

Fondation Rivières

Dépistage de sources de contamination fécale

Rivière à la Loutre et Petite rivière
Blanche

14 juin 2021

**En collaboration avec l'Organisme de bassin versant du
Témiscamingue (OBVT)**



OBVT
Organisme
de bassin versant
du Témiscamingue

Dépistage de sources de contamination fécale

Rivière à la Loutre et Petite rivière Blanche

Fondation Rivières
454, avenue Laurier Est, 2e étage
Montréal (Québec)
H2J 1E7
514 272-2666 poste 23

Pour citer ce document

Fondation Rivières (2021). Dépistage de sources de contamination fécale —
Rivière à la Loutre et Petite rivière Blanche.

**L'usage du masculin dans ce document a pour unique but d'alléger le texte.*

Équipe de travail

Rédaction

Florence Lessard, M. Env., chargée de projet en qualité de l'eau
florence.lessard@fondationrivers.org

Supervision

André Bélanger, directeur général
direction@fondationrivers.org

Alain Saladzius, ing., FIC, président
presidence@fondationrivers.org

Mandataires et collaborateurs

Yves Graftaux et Lawrence Gervais - Organisme de bassin versant du Témiscamingue (OBVT)

Rose Ragot — Institut national de la recherche scientifique (INRS) – Centre Armand-Frappier Santé et Biotechnologie.

Pr. Richard Villemur — Institut national de la recherche scientifique (INRS) – Centre Armand-Frappier Santé et Biotechnologie.

Remerciements

La Fondation Rivières remercie ses partenaires qui ont permis la réalisation de cette étude :

- L'Organisme de bassin versant du Témiscamingue pour sa participation lors de la campagne terrain et le prêt de matériels;
- L'entreprise NORDIKEAU pour son soutien technique;
- L'entreprise Vienna Water Monitoring Solutions pour son soutien technique;
- Le Centre de recherche, développement et validation des technologies et procédés de traitement des eaux (CREDEAU) de Polytechnique Montréal pour le prêt d'équipements;
- Rose Ragot et Pr. Richard Villemur de l'Institut national de la recherche scientifique (INRS) – Centre Armand-Frappier Santé Biotechnologie, pour l'accompagnement scientifique et les analyses moléculaires en laboratoire.

Sommaire

Entre le 7 et le 11 novembre 2020, la Fondation Rivières a réalisé un mandat de dépistage de sources de contamination fécale sur la Rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche au Témiscamingue en collaboration avec Rose Ragot, étudiante au doctorat au Laboratoire du Pr. Richard Villemur de l'Institut national de la recherche scientifique (INRS) – Centre Armand-Frappier Santé et Biotechnologie. L'Organisme de bassin versant du Témiscamingue (OBVT), le requérant, s'inquiétait de ne pas pouvoir discriminer les sources de contaminations fécales de la région et de leurs impacts sur la qualité de l'eau de ces deux cours d'eau.

Les objectifs de l'étude consistaient à :

1. Dépister les principales sources de pollution fécale dans la rivière à la Loutre, la Petite rivière Blanche et le ruisseau Paquin, tributaire de la rivière à la Loutre;
2. Localiser les sources de contamination fécale afin de permettre à l'OBVT d'établir ses priorités d'intervention;
3. Caractériser (discriminer) l'origine de la contamination fécale.

Le dépistage a été réalisé à l'aide d'une nouvelle technologie d'analyse rapide, par réaction enzymatique, qui donne un résultat de la présence de contamination fécale en 15 minutes, le ColiMinder. Au total, 68 échantillons ont été prélevés et analysés lors de la campagne terrain. En plus de l'analyse ColiMinder donnant une mesure en mMFU/100ml ou activité GLUC, ces échantillons ont été analysés par la méthode de dénombrement bactériologique pour la recherche des coliformes fécaux (UFC/100ml), par l'INRS. 13 de ces échantillons ont été analysés grâce à la technologie qPCR avec le SYBRGreen® afin de rechercher et quantifier les marqueurs moléculaires d'intérêts pour tracer les sources de contaminations fécales. Le but de cette technique est de déterminer si la contamination fécale est d'origine humaine ou animale (porcine ou bovine).

Constats généraux

1. Le réseau d'égout de Fugèreville

Une contamination fécale importante a été détectée dans le secteur de Fugèreville sur la rivière à la Loutre, autant par l'activité GLUC (mMFU/100ml) qu'avec l'analyse par culture des coliformes fécaux (UFC/100ml). Cette contamination provient vraisemblablement du réseau d'égout sans station d'épuration de Fugèreville.

2. Techniques agricoles

Avec les mêmes conditions météorologiques, on a détecté une présence bovine sur six sites, alors qu'il y avait seulement un site avec une trace de présence porcine.

L'épandage porcin consiste à injecter les lisiers dans les sols, tandis que l'épandage bovin se contente d'un épandage du fertilisant sur le sol. Se pourrait-il que la technique d'épandage augmente les risques de ruissellement des sols contaminés vers les cours d'eau, comparativement à l'injection?

Les meilleures techniques agricoles devraient être mises en œuvre. Ainsi, les bandes riveraines devraient être optimisées afin de réduire au maximum le ruissellement agricole et diminuer les sources de contamination bovine ou porcine dans les cours d'eau.

De plus, y aurait-il des agriculteurs qui laissent paître les troupeaux de vaches près des cours d'eau, provoquant ainsi les contaminations bovines détectées?

3. Sources de contamination

Généralement, sur les deux rivières à l'étude, les analyses qPCR démontrent une contamination fécale d'origine humaine et bovine. Les sources de contamination humaine potentielles sont les stations d'épuration du territoire, des débordements aux ouvrages de surverse ou les installations septiques individuelles.

Recommandations

1. Mettre en place un système de traitement des eaux usées à la municipalité de Fugèreville;
2. Comparer les méthodes d'épandage afin de déterminer si l'injection de fertilisant dans le sol permettrait une diminution du ruissellement des contaminants vers les cours d'eau;
3. Caractériser les bandes riveraines agricoles afin d'avoir une meilleure connaissance de la problématique du ruissellement des terres agricoles;
4. Dresser un inventaire des installations septiques individuelles afin de vérifier leur conformité puisqu'il y a présence de contamination humaine sur les bassins versants à l'étude;
5. Vérifier la performance des stations d'épuration municipales et des ouvrages de surverses.

Table des matières

1. Mise en contexte	1
Objectifs	1
2. Méthodologie	2
ColiMinder	4
Les marqueurs moléculaires dans un contexte de « fecal source tracking »	5
Traitement et interprétation des données	5
Limites de l'étude	6
3. Présentation de la zone à l'étude	6
4. Résultats	10
Petite rivière Blanche (figure 5)	10
Secteur aval de la rivière	11
Secteur amont de la rivière (figure 7)	12
Rivière à la Loutre et ses tributaires (figure 8)	13
Secteur aval de la rivière	15
Ruisseau Paquin (figure 10)	15
Cours d'eau Bastien (figure 11)	16
Fugèreville (figure 12)	16
5. Recommandations	18
Conclusion	19
Références	20
ANNEXE A : Analyses moléculaires	21
Annexe B : Résultats des échantillonnages par date et par site	32

Liste des figures

Figure 1 : Appareil ColiMinder utilisé au Témiscamingue	2
Figure 2 : Prise d'échantillons dans les cours d'eau tributaires de la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche	2
Figure 3 : Bassin versant de la Rivière à la Loutre, de la Petite rivière Blanche et du ruisseau Abbica	8
Figure 4 : Utilisation du territoire de la zone à l'étude	9
Figure 5 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau de la Petite rivière Blanche	10
Figure 6 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du secteur aval de la Petite rivière Blanche	11
Figure 7 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du secteur amont de la Petite rivière Blanche	12
Figure 8 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau des tributaires principaux de la rivière à la Loutre	13
Figure 9 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau des tributaires principaux de la rivière à la Loutre et les sources de contamination	14
Figure 10 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du ruisseau Paquin	15
Figure 11 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du cours d'eau Bastien	16
Figure 12 : Qualité de l'eau dans le secteur de Fugèreville	17
Figure 13 : Résultats de la qualité de l'eau du ruisseau Abbica au 9 novembre 2020	18

Liste des tableaux

Tableau 1 : Précipitation et neige au sol pour la période de l'étude

3

Liste des acronymes et des abréviations

GLUC	β — D-glucuronidase
INRS	Institut National de la Recherche Scientifique
MELCC	Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques
mMFU	mili Modified Fishman Units (rapporté sur 100 mL)
OBVT	Organisme de bassin versant du Témiscamingue
UFC	Unité formant colonie (rapporté sur 100 mL)

Lexique

Activité GLUC	Surveillance (monitoring) de la β — D-glucuronidase grâce à la détection de l'activité enzymatique. Unité : MFU/100ml.
Bactériologie	Discipline consacrée à l'étude des bactéries. (Dictionnaire Larousse)

1. Mise en contexte

Au cours des dernières années, plusieurs maternités porcines se sont établies dans le centre du Témiscamingue. En collaboration avec l'entreprise Olymel, et plusieurs municipalités, l'Organisme de bassin versant du Témiscamingue (OBVT) a mis en place sept stations d'échantillonnage de la qualité de l'eau sur la rivière à la Loutre, la Petite rivière Blanche et le ruisseau Paquin, tributaire de la rivière à la Loutre. Depuis cinq ans, huit échantillons par année sont prélevés à sept stations sous diverses conditions météorologiques. Les résultats de ces centaines d'échantillons indiquent une légère baisse, mais significative, de la qualité de l'eau selon divers paramètres analysés et comparativement aux résultats avant la mise en place des maternités porcines.

L'impact des maternités porcines sur la qualité de l'eau des cours d'eau suscite des inquiétudes dans la population. Or, la responsabilité de la production porcine dans les résultats de qualité d'eau ne peut être déterminée sans la discriminer des autres sources de pollution dans les cours d'eau : d'où proviennent exactement ces sources de pollution? Et de quelle(s) origine(s) sont-elles : humaines ou animales?

Pour répondre à ces questions, l'OBVT a mandaté la Fondation Rivières pour réaliser un dépistage des sources de contamination mené de l'aval vers l'amont afin de caractériser et de circonscrire les sources de contamination. Ainsi, à l'automne 2020, la Fondation Rivières s'est déplacée au Témiscamingue avec un appareil ColiMinder (Figure 1 et Figure 2). L'appareil utilise une technologie innovante qui permet de détecter la contamination fécale de l'eau en temps presque réel. Cet appareil a été fourni par l'équipe du Centre de recherche, développement et validation des technologies et procédés de traitement des eaux (CREDEAU) de Polytechnique Montréal.

Objectifs

Le but de ce projet était de dépister et caractériser les sources de contamination fécale sur le territoire de l'OBVT afin de déterminer les actions correctives prioritaires à apporter à cette problématique.

Les objectifs de l'étude consistaient à :

1. Dépister les principales sources de pollution fécale dans la rivière à la Loutre, la Petite rivière Blanche et le ruisseau Paquin, tributaire de la rivière à la Loutre;
2. Localiser les sources de contamination fécale afin de permettre à l'OBVT d'établir ses priorités d'intervention;
3. Caractériser (discriminer) l'origine de la contamination fécale.

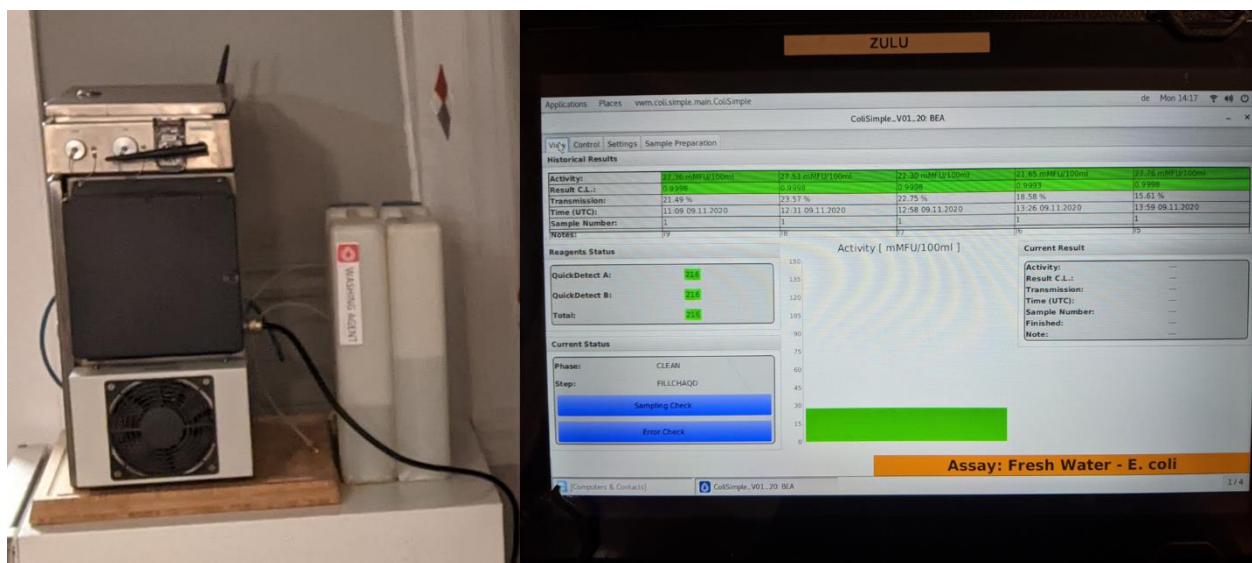


Figure 1 : Appareil ColiMinder utilisé au Témiscamingue



Figure 2 : Prise d'échantillons dans les cours d'eau tributaires de la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche

2. Méthodologie

Les campagnes d'échantillonnage ont eu lieu du 7 au 11 novembre 2020 sur les bassins versants de la rivière à la Loutre et de la Petite rivière Blanche en périphérie de Ville-Marie au Témiscamingue. Durant cette période, 68 sites ont été échantillonnés et analysés à l'aide du ColiMinder.

La Fondation Rivières, l'OBVT et le laboratoire du Professeur Richard Villemur de l'INRS - Centre Armand-Frappier Santé et Biotechnologie ont collaboré au projet. La Fondation Rivières opérait l'appareil ColiMinder, l'OBVT réalisait les activités terrain et l'INRS a réalisé des analyses qPCR pour 13 sites et a effectué un dénombrement bactériologique des coliformes fécaux pour 67 échantillons.

Avant la campagne terrain, les principales sources de contamination potentielles avaient été documentées afin de cibler les endroits d'échantillonnage. Ces sources potentielles de contamination incluaient les maternités porcines, les champs où le purin y est épandu, les réseaux d'égouts municipaux et les ouvrages d'assainissement municipaux.

Il était prévu faire deux jours de prélèvements par temps sec et deux jours après un événement de pluie. Toutefois, entre le 7 et le 11 novembre 2020, seulement une faible pluie de 2,6 mm est tombée.

Le tableau suivant présente les conditions météorologiques les jours précédant l'échantillonnage et durant la période d'échantillonnage. En date du 3 novembre, un total de 5 cm de neige était accumulé à la station météorologique de Ville-Marie. Un ruissellement dû à la fonte de cette neige a été constaté par la chargée de projets de l'OBVT au premier jour d'échantillonnage, soit le 7 novembre 2021. Des conditions semblables étaient observables à la station de Belleterre, située à 60 km à l'est de la station de Ville-Marie. Une accumulation de neige de 2 cm est restée au sol jusqu'au 4 novembre à cette station.

Tableau 1 : Précipitation et neige au sol pour la période de l'étude (station météorologique de Ville-Marie)

Date	Précipitation			Neige au sol (cm)
	Pluie (mm)	Neige (mm)	Total (mm)	
2020-11-01	5,0	2,0	7,0	2
2020-11-02	0,0	3,0	3,0	5
2020-11-03	0,0	1,0	1,0	5
2020-11-04	0,0	0,0	0,0	0
2020-11-05	0,0	0,0	0,0	0
2020-11-06	0,0	0,0	0,0	0
2020-11-07	0,0	0,0	0,0	0
2020-11-08	0,0	0,0	0,0	0
2020-11-09	0,0	0,0	0,0	-
2020-11-10	2,6	0,0	2,6	0
2020-11-11	0,0	0,0	0,0	0

Tiré de : MELCC, 2020

Une pluie beaucoup plus importante était prévue durant la semaine de déplacement de la Fondation Rivières au Témiscamingue. Par contre, considérant les conditions météorologiques, nous avons augmenté le nombre d'échantillons en temps sec sur la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche. De plus, quatre sites ont été ajoutés sur le ruisseau Abbica. Au total 70 échantillons ont été analysés à l'aide du ColiMinder. Sur ce nombre, 67 ont fait l'objet d'un dénombrement bactériologique et 13 échantillons ont fait l'objet d'une analyse moléculaire.

ColiMinder

Le ColiMinder (VWM Solutions, Autriche) est un appareil permettant de mesurer de manière automatisée l'activité β -D-glucuronidase (GLUC), en moins de 15 minutes, suivi d'un cycle de nettoyage de 10 minutes. Chaque échantillon de 6,5 ml d'eau est mélangé à des réactifs afin de permettre la mesure de la fluorescence émise par le 4-méthylumbellifère. Le signal est ensuite mesuré en volts par seconde et transformé en Modified Fishman Units par 100 ml (MFU/100ml), reflétant l'activité GLUC. Pour plus d'information sur le fonctionnement de l'appareil, se référer à Cazals et al., 2020 et Koschelnik et al., 2015.

Plusieurs études récentes tendent à montrer que les enzymes analysées par le ColiMinder sont plus persistantes dans l'environnement que les *E. coli* cultivables mesurés lors de dénombrement de contamination par la méthode traditionnelle (UFC/100ml) (Burnet et al., 2019; Cazals et al., 2020) tel que cela a été démontré plus tôt en laboratoire par d'autres groupes utilisant une méthode enzymatique manuelle (Servais et al., 2009). Le processus d'analyse enzymatique qu'utilise le ColiMinder détecte ainsi la somme des *E. coli* cultivables et non cultivables. Ainsi, lorsque nous sommes face à une contamination plus ancienne, la détection des enzymes est plus importante comparativement aux seuls *E. coli* cultivables puisqu'elles sont plus persistantes dans l'environnement. Cette contamination plus ancienne peut provenir par exemple d'un relargage des réseaux d'égout lors de pluies importantes, d'un ruissellement des terres agricoles suite à l'épandage de matière organique ou de rejets d'eaux usées traitées exposées au rayonnement ultraviolet, qu'il soit solaire ou par réacteur.

Ainsi, la corrélation entre les *E. coli* et l'activité GLUC sera influencée par l'ancienneté de la contamination fécale : plus la contamination est ancienne, moins il y a d'*E. coli* cultivables et plus l'écart sera grand entre la mesure en dénombrement en laboratoire et la mesure de l'activité GLUC.

Dans le cas des traitements de désinfection par rayonnement ultraviolet des eaux usées, la mesure enzymatique pourrait même être plus juste. Ce traitement produit des *E. coli* non cultivables qui peuvent être réactivés métaboliquement dans le milieu récepteur et ils seront détectés par le ColiMinder grâce à l'activité enzymatique des *E. coli* toujours présents.

Le dénombrement des unités formant colonies (UFC) d'*E. coli* est la méthode couramment utilisée pour déterminer la qualité microbiologique des eaux et un risque accru d'exposition à des microorganismes pathogènes, même si une partie de ces bactéries n'est pas cultivable et ne sera donc pas détectée. Puisque le ColiMinder mesure, grâce à l'activité GLUC, la présence des *E. coli* cultivables et non cultivables, il est considéré comme un moyen complémentaire, rapide et sensible pour indiquer la présence potentielle de pathogènes dans l'eau.

Les marqueurs moléculaires dans un contexte de « fecal source tracking »

La technologie qPCR avec le SYBRGreen® a été utilisée pour rechercher et quantifier les marqueurs moléculaires d'intérêts pour tracer les sources de contaminations fécales. Les marqueurs recherchés sont les suivants :

a. Les *Bacteroidales*

Les *Bacteroidales* sont un ordre de bactéries anaérobies strictes qui habitent naturellement les édifices gastro-intestinaux des êtres humains et des animaux (bactéries commensales).

- Le marqueur moléculaire *Bacteroidales* du genre humain (Hf183) : *Bacteroides dorei*, a été recensé comme étant le plus robuste à ce jour pour détecter des contaminations fécales d'origine humaine.

b. L'ADN mitochondrial

La mitochondrie est un organite essentiel au fonctionnement des cellules eucaryotes qui dispose de son propre génome. Certaines régions de ce génome sont variables et hautement spécifiques à l'hôte, favorisant le développement de méthode dans l'identification des sources de contaminations fécales dans l'environnement.

- Le marqueur mtDNA Ahu : gène spécifique à l'ADN mitochondrial. Marqueur d'une contamination fécale d'origine humaine.
- Le marqueur mtDNA Bo : gène spécifique à l'ADN mitochondrial Bovin présent dans les cellules eucaryotes des bovins. Marqueur d'une contamination fécale d'origine bovine.
- Le marqueur mtDNA Po : gène spécifique à l'ADN mitochondrial Porcin présent dans les cellules eucaryotes des porcins. Marqueur d'une contamination fécale d'origine porcine.

(Voir Annexe A pour plus d'informations)

Traitement et interprétation des données

Les données brutes du ColiMinder ont été montées sur Excel et elles ont servi d'assise à la compilation des autres données de l'étude.

Les mesures complémentaires couplées au suivi ColiMinder comprennent :

1. le dénombrement de coliformes fécaux (fait par l'INRS);
2. les précipitations à la station météorologique de Ville-Marie (MELCC, 2020);

De plus, une interprétation spatiale des données a pu être réalisée puisque chaque échantillon était géolocalisé. Cette visualisation des données a été réalisée à l'aide d'un système d'information géographique (QGIS). Cela a permis une meilleure compréhension des facteurs qui auraient pu influencer la dégradation de la qualité de l'eau.

Les données utilisées sont :

- Les résultats des échantillons terrain (activité GLUC, UFC/100ml, analyse qPCR);
- Les cours d'eau — Géobase du réseau hydrographique du Québec (GRHQ);
- L'emplacement des émissaires des stations d'épuration et des ouvrages de surverse;
- L'emplacement des maternités porcines sur le territoire de l'OBVT;
- L'utilisation du territoire (anthropique, agricole, milieu naturel, etc.).

Limites de l'étude

L'appareil ColiMinder peut traiter deux échantillons à l'heure, ce qui permet de faire un maximum de 20 échantillons par jour de travail.

Bien que l'utilisation des marqueurs mitochondriaux comme traceurs de contaminations fécales dans l'environnement est fort prometteuse, d'autres essais doivent être effectués pour valider la méthode. Les dernières études et revues scientifiques sur la persistance de l'ADN mitochondrial dans l'environnement mentionnent un manque de connaissances sur les facteurs environnementaux impactant sa dégradation. D'autres investigations ont testé l'occurrence et la sensibilité de l'ADN mitochondrial dans l'environnement et sa corrélation avec les différents indicateurs de contaminations fécales, challenges complexes nécessitant une importante base de données pour comprendre ses dynamiques. L'ADN mitochondrial peut être présent dans l'environnement à de plus faibles concentrations sans qu'il ne soit lié aux contaminations fécales, par exemple via les cellules de la peau lors de la baignade ou l'ingestion de produits animaliers. Pour que l'interprétation soit fiable, nous avons déterminé une limite de détection (LOD) pour chaque marqueur moléculaire avec des blancs procéduraux réalisés à partir de différents types d'eau non-contaminées par les matières fécales et à différents stades de l'analyse (du prélèvement à la quantification). Ainsi, un marqueur inférieur à sa LOD déterminée est considéré comme étant présent, mais pas à l'origine d'une contamination fécale de l'eau.

3. Présentation de la zone à l'étude

La zone à l'étude est située tout près de Ville-Marie, au Témiscamingue. Elle comprend les bassins versants de la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche, ainsi que le ruisseau Abbica (Figure 3).

Nous retrouvons cinq stations d'épuration dans ce périmètre, soit :

- Sur la rivière à la Loutre : Laverlochère, Lorrainville et Saint-Eugène-de-Guigues
- Sur la Petite rivière Blanche : Béarn
- Sur le ruisseau Abbica : Saint-Bruno-de-Guigues

De plus, un réseau d'égouts sans station d'épuration est présent à Fugèreville sur un tributaire de la rivière à la Loutre.

La Figure 3 illustre également les stations d'épuration des eaux usées, les différents ouvrages de surverse ainsi que les sites de maternités porcines présents sur le territoire.

La zone d'étude se caractérise par une occupation du sol de 61 % en milieu forestier (dont 5 % de coupe et régénération), 33 % à des fins agricoles (dont 1 % de sol dénudé), de 1 % en milieu anthropique (milieu urbain, route, etc.) et de 5 % en milieux humides ou hydriques (Figure 4). Ces données ont été tirées à l'aide d'un système d'information géographique des données d'utilisation du territoire 2017 du MELCC.

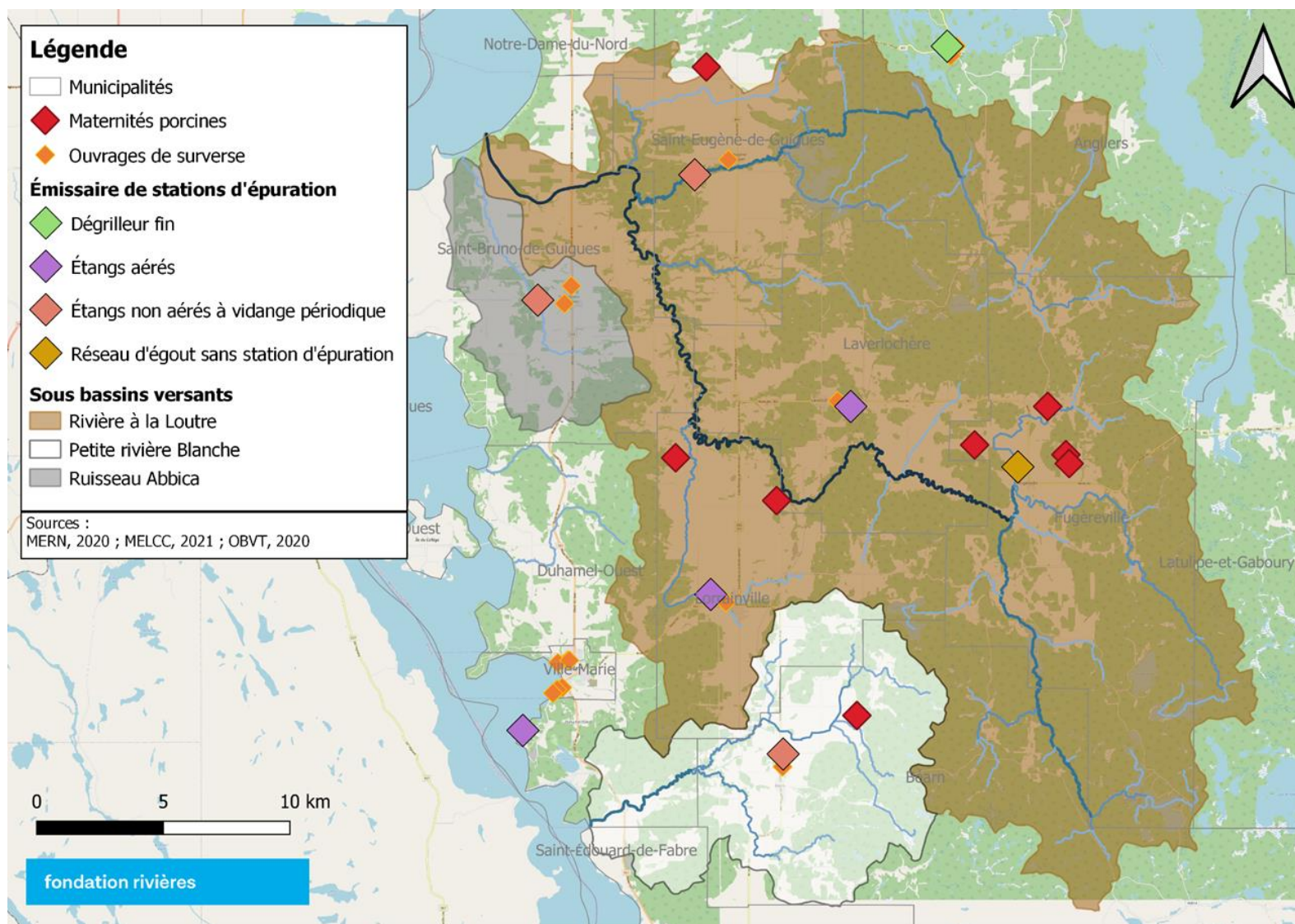


Figure 3 : Bassin versant de la Rivière à la Loutre, de la Petite rivière Blanche et du ruisseau Abbica

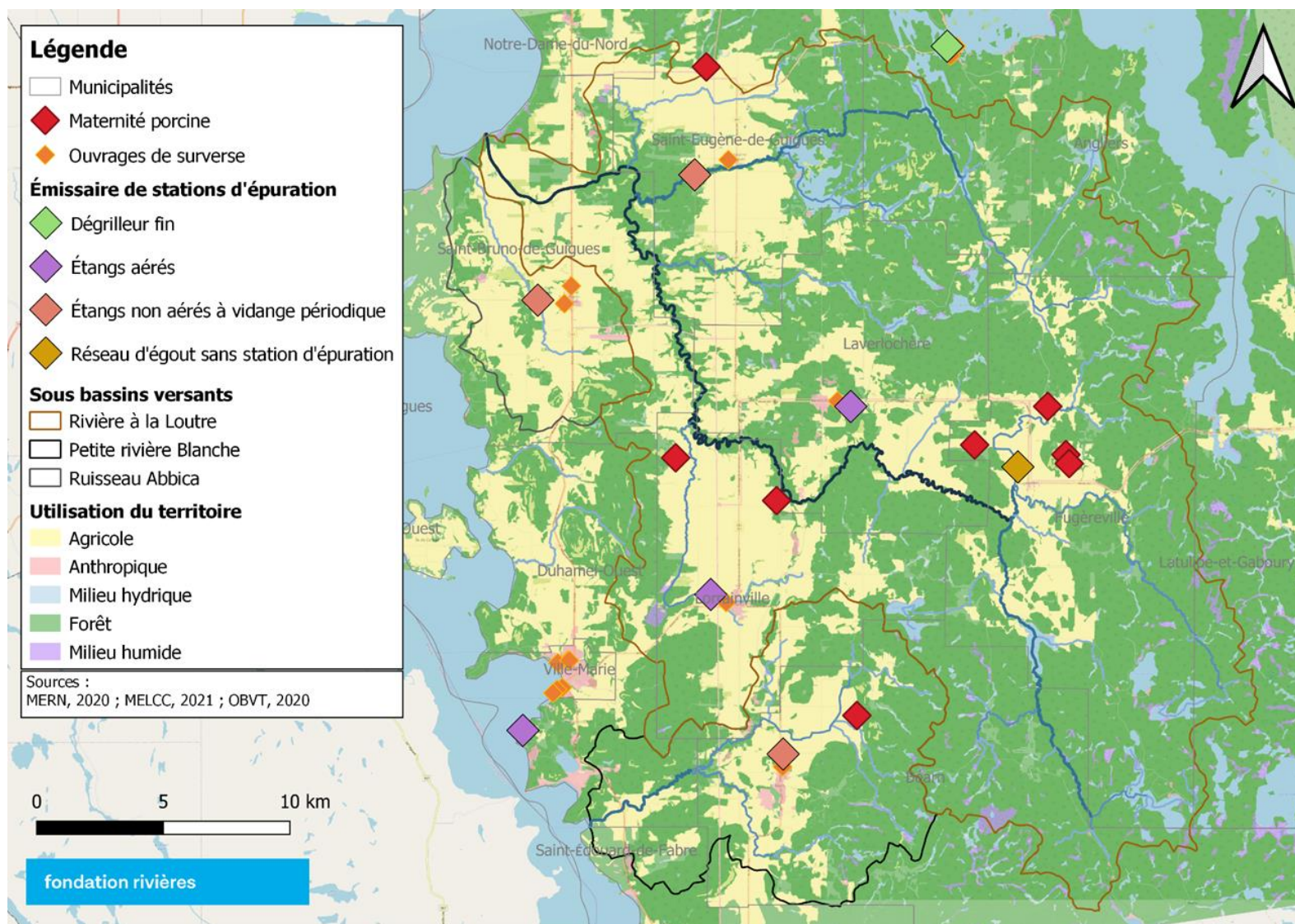
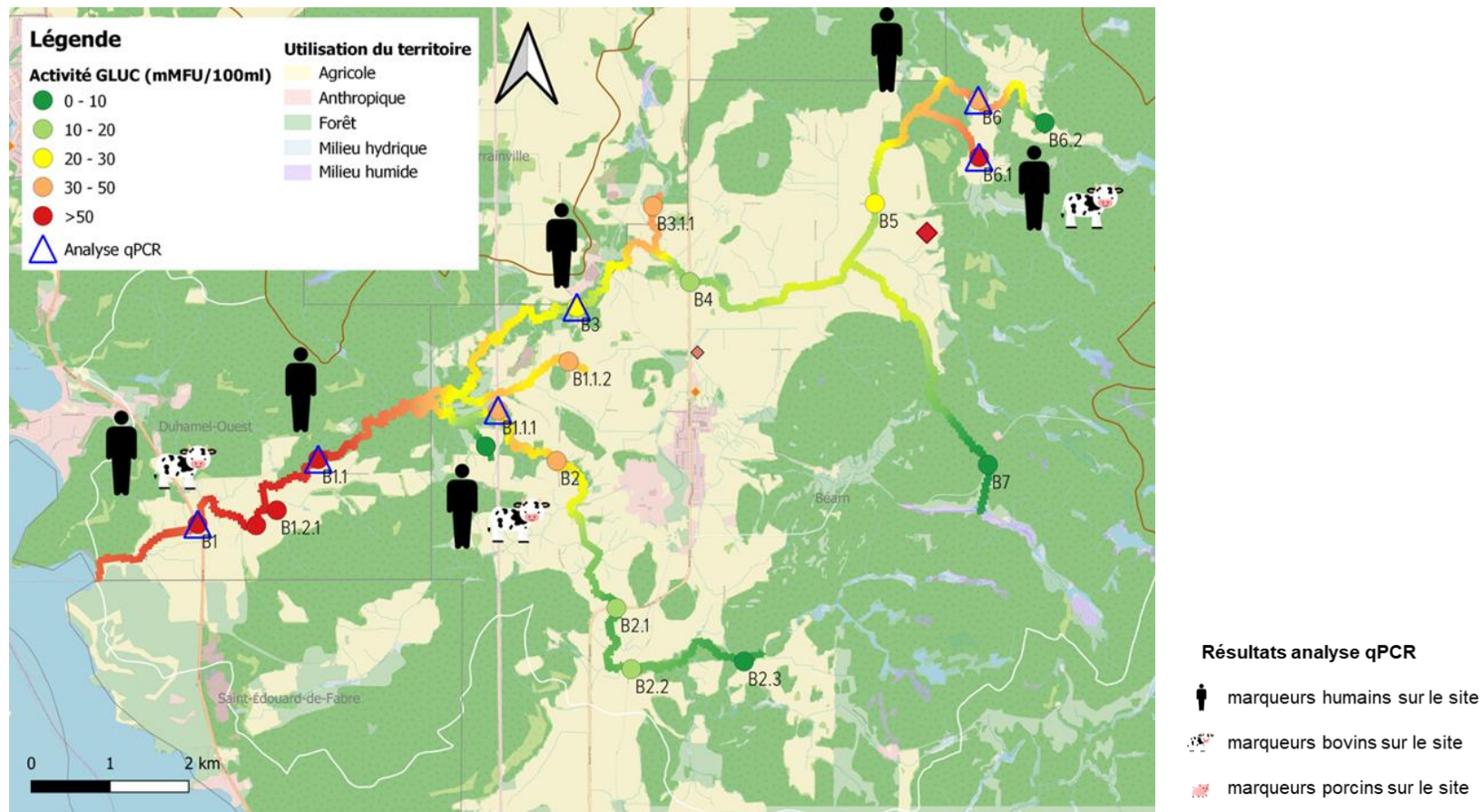


Figure 4 : Utilisation du territoire de la zone à l'étude

4. Résultats

L'ANNEXE B présente les résultats par date et pour chaque site d'échantillonnage.

Petite rivière Blanche (figure 5)



Secteur aval de la rivière

Les résultats d'activité GLUC les plus élevés sur la Petite rivière Blanche se trouvent à l'exutoire de la rivière au point **B1**, **B1.1**, **B1.2** et **B1.2.1** (figure 6). Ces résultats ont été obtenus durant plusieurs journées d'échantillonnage, soit le 7, 10 et 11 novembre 2020. (Annexe B)

Les échantillons **B1**, et **B1.1**, **B1.1.1**, **B3** ont été analysés par qPCR. Les concentrations du *Bacteroidales* humain sont significativement importantes aux sites **B1**, **B1.1** et **B3**, et présentes au site **B1.1.1** en amont (Figure 6). En revanche les concentrations de l'ADN mitochondrial humain sont relativement faibles aux sites **B1**, **B1.1**, **B3** et **B1.1.1** (Figure 6). La présence d'ADN mitochondrial bovin a été détectée à la hausse le 7 novembre au site **B1**, et le 11 novembre au site **B1.1.1**.

Ainsi, les résultats obtenus montrent des pressions d'origines humaines et bovines autour de la Petite rivière Blanche, qui expliqueraient en partie la contamination fécale détectée en aval au site B1. Les pressions humaines pourraient provenir d'installations septiques individuelles, des étangs non aérés à vidange périodique de Béarn, ou de surverses. Les pressions bovines pourraient provenir de ruissellement provenant des terres agricoles dû à la fonte des neiges (7 novembre), d'épandages agricoles, de fermes laissant leurs animaux près des cours d'eau, etc.

La vidange des étangs non aérés à vidange périodique de Béarn a débuté un peu avant le 2 novembre et pris fin un peu après le 9 novembre 2020. Ceci pourrait être une des causes de la contamination fécale humaine à cette période et de la détection de marqueurs humains sur le bassin versant de la Petite rivière Blanche.

Aucune trace de contamination porcine n'a été détectée pour les sites de la Petite rivière Blanche.

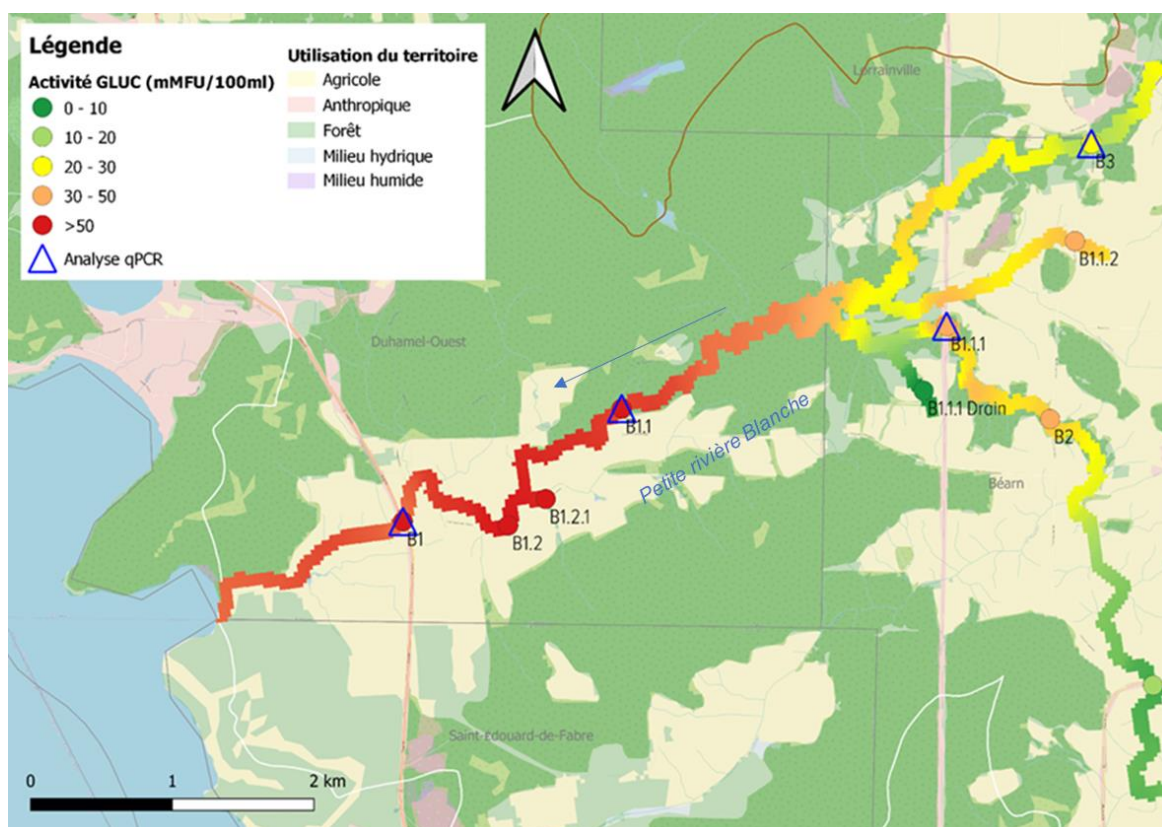


Figure 6 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du secteur aval de la Petite rivière Blanche

Secteur amont de la rivière (figure 7)

Une anomalie dans les résultats de l'activité GLUC a été détectée au site **B6.1**. Ce site se trouve en aval de terres agricoles. Ainsi, la contamination bactériologique détectée par le ColiMinder pourrait être due au ruissellement agricole. Une autre hypothèse serait la présence d'étangs à castors dans le secteur forestier en amont des terres agricoles.

Les analyses moléculaires montrent des pressions humaines au site **B6** et **B6.1**, et une pression bovine légèrement plus importante au site **B6.1** comparativement au site **B6**, ce qui pourrait indiquer un ruissellement des terres agricoles.

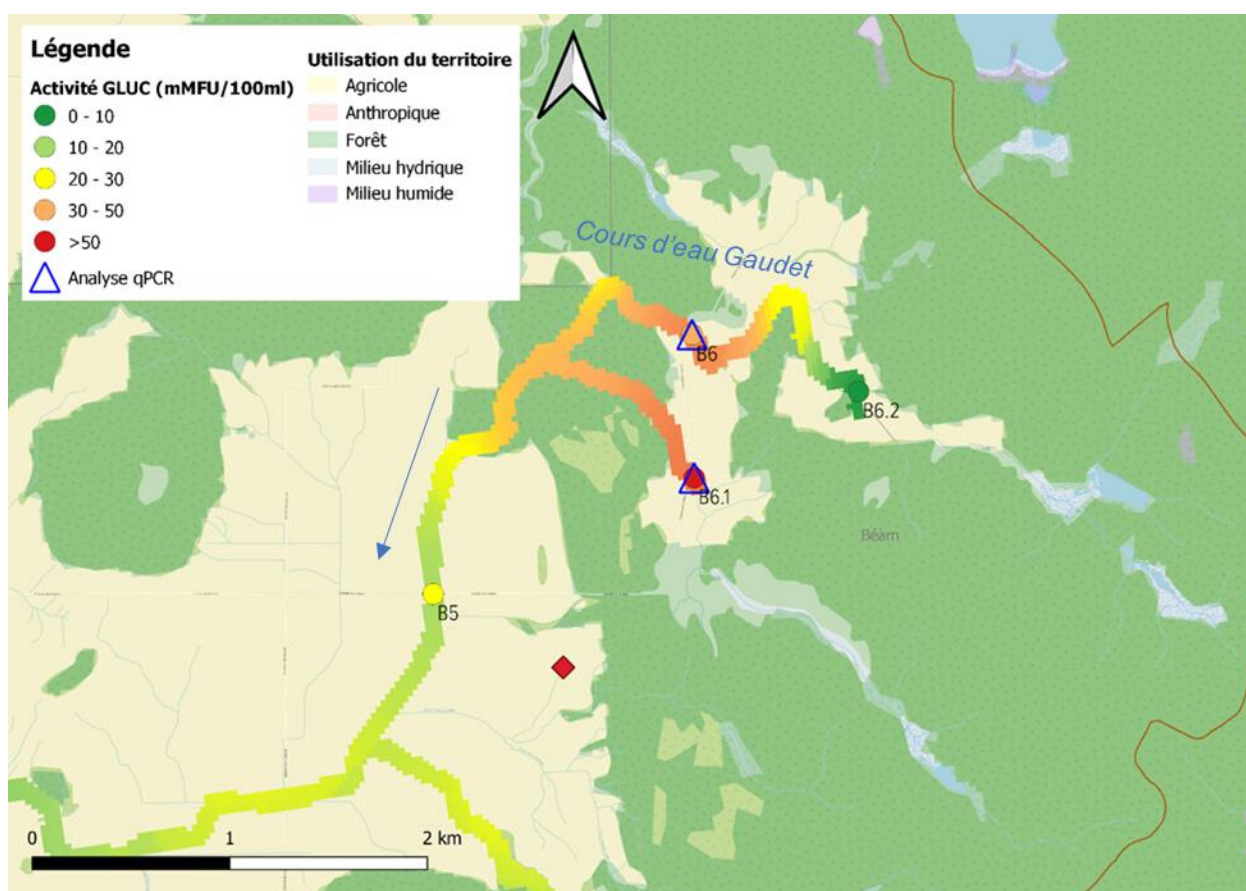


Figure 7 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du secteur amont de la Petite rivière Blanche

Rivière à la Loutre et ses tributaires (figure 8)

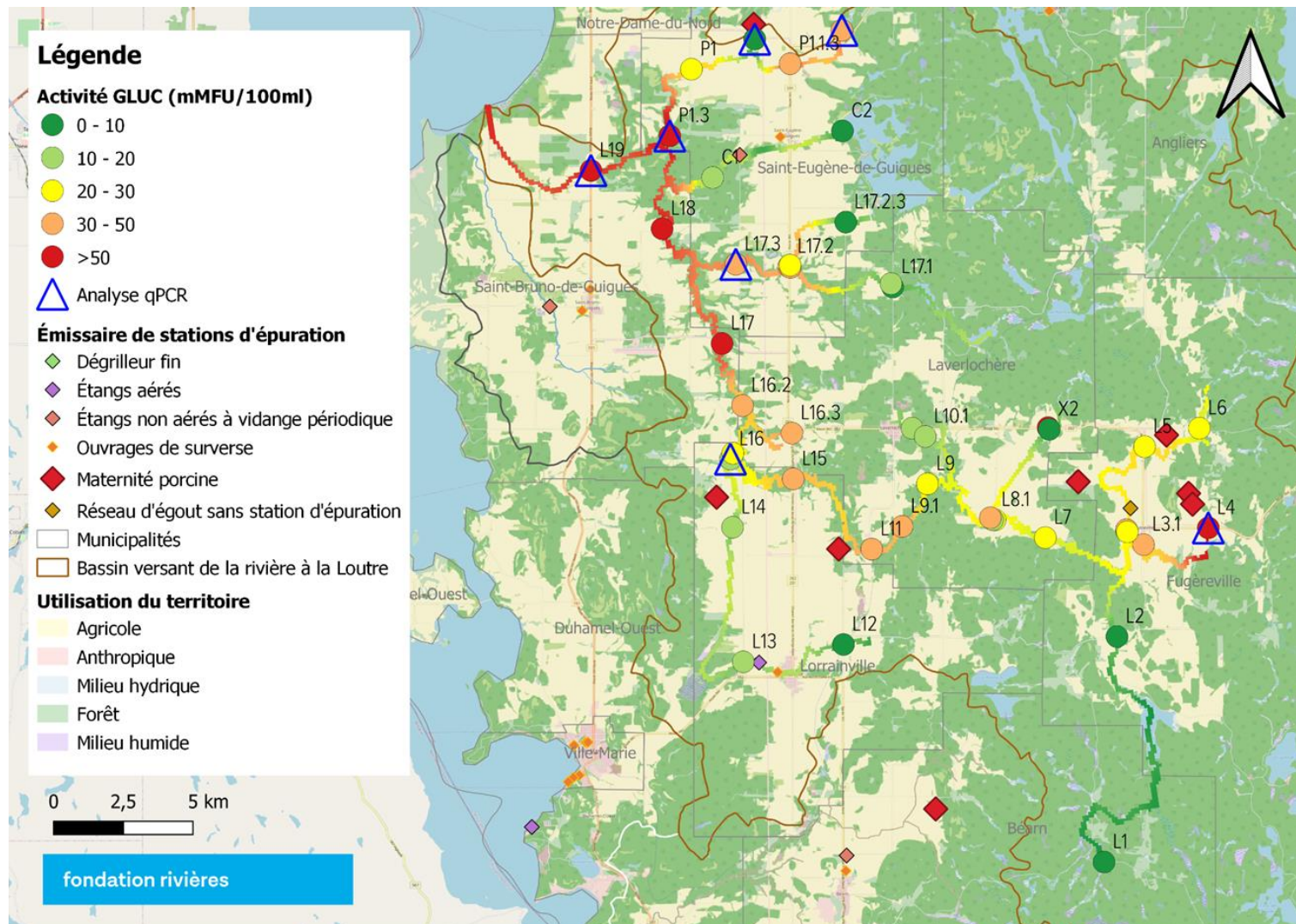


Figure 8 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau des tributaires principaux de la rivière à la Loutre

Suite à l'analyse de l'activité GLUC sur la rivière à la Loutre, trois tronçons semblent plus problématiques, soit l'exutoire de la rivière à partir de la Montée Gauthier (L17), le ruisseau Paquin (P1.3) et le cours d'eau Bastien (L17.3). L'analyse du dénombrement bactériologique ajoute à ces problématiques le secteur de Fugèreville (L3.3 et L3.4).

Un point isolé à mentionner est le site L4, en amont de la rivière, à proximité d'une maternité porcine, et avec une activité GLUC élevée. L'ADN mitochondrial bovin a été détecté aux limites de détection et une trace d'ADN porcin en faible quantité (le seul des 13 sites analysés par la méthode qPCR).

Des sept analyses qPCR réalisées sur la rivière à la Loutre, quatre (L16, L17.3, L19 et P1.3) sont situés à l'exutoire d'un tributaire important et permettent de caractériser l'ensemble du tributaire. Les exutoires des tributaires Bastien (L17.3) et Dumais (L16) ainsi que l'exutoire de la rivière à la Loutre (L19) révèlent une présence humaine.

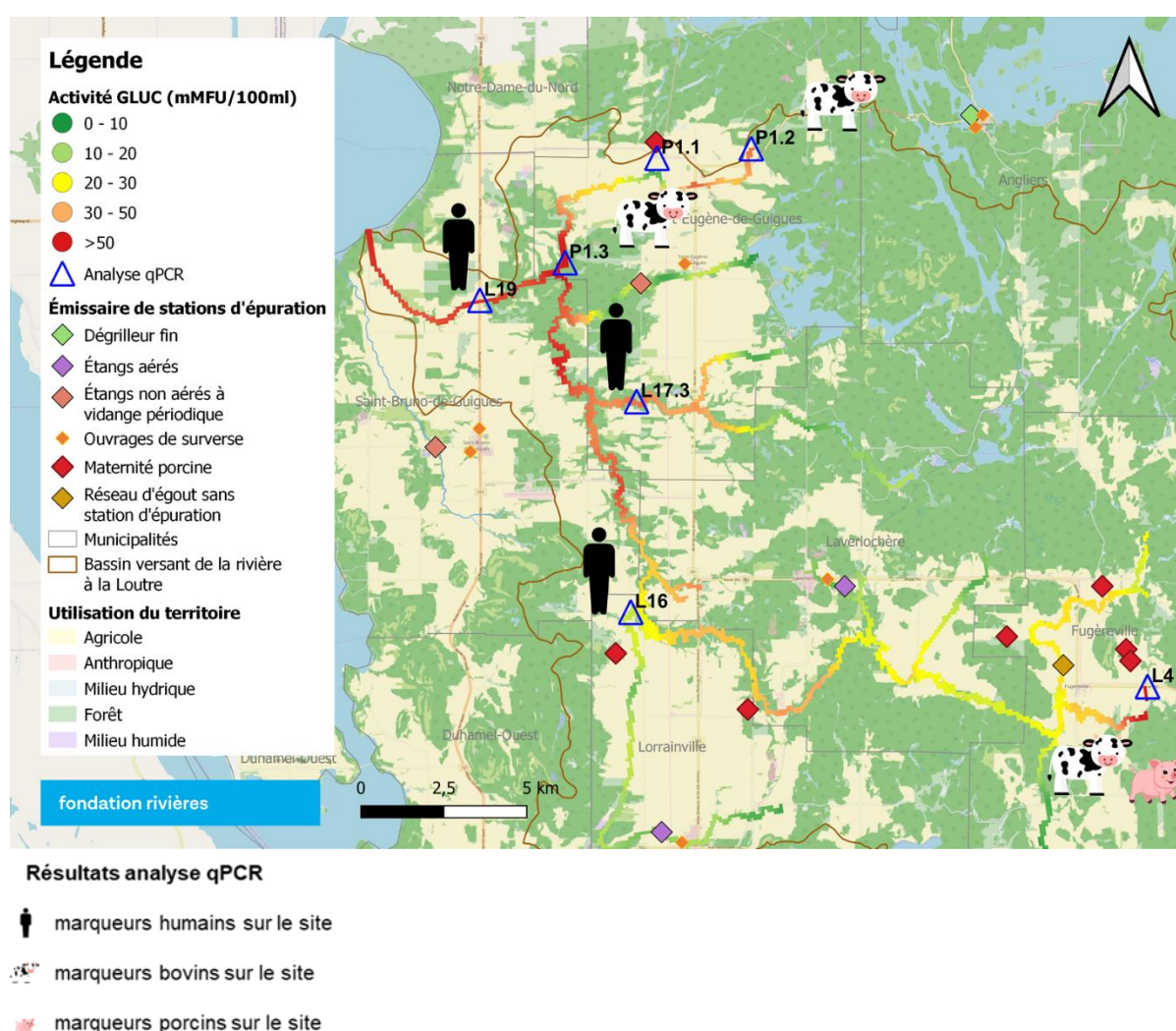


Figure 9 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau des tributaires principaux de la rivière à la Loutre et les sources de contamination

Secteur aval de la rivière

La présence du marqueur *Bacteroidales* humain au site **L19** (exutoire) indique un apport de coliformes fécaux potentiellement d'origine humaine à la rivière à la Loutre. Ces eaux contaminées pourraient provenir des ouvrages d'assainissement municipaux du bassin versant de la rivière à la Loutre, des réseaux d'égouts ou des installations septiques individuelles défaillantes. Il est possible de présumer que cette contamination s'exacerbe par temps de pluie lors de déversements aux ouvrages de surverses.

Ruisseau Paquin (figure 10)

Les deux analyses moléculaires concluantes (**P1.2** et **P1.3**) sur le ruisseau Paquin ont permis d'identifier la présence d'ADN mitochondrial bovin, en particulier pour **P1.3**, et aucun marqueur humain.

Les analyses moléculaires de la station **P1.1** n'ont pas révélé de contamination humaine ou animale (bovine et porcine).

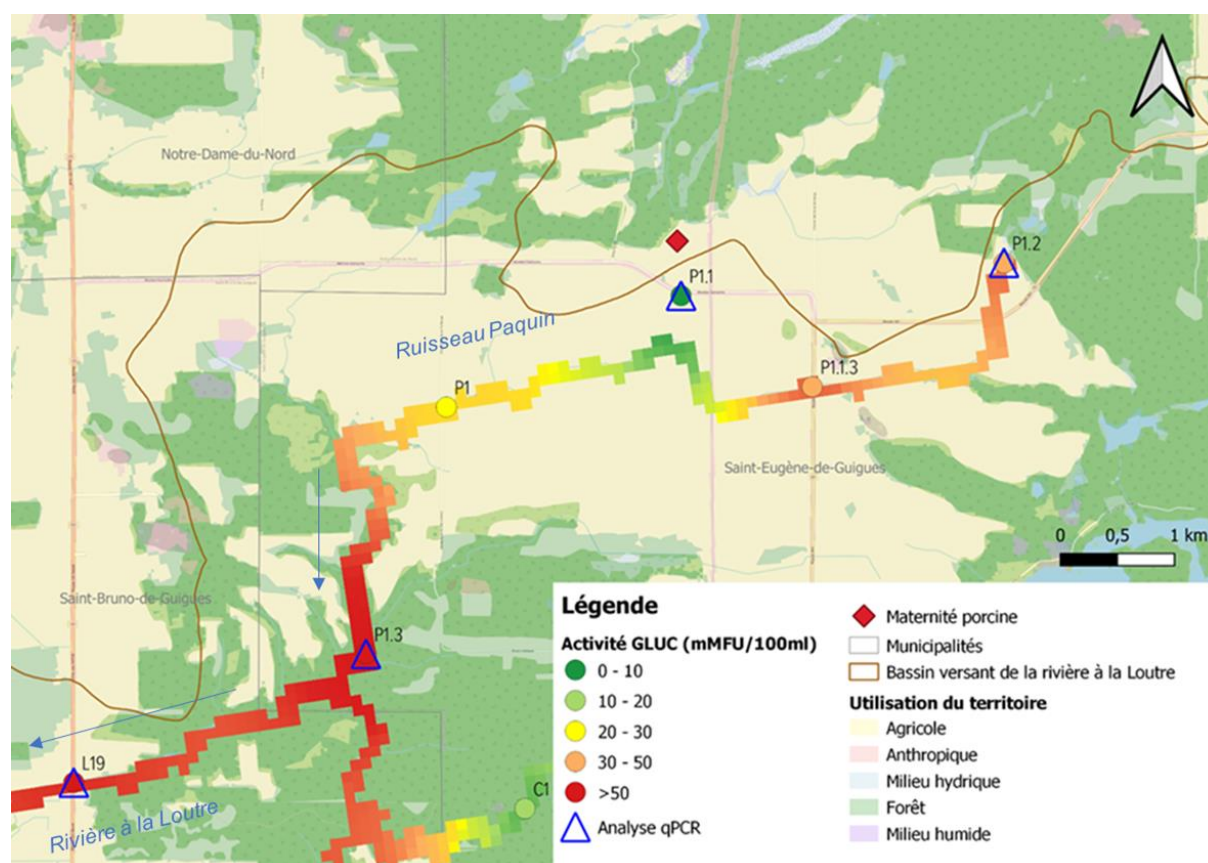


Figure 10 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du ruisseau Paquin

Cours d'eau Bastien (figure 11)

Les analyses moléculaires du cours d'eau Bastien (L17.3) montrent une pression d'origine humaine par le *Bacteroidales* humain. Cette zone ne comporte aucune station d'épuration donc, les installations septiques individuelles défaillantes pourraient être à l'origine de ces pressions dans le sous-bassin versant.

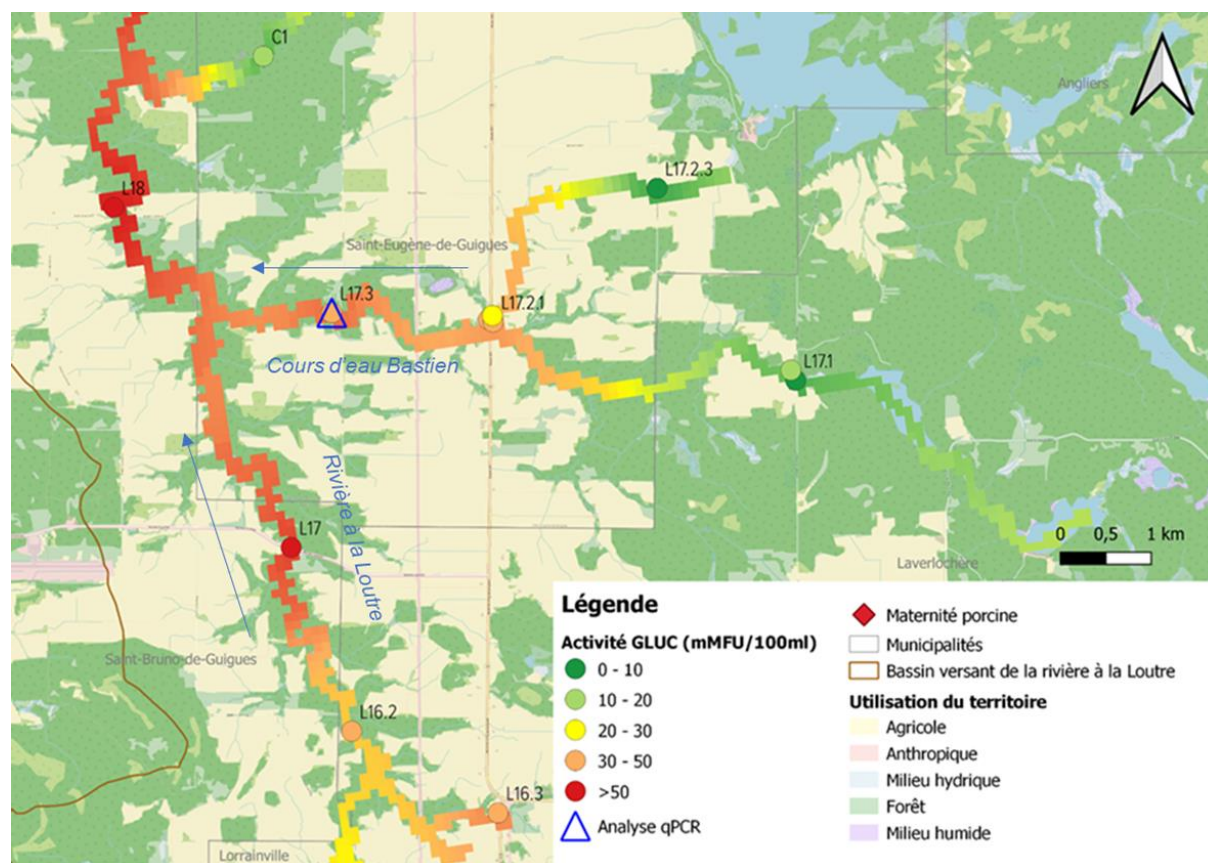


Figure 11 : Représentation par interpolation de la qualité de l'eau du cours d'eau Bastien

Fugèreville (figure 12)

Le site L3.1 dans la rivière Laverlochère affiche des concentrations entre sous les 100 UFC/100mL. Comparativement, la contamination aux sites L3.3 et L3.4, en aval, affiche des concentrations indénombrables (> 1000 UFC/100mL). Cela suggère qu'il y a une source de contamination fécale entre les sites L3.1 et L3.3. La contamination ne semble pas provenir du ruisseau Evelyn (L3 et L3.2). L'hypothèse de cette contamination est l'émissaire de rejet du système d'égout sans traitement de la municipalité de Fugèreville.

Selon le Plan directeur de l'eau (PDE) de l'OBVT (2013), le réseau d'égout sans traitement de Fugèreville dessert une population de 207 habitants correspondant à un débit d'environ 61 m³/j.

Par contre, toutes les municipalités de la province qui exploitent un réseau d'égouts devaient aménager une station d'épuration avant le 31 décembre 2020. Ainsi, la municipalité de Fugèreville est non-conforme selon le Règlement sur les ouvrages municipaux d'assainissement des eaux usées (Q-2, r.34.1) depuis le 1er janvier 2021, selon l'article 30 :

« Malgré l'article 5, l'exploitant d'un réseau d'égout domestique, pseudo-domestique ou unitaire, qui le 11 janvier 2014 n'est pas relié à une station d'épuration, peut poursuivre l'exploitation de son réseau. **Il doit toutefois aménager une station d'épuration reliée à son réseau au plus tard le 31 décembre 2020.**

Entre-temps, il doit transmettre au ministre un plan d'action sur les mesures à prendre pour se conformer aux normes prévues aux paragraphes 1 et 2 du premier alinéa de l'article 6 et un calendrier de mise en œuvre de ces mesures au plus tard le 31 décembre 2015. Il est tenu de les conserver dans le registre prévu à l'article 14. »

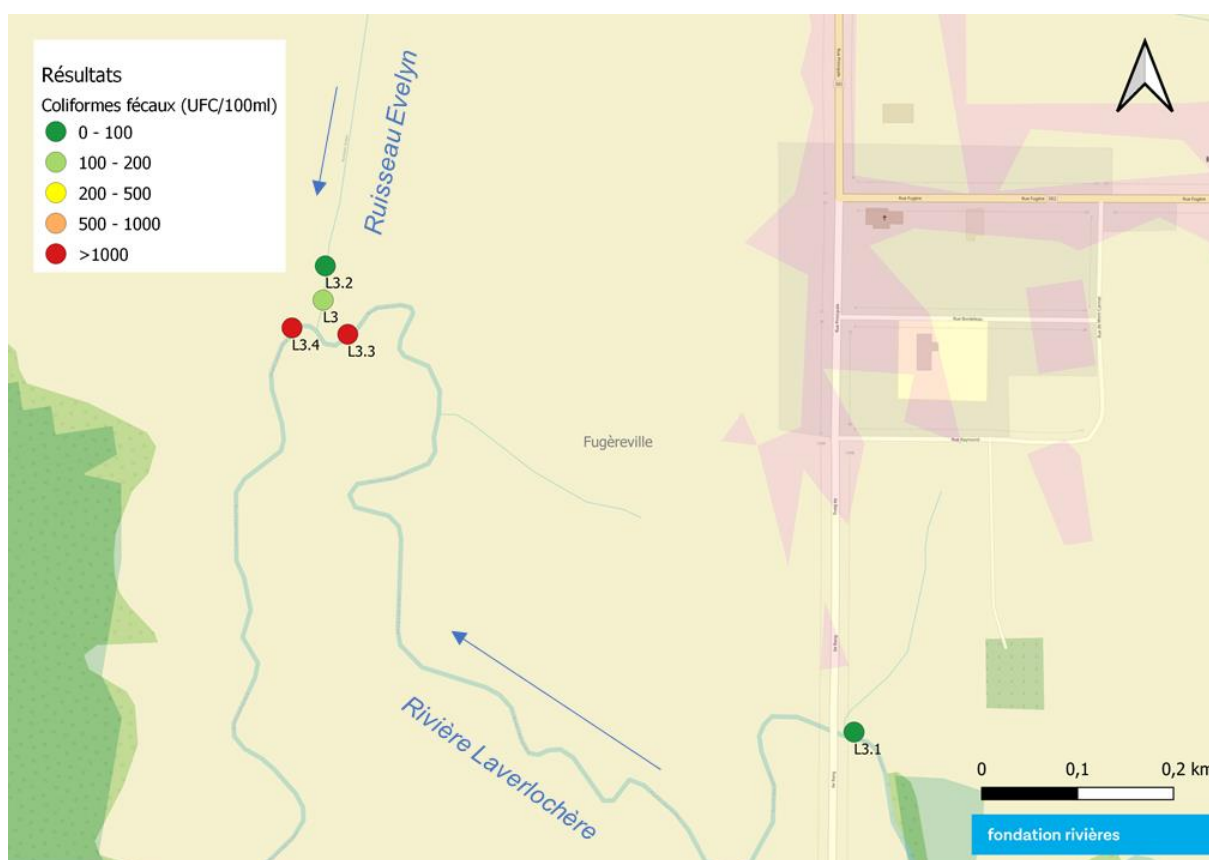


Figure 12 : Qualité de l'eau dans le secteur de Fugèreville

Ruisseau Abbica (figure 13)

L'activité GLUC du ruisseau Abbica est généralement stable avec une différence de 10,8 mMFU/100ml entre les quatre sites d'échantillonnage amont et aval. Une légère dégradation de la qualité bactériologique de l'eau est donc observée entre l'amont (A4) et l'aval (A1) de la rivière. Le dénombrement bactériologique est beaucoup plus important au site près de l'exutoire de la station d'épuration. Selon les données fournies par le Ministère, la vidange des étangs non aérés à vidange périodique de Saint-Bruno-de-Guigues aurait débuté avant le 4 novembre 2020 et se serait terminée après le 11 novembre 2020. Les résultats de coliformes fécaux à l'effluent de la station

étaient de 2000 UFC/100ml le 4 novembre et de 7000 UFC/100ml le 11 novembre. La vidange des étangs explique le résultat bactériologique élevée obtenue le 9 novembre 2020.

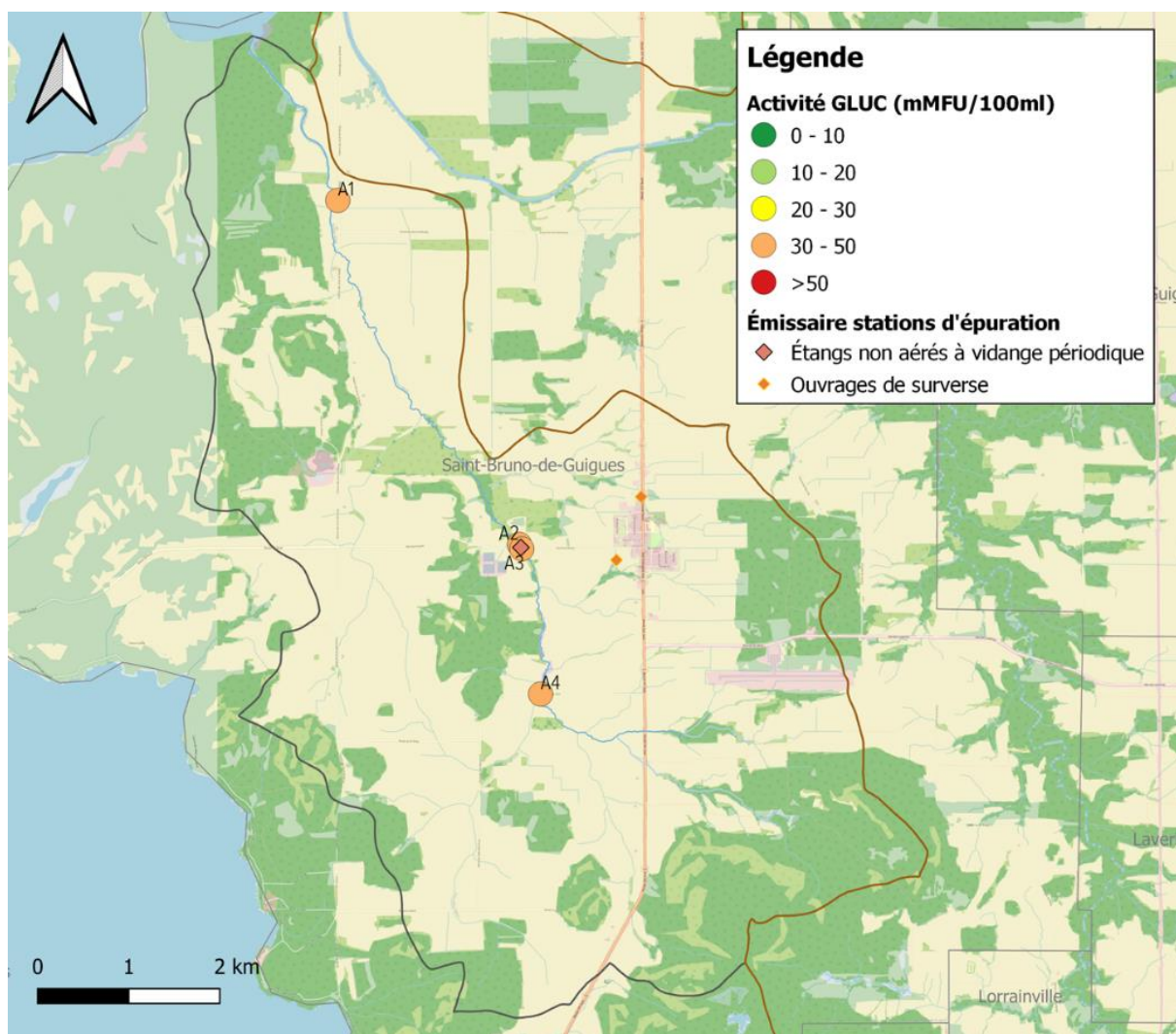


Figure 13 : Résultats de la qualité de l'eau du ruisseau Abbica au 9 novembre 2020

5. Recommandations

Suite à l'analyse de l'activité GLUC, du dénombrement bactériologique et des analyses qPCR, la Fondation Rivières propose cinq actions prioritaires à mettre en place sur le territoire des bassins versants de la Petite rivière Blanche et la rivière à la Loutre.

1. Mettre en place un système de traitement des eaux usées à la municipalité de Fugèreville;
2. Comparer les méthodes d'épandage afin de déterminer si l'injection de fertilisant dans le sol permettrait une diminution du ruissellement des contaminants vers les cours d'eau;
3. Caractériser les bandes riveraines agricoles afin d'avoir une meilleure connaissance de la problématique du ruissellement des terres agricoles;

4. Dresser un inventaire des installations septiques individuelles afin de vérifier leur conformité puisqu'il y a présence de contamination humaine important sur les bassins versants à l'étude;
5. Vérifier la performance des stations d'épuration municipales et des ouvrages de surverses.

Conclusion

Cette étude a permis d'identifier des sources de pollution des cours d'eau qui apparaissaient à priori menacés par certaines activités agricoles. Les résultats ont montré une contamination ou une pression importante dans certaines sections, essentiellement d'origine humaine ou d'origine bovine. Un seul échantillon a montré une faible présence porcine à proximité d'une maternité. L'étude permet ainsi à l'Organisme de bassin versant du Témiscamingue (OBVT) de prioriser certaines actions à entreprendre selon les nombreux résultats de caractérisation des sources de pollution.

Les activités anthropiques dans le bassin versant occasionnent une vulnérabilité de l'eau à diverses sources de contamination. La contamination bactériologique peut être due à plusieurs facteurs tels que des rejets provenant de systèmes d'assainissement défectueux ou absents, des réseaux d'égout défectueux, des installations septiques déficientes, des déversements aux ouvrages de surverses, le ruissellement de contaminants se trouvant sur les surfaces imperméabilisées et de terres agricoles lors d'évènement de pluie ou la présence d'animaux près des cours d'eau.

Il serait à l'avantage de toutes les municipalités sur le territoire de mettre en œuvre des actions afin de réduire la pollution dans le bassin versant. Sur les 13 analyses moléculaires, il a été déterminé que les sources de pollution les plus représentées sur le bassin sont humaines et bovines, une priorité des actions devrait être mise en place face à ce type de contamination afin d'améliorer la qualité de l'eau dans le bassin, par exemple en vérifiant la performance des stations d'épuration municipales et des réseaux d'égouts. De plus, une campagne de dépistage systématique auprès des citoyens possédant des installations septiques isolées permettrait de s'assurer du respect des normes.

Finalement, il serait intéressant de mettre en place des mécanismes pour limiter le ruissellement sur les terres agricoles, comme la végétalisation des berges, afin de réduire l'impact des pratiques d'épandage sur la qualité bactériologique des rivières, et aussi de l'érosion des sols.

Références

- Burnet, J. B., Sylvestre, É., Jalbert, J., Imbeault, S., Servais, P., Prévost, M., & Dorner, S. (2019). Tracking the contribution of multiple raw and treated wastewater discharges at an urban drinking water supply using near real-time monitoring of β -d-glucuronidase activity. *Water Research*, 164, 114 869.
- Cazals, M., Stott, R., Fleury, C., Proulx, F., Prévost, M., Servais, P., & Burnet, J. B. (2020). Near real-time notification of water quality impairments in recreational freshwaters using rapid online detection of β -D-glucuronidase activity as a surrogate for *Escherichia coli* monitoring. *Science of The Total Environment*, 720, 137303.
- Koschel'nik, J., Vogl, W., Epp, M., Lackner, M. (2015). Rapid analysis of β -D-glucuronidase activity in water using fully automated technology. *WIT Trans. Ecol. Environ.* 196, 471–481.
- Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC). (2020a). Accueil Portail des connaissances de l'eau. [En ligne]. <https://pce.eauquebec.gouv.qc.ca/Pages/Accueil.aspx>
- Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC). (2020 b). Banque de données sur la qualité du milieu aquatique (BQMA), Québec, Direction générale du suivi de l'état de l'environnement.
- Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC). (2020). Sommaire de données climatiques – Ville-Marie. [En ligne]. <https://www.environnement.gouv.qc.ca/climat/donnees/sommaire.asp>
- Servais, P., Prats, J., Passerat, J., Garcia-Armisen, T., 2009. Abundance of culturable versus viable *Escherichia coli* in freshwater. *Can. J. Microbiol.* 55, 905–909.
- Villarino, A., Bouvet, O., Regnault, B., Martin-Delautre, S., Grimont, P. (2000). Exploring the frontier between life and death in *Escherichia coli*: evaluation of different viability markers in live and heat- or UV-killed cells. *Res. Microbiol.* 151, 755–768.

ANNEXE A : Analyses moléculaires



RAGOT Rose, Etudiante au doctorat - rose.ragot@inrs.ca
VILLEMUR Richard, Directeur de recherche - richard.villemur@inrs.ca

Identification des sources de contaminations fécales dans les bassins versants de la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche en périphérie de Ville-Marie au Témiscamingue

Contexte du projet

Depuis plusieurs années, des maternités porcines se sont établies tout près de Ville-Marie au Témiscamingue. En collaboration avec l'entreprise Olymel, l'organisme de bassin versant du Témiscamingue (OBVT) a mis en place sept stations d'échantillonnage de la qualité de l'eau sur les cours d'eau avoisinants, soit la rivière à la Loutre, la Petite rivière Blanche et le ruisseau Paquin, tributaire de la rivière à la Loutre. Depuis cinq ans, huit échantillons sont prélevés à ces sept stations sous diverses conditions météorologiques. Les résultats de ces centaines d'échantillons indiquent une baisse significative de la qualité de l'eau selon divers paramètres analysés et comparativement aux résultats avant la mise en place des maternités porcines. L'impact des maternités porcines sur la qualité de l'eau des cours d'eau suscite des inquiétudes dans la population. Or, ce problème ne peut être analysé sans tenir compte des autres sources de pollution dans les cours d'eau : d'où proviennent exactement ces sources de pollution ? De quelle origine sont-elles : animales ou humaines ?

En collaboration avec la Fondation Rivières, l'INRS a tenté d'identifier les sources de contaminations fécales aux moyens techniques de biologie moléculaire faisant intervenir l'ADN mitochondrial hautement spécifique à l'hôte et abondant dans les matières fécales.

Les indicateurs microbiologiques de contamination fécale (FIB)

La notion de FIB fait référence à la recherche et au dénombrement de bactéries au réservoir uniquement ou majoritairement intestinal. Leur détection reflète une probabilité élevée de la présence de pathogènes dans ce même milieu. Les FIB sont des paramètres normés répondant au suivi microbiologique d'une eau comme le dénombrement des coliformes totaux, des coliformes fécaux et des entérocoques fécaux. Les coliformes sont des Entérobactéries comme *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. et *Citrobacter* spp., qui se retrouvent principalement dans l'intestin des êtres humains et des animaux. La contamination fécale de l'eau est confirmée par la recherche et la mise en évidence de coliformes fécaux. Ce sous-groupe au sein des coliformes, comprend principalement des bactéries de type *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Bien que ces FIB soient fiables, ils ne nous permettent pas de tracer la source de contamination fécale d'une eau.

Les marqueurs moléculaires dans un contexte de « fecal source tracking »

a. Les *Bacteroidales*

Les *Bacteroidales* sont des bactéries anaérobies strictes qui habitent naturellement les édifices respiratoires et gastro-intestinaux des êtres humains et des animaux (bactéries commensales). Les genres *Bacteroides* et *Prevotella* sont abondamment libérés dans les matières fécales. Certaines disposent d'un génome spécifique en fonction de leur hôte qui leur permettent de s'adapter. Ces marqueurs génétiques font l'objet de recherche et de développement de méthode en utilisant des techniques de biologie moléculaires. Le marqueur moléculaire *Bacteroidales* du genre humain (Hf183), *Bacteroides dorei*, a été recensé comme étant le plus robuste à ce jour pour détecter des contaminations fécales d'origine humaine.

b. L'ADN mitochondrial

La mitochondrie est un organite essentiel au fonctionnement des cellules eucaryotes. Chacune de ces cellules dispose de plusieurs milliers de mitochondries qui sont chargées de lui fournir de l'énergie (Thomas D. Pollard, 2017). Chaque mitochondrie dispose de son propre génome et ces dernières sont abondamment excrétées dans les matières fécales. Certaines régions de ce génome sont variables et hautement spécifiques à l'hôte, favorisant le développement de méthode dans l'identification des sources de contaminations fécales dans l'environnement.

1

Échantillonnage

Nous avons réalisé plusieurs prélèvements d'eau de surface du 07 Nov. 2020 au 11 Nov. 2020 sur le bassin versant du Témiscamingue aux abords de Ville-Marie.

Lieu	dates de prélèvements	pluviométrie cumulée 96h (mm)	taille de l'échantillonnage	réplicas
Ville-Marie (Témiscamingue)	07/11/2020	0	10	3
Ville-Marie (Témiscamingue)	08/11/2020	0	19	3
Ville-Marie (Témiscamingue)	09/11/2020	0	3	3
Ville-Marie (Témiscamingue)	10/11/2020	2,6	25	3
Ville-Marie (Témiscamingue)	11/11/2020	2,6	10	3

Précipitations 96 heures (mm)	07 Nov. 2020	08 Nov. 2020	09 Nov. 2020	10 Nov. 2020	11 Nov. 2020
Précipitations J-96h (mm)	0	0	0	0	0
Précipitations J-72h (mm)	0	0	0	0	0
Précipitations J-48h (mm)	0	0	0	0	2,6
Précipitations J-24h (mm)	0	0	0	2,6	0

Source : <https://www.environnement.gouv.qc.ca/climat/donnees/sommaire.asp> - station météo Ville-Marie QUEBEC

	01 Nov. 2020	02 Nov. 2020	03 Nov. 2020
Neige au sol (cm)	2	5	5

Source : <https://www.environnement.gouv.qc.ca/climat/donnees/sommaire.asp> - station météo Ville-Marie QUEBEC

Méthodologie

Autant que possible, nous avons prélevé 1 L d'eau dans des bouteilles stérilisées le 1^{er} jour puis dument lavée au savon. Nous avons filtré 50 mL d'eau de surface en trois répliques sur des membranes stériles en acétate de cellulose de 0.45µm de diamètre de pore pour la recherche et le dénombrement coliformes fécaux, indicateurs microbiologiques de contamination fécale. Pour les coliformes fécaux nous avons incubé les géloses mFC agar 18 h à 44,5 °C et dénombré les colonies bleues typiques. Nous avons filtré 100 à 200 mL d'eau de surface en trois répliques pour la recherche et la quantification des marqueurs moléculaires en utilisant ces mêmes membranes. Nous avons récupéré l'ADN de ces échantillons par une méthode d'extraction et de purification de l'ADN au phénol-chloroforme. Puis nous avons utilisé la technologie qPCR avec le SYBRGreen pour rechercher et quantifier les marqueurs moléculaires d'intérêts pour tracer les sources de contaminations fécales. Nous avons sélectionné trois sources potentielles de contaminations fécales en tenant compte des activités sur le territoire des bassins versants étudiés, soit la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche au Témiscamingue : Humaines, Bovines, Porcines.

- Le marqueur Hf183 : gène spécifique aux bactéries de l'ordre des *Bacteroidales* présentes uniquement dans le tractus intestinal Humain. Marqueur d'une contamination fécale d'origine humaine.
- Le marqueur mtDNA Ahu : gène spécifique à l'ADN mitochondrial Humain présent dans les cellules eucaryotes humaines. Marqueur d'une contamination fécale d'origine humaine.
- Le marqueur mtDNA Bo : gène spécifique à l'ADN mitochondrial Bovin présent dans les cellules eucaryotes des bovins. Marqueur d'une contamination fécale d'origine bovine.
- Le marqueur mtDNA Po : gène spécifique à l'ADN mitochondrial Porcin présent dans les cellules eucaryotes des porcins. Marqueur d'une contamination fécale d'origine porcine.

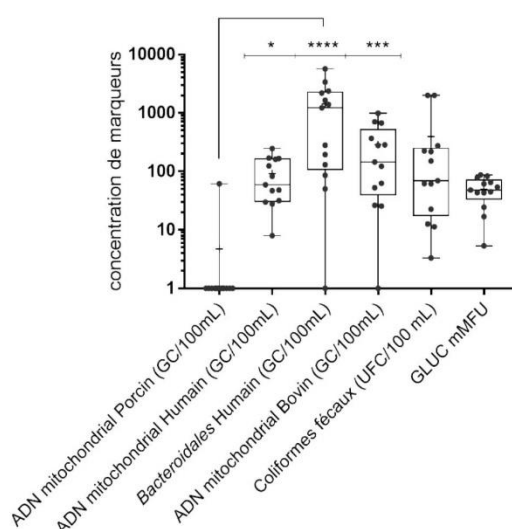
En parallèle, nous avons déterminé une limite de détection (LOD) pour chaque marqueur moléculaire à partir de blancs procéduraux, réalisé à différents stades de l'analyse et différents types d'eau non contaminée par la matières fécales:

- Eau du robinet, Eau osmosée, Eau stérile.
- Contrôles sur site, contrôles de filtration et contrôles d'extraction.

Les données présentées ci-dessous sont relatives à 13 échantillons qui ont été sélectionnés en priorité pour le diagnostic, certains résultats sont sujets à modification.

Incidence des contaminations fécales sur les bassins versants de la rivière à la Loutre et de la Petite rivière Blanche au Témiscamingue en Novembre 2020

Concentration des indicateurs de contamination fécale dans le bassin versant du Témiscamingue à Ville-Marie du 07 Nov. 2020 au 11 Nov. 2020



Utilisation du test non-Paramétrique, One-Way ANOVA Kruskal Wallis et test de dunn's pour comparer le niveau des marqueurs moléculaires et microbiologiques de contamination fécale dans les bassins versants à l'étude en périphérie de Ville-Marie du 07 Novembre 2020 au 11 Novembre 2020. L'objectif est de déterminer si le bassin a été plus soumis à un type de contamination fécale qu'à un autre sur toute la période d'échantillonnage.

Pas de différences significatives entre les marqueurs moléculaires :

- Le *Bacteroidales* humain n'est pas significativement plus abondant que l'ADN mitochondrial bovin ($p=0.9999$) et humain ($p=0.3484$).
- L'ADN mitochondrial humain et bovin ont des abondances similaires ($p=0.9999$).

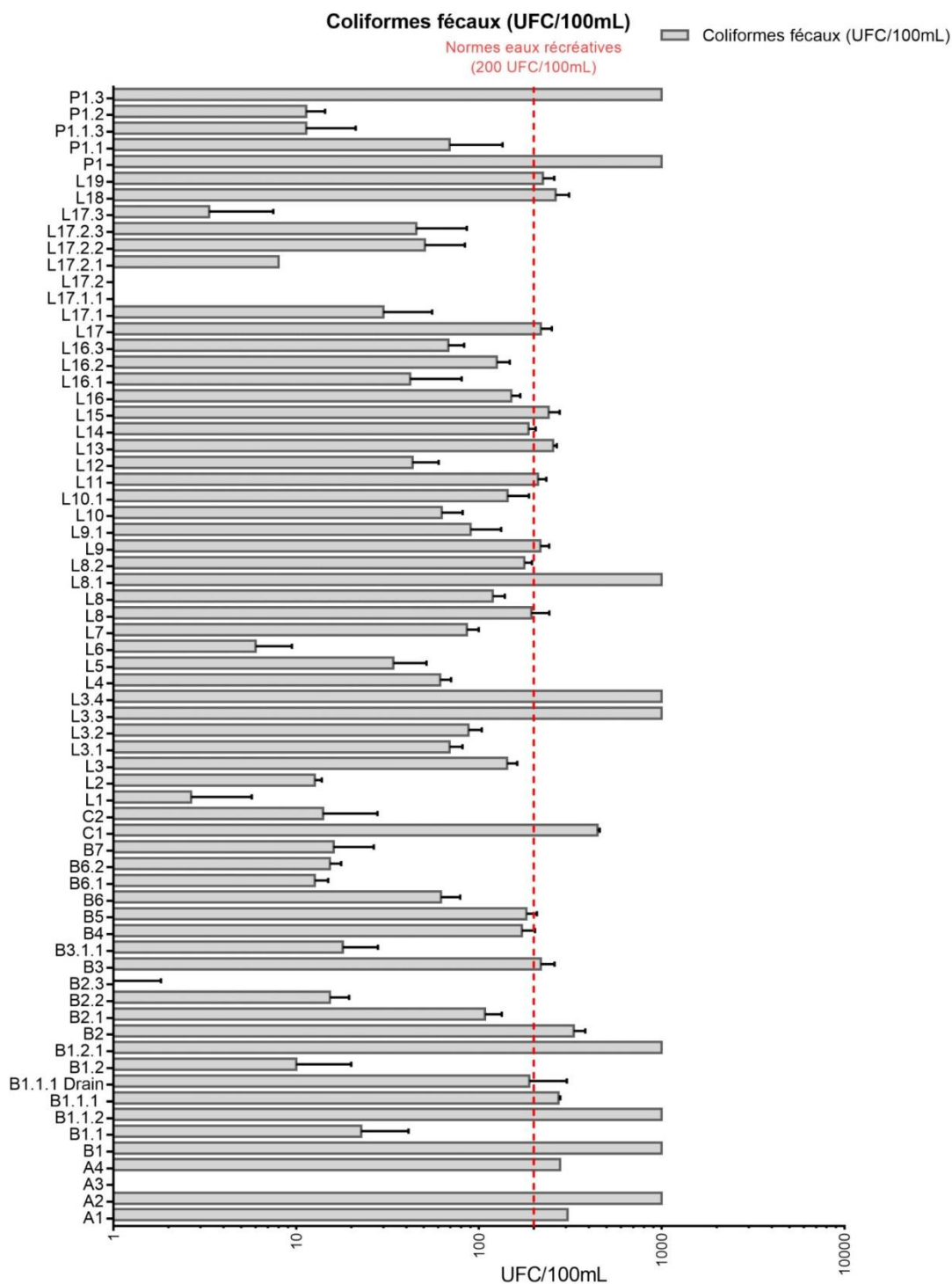
ADN mitochondrial Porcin significativement moins abondant que les autres marqueurs moléculaires :

- Le *Bacteroidales* humain est significativement plus abondant que l'ADN mitochondrial porcin ($p<0.0001$).
- L'ADN mitochondrial humain est significativement plus abondant que l'ADN mitochondrial porcin ($p=0.0102$).
- L'ADN mitochondrial bovin est significativement plus abondant que l'ADN mitochondrial porcin ($p=0.0002$).

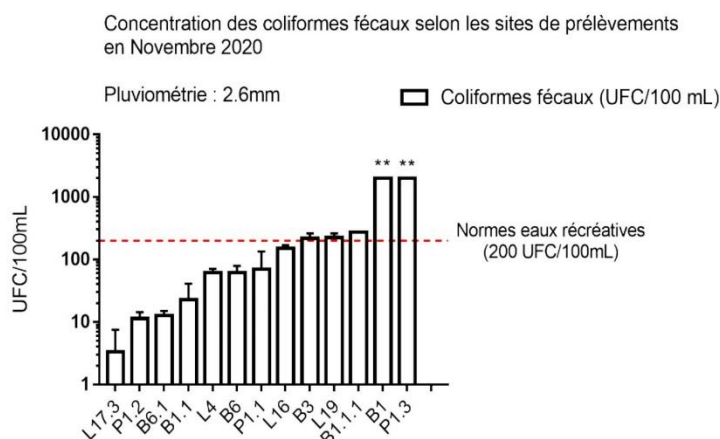
Discussion

Les bassins versants étudiés aux abords de Ville-Marie, au Témiscamingue, ne semblent pas avoir été soumis à des épisodes significatifs de contamination fécale d'origine porcine. En revanche, ce bassin semble être plus impacté par les marqueurs humains et bovins entre le 7 et le 11 Novembre 2020. Sur les 13 échantillons sélectionnés en priorité, la concentration moyenne en coliformes fécaux est de 393 UFC/100mL.

Identification des sites majoritairement impactés par les contaminations fécales dans les bassins en périphérie de Ville-Marie, Témiscamingue

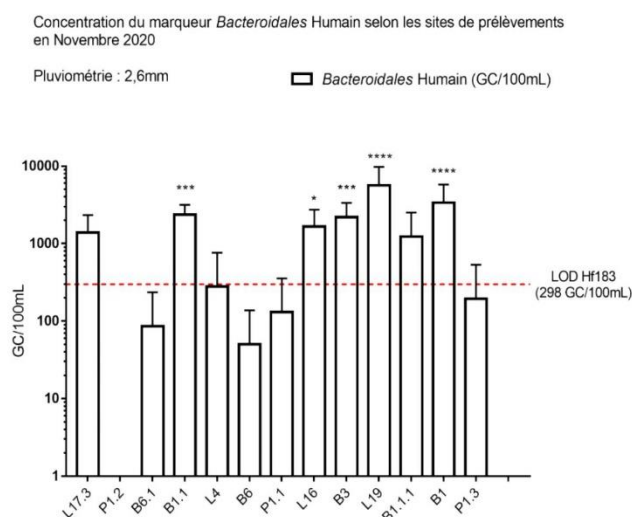


Identification des 13 sites majoritairement impactés par les contaminations fécales dans les bassins en périphérie de Ville-Marie, Témiscamingue



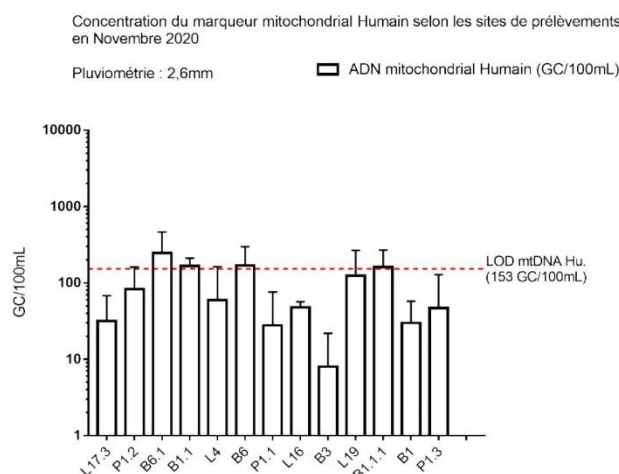
Utilisation du test Two-way ANOVA test de comparaison de Dunnett's pour savoir s'il y a eu un ou plusieurs sites significativement au-dessus des normes sanitaires de coliformes fécaux pour les eaux récréatives [x]>200UFC/100mL.

- Les sites B3, L19 et B1.1.1 sont à la limite des normes recommandées pour les eaux récréatives avec contact direct concernant les coliformes fécaux.
- Les sites B1 et P1.3 sont significativement contaminés par les coliformes fécaux suggérant une eau impropre et présentant un risque sanitaire pour les utilisations à des fins récréatives.



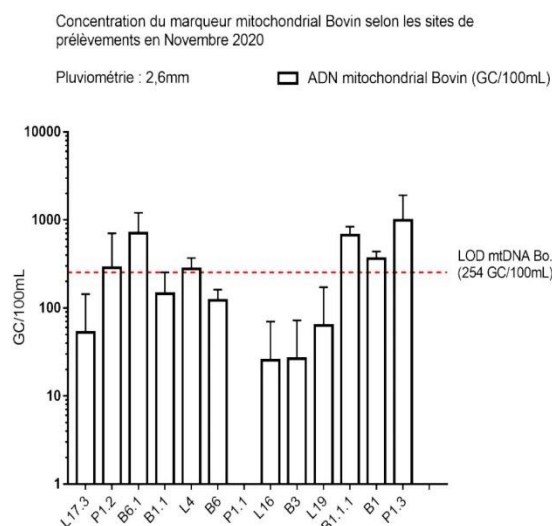
Utilisation du test Two-way ANOVA test de comparaison de Dunnett's pour savoir si, sur l'ensemble de la période d'échantillonnage en Novembre 2020, il y a eu un ou plusieurs sites dont le niveau du marqueur *Bacteroidales* Humain a été significativement plus élevé que la LOD.

- Les sites B1.1, L16, B3, L19 et B1 ont vu la présence du marqueur *Bacteroidales* Humain (Hf183) significativement plus élevée que la LOD, supposant une contamination fécale d'origine humaine pour le site B1, et des pressions d'origines humaines ou des contaminations fécales plus anciennes sur les sites B1.1, L16, B3, et L19.



Utilisation du test Two-way ANOVA test de comparaison de Dunnett's pour savoir si, sur l'ensemble de la période d'échantillonnage en Novembre 2020, il y a eu un ou plusieurs sites dont le niveau du marqueur mitochondrial Humain a été significativement plus élevé que la LOD.

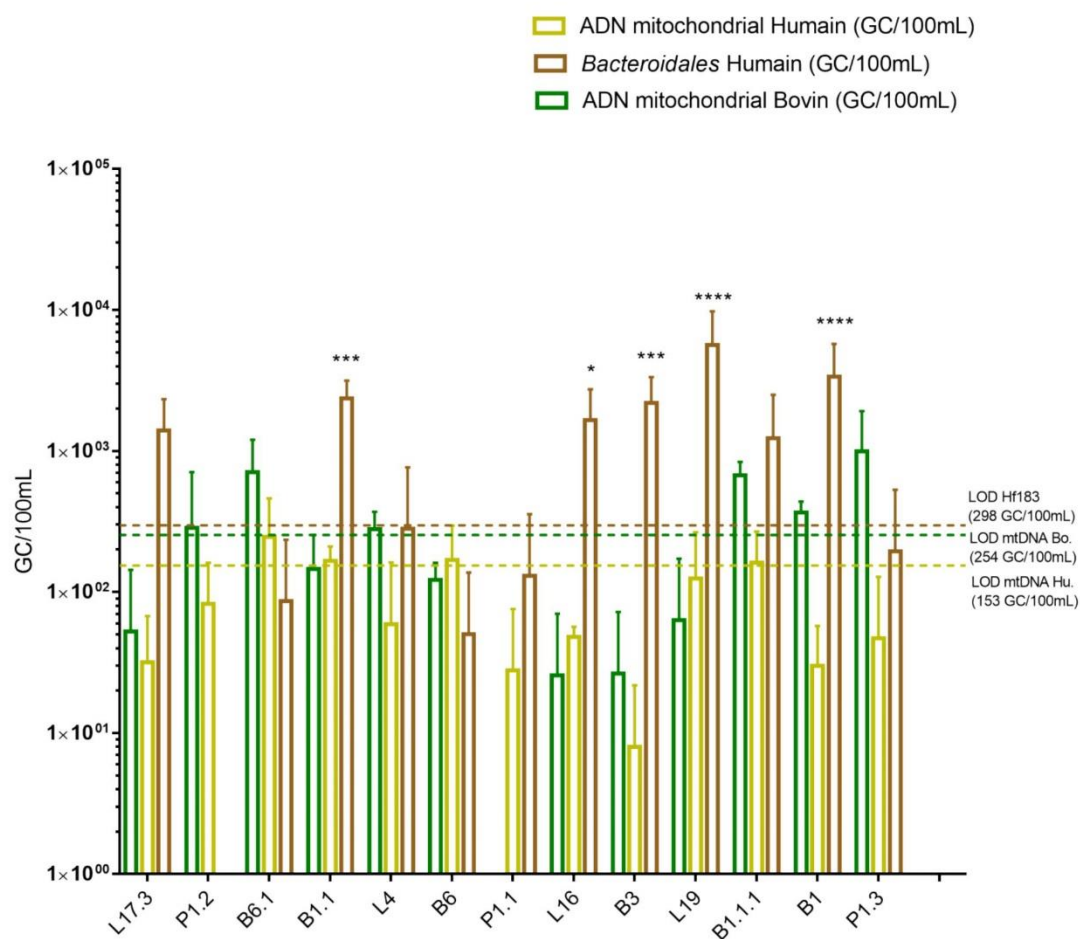
- Il n'y a pas eu de sites dont la concentration de marqueur mitochondrial humain a été significativement plus élevée que la LOD.
- Néanmoins, on observe une tendance à la hausse pour les sites B6.1 et à la limite de détection pour les sites B1.1, B6, et B1.1.1.



Utilisation du test Two-way ANOVA test de comparaison de Dunnett's pour savoir si, sur l'ensemble de la période d'échantillonnage en Novembre 2020, il y a eu un ou plusieurs sites dont le niveau du marqueur mitochondrial Bovin a été significativement plus élevé que le bruit de fond.

- Il n'y a pas eu de sites dont la concentration de marqueur mitochondrial Bovin a été significativement plus élevée que la LOD.
- Néanmoins, on observe une tendance à la hausse pour les sites B6.1, B1.1.1, B1 et P1.3 et à la limite de détection pour les sites P1.2 et L4.

Discussion



Les sites B1 et P1.3 ont été significativement contaminés par les coliformes fécaux, supposant une contamination fécale récente :

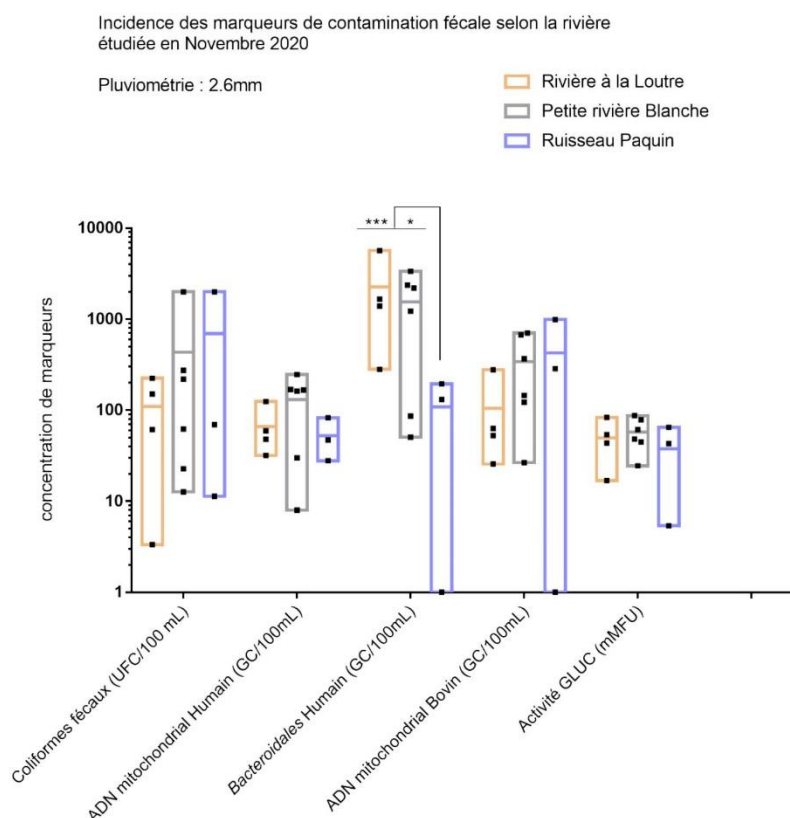
- Pour le site B1, le *Bacteroidales* Humain est significativement présent. L'ADN mitochondrial bovin est plus présent que l'ADN mitochondrial humain. Ainsi, nous pourrions supposer une contamination fécale mixte potentiellement d'origine humaine et bovine.
- Pour le site P1.3, les marqueurs moléculaires humains ; *Bacteroidales* et ADN mitochondrial humain, sont sous la LOD, supposant que les niveaux élevés de coliformes fécaux sur ce site ne seraient probablement pas d'origine humaine. En revanche, bien que l'ADN mitochondrial bovin ne soit pas significativement élevé sur ce site, la tendance est à la hausse par rapport aux autres marqueurs.

Bien que statistiquement pas significatifs, les sites B3, L19 et B1.1.1 sont légèrement au-dessus des normes sanitaires pour les usages de l'eau à des fins récréatives avec contact direct [x] > 200UFC/100mL :

- Pour le site B3, le *Bacteroidales* Humain est significativement présent, indiquant un apport de coliformes fécaux d'origine humaine. L'ADN mitochondrial humain et bovin sont peu détectés et en dessous des limites de détection déterminées. A ce titre, il pourrait s'agir d'une contamination fécale plus ancienne ou d'un faible rejet.
- Pour le site L19, le *Bacteroidales* Humain est significativement présent, indiquant un apport de coliformes fécaux d'origine humaine. L'ADN mitochondrial humain et bovin sont peu détectés et en dessous des limites de détection déterminées. A ce titre, il pourrait également s'agir d'une contamination fécale plus ancienne ou d'un faible rejet.
- Pour le site B1.1.1, bien que statistiquement pas significatifs, on observe une tendance à la hausse par rapport à la LOD pour le *Bacteroidales* humain et l'ADN mitochondrial bovin sur ce site, tandis que l'ADN mitochondrial humain est à la limite de détection déterminée. A ce titre, il semble y avoir une origine mixte, humaine et bovine, sur l'apport de coliformes fécaux par le biais de contaminations plus anciennes (eaux usées et ruissèlements) ou de faibles rejets.

Les sites L17.3, P1.2, B6.1, B1.1, L4, B6, P1.1, et L16 respectent les normes sanitaires pour les usages de l'eau avec contact direct pour les coliformes fécaux (<200UFC/100mL). Les données des coliformes fécaux semblent indiquer des eaux microbiologiquement de bonne qualité (<100UFC/100mL), à par le site L16 un peu plus élevé (150UFC/100mL) :

- Cependant les sites L16 et B1.1 ont des taux significatifs de *Bacteroidales* humain, suggérant une contamination fécale humaine non récente.
- Le site L17.3 a un niveau à la hausse de *Bacteroidales* humain, et les marqueurs mitochondriaux humains et bovins sont en dessous de la LOD déterminée. Ceci suggère une contamination fécale humaine non récente.
- Les sites B6 et P1.1, ont des niveaux de marqueurs humains et bovins sous la LOD déterminée.
- Les sites P1.2, B6.1, ont un niveau à la hausse du marqueur mitochondrial bovin par rapport aux marqueurs mitochondriaux humains et au *Bacteroidales* humain, suggérant une contribution fécale bovine plus ancienne.
- Le site L4 est le seul site sur lequel on a détecté une trace de marqueur porcin (10^1 GC/100mL), l'ADN mitochondrial humain est sous la LOD, le marqueur mitochondrial bovin et le *Bacteroidales* humain sont au niveau de la limite de détection déterminée.

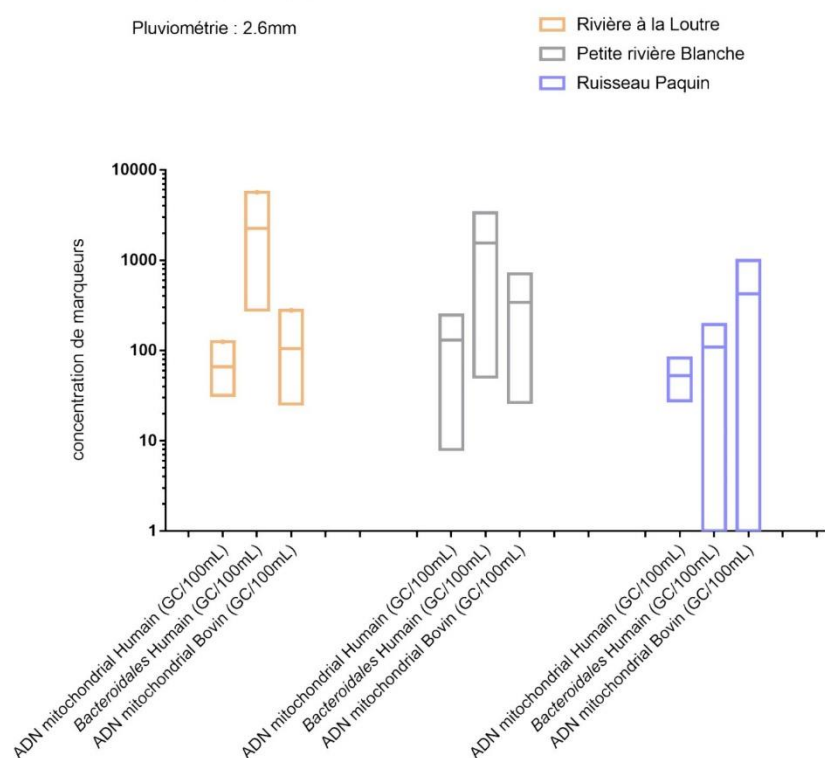


Utilisation du test Two-way ANOVA test de comparaison de Sidak pour savoir si, sur l'ensemble de la période d'échantillonnage en Novembre 2020, il y a eu une ou plusieurs rivières dont les niveaux des marqueurs de contamination fécale ont été significativement plus élevés que les autres rivières.

- La concentration de coliformes fécaux (UFC/100mL) n'est pas significativement différente entre la rivière à la Loutre, le ruisseau Paquin et la Petite rivière Blanche. Cependant on observe une tendance à la hausse pour le ruisseau Paquin et la Petite rivière Blanche.
- L'activité de la β -D-Glucuronidase (mMFU) n'est pas significativement différente entre la rivière à la Loutre, le ruisseau Paquin et la Petite rivière Blanche.
- La concentration en marqueur mitochondrial humain (GC/100mL) n'est pas significativement différente entre la rivière à la Loutre, le ruisseau Paquin et la Petite rivière Blanche. Cependant on observe une tendance à la hausse pour la Petite rivière Blanche.
- La concentration en marqueur mitochondrial bovin (GC/100mL) n'est pas significativement différente entre la rivière à la Loutre, le ruisseau Paquin et la Petite rivière Blanche. Cependant on observe une tendance à la hausse pour le ruisseau Paquin et la Petite rivière Blanche.
- La concentration en marqueur *Bacteroïdales* humain (GC/100mL) est significativement plus élevée pour la rivière à la Loutre et la Petite rivière Blanche par rapport au ruisseau Paquin.

Incidence des marqueurs de contamination fécale selon la rivière
étudiée en Novembre 2020

Pluviométrie : 2.6mm

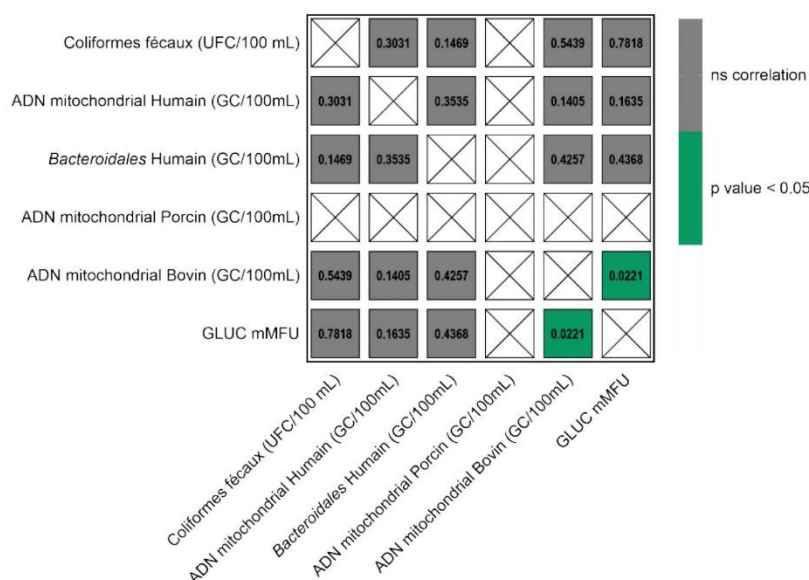


- La Rivière à la Loutre : Le *Bactéroidales* humain est le marqueur le plus quantifié dans la rivière, suivi de l'ADN mitochondrial bovin puis de l'ADN mitochondrial humain. Le *Bactéroidales* humain est un marqueur bactérien qui est présent en plus grande quantité que l'ADN mitochondrial humain dans les eaux usées. D'autres part, on constate que l'ADN mitochondrial bovin est plus quantifié que l'ADN mitochondrial humain, à ce titre, on pourrait supposer que la rivière à la Loutre est soumise à des pressions mixtes pouvant entraîner des contaminations fécales d'origine humaine et bovine.
- La Petite rivière Blanche : Le *Bactéroidales* humain est le marqueur le plus quantifié dans la rivière, suivi de l'ADN mitochondrial bovin puis de l'ADN mitochondrial humain. Comme précédemment, on constate que l'ADN mitochondrial bovin est plus quantifié que l'ADN mitochondrial humain, à ce titre, on pourrait supposer que la Petite rivière Blanche est également soumise à des pressions mixtes pouvant entraîner des contaminations fécales d'origine humaine et bovine.
- Le ruisseau Paquin : L'ADN mitochondrial bovin est le marqueur le plus quantifié dans le ruisseau, et en moyenne supérieur aux niveaux des marqueurs mitochondriaux humains et du *Bactéroidales* humain. A ce titre, le ruisseau Paquin est soumis à des pressions plutôt agricoles contrairement aux deux autres rivières, et a priori d'origine bovine plutôt que porcine dans cette étude.

Corrélation entre les marqueurs de contamination sur les bassins versants à l'étude en périphérie de Ville-Marie, Témiscamingue, en Novembre 2020

Test de corrélation de Spearman :

- Non-significatif si p value > 0.05
- Les corrélations significatives sont représentées en vert pâle.



L'analyse des 13 échantillons prioritaires n'a pas permis de mettre en avant une corrélation entre l'ADN mitochondrial humain et le *Bacteroidales* humain ciblant pourtant la même source de contamination fécale. Ce résultat est à prendre avec parcimonie puisque la taille des données est faible pour une analyse des corrélations (n=13). L'étude sur le bassin de la rivière de L'Assomption a mis en évidence une forte corrélation et covariation entre l'ADN mitochondrial humain et le *Bacteroidales* humain que d'autres groupes de recherche avaient également observé.

Nous n'avons pas identifié de corrélation entre les coliformes fécaux, l'activité GLUC, et les marqueurs moléculaires humains et bovins pour l'instant ; ceci peut également être expliqué par la faible taille des données (n=13), et aussi par le fait que, en moyenne, l'eau de surface des bassins suivis n'était pas fortement contaminée par les matières fécales (en moyenne 380 UFC/100mL de coliformes fécaux). De plus, les analyses moléculaires ont été effectuées sur seulement deux sites significativement contaminés par les coliformes fécaux.

Il est intéressant de noter qu'on observe une corrélation significative entre l'ADN mitochondrial bovin et l'activité de la β -D-Glucuronidase, ce qui a également été observé sur le bassin versant de la rivière de L'Assomption.

Il faudrait compléter la base de données pour voir les corrélations et les covariations entre les différents paramètres de manière robuste et pour mieux comprendre les relations qu'il y a entre ces marqueurs.

Annexe B : Résultats des échantillonnages par date et par site

Nom de la station	Activité GLUC (mMFU/100ml)	Coliformes fécaux (UFC/100ml)	Nom du cours d'eau	Sous-bassin versant	Date de prise de l'échantillon
B1	78	>1000	Petite rivière Blanche		07-nov
B2	33	331	Petite rivière Blanche		07-nov
B3	24	218	Petite rivière Blanche		07-nov
B4	19	172	Petite rivière Blanche		07-nov
B5	24	183	Petite rivière Blanche		07-nov
B6	48	62	Petite rivière Blanche	Cours d'eau Gaudet	07-nov
B7	5	16	Petite rivière Blanche		07-nov
P1	29	>1000	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Paquin	07-nov
C1	10	445	Rivière à la Loutre	Ruisseau Cameron	07-nov
C2	7	14	Rivière à la Loutre	Ruisseau Cameron	07-nov
L1	5	3	Rivière à la Loutre		08-nov
L10	10	63	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Chartier	08-nov
L11	39	211	Rivière à la Loutre		08-nov
L12	9	43	Rivière à la Loutre	Ruisseau Dumais	08-nov
L13	12	255	Rivière à la Loutre	Ruisseau Dumais	08-nov
L14	12	187	Rivière à la Loutre	Ruisseau Dumais	08-nov
L15	34	241	Rivière à la Loutre		08-nov
L16	17	151	Rivière à la Loutre	Ruisseau Duford	08-nov
L17	51	219	Rivière à la Loutre		08-nov
L18	56	263	Rivière à la Loutre		08-nov
L19	54	225	Rivière à la Loutre		08-nov
L2	9	13	Rivière à la Loutre		08-nov
L3	32	143	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	08-nov
L4	83	61	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	08-nov
L5	28	34	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	08-nov
L6	22	6	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	08-nov
L7	22	86	Rivière à la Loutre		08-nov
L8	28	119	Rivière à la Loutre		08-nov
L9	27	217	Rivière à la Loutre		08-nov
A1	41	306	Ruisseau Abbica		09-nov
A2	40	>1000	Ruisseau Abbica		09-nov
A3	36	NA	Ruisseau Abbica		09-nov
A4	30	279	Ruisseau Abbica		09-nov
B1.1	87	23	Petite rivière Blanche		10-nov
B1.2	142	10	Petite rivière Blanche		10-nov
B2.1	12	108	Petite rivière Blanche		10-nov
B2.2	13	15	Petite rivière Blanche		10-nov
B2.3	8	1	Petite rivière Blanche		10-nov
B6.1	61	13	Petite rivière Blanche	Cours d'eau Gaudet	10-nov
B6.2	6	15	Petite rivière Blanche	Cours d'eau Gaudet	10-nov
L10.1	12	143	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Chartier	10-nov

L16.1	30	42	Rivière à la Loutre		10-nov
L16.2	31	125	Rivière à la Loutre		10-nov
L16.3	41	68	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Bougie	10-nov
L17.1	8	30	Rivière à la Loutre		10-nov
L17.2	40	0	Rivière à la Loutre		10-nov
L17.3	43	3	Rivière à la Loutre		10-nov
L3.1	32	69	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	10-nov
L3.2	33	88	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	10-nov
L3.3	28	>1000	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	10-nov
L3.4	39	>1000	Rivière à la Loutre	Rivière Laverlochère	10-nov
L8	28	194	Rivière à la Loutre		10-nov
L8.1	14	>1000	Rivière à la Loutre		10-nov
L8.2	37	178	Rivière à la Loutre		10-nov
L9.1	37	90	Rivière à la Loutre		10-nov
P1.1	5	69	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Paquin	10-nov
P1.2	43	11	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Paquin	10-nov
P1.3	65	>1000	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Paquin	10-nov
L17.2.1	45	8	Rivière à la Loutre		11-nov
L17.2.2	27	51	Rivière à la Loutre		11-nov
L17.2.3	9	45	Rivière à la Loutre		11-nov
L17.1.1	13	0	Rivière à la Loutre		11-nov
P1.1.3	45	11	Rivière à la Loutre	Cours d'eau Paquin	11-nov
B1.1.2	35	>1000	Petite rivière Blanche		11-nov
B1.1.1	38	273	Petite rivière Blanche		11-nov
B1.1.1 Drain agricole	2	189	Petite rivière Blanche		11-nov
B1.2.1	129	>1000	Petite rivière Blanche		11-nov
B3.1.1	45	18	Petite rivière Blanche		11-nov
X1	325		Rivière à la Loutre	Cours d'eau Rivest	11-nov
X2	10		Rivière à la Loutre	Cours d'eau Rivest	11-nov