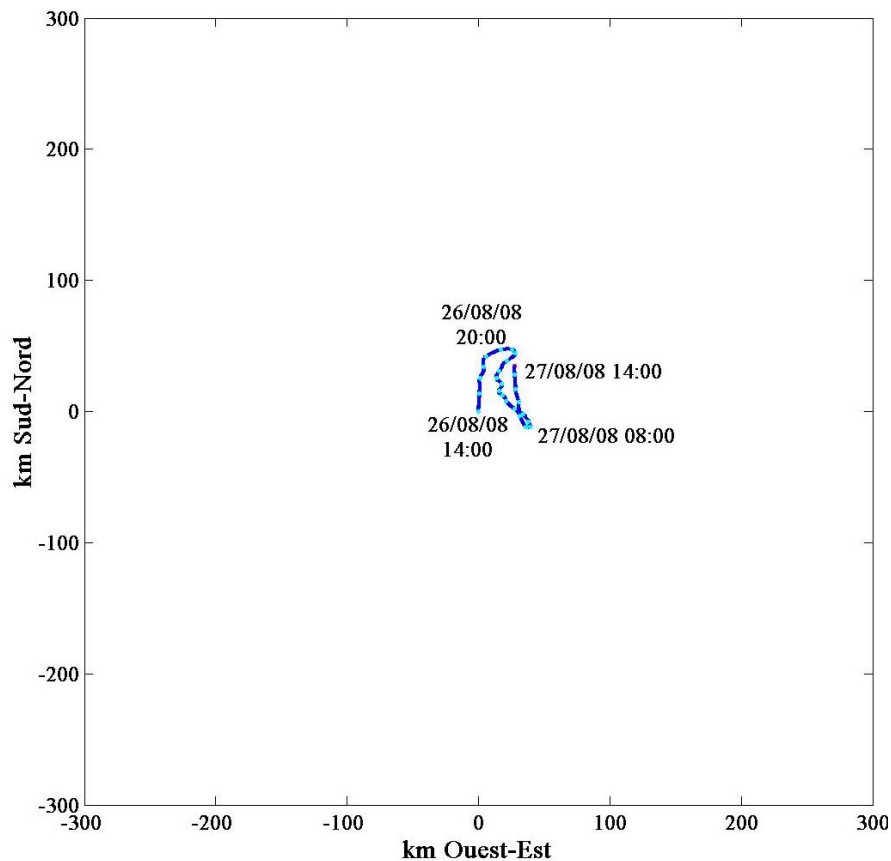


Figure 55. Hodographe du 26/08/2008 à 14h00 au 27/08/2008 à 14h00 des vents mesurés au niveau de la station automatique Campbell du CNRM implantée sur une table conchylicole de Marseillan.

Les volumes d'eau douce enregistrés par les débitmètres aux points de suivi continu du bassin versant au cours de la période du 20 au 27 août 2008 sont synthétisés sur la Figure 56. Les volumes faibles indiquent que les apports du bassin versant sont négligeables sur la période du suivi.

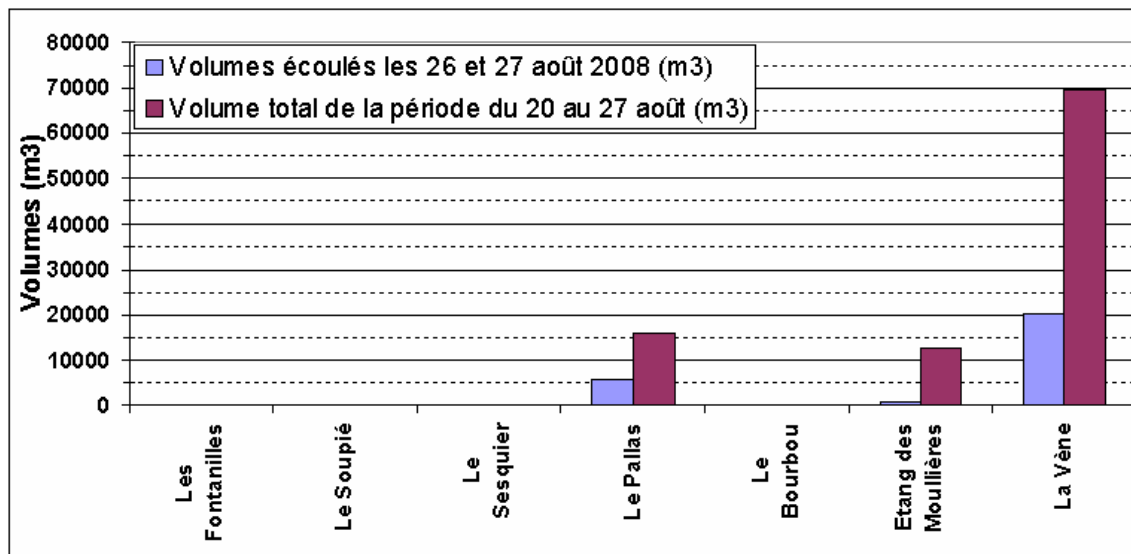


Figure 56. Volumes d'eau douce apportés par les cours d'eau du bassin versant de l'étang de Thau sur la période du 20 au 27 août 2008.

En raison d'un fouling très important, les données de salinité acquises pendant et antérieurement à la période des suivis ne sont pas représentées. Cependant, les données validées n'indiquent pas de dessalure significative. De plus, les débits des principaux exutoires du bassin versant présentés sur la Figure 56 montrent qu'il n'y a pas eu d'apports majeurs d'eau douce durant la période d'observation et de prélèvement.

## 4.2. Etat initial

### a) Sur le bassin versant

Le 26/08/2008, des prélèvements d'eau sont réalisés l'après-midi de 15h25 et 16h35 sur le bassin versant à l'exutoire des 4 principaux tributaires identifiés dans le secteur de Bouzigues : Sesquier, Pallas, Vène, port de Mèze et zone humide (Mouillères).

Les cours d'eau du Pallas, du Sesquier et de la Vène sont caractérisés par des niveaux de contamination microbiologique élevés, supérieurs à 800 *E. coli* / 100 mL (Figure 57), associés à des débits très faibles à nuls, correspondant à des flux négligeables. Les concentrations mesurées au niveau du Port de Mèze et de la zone humide indiquent l'absence de contamination microbiologique. Cependant, ces deux mesures sont biaisées par le mélange avec l'eau salée de l'étang (salinité > 26).

### b) Sur la lagune

L'après-midi, entre 15h20 et 16h35, 11 points de prélèvements d'eau et de coquillages sont échantillonnés en surface dont 3 également en profondeur dans le secteur des parcs conchylicoles de Bouzigues. Les prélèvements de coquillages sont réalisés dans les pochons installés une semaine auparavant sur le secteur de Bouzigues (cf. § 3.1.2).

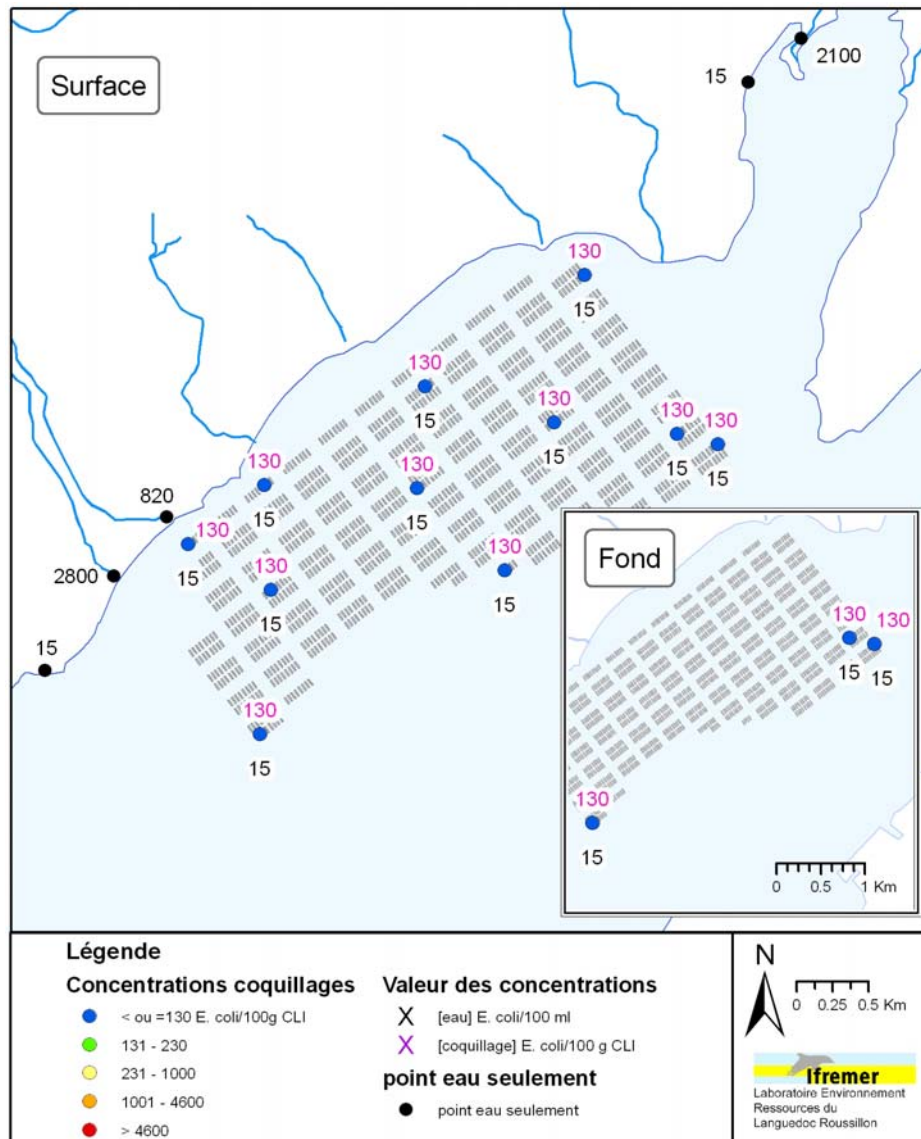


Figure 57. Résultats des analyses microbiologiques réalisées sur les échantillons de coquillages et d'eau prélevés l'après-midi du 26/08/08 sur le bassin versant et dans la lagune de Thau dans le secteur de Bouzigues.

Les mesures de salinités effectuées au niveau des points de prélèvement dans la lagune se situent entre 39.3 et 40 en surface. La température de l'eau dans le secteur de Bouzigues prend des valeurs entre 22.5 et 23.6°C. On ne note pas de gradient de salinité ou de température sur la colonne d'eau.

Les coquillages et l'eau prélevés dans le secteur des parcs conchylicoles de Bouzigues sont caractérisés par des concentrations en *E. coli* inférieures aux seuils de détection des méthodes, indiquant une bonne qualité microbiologique du milieu à l'état initial (Figure 57).

### 4.3. Localisation et dénombrement des oiseaux

Des observations et dénombrements d'oiseaux sont effectués le 26/08/2008 par deux équipes Ifremer/SMBT à bord du Gryphea et du Chlamys. Les tables conchylicoles de Bouzigues sont sillonnées de 19h30 à 21h15, le Gryphéa parcourant les colonnes 1 à 6 et

le Chlamys les colonnes 7 à 12. La tombée de la nuit n'a pas permis d'effectuer les observations sur les rangs 1 à 4 de la colonne 7.

Quelques grands regroupements de mouettes sont identifiés vers 20h40 sur la 1<sup>ère</sup> colonne du secteur (à l'est). Les deux équipes observent la répartition de petits groupes de Goélands (au maximum 30 individus par table) sur l'ensemble du secteur conchylicole (Figure 58).

Le lendemain matin à 6h30 (27/08/2008), l'équipe en charge des prélèvements observe la présence de Sternes et de Mouettes en grande quantité au niveau de la première colonne du secteur (3 premières lignes en partant du large), là où les Mouettes ont été identifiées la veille.

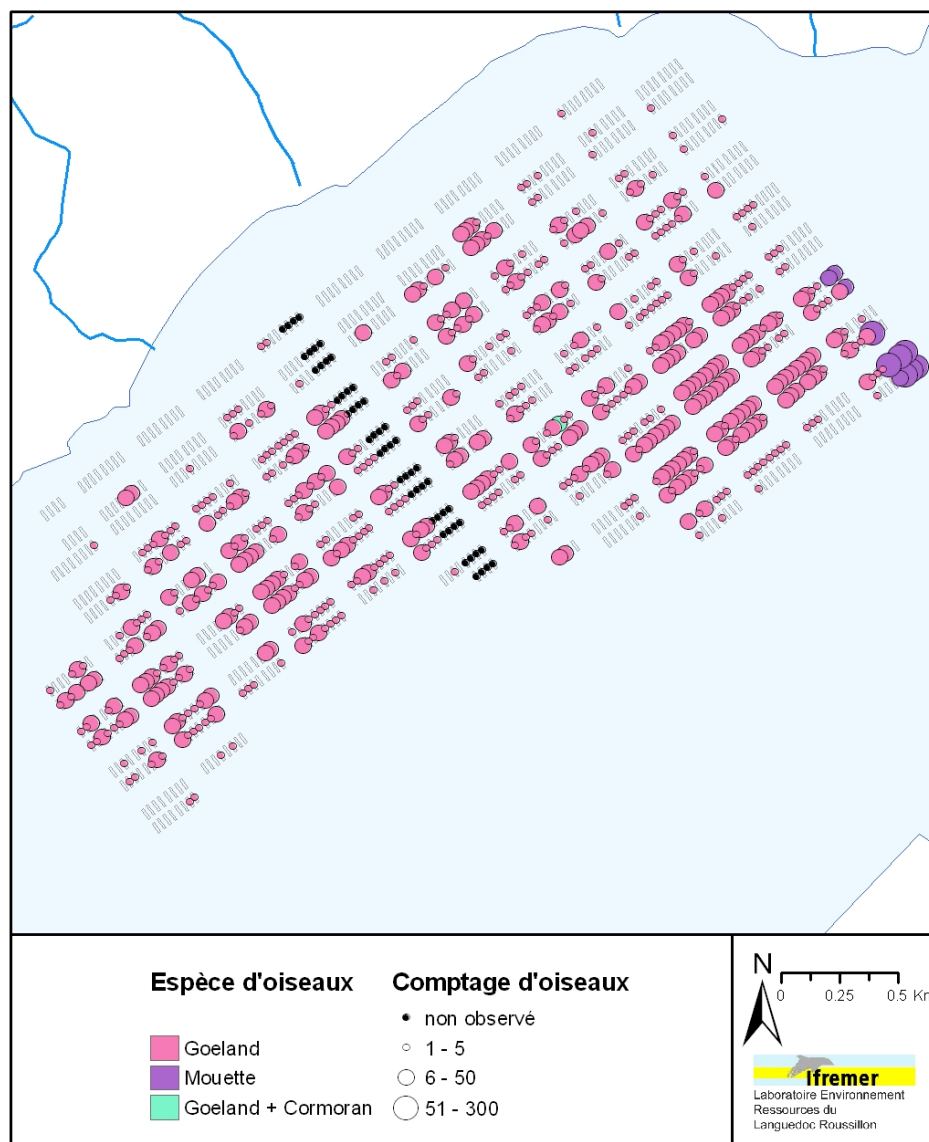


Figure 58. Localisation des regroupements d'oiseaux observés au niveau des tables du secteur de Marseillan le soir du 26/08/2008.





#### 4.4. Contamination microbiologique

Des prélèvements d'eau et de coquillages sont effectués en surface au niveau de 16 points (dont 6 également au fond) sur la lagune de 6h45 à 9h15.

Parmi les 11 points échantillonnés lors de l'état initial du 26/08, 7 sont caractérisés par la présence d'oiseaux sur les tables situées dans un périmètre de 100 m autour des points, et seulement 4 par la présence de plus de 30 individus (Figure 59). En plus de ces 11 points, 5 points de prélèvement sont positionnés au niveau des tables dortoirs identifiées la veille, afin d'équilibrer le plan d'échantillonnage (tables témoins vs tables dortoirs). Au total, 2 865 oiseaux sont dénombrés le 26/08 au-dessus des tables dortoirs au niveau desquelles des prélèvements sont effectués le 27/08.

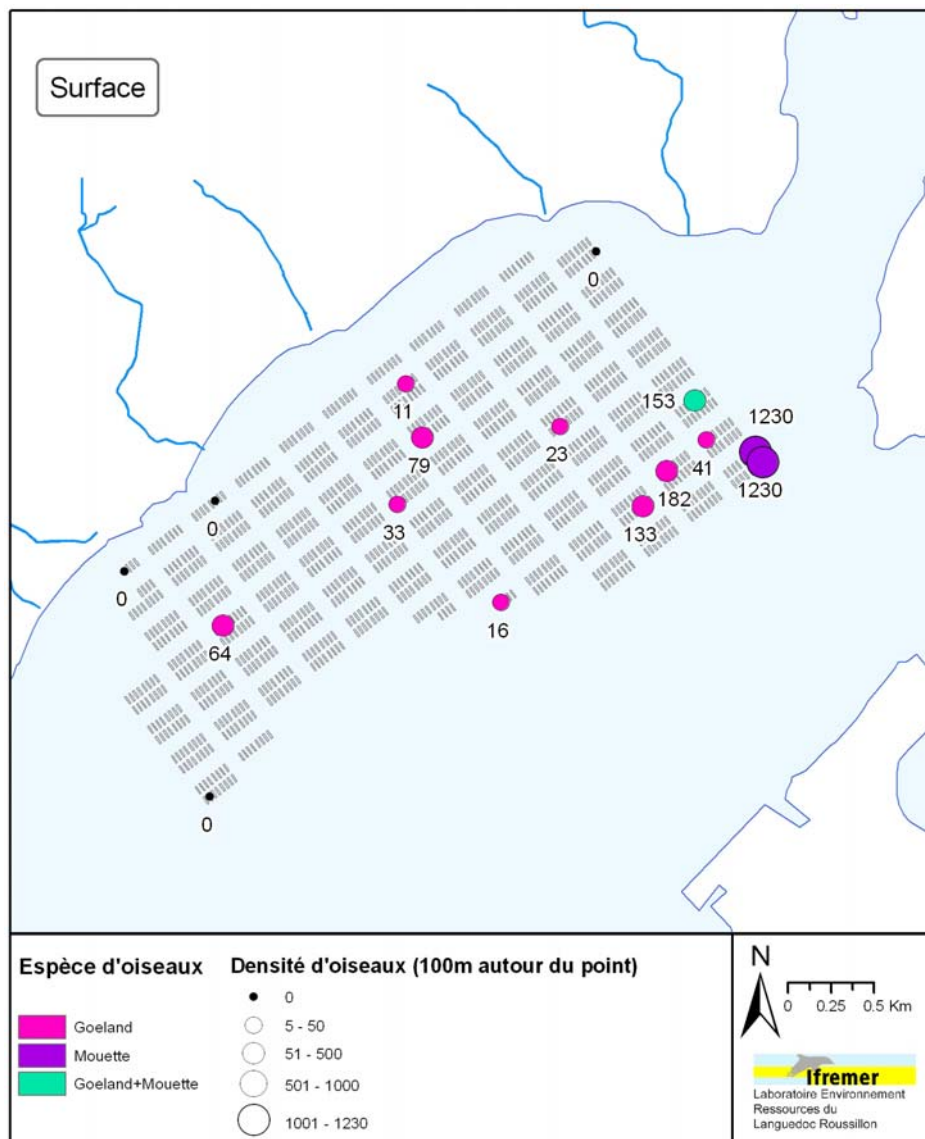


Figure 59. Localisation des points de prélèvements du 27/08/2008 et résultats des comptages d'oiseaux effectués dans un rayon de 100 m autour des points le soir du 26/08/2008 dans le secteur de Bouzigues.

Les mesures hydrologiques effectuées au niveau des 16 points de la lagune en surface, et en profondeur pour 6 des points, indiquent une salinité entre 39.6 et 40.4, et une

température entre 22.4 et 22.3 °C. Au fond, les valeurs se situent dans la même gamme, indiquant l'absence de stratification de la colonne d'eau.

Pour la plupart des points suivis, les niveaux de contamination des coquillages relevés en surface et au fond sont inférieurs au seuil de détection de la méthode et donc identiques à ceux mesurés la veille. Pour les autres points, la contamination est non significative (< 300 *E. coli* / 100 g CLI).

Dans l'eau, les concentrations ne sont significativement plus élevées que celles mesurées lors de l'état initial que pour 2 points en profondeur (concentrations de 77 et 94 *E. coli* / 100 mL), prélevés au niveau des tables de la première colonne du secteur, sur lesquelles les groupes d'oiseaux les plus importants sont identifiés le 26/08 (*resp.* 1 200 et 930 individus dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvement) (Figure 60 et Figure 61).

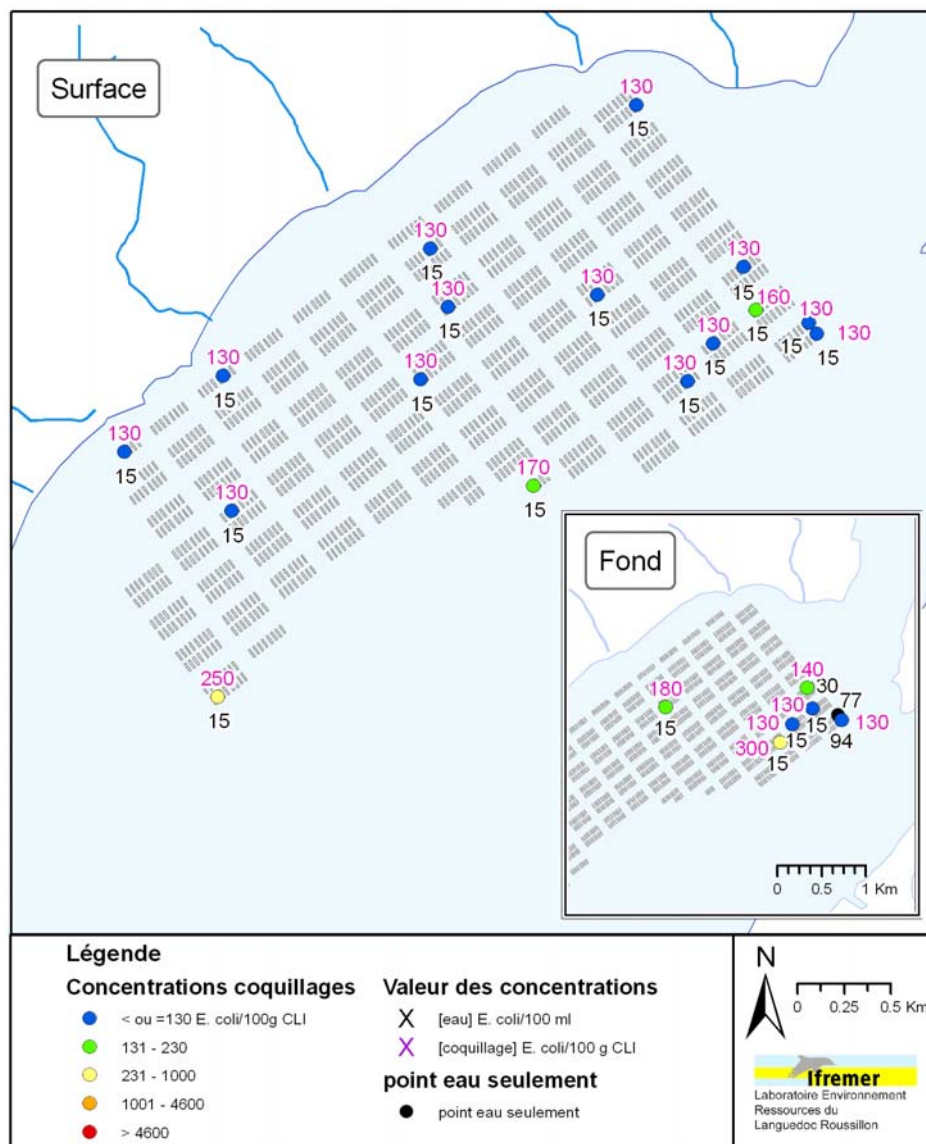


Figure 60. Résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages et dans l'eau prélevés le matin du 27/08/2008.

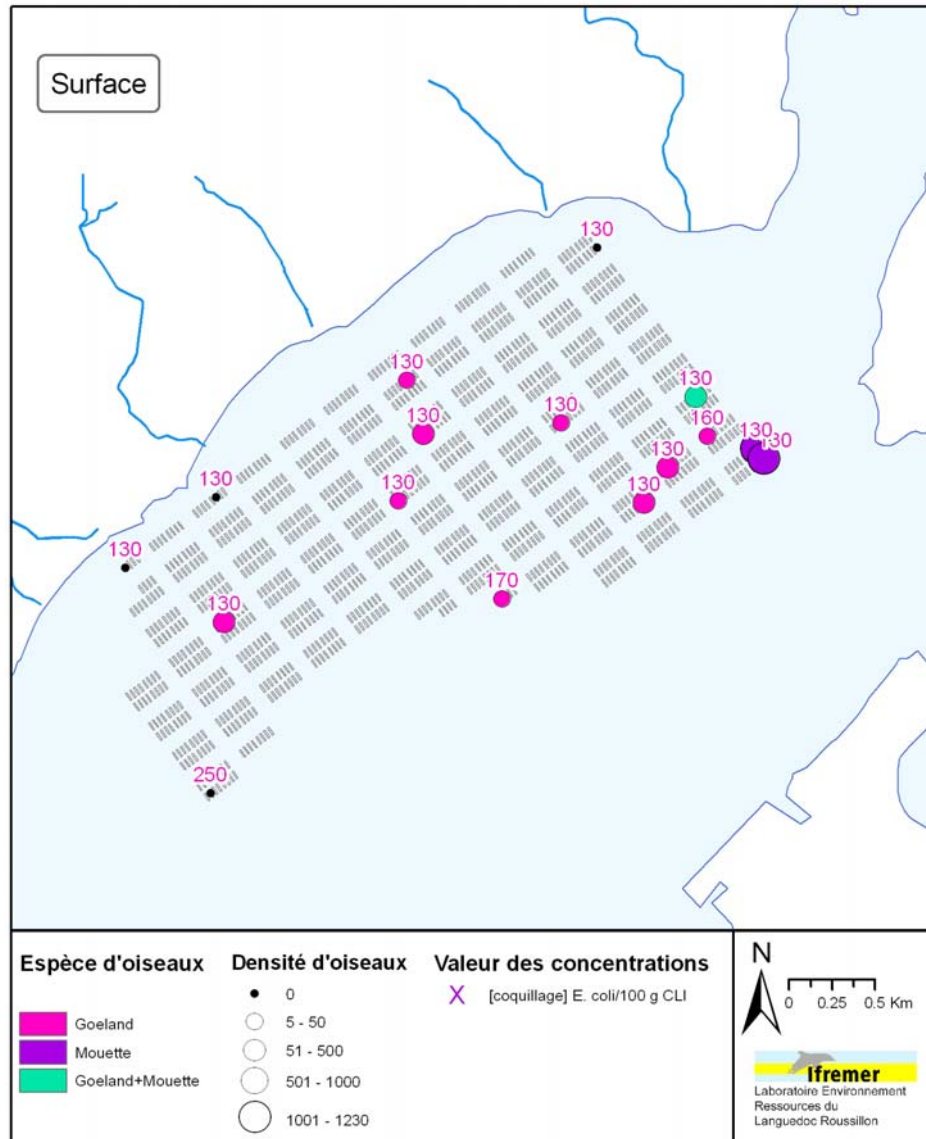


Figure 61. Nombre d'oiseaux observés le soir du 26/08/2008 dans le secteur de Bouzigues dans un rayon de 100 m autour des points de prélèvements, et résultats des dénombrements de *E. coli* dans les coquillages prélevés le matin du 27/08/08.

L'absence de contamination marquée des coquillages prélevés le 27/08 au niveau des tables dortoirs est difficile à expliquer. Les conditions météorologiques et hydrologiques (vent faible engendrant un faible brassage de la colonne d'eau) peuvent avoir engendré le faible mélange et la faible dispersion des bactéries issues des excréments aviaires. D'autres facteurs sont à explorer pour mieux expliquer ces résultats (fuite des petits groupes de Goélands à cause du feu d'artifice tiré à Sète le soir des observations, déplacements des oiseaux, nombre d'oiseaux trop faible pour engendrer un apport suffisant pour contaminer les coquillages, ... ?).

Il est à noter tout de même que des contaminations importantes ont été relevées début août dans les coquillages au niveau de 2 points dans le cadre des prélèvements mensuels du réseau REMI, en l'absence d'apports identifiés sur le bassin-versant. Ces résultats, dépassant le seuil de mise en alerte de la zone classée B (9 600 *E. coli* / 100 g CLI le 4 août sur le point 15 et 12 000 *E. coli* / 100 g CLI le 5 août sur le point 17), ont conduit

l'administration à interdire la pêche et le ramassage des coquillages du secteur de Bouzigues pendant une semaine.



## Annexe 5 : Résultats des investigations menées sur le cours d'eau des Fontanilles

Les résultats acquis dans le cadre du suivi annuel indiquant des contaminations des coquillages par temps sec, des investigations ont été menées pour explorer l'hypothèse d'apports de pollution provenant du bassin versant. Egis Eau a ainsi effectué trois séries de mesures sur le bassin versant au droit du secteur conchylicole de Marseillan :

- le 20 novembre 2007 aux exutoires du Pallas (600 *E.coli* / 100 mL ; 8 L/s), et des Fontanilles (120 *E. coli* / 100 mL ; débit négatif) ;
- le 17 décembre 2007 et le 6 janvier 2008 en 3 points du bassin versant des Fontanilles (en aval du centre-ville de Pomérols, en aval du PR Pomérols, et à l'aval du BV au passage de la RD ; **Figure 62**) pour identifier la ou les sources de pollution pouvant être à l'origine des contaminations enregistrées au large de Marseillan (points C10 et C11).

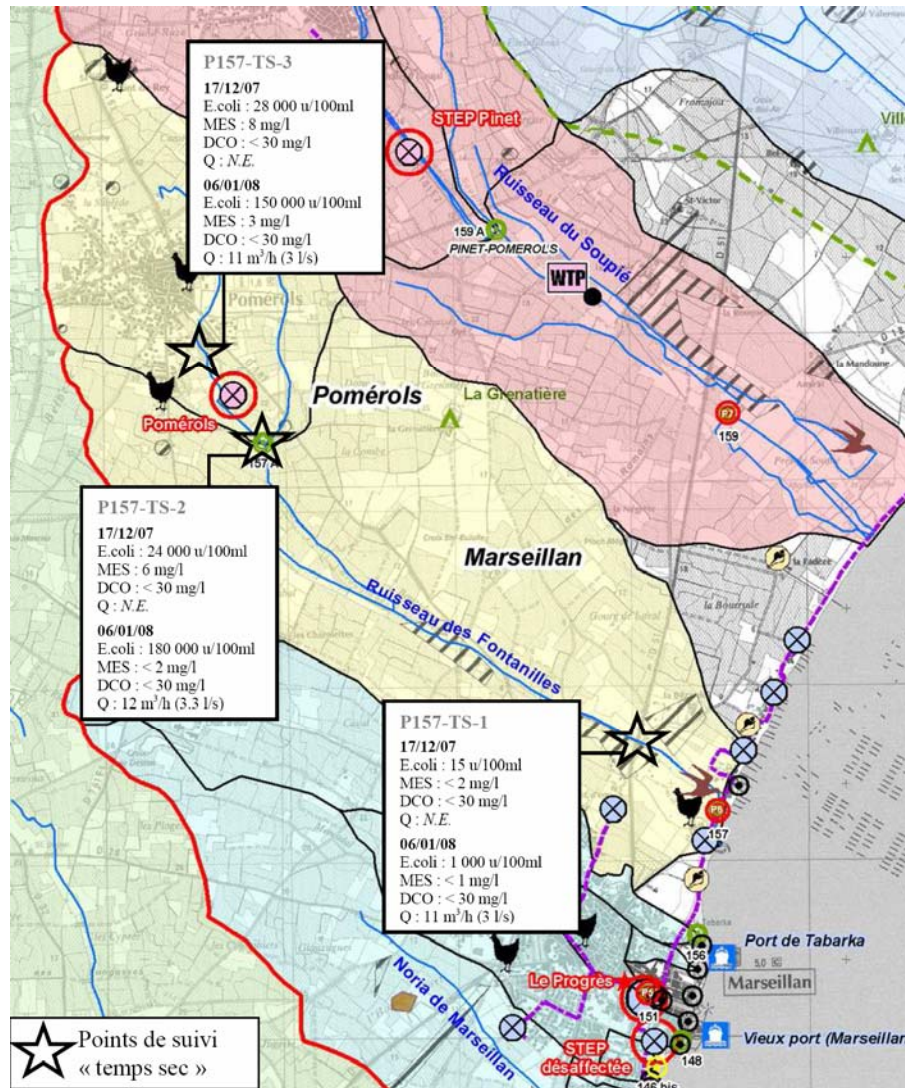
Les résultats indiquaient (**Figure 62**) :

- une contamination marquée en sortie du centre-ville, de l'ordre de 5 à 10 EH<sup>16</sup> le 06/01/08 (24 000 à 180 000 *E. coli*/100 mL sur 4 échantillons) ;
- une contamination faible à nulle à l'aval du bassin versant, qui peut s'expliquer soit par l'épuration naturelle du cours d'eau, soit pas une dilution au point de prélèvement aval sous influence de l'étang. Cependant, les résultats du suivi de la SDEI en 2006 et l'analyse des niveaux d'eau à l'exutoire des Fontanilles semblent indiquer qu'il existe également une source de pollution à l'aval du bassin versant.

Ces investigations doivent être complétées par des campagnes de mesures complémentaires :

- mesures approfondies sur le bassin versant des Fontanilles (reconnaissance exhaustive des apports d'eau au ruisseau des Fontanilles entre le centre-ville de Pomérols et l'exutoire à la lagune, suivi de la dilution à la fluorescéine, prélèvements et analyses d'eau),
- mesures dans le réseau d'eaux pluviales de la ville de Pomérols (SITEU/LDE/Communes ; exploitation des données acquises dans le cadre du SDA de Pinet-Pomérols, 2007),
- prélèvements supplémentaires simultanés sur la lagune et le bassin-versant.

<sup>16</sup> EH : équivalent-habitant. Ici, un équivalent correspond à un apport journalier de  $5.7 \cdot 10^{10}$  *E. coli*.



*Figure 62. Localisation des points de prélèvements sur le bassin versant des Fontanilles et résultats des analyses microbiologiques et physico-chimiques.*

## Annexe 6 : Revue bibliographique sur les pathogènes humains présents dans les fientes

Dans cette annexe, nous ne traiterons que du problème des bactéries : en effet, peu d'informations existent sur les parasites, quant aux virus, il faudrait considérer les virus de la grippe aviaire, or, dans l'état actuel et au dire d'experts, le risque lié à la faune aviaire sauvage en France en 2008 est négligeable (<http://www.afssa.fr>).

Les bactéries entériques présentes dans les fientes des oiseaux sauvages les plus étudiées sont des *Salmonella spp.* et des *Campylobacter spp.* La majorité des publications sur le sujet font état de la prévalence de ces pathogènes chez les oiseaux et des facteurs environnementaux et physiologiques pouvant l'affecter.

*Salmonella* est un genre de bactérie de la famille des *Enterobacteriaceae* naturellement présent dans l'intestin des animaux d'élevage (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certains humains. Cette bactérie est reconnue comme une cause importante d'intoxications alimentaires et de maladies à transmission aqueuse. Au total, plus de 2 500 sérotypes différents de *Salmonella* ont été identifiés. La plupart des sérotypes ont un large spectre d'hôtes et provoquent habituellement des gastro-entérites, qui, dans la plupart des cas, ne s'accompagnent d'aucune complication et ne nécessitent pas de traitement, mais peuvent être graves chez les jeunes, les personnes âgées et les malades dont l'immunité est affaiblie. Ce groupe comprend en particulier *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium*, les deux principaux sérotypes responsables de salmonelloses transmises de l'animal à l'homme. Le cours clinique de la salmonellose humaine est caractérisé habituellement par une poussée aiguë de fièvre, des douleurs abdominales, des diarrhées, des nausées et parfois des vomissements. Dans certains cas, et en particulier chez les très jeunes enfants et les personnes âgées, la déshydratation associée peut être sévère et parfois mortelle. **La dose minimale infectante de *Salmonella spp.* est de  $10^4$  à  $10^{10}$  de cellules** (Forsythe, 2000). La prévalence moyenne de *Salmonella spp.* chez les oiseaux sauvages est très variable selon les espèces et les sites d'études. A titre d'exemple, elle est respectivement de 13 % dans une étude de Duarte *et al.* (2002) sur deux espèces de Goélands (*Larus cachinnans* et *Larus fuscus*) du littoral portugais, 22 % chez les Goélands argentés étudiés dans la région de Dyfed au Pays de Galle par Williams *et al.* (1976), 12,9 % dans l'étude de Fenlon (1981) sur des mouettes d'une colonie de la région d'Aberdeen, 6,3 % chez des Mouettes rieuses du Sud du Pays de Galle et de l'Angleterre (Ferns & Mudge, 2000) et 2,7 % chez des Mouettes rieuses étudiées en Suède par Palmgren *et al.* (2006). *S. Typhimurium* est généralement l'espèce la plus représentée (Duarte *et al.*, 2002, Palmgren *et al.* 2006). Le nombre d'individus porteurs de *Salmonella spp.* dépend du régime alimentaire des oiseaux, de la saison et de leur aire de séjour (Girdwood *et al.*, 1985, Quessy & Messier, 1992). Les oiseaux sauvages se nourrissant dans des eaux d'égouts ou sur des décharges dans les sites urbains sont plus fréquemment infectés par des *Salmonella spp.* que les oiseaux se nourrissant dans des milieux où la pression anthropique est plus faible (Girdwood *et al.*, 1985). Peu d'études ont quantifié les *Salmonella spp.*, ou d'autres pathogènes humains, dans les fientes des oiseaux sauvages. Les dénombrements réalisés par Fenlon (1981) et Girdwood *et al.* (1985) sur des fientes prélevées respectivement sur 14 et 17 Goélands



argentés, sont en moyenne de 39.7 et 22 organismes par gramme. **Le dénombrement moyen de  $2.6 \cdot 10^6$  organismes par gramme de fiente** reporté par Lévesque *et al.* (2000) est radicalement supérieur ; cette étude a été réalisée sur un grand nombre de Goélands à bec cerclé (*Larus delawarensis*) de trois colonies au Québec, multipliant ainsi la possibilité de collecter des fientes d'oiseaux porteurs sains, mais également d'oiseaux souffrant de salmonellose, et par conséquent susceptibles d'excréter dans leurs fientes des quantités plus importantes de *Salmonella spp.* Dans cette même étude, le suivi du contenu bactérien des fientes indique que le ratio entre les dénombrements de *Salmonella spp.* et de coliformes thermotolérants (CT) est de 2.48 sur 200.

*Campylobacter* représente l'une des causes les plus fréquentes de maladies infectieuses d'origine alimentaire. Cette maladie, nommée campylobactériose, présente divers tableaux cliniques : d'une simple diarrhée sécrétoire, jusqu'à la diarrhée muqueuse ou sanglante de type inflammatoire (Sulaeman *et al.*, 2008). La dose minimale infectieuse n'est pas connue précisément chez les *Campylobacter* mais il est admis qu'elle est basse : **quelques dizaines à quelques centaines de cellules** peuvent s'avérer suffisantes pour déclencher la maladie (Federighi, 1999). Les *Campylobacter* thermotolérants (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* et *C. upsaliensis*) sont transmis à l'homme, essentiellement indirectement, par un vecteur alimentaire contaminé. Ils sont présents dans le mucus intestinal de la plupart des animaux de boucherie et de compagnie, mais le réservoir aviaire reste prédominant du fait de taux de portage élevé chez les animaux (Jones, 2001) et de **la charge bactérienne par gramme de matières fécales, pouvant atteindre  $10^7$  UFC** (Unité Formant Colonie) (Newell, 2002). Quessy et Messier (1982) ont trouvé que des Goélands à bec cerclé de la région de Montréal portaient 15.9 % *Campylobacter spp.*, dont 61 % de *Campylobacter jejuni*, qui est l'espèce la plus fréquemment mise en cause lors de campylobactérioses. En Ecosse, Whelan *et al.* (1988) ont montré que, selon le site d'étude, entre 30 et 97 % des Goélands argentés étaient porteurs de *Campylobacter spp.* Des fientes de mouettes rieuses (*Larus ridibundus*) juvéniles examinées dans une étude de Sixl *et al.* (1997) en République Tchèque présentent dans 63 % des cas des *Campylobacter jejuni*. Cette prévalence est comparable à celle observée sur la même espèce par Broman *et al.* (2002) en Suède. Ce même auteur a également montré des variations saisonnières marquées de portage de *Campylobacter spp.* chez la mouette rieuse, avec les taux les plus élevés en automne. Au Canada, à partir de culture d'écouvillons du cloaque et du pharynx de 100 jeunes cormorans à aigrettes d'une colonie arboricole, *Campylobacter* fut isolé dans 22 écouvillons du cloaque ; les souches isolées incluaient 14 *C. jejuni*, 7 *C. coli* et 1 *C. lari* (Dobin *et al.*, 2005). Le suivi du contenu bactérien des fientes de trois colonies de Goélands à bec cerclé (*Larus delawarensis*) au Québec indique qu'en moyenne **les fientes contiennent  $1.4 \cdot 10^5$  *Campylobacter spp.* par gramme**, avec un rapport de 0.13 *Campylobacter spp.* pour 200 coliformes thermotolérants (CT) (Levesque *et al.* 2000).

D'autres pathogènes humains peuvent également être présents dans les fientes des oiseaux sauvages. Dans son étude sur les deux principales espèces de Goélands du littoral portugais, Goéland pontique (*Larus cachinnans*) et Goéland brun (*Larus fuscus*), Duarte *et al.* (2002) indiquent que *Listeria sp.* est présente dans 9.8 % des échantillons de fientes, dont 6.8 % sont positifs pour *L. monocytogenes*, bactérie





ubiquiste largement répandue dans l'environnement, responsable de la listeriose suite à une contamination par ingestion d'aliments contaminés. Levesque *et al.* (2000) ont quantifié dans les fientes de Goélands des *Staphylococcus aureus* (5.05 pour 200 CF), *Aeromonas spp.* (0.43 / 200 FC) et *Pseudomonas aeruginosa* (1.05 pour 200 FC). Selon ces mêmes auteurs, les Goélands à bec cerclé ne constituent pas un réservoir de *Yersinia spp.*, ce qui contraste avec les résultats d'une étude de Kaneuchi *et al.* (1989), où 64 % des Mouettes rieuses étudiées sont porteuses de cette bactérie. Ogg *et al.* (1989) ont isolé *Vibrio cholerae* dans des fientes de 20 espèces d'oiseaux aquatiques de l'Utah et du Colorado, les rapports entre le nombre de fientes positives *Vibrio cholerae* et le nombre total de fientes analysé sont de 1 sur 93 pour le Goéland de Californie (*Larus californicus*), 32 sur 84 pour le Cormoran à aigrettes (*Phalacrocorax auritus*), 8 sur 41 pour la Mouette de Franklin (*Larus pipixcan*) et 17 sur 112 pour le Goéland à Bec cerclé (*Larus delawarensis*). Plus récemment, l'implication d'oiseaux dans la dissémination dans des milieux aquatiques de parasites tels que *Cryptosporidium sp.*, *Giardia sp.* et des microsporidies pathogènes pour l'homme a été montrée (Graczyk *et al.*, 2007).

Une récente synthèse bibliographique indique qu'au regard du nombre important de microorganismes pathogènes pour l'homme portés par les oiseaux sauvages, rares sont les publications relatant de cas directs ou indirects de transmission de ces pathogènes à l'homme. Les 10 pathogènes ayant été impliqués dans des maladies humaines suite à une transmission indirecte par des oiseaux sauvages sont pour les bactéries *Chlamydophila sp.*, *Escherichia coli sp.*, *Salmonella sp.*, *Mycobacterium sp.* et *Borrelia sp.*, pour les mycètes *Cryptococcus* et pour les virus *Flaviviridae* et des *Orthomyxoviridae* (Tsiodras *et al.*, 2008). Nous n'avons pas trouvé dans la bibliographie de cas de maladie humaine liée à l'ingestion de coquillages contaminés par des pathogènes d'origine aviaire. Seule une publication met en relation la contamination des Goélands Dominicains (*Larus dominicanus*) et des huîtres (*Crassostreas gigas*) avec des *Salmonella Typhimurium* (Albarnaz *et al.*, 2007).