

Sciences Eaux & Territoires

La revue d'Irstea

Article hors-série numéro 37

Un système opérationnel de surveillance et d'alerte des proliférations de cyanobactéries : application aux plans d'eau landais

Christophe Laplace-Treyture, Sylvia Moreira, Sarah Gogin, Laurent Pickhahn, Mélissa Eon et Aurélien Jamoneau

www.set-revue.fr

The screenshot shows the website interface for Sciences Eaux & Territoires. It includes a navigation menu on the left with items like 'Accueil', 'Tous les numéros', 'Les Cahiers éphémères', and 'À propos de la revue'. The main content area features an article titled 'L'ingénierie écologique au service de l'aménagement du territoire' with a photo of a boat on a river. Below the article is a 'Votre avis' section with a star rating and a 'Lien de la page' button. At the bottom, there are social media icons for Facebook and Twitter, and a 'SET sur Twitter' link.

Sciences Eaux & Territoires, la revue d'Irstea

Article hors-série numéro 37 – 2017

Directeur de la publication : Pierrick Givone (par interim)

Comité éditorial : Daniel Arnault, Louis-Joseph Brossollet, Denis Cassard, Thomas Curt, Nicolas de Menthère, Alain Dutartre, André Evette, Véronique Gouy, Alain Hénaut, Ghislain Huyghe, Emmanuelle Jannès-Ober, Cédric Laize, Alette Maillard, Isabelle Méhault, Thierry Mougey et Michel Vallance.

Rédactrice en chef : Caroline Martin

Secrétariat de rédaction et mise en page : Valérie Pagneux

Infographie : Françoise Peyriguer

Conception de la maquette : CBat

Contact édition et administration : Irstea-DRISE-IE

1 rue Pierre-Gilles de Gennes – CS 10030

92761 Antony Cedex

Tél. : 01 40 96 61 21 – Fax : 01 40 96 61 64

E-mail : set-revue@irstea.fr

Numéro paritaire : 0511 B 07860 – Dépôt légal : à parution – N°ISSN : 2109-3016

Photo de couverture : © A. Dutartre (Irstea)



Un système opérationnel de surveillance et d'alerte des proliférations de cyanobactéries : application aux plans d'eau landais

Les zones de baignade des grands plans d'eau landais nécessitent un suivi sanitaire rigoureux et une surveillance biologique régulière. Cependant, les méthodes actuellement utilisées sont coûteuses et proposent un délai de réponse trop long pour mettre en place un protocole de surveillance et d'alerte pertinent. Cet article présente le travail mené conjointement par Irstea Bordeaux et les communautés de communes du territoire pour proposer une réduction du temps de réponse et une limitation des coûts.

D

ans les eaux douces françaises, de nombreuses zones de baignade et d'activités nautiques sont installées en plans d'eau et en cours d'eau. La réglementation française impose une surveillance sanitaire, au regard des risques bactériologiques et des risques issus de la présence de cyanobactéries et préconise la mise en place de mesures de gestion en cas d'alerte (directive 2006/7/CE « eaux de baignade »). Certaines cyanobactéries sont en effet susceptibles de proliférer et de produire des toxines appelées cyanotoxines pouvant, à des degrés divers, nuire aux différents usages humains pratiqués sur ces zones. Ce suivi sanitaire repose sur l'utilisation d'un arbre décisionnel (avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France – CSHPF – du 6 mai 2003) et impose des analyses, réalisées en laboratoire, permettant d'évaluer le risque sanitaire, mais qui entraînent, de par leur nature même, un délai de réponse de trente-six à quarante-huit heures. Ce délai est relativement long, ce qui peut être dommageable à la sécurité sanitaire. De plus, ces analyses de laboratoire représentent un coût financier important, voire très important pour certaines communes ayant à leur charge la surveillance de multiples zones d'activités nautiques.

Dans ce contexte, il semblait opportun de développer des approches reposant sur du matériel d'apparition récente, pouvant contribuer à la réduction des coûts et des délais d'attente. Dès 2012, un projet en partenariat

été initié sur ce sujet, entre l'équipe CARMA (Contaminants anthropiques et réponses des milieux aquatiques) du centre Irstea de Bordeaux et les gestionnaires des grands plans d'eau landais (communauté de communes des grands lacs – CCGL – et communauté de communes de Mimizan – CCM). En 2013, ce projet de partenariat « recherche-gestion » a pu prendre de l'ampleur grâce au soutien financier du LabEx COTE* dans le cadre d'un appel à projet « transfert ».

Historique de la surveillance sanitaire des zones de baignade des grands plans d'eau landais

Les grands plans d'eau landais abritent un certain nombre de zones de baignade, au sein desquelles six sont considérées comme des zones de baignade dites « à risques » d'un point de vue sanitaire (figure 1). Ce classement résulte soit de la présence régulière et importante de cyanobactéries, soit de conditions favorables à l'accumulation de cyanobactéries (positionnement de la zone par rapport aux vents, morphologie de la zone de baignade, etc.). Ainsi, deux d'entre elles se situent sur le lac de Cazaux-Sanguinet (photo 1), trois sur celui de Parentis-Biscarrosse et une sur l'étang d'Aureilhan.

À partir de 2012, les deux communautés de communes ont mis en place un réseau permanent de surveillance visuelle des proliférations de cyanobactéries. Il a été constitué d'une vingtaine d'acteurs locaux : policiers

❶ L'installation de zones de baignade et d'activités nautiques sur les plans d'eau nécessite un suivi sanitaire rigoureux. Ici le lac de Cazaux-Sanguinet dans les Landes.



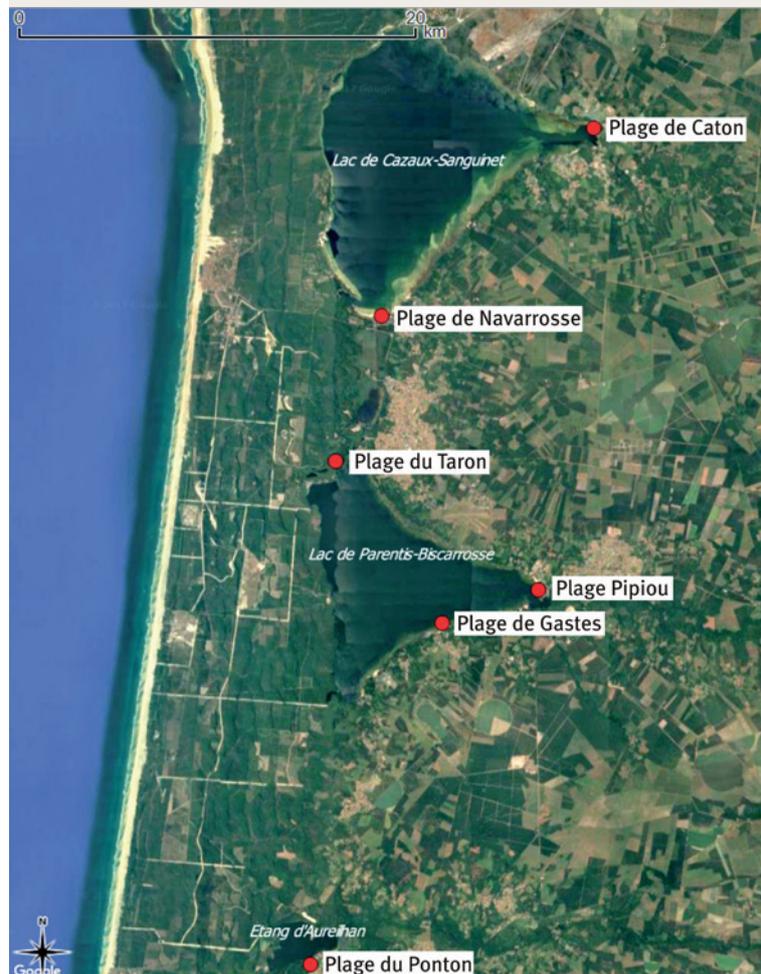
© V. Bertrin (Irstea)

municipaux, pêcheurs, moniteurs d'activités nautiques, chefs de poste de surveillance, etc. Ces acteurs pouvaient alerter les services en charge de l'environnement lors de manifestations visuelles de prolifération algale et consigner leurs observations dans un document de relevé de terrain, créé spécifiquement pour ce réseau. Lors de la période estivale de 2012 et durant l'année 2013, ces observations ont été complétées par des mesures *in situ* à l'aide d'un fluorimètre de terrain, permettant de quantifier les cyanobactéries présentes. L'objectif était de tester son utilisation dans le contexte de ce réseau local et d'envisager une validation de cette utilisation dans un nouvel arbre décisionnel de surveillance des cyanobactéries permettant de réduire les délais d'action.

Utilisation de l'AlgaeTorch comme outil de mesure de la biomasse cyanobactérienne

Le matériel fluorimétrique utilisé dans ce projet se présente sous la forme d'une sonde AlgaeTorch (marque Bbe Moldaenke, Allemagne) manipulable directement à la main sur le terrain. Cette sonde est un fluorimètre de terrain qui excite les pigments chlorophylliens contenus dans les cellules algales au moyen de rayonnements lumineux (trois longueurs d'onde, 470, 525 et 610 nm) et mesure l'émission de fluorescence (à 680 nm) qui en résulte. Cette fluorescence est convertie, par calculs, en équivalent de chlorophylle-a (en microgramme par litre), donnant ainsi une estimation *in situ* des biomasses algales. La sonde quantifie la biomasse totale d'algues présente et estime la proportion de biomasse de cyanobactéries correspondante qui se révèle plus représentative de la concentration en cyanobactéries qu'un dénombrement cellulaire. C'est un outil facile d'utilisation qui permet d'obtenir un résultat rapide, fournissant une moyenne des valeurs obtenues durant une période de trente secondes.

❶ Carte de la localisation des zones de baignade faisant l'objet de suivi cyanobactérien sur les grands plans d'eau landais.



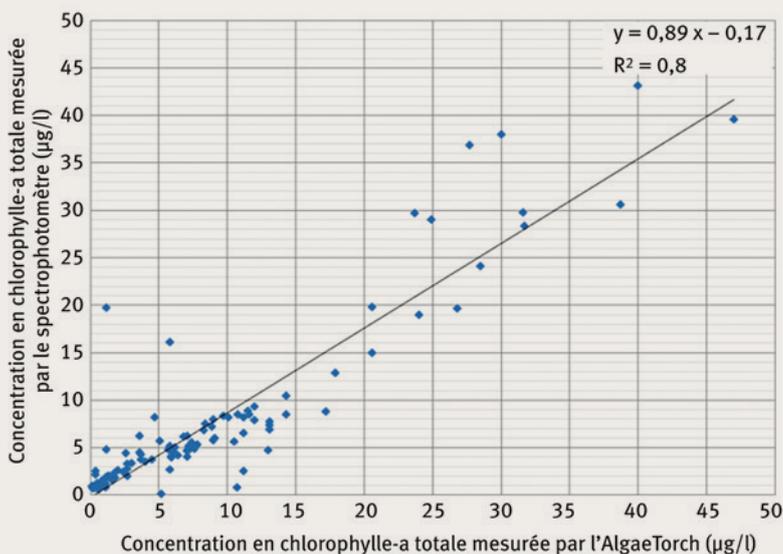
► Afin de valider le recours à ce nouveau matériel pouvant permettre le développement d'une nouvelle démarche de surveillance sanitaire, nous avons comparé les résultats obtenus par la sonde à ceux issus des dénombrements de cyanobactéries réalisés par observations au microscope selon le protocole réglementaire, sur 182 échantillons prélevés au cours de l'étude 2012-2013.

Les mesures réalisées par la sonde ont d'abord été validées pour la quantification totale en chlorophylle-a par comparaison avec la méthode de laboratoire normalisée: spectrophotométrie UV-visible et les équations de Jeffrey & Humphrey (NF T90 117 de décembre 1999),

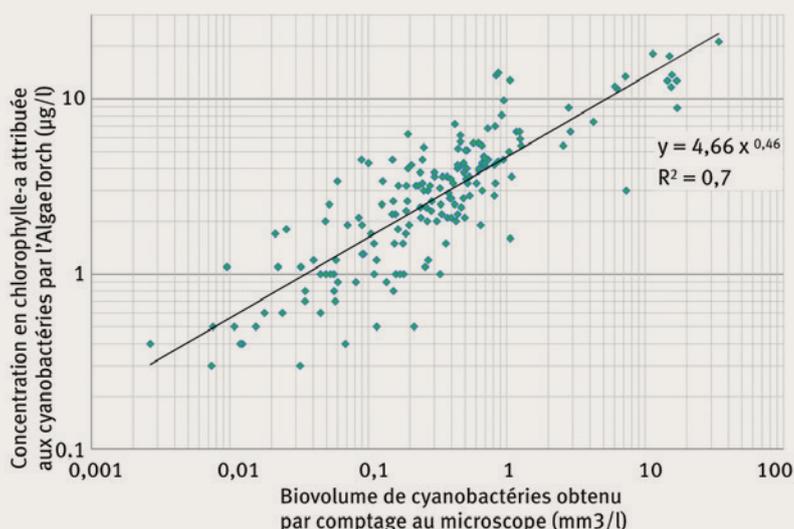
communément utilisées en laboratoire. Comme le montre la figure 2, les résultats de chlorophylle-a totale de la sonde sont très bien corrélés à ceux obtenus par la méthode normalisée ($R^2 > 0,8$) jusqu'à des concentrations de 50 $\mu\text{g/l}$ de chlorophylle.

Les résultats des dénombrements algaux, obtenus par observations microscopiques au laboratoire, ont ensuite été comparés aux estimations de chlorophylle-a attribuées aux cyanobactéries par la sonde. Les résultats montrent une corrélation assez élevée ($R^2 = 0,7$, figure 3) entre les biovolumes de cyanobactéries calculés à partir des observations au microscope et la quantité de chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries avec l'AlgaeTorch. La sonde AlgaeTorch fournit donc *in situ* des valeurs exprimées en équivalent de chlorophylle-a tout à fait comparables à celles obtenues par les méthodes de laboratoire. Dans ces conditions, elle semble être capable de quantifier correctement la quantité totale de biomasse algale présente sur un site ou dans un échantillon donné, et d'y estimer la part occupée par les cyanobactéries en microgramme de chlorophylle-a.

2 Corrélation entre la chlorophylle-a totale mesurée par spectrophotométrie-UV visible et celle mesurée par l'AlgaeTorch.



3 Corrélation entre les mesures de chlorophylle-a attribuées aux cyanobactéries par l'AlgaeTorch et les biovolumes de cyanobactéries calculés à partir des observations au microscope.



Élaboration et validation
d'un nouvel arbre décisionnel

Dans le protocole de surveillance réglementaire des zones de baignade, des seuils d'alerte, exprimés en nombre de cellules de cyanobactéries par millilitre, ont été définis. Un premier seuil de 20000 cellules/ml correspond au premier niveau d'alerte nécessitant une surveillance régulière de la zone de baignade et un second de 100000 cellules/ml correspond au deuxième niveau d'alerte imposant une interdiction de la baignade et une information du public (recommandations AFSSA-AFSSSET, 2006). Afin d'utiliser la sonde comme moyen d'alerte de substitution, il apparaît nécessaire de définir une équivalence entre le nombre de cellules de cyanobactéries et la concentration en chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries. Pour ce faire, des seuils ont été définis à l'aide d'un modèle linéaire obtenu entre la quantité de chlorophylle-a, mesurée avec la sonde, et le nombre de cellules dénombrées ($R^2 = 0,5$). Ainsi, des concentrations en chlorophylle-a de 4 $\mu\text{g/l}$ et 17 $\mu\text{g/l}$ ont pu être fixées pour correspondre respectivement aux deux seuils réglementaires.

Avec la définition de ces seuils, un nouvel arbre décisionnel a donc pu être élaboré et adapté permettant de maintenir les trois niveaux d'alerte recommandés par la réglementation tout en y incorporant le réseau permanent de surveillance visuelle instauré par les communautés de communes sur leur territoire. Il intègre aussi les mesures de concentrations en microcystines avec les seuils correspondants imposés par la réglementation. La figure 4 présente cet arbre de manière synthétique.

Ainsi, dans cet arbre décisionnel, nous proposons que les mesures avec la sonde soient réalisées deux fois par semaine en période de surveillance. Si la concentration en cyanobactéries, exprimée en équivalent de chlorophylle-a ([chloro a cyano]), est inférieure au seuil de 4 $\mu\text{g/l}$, la situation est jugée normale. Si par contre, la concentration dépasse 4 $\mu\text{g/l}$ ou si des accumulations de cyanobactéries (efflorescences*) et/ou des changements de couleur de l'eau sont visibles dans la zone de baignade, la situation est alors jugée anormale. Dans ce

cas, si [chloro a cyano] reste inférieure à 17 µg/l, la plage passe au minimum en alerte de niveau 1. Une mesure complémentaire de la concentration en microcystines par un test de terrain (type ELISA* par immuno-essai) permet d'orienter la décision vers un niveau d'alerte 2 ou 3 ou sinon de maintenir une alerte de niveau 1. Ce niveau préconise une surveillance régulière de la zone (journalière, par exemple) jusqu'à un retour à la normale. Si la [chloro a cyano] est supérieure à 17 µg/l, l'alerte concernant la zone de baignade passe alors en alerte de niveau 2 au minimum. Le dosage des microcystines totales en laboratoire est alors requis. Le résultat de ce dosage (inférieur ou supérieur au seuil réglementaire de 13 µg/l) déclenche ou non le passage en alerte de niveau 3. Ce dernier niveau impose la fermeture de la zone et l'interdiction de toutes activités nautiques. L'alerte de niveau 2 préconise seulement la limitation des usages avec interdiction de la baignade mais maintien des autres activités nautiques et l'information du public au moyen d'un affichage. Pour ces deux niveaux d'alerte, un rythme journalier de surveillance et de mesures par la sonde doit être maintenu jusqu'à un retour à la normale. Au cours de notre étude, les résultats obtenus par l'application de cet arbre décisionnel adapté ont pu être comparés avec ceux obtenus avec les seuils et l'arbre décisionnel réglementaire. Ainsi, à partir des mesures de la sonde et des analyses réalisées sur les 182 échantillons, 69% des évaluations de niveau d'alerte sont identiques entre les deux protocoles, 19% amènent à une sous-évaluation du risque et 12% à une surévaluation avec l'arbre

adapté. L'arbre adapté est donc moins sévère pour près de 20% des cas, mais ces sous-évaluations s'expliquent par la présence d'espèces de petite taille, non toxiques, dont le dénombrement accroît artificiellement la quantité de cyanobactéries présentes, faisant rapidement atteindre les seuils de 20 000 ou 100 000 cellules/ml alors que le risque n'est pas réellement avéré.

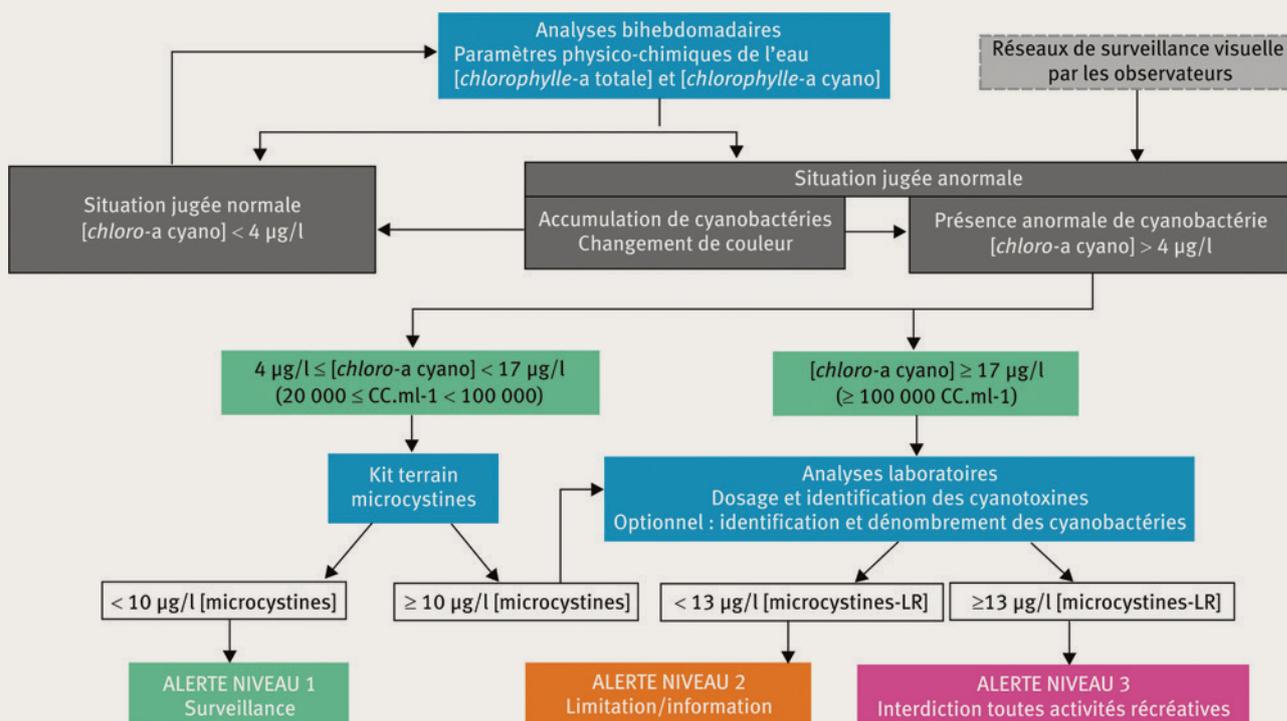
Les surévaluations sont dues à la présence d'espèces de plus grosse taille, potentiellement toxiques, dont la quantité de matière exprimée en chlorophylle est plus importante bien que leurs abondances en nombre de cellules restent en deçà des seuils. L'arbre adapté est alors plus sévère que l'arbre réglementaire mais il réduit alors le risque dans plus de 10% des cas et protège mieux la population.

Dans ces deux cas, nous considérons que l'arbre décisionnel adapté limite les risques en protégeant plus rapidement et plus efficacement les usagers.

Conclusion et perspectives

L'usage d'une sonde fluorimétrique de terrain, type AlgaeTorch, peut permettre de réduire considérablement les inconvénients liés au protocole usuel de surveillance des cyanobactéries et cyanotoxines (réactivité insuffisante et coûts importants). La sonde est d'un usage simple et rapide, utilisable par n'importe quel opérateur (avec une formation assez rapide) et permet d'obtenir un résultat comparable à celui obtenu avec le protocole réglementaire en vigueur en moins d'une minute sur le

4 Arbre décisionnel de surveillance des cyanobactéries dans les zones de baignade adapté à l'usage de la sonde fluorimétrique AlgaeTorch. Les [chlorophylle-a totale] et [chloro-a cyano] correspondent respectivement aux concentrations en chlorophylle-a totale et en chlorophylle-a attribuée aux cyanobactéries mesurées par la sonde.



► site même des activités nautiques. Sa rapidité d'usage est un atout incontestable face au risque sanitaire lié à la présence de cyanobactéries, car elle permet une forte réactivité. La possibilité de réaliser des mesures autonomes régulières limite le recours au dénombrement algal en laboratoire et contribue à la réduction des coûts tout en minimisant le risque sanitaire grâce à une fréquence d'analyse nettement supérieure. De plus, les mesures de la sonde, basées sur l'évaluation d'une quantité de biomasse en chlorophylle, reflètent mieux la concentration en cyanobactéries et le risque de production de cyanotoxines que les dénombrements cellulaires. Ainsi, le nouvel arbre décisionnel proposé permet d'assurer, *a minima*, le même niveau de sécurité sanitaire et s'avère même plus protecteur dans de nombreux cas. Cependant, au cours de l'étude, les concentrations de chlorophylle-a n'ont jamais dépassées 50 µg/l. La validation des réponses de la sonde pour des concentrations plus élevées reste donc à confirmer. Il est aussi important de noter que la plage de mesure de l'AlgaeTorch s'étend de 0 à 200 µg/l de chlorophylle-a. Son utilisation sur des sites présentant des concentrations supérieures nécessiterait de procéder à des tests de dilutions des échantillons avant les mesures, ce qui augmenterait la complexité des analyses.

L'utilisation en routine d'un protocole de surveillance et d'alerte des cyanobactéries basé sur l'utilisation de l'AlgaeTorch a dès à présent été mise en œuvre par les deux communautés de communes. Courant 2016, une formation à la manipulation de la sonde a été réalisée auprès des agents communaux responsables du suivi des eaux de baignade. Cette nouvelle modalité de surveillance, contribuera à déceler les risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans les zones de baignade tout en réduisant fortement le temps de transmission des informations en matière d'alerte sanitaire pour une plus grande protection des usagers. Le déploiement de ce nouveau protocole de surveillance sur d'autres zones de baignade semble tout à fait envisageable, mais il devra nécessairement être confirmé par la réalisation d'expérimentations complémentaires à plus grande échelle. Les instances décisionnaires (les agences régionales de santé et la Direction générale de la santé) disposeront ainsi d'une méthode alternative aux dénombrements cellulaires issus des observations au microscope, pour estimer le risque. ■

1 DÉFINITIONS

Efflorescence : phase de prolifération massive de cyanobactéries aussi appelée *bloom*. Cette phase se traduit par la production, sur une courte période de temps (quelques jours), d'une biomasse importante et par une forte diminution de la diversité spécifique dans le compartiment phytoplanctonique puisqu'une ou deux espèces deviennent alors très largement dominantes.

LabEx COTE : laboratoire d'excellence « Évolution, adaptation et gouvernance des écosystèmes continentaux et côtiers ». Il réunit des chercheurs de diverses disciplines pour comprendre et prévoir les réponses des écosystèmes aux changements induits par l'homme et pour fournir des outils et des méthodes de régulation ou de conduite de leur évolution. Il regroupe neuf laboratoires de l'Université de Bordeaux et des principaux instituts nationaux de recherche situés en Aquitaine et impliqués dans les recherches sur les écosystèmes terrestres et aquatiques. En savoir plus : <http://cote.labex.u-bordeaux.fr/>

Test ELISA, « *enzyme-linked immuno-sorbent assay* » : il s'agit de tests immuno-enzymatiques basés sur le principe de la reconnaissance de motifs structuraux spécifiques de certaines toxines ou familles de toxines par des anticorps. Ils sont en général développés sous la forme d'essai, mettant en œuvre des anticorps poly- ou monoclonaux dirigés contre une toxine.

Les auteurs

Christophe LAPLACE-TREYTURE, Sylvia MOREIRA, Sarah GOGIN, Mélissa EON et Aurélien JAMONEAU

Irstea, UR EABX,
50 avenue de Verdun, F-33612 Cestas Cedex, France.

✉ christophe.laplace-treuture@irstea.fr

✉ sylvia.moreira@irstea.fr

✉ melissa.eon@irstea.fr

✉ sarah.gogin@gmail.com

✉ aurelien.jamoneau@irstea.fr

Laurent PICKHAHN

Communauté de Communes des Grands Lacs (CCGL)
136 rue Jules Ferry, BP 64,

F-40161 Parentis-en-Born Cedex, France.

✉ technicien.rivieres@cdc-grands-lacs.fr

EN SAVOIR PLUS...

📖 **AFSSA, AFSSET**, 2006, *Évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives*, 227 p.

📖 **BBE MOLDAENKE**, <http://www.bbe-moldaenke.de/en/products/chlorophyll/details/algaetorch.html> (consulté le 15/12/2016).

📖 **CONSEIL SUPÉRIEUR D'HYGIÈNE PUBLIQUE DE FRANCE**, 2003, Section des eaux, séance du 6 mai 2003 – Recommandations pour la gestion des situations de contamination d'eau de baignade et de zones de loisirs nautiques par prolifération de cyanobactéries, 7 p.

📖 **PARLEMENT EUROPÉEN**, 2006, 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, Journal Officiel de l'Union européenne, 15 p.