

DISTRIBUTION ANNUELLE DE BACTERIES INDICATRICES AU NIVEAU DE LA DECHARGE D'ORDURES MENAGERES D'ETUEFFONT (FRANCE).

ANNUAL DISTRIBUTION OF BACTERIAL INDICATORS GENERATED BY THE DOMESTIC WASTES FROM THE LANDFILL OF ETUEFFONT (FRANCE).

E. BELLE¹, V. GENEVOIS¹, J. MUDRY² AND L. ALEYA^{1*}

¹Laboratoire de Biologie Environnementale, UsC INRA, Place Leclerc, 25030 Besançon, France

²Laboratoire de Géosciences, 16 route de Gray, 25030 Besançon cedex, France

(Received 18 April 2007; Accepted 21 September 2007)

ABSTRACT

We assessed over 15 months the distribution of total coliforms concentrations of *Escherichia coli*, *Enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* in three monitoring points in the Etueffont landfill (Belfort, France). We selected the piezometer (PZ30) which is located downstream from the dump and two leachate collectors from the old dump and the new casing. The results showed that the leachate was free from both *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*. The absence of *Salmonella* was most likely due to the small occupation of the landfill environment by vertebrates, especially rodents, birds and reptiles, which are known to be principal vectors of *Salmonella*. *S. aureus*, is generally hosted on skins and mucus of animals. The mean densities of *E. coli* and *Enterococcus* in the leachates were low. In contrast, *P. aeruginosa* abundance was high and closely related to precipitations. Coliform bacteria concentrations in the leachate averaged UFC.100 CFU. ml⁻¹. In the contaminated groundwaters, the coliforms, *E. coli* and *Enterococci* were always present at concentrations 10 to 100 fold higher than those reported from septic tank effluents. *P. aeruginosa* concentrations were low (mean : 11 CFU.100 ml⁻¹) and inferior to those quoted in the leachate. This may be explained by the anoxic conditions which prevailed in the shistous aquifer. The absence of *Salmonella* in groundwaters may be due to its sensitivity to disinfectants and that of *S. aureus* linked to the fact that it is not a common host of the human intestine. Finally, our study clearly indicates the role played by *E. coli* and *Enterococci* as biomarkers of recent faecal contamination.

Keywords: Bacterial indicators, groundwater, leachates, septic tank, landfill

INTRODUCTION

La mise en décharge des déchets issus de l'activité anthropique a été pratiquée depuis des siècles car elle autorise une élimination efficace et peu coûteuse des résidus urbains. Cette gestion conduit toutefois à la production de lixiviats pouvant contaminer les eaux environnantes qu'elles soient superficielles ou souterraines [1, 2]. En France, la norme ISO 2000 a mis fin aux dépôts d'ordures ménagères dans les décharges tout en prévoyant la surveillance de leur impact sur l'environnement, et un suivi sur une trentaine d'années après la cessation des dépôts a été recommandé. Par ailleurs, si la caractérisation physicochimique des lixiviats et le possible panache de pollution dû à leur infiltration dans le sous-sol a fait l'objet d'un grand nombre d'études [1], les données relatives aux communautés bactériennes pathogènes colonisant les lixiviats sont très rares. Or, le développement de

ces microorganismes et leur transport par les lixiviats peuvent être à l'origine d'une contamination des réservoirs d'eau potable. L'objectif de la présente étude concerne la distribution saisonnière des concentrations des coliformes totaux, d'*Escherichia coli*, des Entérocoques, de *Pseudomonas aeruginosa*, des Salmonelles et de *Staphylococcus aureus* pouvant se développer dans les lixiviats de la décharge d'ordures ménagères d'Etueffont (Belfort, France). Si les trois dernières espèces bactériennes sont peu impliquées dans des problèmes de santé publique liés à l'eau de consommation mais plutôt indicatrices d'eau sale, les coliformes totaux sont en revanche fréquemment mesurés car ils doivent être absents de l'eau suivant les normes de potabilité (décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001). La présence de coliformes totaux peut indiquer la présence de coliformes fécaux, indicateurs classiques de pollution fécale [3]. Seuls les coliformes non fécaux sont capables de se multiplier dans les conditions

environnementales [4]. *E. coli*, commensal du tube digestif de nombreux animaux, n'est pas saprophyte en milieu tempéré. C'est la bactérie coliforme la mieux appropriée pour indiquer une pollution fécale d'animaux à sang chaud [5, 6] car c'est la plus commune [7] et la plus résistante aux conditions environnementales extrêmes [8]. *E. coli* est un pathogène opportuniste capable de provoquer aussi bien des intoxications (souche entérohémorragique) et diarrhées [9, 10], que des infections [11, 12]. Les Entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer, le sol et sur les végétaux. Ils ont une durée de vie plus longue que les coliformes [4, 13 - 15] et même équivalente à celle des virus [16] mais ne sont pas capables de se multiplier dans l'environnement [17]. Tout cela en fait de très bons indicateurs de contamination fécale et également de la présence de virus. Chez l'homme, les Entérocoques sont des bactéries pathogènes opportunistes responsables de nombreuses infections. *P. aeruginosa* est l'espèce bactérienne dont l'habitat est le plus vaste. Elle vit à l'état saprophyte dans l'eau et les sols humides. Sa présence est constante et abondante dans les eaux usées [18]. *P. aeruginosa* peut se multiplier dans l'environnement et n'a donc aucune valeur indicatrice d'une contamination fécale récente. D'autre part, aucune étude épidémiologique n'a montré l'existence d'une association entre la présence de cette bactérie dans les eaux d'alimentation et l'apparition de cas de maladies. Sa présence ne pose donc pas un problème de santé publique d'actualité [19 - 21]. *Salmonella* spp. sont très répandues dans l'environnement et peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Les Salmonelles non typhoïdes sont abondantes mais causent rarement des intoxications (gastroentérites) par consommation d'eau potable. *S. typhi* ne cause de graves problèmes de santé publique que dans les pays non industrialisés. *Staphylococcus aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement. Son caractère ubiquitaire et sa résistance croissante aux antibiotiques sont à l'origine d'infections fréquentes et graves (suppurations, septicémies, toxi-infections et chocs toxiques). Sa présence effective dans l'eau potable n'a jamais été à l'origine d'infections [22, 23].

La décharge d'Etueffont étudiée est, en outre, bordée d'une zone d'activités urbaines dotée d'une fosse septique pouvant elle aussi contribuer à la contamination des eaux souterraines environnantes. Les problématiques de survie des bactéries issues de fosses septiques ont été fréquemment abordées pour des aquifères alluviaux [24 - 26] mais peu pour des aquifères schisteux, que l'on peut assimiler à des milieux fracturés et qui caractérisent la décharge d'Etueffont.

Pour toutes ces raisons, nous nous proposons de suivre l'évolution saisonnière des bactéries indicatrices de pollution dans les lixiviats d'une décharge d'ordures ménagères et dans l'eau souterraine de l'aquifère schisteux recevant leurs infiltrations.

MATERIELS ET METHODES

Présentation Générale du Site d'Etude

La décharge d'Etueffont a été mise en place en 1976, pour recevoir les déchets de 66 communes soit environ 50000 équivalent habitants sur une surface de 4 ha. Elle se situe à 15 km au Nord-Est de la ville de Belfort dans la partie méridionale du massif des Vosges (Nord-Est de la France) (Figure 1). Le climat est de type continental très humide avec une pluviométrie annuelle moyenne de 1418 mm d'eau, la température moyenne annuelle est de 8°C et le nombre moyen de jours de gel est de 120 j.

Les déchets ont été broyés puis déposés successivement par tranche d'épaisseur de 1m sans compactage. Leur dégradation se fait essentiellement par voie aérobie.

De 1976 à 1998, les déchets ont été déposés à même le sol sur un substratum schisteux réputé imperméable dans la zone dite de l'ancienne décharge (AD).

A partir de 1998, les déchets sont déposés dans un nouveau casier étanche (NC). Le dépôt d'ordures ménagères a pris fin en 2002, suite à la législation en vigueur. Une partie des lixiviats issue de l'ancienne décharge et ceux du nouveau casier sont collectés puis traités par un système de lagunage naturel [27].

A l'ouest de la décharge, se trouve une plateforme (PDQT) comprenant une déchetterie pour le tri sélectif et un quai de transfert permettant aux ordures ménagères collectées d'être acheminées à l'incinérateur. Ces lieux de travail actifs que représente la PDQT sont équipés de toilettes reliées à une fosse septique. Les eaux de pluie de la plateforme sont également recueillies et se mélangent à l'effluent de la fosse septique pour subir un dégraissage. Ces eaux usées sont ensuite rejetées en contrebas de la décharge par un collecteur faisant office de source intermittente au ruisseau récepteur du Gros Pré. Un réseau de piézomètres ceinture le site afin de surveiller la qualité des eaux souterraines et l'expansion du panache de pollution issu des infiltrations des lixiviats.

Prélèvements et Stratégie d'Etude

Au sein de ce réseau, le piézomètre 30 (PZ30) est situé juste en aval de la décharge et de la PDQT, il a une profondeur de 6m et est crépiné de 3 à 6m (Figure 2). Il constitue le 1^{er} point de prélèvement (1). Les deux autres points de prélèvements sont les collecteurs des lixiviats de l'ancienne décharge (2) et du nouveau casier (3).

Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'un préleveur manuel dans le PZ30 (1) et recueillis manuellement dans les deux collecteurs (2,3) dans des flacons stériles d'un litre en polyéthylène contenant du thiosulfate, puis placés dans une glacière pendant le trajet et analysés dans les 24 heures au laboratoire. Des prélèvements mensuels ont été réalisés de juin 2004 à août 2005 dans le PZ30 (1) et le collecteur de l'ancienne décharge (2), et de mars à août 2005 dans celui du nouveau casier (3). Le collecteur de la PDQT n'a pas pu être

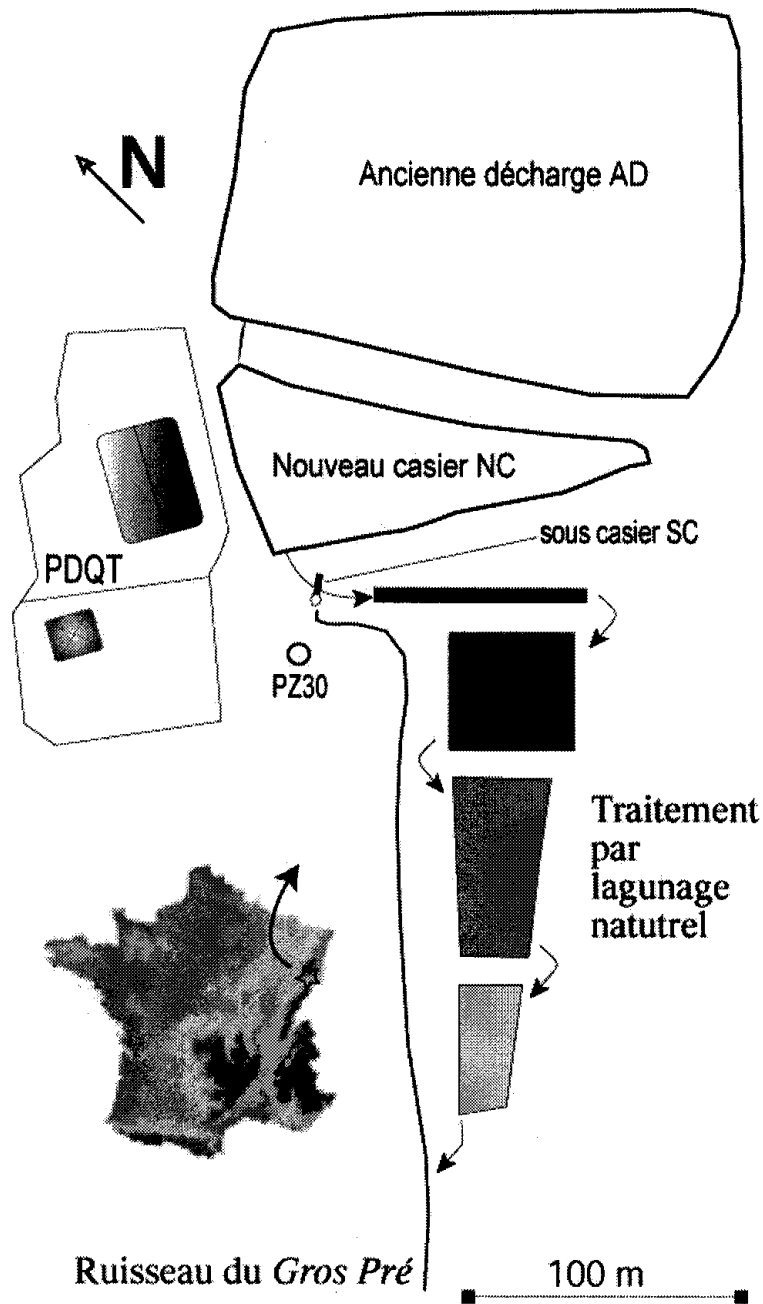


Figure 1. Présentation générale du site.

défini comme point de prélèvement car il est fortement dépendant des précipitations et donc intermittent.

Numération des Bactéries Etudiées

On a recherché la présence de 6 groupes de bactéries classiquement rencontrées dans les eaux usées. Les coliformes totaux sont dénombrés par filtration sur membrane de 100ml de l'eau échantillonnée, puis culture sur gélose lactosée au

TTC (Chlorure de TriphénylTetrazolium) et au Tergitol 7, milieu préconisé dans la norme NF en ISO 9308-1 [28]. Les colonies lactose positif sont repiquées sur gélose caféine-soja non sélective pour le test à l'oxydase. *E. coli* est dénombrée par la méthode du nombre le plus probable (npp) en microplaque MUG/EC (MUG : 4-méthylumbelliferyl- β -d-glucoronide, substrat spécifique d'*E. coli* : EC) suivant la norme NF en ISO 9308-3 [29]. Les effectifs des entérocoques sont également évalués par la méthode du npp, en

microplaque MUD/SF (MUD : 4-méthylumbelliféryl- β -D-glucopyranoside, substrat spécifique des Streptocoques fécaux : SF) suivant la norme NF en ISO 7899-1 [30]. *P. aeruginosa* est dénombré par la méthode de filtration sur membrane avec culture sur gélose CN (acide Nalidixique, Cétrimide), suivant la norme NF EN 12780 [31]. *S. aureus* est dénombré par la méthode de filtration sur membrane avec culture sur gélose de Chapman au mannitol [32, 33]. Les résultats de ces analyses sont donnés en Unités Formatrices de Colonies UFC 100 ml⁻¹, la limite inférieure de comptage est de 15 UFC 100 ml⁻¹. Les salmonelles sont détectées par un test de présence-absence suivant la norme ISO 6340 [34].

RESULTATS ET DISCUSSION

Notons d'abord que sur l'ensemble de notre campagne *S. aureus* et *Salmonella* n'ont jamais été détectées dans nos prélèvements. Nous allons donc présenter les résultats quantitatifs concernant les Coliformes totaux, *E. coli*, les Entérocoques et *P. aeruginosa*.

Distribution des Coliformes Totaux

Dans le PZ30, la densité des coliformes totaux varie de 15 UFC 100 ml⁻¹ en février 2005 à 20000 UFC 100 ml⁻¹ en septembre 2004 (Figure 3, Tableau 1). Leur nombre augmente

à partir de juin 2004, atteint un pic en septembre 2004 (20000 UFC 100 ml⁻¹) et chute en octobre. Une nouvelle augmentation est observée à partir de juin 2005, elle atteint un maximum en juillet (10000 UFC 100 ml⁻¹). Les fluctuations des effectifs bactériens semblent être en relation avec l'évolution des précipitations. Ainsi, nous avons observé une baisse des concentrations cellulaires en août et octobre 2004 coïncidant avec des précipitations abondantes. L'augmentation des concentrations, brutale en septembre, faible de janvier à juin puis plus importante correspond à une diminution des précipitations respectivement brutale, faible puis plus prononcée. Il semble que les précipitations aient un rôle direct dans la dilution des bactéries étudiées. Les coliformes du PZ30 sont quantitativement plus importants que ceux estimés dans les lixiviats de l'ancienne décharge, sauf en juin 2004 (3000 UFC 100 ml⁻¹ dans les lixiviats et 60 UFC 100 ml⁻¹ dans le PZ30), et dans les lixiviats du nouveau casier.

Distribution d'*E. coli* (Figure 3, Tableau 1)

Les effectifs d'*E. coli* varient de 15 UFC 100 ml⁻¹ en novembre 2004 et février 2005 à 15199 UFC 100 ml⁻¹ en septembre 2004. Nous observons une augmentation des densités bactériennes de juin à septembre 2004 suivie d'une diminution. On enregistre l'année suivante, en juillet, un pic des effectifs moins prononcé (1295 UFC 100 ml⁻¹). La variation

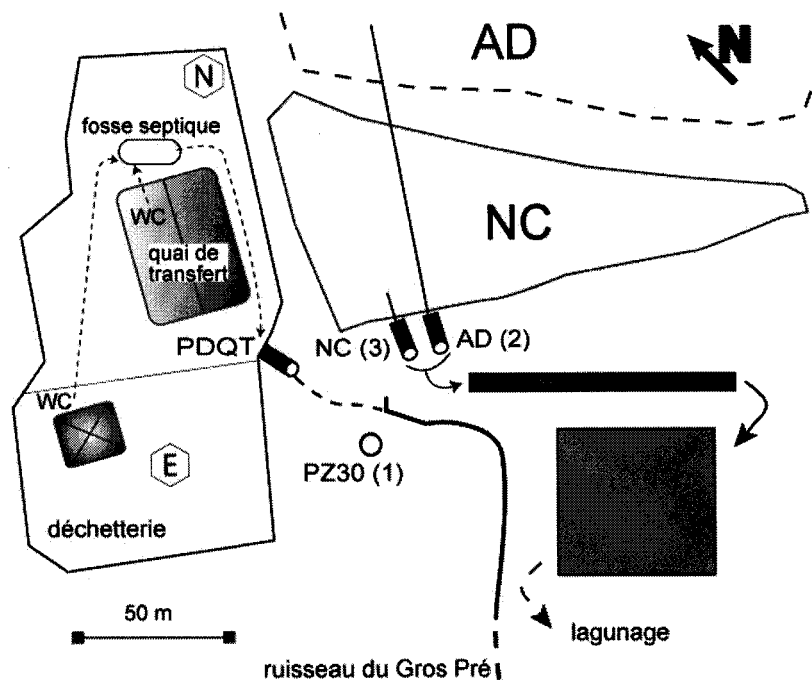


Figure 2. Localisation des points de prélèvements.

de la population d'*E. coli* suit donc celle des coliformes totaux, en opposition à l'évolution des précipitations, mais en juillet 2005 *E. coli* n'est donc pas le principal coliforme. *E. coli* est toujours en quantité nettement supérieure dans le PZ30 à celle des lixiviats de l'ancienne décharge et du nouveau casier.

- Distribution des Entérocoques (Figure 3, Tableau 1)

La densité des Entérocoques dans le PZ30 varie de 15 UFC 100 ml⁻¹ en janvier et février 2005 à 3290 UFC 100 ml⁻¹ en juillet 2005. Un second pic (1673 UFC 100 ml⁻¹) est également observé en septembre 2004, comme pour les coliformes.

Les valeurs dans les lixiviats sont également plus faibles que dans le PZ30 : maximum 116 UFC 100 ml⁻¹ pour l'ancienne décharge et 349 UFC 100 ml⁻¹ pour le nouveau casier.

Distribution de *P. aeruginosa*

Cette bactérie présente de faibles concentrations dans le PZ30 : maximum 35 UFC 100 ml⁻¹ en septembre 2004, absente en juin, novembre 2004, janvier, février et mai 2005 (Figure 3, Tableau 1). On observe néanmoins deux pics en septembre 2004 et juin 2005 qui coïncident avec une diminution des précipitations. Les effectifs de cette bactérie sont nettement plus importants dans les lixiviats. Dans l'ancienne décharge, la concentration est maximale (300 UFC 100 ml⁻¹) en août 2004, chute en septembre puis augmente de nouveau en octobre parallèlement aux variations des précipitations. Les minima (<15 UFC 100 ml⁻¹) sont observés en janvier, avril et mai 2005. Egalement deux pics : en août 2004 et août 2005. Dans le nouveau casier (pas de mesures avant mars 2005), les effectifs varient de 3 en août à 320 UFC 100 ml⁻¹ en juillet 2005.

Dans les lixiviats de la décharge, l'absence de Salmonelles témoigne d'une faible occupation du milieu par

les Vertébrés, notamment Rongeurs, Oiseaux et Reptiles, principaux vecteurs de Salmonelles [35 - 37]. En effet, depuis la cessation des dépôts d'ordures en juillet 2002, les centaines d'oiseaux présents sur le site ont disparu du jour au lendemain. A l'heure actuelle, quelques animaux (chevreuils, couleuvres) sont observés de temps à autres mais leurs effectifs sont faibles. Notons que la présence de rongeurs n'a jamais été remarquée même pendant l'activité de la décharge, ces animaux sont hémophiles et la présence d'objets coupants (déchets broyés) a certainement empêché leur développement. *S. aureus* était aussi absent. Il est en effet principalement un hôte des peaux et muqueuses des animaux [4]. Il survit moins longtemps que les coliformes dans l'eau [38]. Aussi n'est-il retrouvé habituellement que dans les eaux de baignade ou des eaux contaminées par des matières fécales.

Dans les lixiviats, les valeurs maximales mesurées pour les coliformes totaux sont 3000 UFC 100 ml⁻¹ et pour les Entérocoques 349 UFC 100 ml⁻¹. Les seules données avec lesquelles nous pouvons comparer nos résultats sont respectivement 4.9 10⁴ et 10⁵ UFC 100 ml⁻¹ mentionnées dans un rapport du Washington State Department of Health [39] pour une décharge recueillant aussi des déchets hospitaliers (Tableau 2). La décharge d'Etueffont renferme donc peu de coliformes totaux et des concentrations encore moins significatives pour les autres bactéries fécales (Tableau 1). La survie des coliformes fécaux dans le milieu naturel est de l'ordre de 100 jours [38], elle est meilleure pour les Entérocoques mais reste du même ordre [4, 13 - 15]. Les dépôts ayant cessé depuis quatre ans, la présence de bactéries fécales s'explique par des apports extérieurs ou des rejets animaux. Or la colonie importante d'oiseaux inféodée à la décharge a disparu dans les 15 jours suivant l'arrêt des dépôts.

Un traçage colorimétrique a montré des fuites provenant de la PDQT et donc de la fosse septique dans la

Tableau 1. Concentrations minimales, maximales, moyennes et écart-types des bactéries aux trois points de prélèvements estimées sur 15 mois (1 et 2) et 6 mois (3). La concentration minimale mesurable pour les coliformes totaux, *E. coli* et les Entérocoques est de 15 UFC 100 ml⁻¹.

		UFC. 100 ml ⁻¹		
		PZ30 (1)	AD (2)	NC (3)
Coliformes totaux	min. - max.	15 - 20000	15 - 3000	<15 - 500
	moyenne	3842	308	237
	écart-type	5447	771	229
<i>E. coli</i>	min. - max.	15 - 15199	<15 - 38	15
	moyenne	2046	15	<15
	écart-type	4008	7	-
<i>Enterococci</i>	min. - max.	15 - 3290	<15 - 116	15 - 349
	moyenne	740	28	80
	écart-type	907	34	132
<i>P. aeruginosa</i>	min. - max.	0 - 35	1 - 300	5 - 320
	moyenne	11	59	70
	écart-type	12	83	124

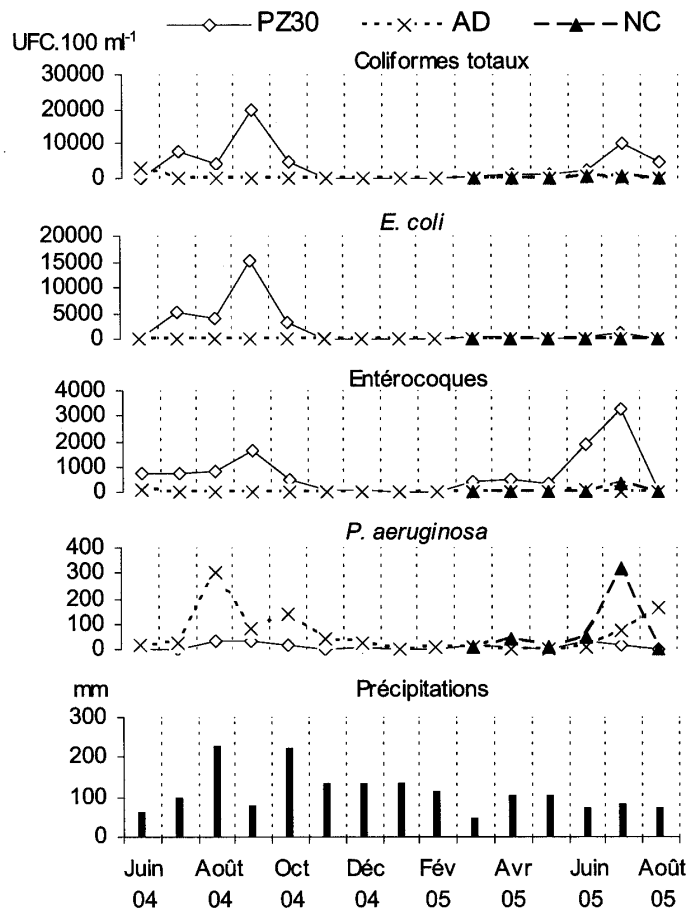


Figure 3. Evolution annuelle des concentrations bactériennes au niveau du piézomètre 30 (PZ30), et dans les lixiviats issus de l'ancienne décharge (AD) et du nouveau casier (NC) ainsi que les précipitations moyennes.

Tableau 2. Comparaison des valeurs des dénombrements bactériens obtenus dans notre étude avec les valeurs maximales rapportées dans la bibliographie.

Valeurs maximales en UFC.100 ml ⁻¹	Lixiviats		Eaux souterraines		Effluents de fosses septiques
	Etuefont	Bibliographie	PZ30	Bibliographie, ordres de grandeur	
Coliformes totaux	3 10 ³	4 10 ⁴ [38]	2 10 ⁴	10 ³ [42, 43, 44]	10 ⁷ [46]
				10 ⁸ zone à forte densité de fosses septiques [45]	10 ¹⁰ [47]
<i>E. coli</i>	38	78 [38]	1.5 10 ⁴	10 ² [48, 49]	10 ⁶ [46]
				10 ⁷ zone à forte densité de fosses septiques [45]	
Entérocoques/ Streptocoques fécaux	3.49 10 ²	3.5 10 ⁵ [38]	3.3 10 ³	10 ³ [44, 50]	10 ⁷ [25]
<i>P. aeruginosa</i>	3.2 10 ²		35	10 ³ [40]	10 ⁴ [52]

décharge, expliquant la présence de bactéries fécales dans cette décharge déjà âgée. Ainsi *E. coli* et les Entérocoques, marqueurs de contamination fécale récente [4 - 6, 40] peuvent être considérés comme des marqueurs de contamination fécale d'une fiabilité équivalente aux traceurs colorimétriques utilisés. *P. aeruginosa* est présent essentiellement dans les lixiviats de la décharge et est plus abondant en période pluvieuse. Etant saprophyte des milieux humides [18], il est probable que sa densité croît avec les précipitations. Il est aussi possible que cette augmentation de concentration corresponde à un lessivage des bactéries survivant dans des espaces d'humidité permanente de la zone insaturée de la décharge. Sa concentration maximale de 320 UFC 100 ml⁻¹ est cependant faible par rapport (Tableau 2) aux 3500 UFC 100 ml⁻¹ relevées par Chilakos et Kavouras [41] dans un aquifère peu pollué (60 UFC de coliformes fécaux pour 100 ml).

Dans les eaux souterraines contaminées d'aquifères alluviaux, les coliformes sont toujours présents à des concentrations maximales de quelques dizaines à quelques milliers d'UFC 100 ml⁻¹ [42 - 45]. Elles atteignent 2.10⁴ UFC 100 ml⁻¹ dans le PZ30. Sinton [25] montre que les concentrations de coliformes sont en général assez faibles dans les nappes mais elles peuvent atteindre 10⁸ UFC 100 ml⁻¹ dans des régions ayant une forte densité de fosses septiques pour des puits proches de celles-ci [46]. Pour les effluents de fosses septiques, on relève des valeurs de 10⁷ [47] à 10¹⁰ UFC 100 ml⁻¹ [24, 48], ces valeurs dépendant de l'efficacité de la fosse septique.

En ce qui concerne *E. coli*, on relève des concentrations maximales de quelques centaines d'UFC 100 ml⁻¹ dans les aquifères [49, 50], et de 15000 UFC 100 ml⁻¹ dans le PZ30. Cependant, Sandhu *et al.* [46] notent qu'elles atteignent 10⁷ UFC 100 ml⁻¹ à proximité de fosses septiques, les effluents de fosse septique pouvant présenter des concentrations de 10⁶ UFC ml⁻¹ [47] ou supérieures suivant leur efficacité. Les Entérocoques sont présents dans des aquifères alluviaux à des concentrations maximales de quelques centaines [50] à quelques milliers d'UFC 100 ml⁻¹ [45, 51], et de 3290 UFC 100 ml⁻¹ dans le PZ30. D'autre part, Sinton [25] rapporte des concentrations de l'ordre de 10⁷ UFC 100 ml⁻¹ de Streptocoques fécaux se développant dans les effluents de fosses septiques.

Ainsi, la plupart des concentrations des bactéries fécales dans le PZ30 sont supérieures aux valeurs habituelles des nappes. Elles sont, en outre, très supérieures à celles des lixiviats alimentant le PZ30. Or, la multiplication d'*E. coli* dans les eaux souterraines n'est mentionnée qu'en milieu tropical, caractérisé par une richesse en matière organique et une température proche de celles de l'intestin [52]. Les Entérocoques ne sont pas capables de se multiplier en milieu naturel [17]. Les données bibliographiques permettent donc de conclure que les bactéries fécales du PZ30 ne proviennent pas des ordures déposées il y a plus de quatre ans mais des fosses septiques de la PDQT dont l'effluent s'infiltré dans le sous-sol juste en amont du piézomètre et par des fuites dans la décharge.

P. aeruginosa est présent dans les effluents de fosses septiques à des concentrations de l'ordre de 10⁴ UFC 100 ml⁻¹

[53], sa très faible présence dans le PZ30 est liée aux conditions anaérobies y régnant (O₂ < 4 mg l⁻¹), *P. aeruginosa* étant aérobie strict.

L'absence de Salmonelles dans le PZ30 est liée à sa sensibilité aux désinfectants [4]. Ainsi les risques de contamination par l'eau (par *Salmonella typhimurium* essentiellement) sont devenus très faibles dans les pays développés [54].

S. aureus n'est pas un hôte habituel de l'intestin humain [4] et sa durée de vie dans l'environnement est plus faible que celle des coliformes [38]. Le Chevallier *et al.* [23], Lamka *et al.* [55] ne détectent sa présence que dans peu d'échantillons d'eau de puits, avec un maximum de 600 UFC ml⁻¹ et il pourrait provenir des conduites et robinets plus que de l'eau elle-même. Ainsi son absence dans le PZ30 n'est pas surprenante.

CONCLUSION

Cette étude apporte de nouvelles données sur les concentrations de six groupes bactériens dans les lixiviats d'une décharge d'ordures ménagères et dans les eaux souterraines d'un aquifère schisteux, tous deux contaminés par une fosse septique. Les différences de dénombrement observées entre ces deux milieux contaminés peuvent s'expliquer par leurs caractéristiques intrinsèques mais aussi par leur degré de contamination. La survie des bactéries fécales dans les déchets pourrait être favorisée par le taux d'humidité constant et par la charge organique importante apportant les éléments nutritifs nécessaires à leur activité. La présence massive de ces bactéries dans l'aquifère étant due simplement à une contamination plus importante, nous ne pouvons comparer les conditions de survie offertes par ces deux milieux.

Enfin notre étude indique que la décharge d'Etueffont dont le fonctionnement a cessé depuis quatre ans, ne constitue pas en elle-même une source importante de bactéries fécales.

L'étude de ce site, où lixiviats de décharge et apports de fosse septique se mélangent, confirme le rôle d'*E. coli* et des Entérocoques comme marqueurs de contamination fécale assez récente. Le couplage de leur suivi avec un traçage colorimétrique permettra de le confirmer dans la mesure où il constitue une méthode efficace pour le suivi d'une pollution fécale [49, 51, 56].

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie) et le Syndicat Intercommunal de la Collecte et du Traitement des Ordures Ménagères (SICTOM) de la zone sous-vosgienne, qui nous ont permis de réaliser cette étude. Nous tenons aussi à remercier le personnel technique du CHU Saint-Jacques de Besançon (Service de Microbiologie) pour leur aide et amabilité.

REFERENCES

1. Christensen T.H., Kjeldsen P., Bjerg P.L., Jensen D.L., Christensen J.B., Baun A., Albrechtsen H.J. and Heron G., Biogeochemistry of landfill leachate plumes. *Appl. Geochem.*, **16**, 659–718 (2001).
2. Khattabi H., Mania J., Aleya L., Bouchaou L., Mudry J. and Grisey H., Apport de certains traceurs physico-chimiques à l'étude de la contamination des eaux souterraines par les lixiviats de décharges. *Environ. Technol.*, **23**, 719-729 (2002).
3. World Health Organization, *Surveillance and Control of Community Water Supplies*, Guidelines for drinking water quality **3**, WHO, Geneva (1997).
4. World Health Organization, *Recommendations, Guidelines for drinking-water quality 1* 3rd ed, WHO, Geneva (2004).
5. Ashbolt N.J., Grabow W.O.K. and Snozzi M., *Indicators of Microbial Water Quality*, World Health Organization, Geneva, 289-316 (2001).
6. American Public Health Association, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 20th ed., American Public Health Association, New York (1998).
7. Jamieson R.C., Gordon R.J., Sharpies K.E., Stratton G.W. and Madani A., Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: A review. *Can. Biosyst. Eng.*, **44**, 1.1–1.9 (2002).
8. Edberg S.C., Rice E.W., Karlin R.J. and Allen M.J., *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. *Soc. Appl. Microbiol. Symp. Ser.*, **29**, 106–116 (2000).
9. Tarr P.I., Besser T.E., Hancock D.D., Keene W.E. and Goldoft M., Verotoxigenic *Escherichia coli* infection: U.S. overview. *J. Food Prot.*, **60**, 1466-1471 (1997).
10. Bouchaud O., Diarrhées du voyageur. *Feuillets de biologie*, **43**, 55-60 (2002) .
11. Hagberg L., Jodal U., Korhonen T.K., Lidin-Janson G, Lindberg U. and Svanborg Edén C., Adhesion, hemagglutination, and virulence of *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Infect. Immun.*, **31**, 564–570 (1981).
12. Hau T., Bacteria, toxins, and the peritoneum. *World J. Surgery*, **14**, 167-175 (1990).
13. McFeters G.A., Bissonnette G.K., Jezeski J.J., Thomson C.A. and Stuart D.G., Comparative survival of indicator bacteria and enteric pathogens in well water. *Appl. Microbiol.*, **27**, 823–829 (1974).
14. Clausen E.M., Green B.L. and Litsky W., Fecal *Streptococci*: indicators of pollution, American Society for Testing Materials, special technical publication, Philadelphia, PA., USA **635** 247–264 (1977).
15. Edberg S.C., LeClerc H. and Robertson J., Natural protection of spring and well drinking water against surface microbial contamination. II. Indicators and monitoring parameters for parasites. *Crit. Rev. Microbiol.*, **23**, 179–206 (1997).
16. Bitton G., Farrah S.R., Ruskin R.H., Butner J. and Chou Y.J., Survival of pathogenic and indicator organisms in ground water. *Ground Water*, **21**, 405–410 (1983).
17. Bitton G., Microbial indicators of fecal contamination : application to microbial source tracking, Florida Stormwater Association <http://www.floridastormwater.org/pdfs/FSAMicrobialSourceTrackingReport.pdf> (2005)
18. Leclerc H., Y-a-t-il des infections bactériennes opportunistes transmises par les eaux d'alimentation? *Revue générale. J. Europ. Hydrol.*, **34**, 11-44 (2003).
19. Hunter P.R., Epidemiological evidence of disease linked to HPC bacteria, Presented at the NSF International/World Health Organization Symposium on HPC Bacteria in Drinking Water, Geneva, Switzerland (2002).
20. Fricker C.R., The presence of bacteria in water after regrowth, Presented at the NSF International/World Health Organization Symposium on HPC Bacteria in Drinking Water Geneva, Switzerland (2002).
21. Allen M.J., Edberg S.C. and Reasoner D.J., Heterotrophic plate count (HPC) bacteria. What is their significance in drinking water? Presented at the NSF International/World Health Organization Symposium on HPC Bacteria in Drinking Water, Geneva, Switzerland (2002).
22. Antai S.P., Incidence of *Staphylococcus aureus*, coliforms and antibiotic-resistant strains of *Escherichia coli* in rural water supplies in Port Harcourt. *J. Appl. Bacteriol.*, **62**, 371–375 (1987).
23. Le Chevallier M.W. and Seidler R.J., *Staphylococcus aureus* in rural drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 739–742 (1980).
24. Viraraghavan T. and Warnock R.G., Groundwater quality adjacent to a septic tank system. *Am. Water Works Ass. J.*, **68**, 611–614 (1976).
25. Sinton L.W., Groundwater Quality survey of an unsewered, semi-rural area, *New Zeal. J. Mar. Freshwat. Res.*, **16**, 317–326 (1982).
26. Crane S.R. and Moore J.A., Bacterial pollution of groundwater: A review. *Water Air Soil Pollut.*, **22**, 67–83 (1984).
27. Aleya L., Khattabi H., Belle E., Grisey H., Mudry J. and Mania J., Coupling of abiotic and biotic parameters to evaluate performance of combining natural lagooning and use of two sand filters in the treatment of landfill leachates, *Environ.*

- Technol.*, **28**, 225-234 (2007).
28. NF EN ISO 9308-1. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes. Partie 1 : Méthode par filtration sur membrane. AFNOR T90-414, Paris (2000).
 29. NF EN ISO 9308-3. 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 (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide. AFNOR T90-433, Paris (1999).
 30. NF EN ISO 7899-1. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et résiduaires. Partie 1 : Méthode miniaturisée (nombre le plus probable) par ensemencement en milieu liquide. AFNOR T90-432, Paris (1999).
 31. NF EN 12780. Qualité de l'eau. Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* par filtration sur membrane. AFNOR T90-419, Paris (2002).
 32. Chapman G.H., An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisoning staphylococci. *Food Res.*, **13**, 100-105 (1948).
 33. NF T 90-421. Essais des eaux. Examens bactériologiques des eaux de piscines. AFNOR T90-421, Paris (1989).
 34. ISO 6340., Water quality. Detection of *Salmonella*. International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland (1995).
 35. Healing T.D., *Salmonella* in rodents: a risk to man? *CDR (Lond. Engl. Rev.)*, **13**, R114-6 (1991).
 36. Blaxland J.D., Sojka J.W. and Smither A.M., Avian salmonellosis in England and Wales 1948-56 with comment on its prevention and control. *Vet. Rec.*, **70** 374-382 (1958).
 37. Wesselinoff W., Further studies of *Salmonella* findings in reptiles. IV. Communication, *Zentbl. Bakteriol. (Orig. A)*, **239**, 483-487 (1977).
 38. Filip Z., Kaddu-Mulindwa D. and Milde G., Survival of some pathogenic and facultative pathogenic bacteria in groundwater. *Water Sci. Technol.*, **20**, 227-231 (1988).
 39. Washington State Department of Health. Preliminary public health assessment – Tulalip landfill, Marysville, Snohomish County, Washington. www.atsdr.cdc.gov/hac/pha/tulalip/tul_p1.html. (viewed April 2006).
 40. Pinto B., Pierotti R., Canale G. and Reali D., Characterization of "faecal streptococci" as indicators of faecal pollution and distribution in the environment. *Lett. Appl. Microbiol.*, **29**, 258-263 (1999).
 41. Chilakos P. and Kavouras C.N., Water management at Athens international airport, a critical approach. *Bull. Geol. Soc. Greece*, **36**, 2094-2101 (2004).
 42. Gallegos E., Warren A., Robles E., Campos E., Calderon A., Sainz M.G., Bonilla P. and Escolero O., The effects of wastewater irrigation on groundwater quality in Mexico. *Water Sci. Technol.*, **40**, (2), 45-52 (1999).
 43. Cho J.C., Cho H.B. and Kim S.J., Heavy contamination of a subsurface aquifer and a stream by livestock wastewater in a stock farming area, Wonju, Korea. *Environ. Pollut.*, **109**, 137-146 (2000).
 44. Entry J.A. and Farmer N., Movement of coliform bacteria and nutrients in ground water flowing through basalt and sand aquifers. *J. Environ. Qual.*, **30**, 1533-1539 (2001).
 45. Castillo A. and Ramos-Cormenzana A., Sobre la contaminación microbiológica del acuífero de la Vega de Granada. *Geogazeta*, **32**, 191-194 (2002).
 46. Sandhu S.S., Warren W.J. and Nelson P., Magnitude of pollution indicator organisms in rural potable water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 744-749 (1979).
 47. Pang L., Davie H., Hall C. and Stanton G., Setback distance between septic tanks and bathing shores of lake Okareka. Report prepared as part of an investigation by NIWA for the Rotorua District Council, New Zealand. Client Report CSC0110 (2001).
 48. Brandes M., Characteristics of effluents from gray and black water septic tanks. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **50**, 2547-2559 (1978).
 49. Barrett M.H., Hiscock K.M., Pedley S., Lerner D.N., Tellam J.H. and French M.J., Marker species for identifying urban groundwater recharge sources: A review and case study in Nottingham, UK. *Water Res.*, **33**, 3083-3097 (1999).
 50. Personné J.C., Poty F., Vaute L. and Drogue C., Survival, transport and dissemination of *Escherichia coli* and *Enterococci* in a fissured environment. *J. Appl. Microbiol.*, **84**, 431-438 (1998).
 51. Close M.E., Hodgson L.R. and Tod G., Field evaluation of fluorescent whitening agents and sodium tripolyphosphate as indicator of septic tank contamination in domestic wells. *New Zeal. J. Mar. Freshwat. Res.*, **23**, 563-568 (1989).
 52. Bermudez M. and Hazen T.C., Phenotypic and genotypic comparison of *Escherichia coli* from pristine tropical waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 979-983 (1988).
 53. Magdoff F.R., Keeney D.R., Bouma J. and Ziebell W.A., Columns representing mound-type disposal systems for septic tank effluent: II. nutrient transformations and bacterial populations. *J. Environ. Qual.*, **3**, 228-234 (1974).
 54. Crump J.A., Luby S.P. and Mintz E.D., The global burden of typhoid fever. *Bull. World Health Organ. Geneva* **82**, 346-353 (2004).

55. Lamka K.G., Le Chevallier M.W. and Seidler R.J., Bacterial contamination of drinking water supplies in a modern rural neighbourhood. *Appl. Environ. Microbiol.*, **39**, 734–738 (1980).
56. Sinton L.W. and Close M.E., Identifying septic tank effluent in groundwater: Problems and possibilities. In: Noonan, M.J. (ed.) *Microbiology and Water Quality*, Lincoln College Department of Agricultural Microbiology technical publication, New Zealand. **3**, 47-55 (1983).