

## La modélisation du transport microbien en milieu poreux

La modélisation du transport microbien en milieu poreux est un enjeu important pour la mise au point d'outils de prédiction de déplacements bactérien dans un profil sol. Un grand nombres de modèles ont été développés par le passé (Bhattacharjee *et al.* 2002; Chen *et al.* 2003; Chen et Zhu 2004; Corapcioglu et Choi 1996; Johnson *et al.* 1995; Sen *et al.* 2005; Tian *et al.* 2002) (liste non exhaustive).

### Les mécanismes

Les modèles de simulation du transport de bactéries en milieux poreux prennent en compte les phénomènes de transport, de rétention sur la phase solide et de détachement. De plus certains modèles incluent des mécanismes de croissance et de mortalité ainsi que des mécanismes de chimiotactisme (Sen *et al.* 2005). On se consacre ici essentiellement au transport sur des temps courts ou à des situations nutritives permettant d'ignorer les phénomènes de croissance et de mortalité.

#### 1.1. Transport dans la phase aqueuse

Le transport de bactéries et de colloïdes inertes dans la phase aqueuse est généralement modélisé par le biais d'une équation de convection dispersion. Par exemple les modèles utilisés par (Bradford *et al.* 2006; Chen *et al.* 2003; Li *et al.* 2005) pour n'en citer que quelques uns, reposent tous sur la modélisation suivante du transport :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - v \frac{\partial C}{\partial z} + P \quad [19]$$

avec  $C$  (cell/L<sup>3</sup>) la concentration en colloïdes dans la phase aqueuse,  $D$  le coefficient de dispersion hydrodynamique (L<sup>2</sup>.T<sup>-1</sup>),  $v$  la vitesse de Darcy (L.T<sup>-1</sup>),  $t$  le temps,  $z$  la distance et  $P$  un terme puits/source à définir pour rendre compte des mécanismes de rétention et de remise dans l'écoulement des colloïdes. Les modèles diffèrent essentiellement sur la modélisation de ce terme puits/source.

## 1.2. Rétention sur la phase solide

L'attention s'est focalisée dans le passé sur la modélisation de la déposition des colloïdes sur la phase solide. La théorie de la filtration classique (Yao 1971) décrit le transfert de masse de colloïdes de la phase liquide vers la matrice poreuse (phase solide) par un processus du premier ordre avec une constante de temps  $k_d$  (Ryan et Elimelech 1996). Cela conduit à l'équation suivante décrivant l'évolution de la concentration adsorbée en fonction du temps :

$$\frac{\rho}{\theta} \frac{\partial S}{\partial t} = k_d C \quad [20]$$

$\rho$  est la masse volumique du milieu poreux (M.L<sup>-3</sup>),  $\theta$  est la porosité,  $C$  la concentration dans la phase aqueuse (cell.L<sup>-3</sup>) et  $S$  la concentration sur la phase solide (cell.M<sup>-1</sup>). La relation suivante est habituellement utilisée pour calculer  $k_d$  :

$$k_d = \frac{3}{2} \frac{(1-\theta)}{d_c \theta} v \alpha \eta_0 \quad [21]$$

avec  $\theta$  la porosité du milieu,  $v$  la vitesse de la phase liquide,  $d_c$  la taille des grains du milieu poreux,  $\eta_0$  l'efficacité d'interception des grains de solide et  $\alpha$  un paramètre décrivant l'efficacité des collisions. On voit donc que la constante de temps est liée aux propriétés géométriques du milieu poreux et de l'écoulement ( $\theta$ ,  $d_c$ ,  $v$ ), et fait apparaître deux paramètres :  $\eta_0$  qui fait intervenir la taille des colloïdes et l'écoulement et  $\alpha$  qui traduit l'effet des interactions entre le colloïde et le solide.

### 1.2.1. Détermination de l'efficacité d'interception $\eta_0$

Le problème a été abordé par Rajagopalan et Tien (Rajagopalan 1976) qui ont proposé l'expression suivante pour des particules non Browniennes :

$$\eta_0 = \frac{3}{2} A_S N_R \quad [22]$$

avec  $A_S$  est un paramètre qui dépend de la porosité et qui peut être calculé par :

$$A_S = \frac{2(1-\gamma^5)}{2-3\gamma+3\gamma^5-2\gamma^6} \quad [23]$$

$\gamma$  étant donné par  $\gamma = (1-\theta)^{1/3}$

Le nombre adimensionnel  $N_R$  qui intervient dans l'expression de  $\eta_0$  est simplement un rapport de taille :

$$N_R = \frac{d_p}{d_c} \quad [24]$$

dans lequel ( $d_p$ ) désigne le diamètre des colloïdes et ( $d_c$ ) le diamètre des grains (collecteurs) constituant le milieu poreux.

La relation a été largement utilisée par la suite pour prédire la filtration en milieux artificiels ou naturels. Toutefois, considérant que cette corrélation ne prend pas en compte de nombreuses autres forces agissant sur les colloïdes, une expression différente a été développée par Tufenkji et Elimelech (Tufenkji et Elimelech 2004) à partir d'une équation de transport prenant en compte divers mécanismes agissant sur un colloïde au voisinage d'un grain de collecteur et en particulier les forces hydrodynamiques et celles dues aux interactions de type Lifshitz-van der Waals. Ils aboutissent à l'expression suivante :

$$\eta_0 = 2,4 A_S^{1/3} N_R^{-0,081} N_{Pe}^{-0,715} N_{vdW}^{0,052} + 0,55 A_S N_R^{1,675} N_A^{0,125} + 0,22 N_R^{-0,24} N_G^{1,11} N_{vdW}^{0,053} \quad [25]$$

qui outre le ratio  $N_R$ , défini précédemment, fait intervenir les nombres adimensionnels suivants :

Paramètre	Equation	Signification
$N_{Pe}$	$N_{Pe} = \frac{Ud_c}{D_\infty}$ [26]	Nombre de Peclet correspond au ratio entre transport convectif et transport par diffusion
$N_{vdW}$	$N_{vdW} = \frac{A}{kT}$ [27]	Nombre de Lifshitz-van der Waals correspond au ratio de la constante d'Hamaker sur l'énergie thermique de la particule.
$N_A$	$N_A = \frac{A}{12\pi\mu a_p^2 U}$ [28]	Nombre d'attraction : représente l'influence combinée des forces Lifshitz-van der Waals et de la vitesse de la phase liquide sur la déposition des particules par des mécanismes d'interception
$N_G$	$N_G = \frac{2 a_p^2 (\rho_p - \rho_f) g}{9 \mu U}$ [29]	Nombre gravitationnel : ratio entre la vitesse de sédimentation de la particule (Stokes) et la vitesse d'approche du fluide.

avec :  $d_c$  le diamètre des grains du milieu poreux,  $U$  est le vitesse d'approche de la phase liquide,  $D_\infty$  le coefficient de diffusion de la phase liquide (d'après l'équation de Stokes et Einstein),  $A$  la constante d'Hamaker,  $a_p$  le diamètre de la particule,  $\rho_p$  la densité de la particule,  $\rho_f$  la densité du fluide,  $\mu$  la viscosité du fluide et  $g$  la constante gravitationnelle.

La comparaison de cette corrélation avec celle proposée par Rajagopalan et Tien et des résultats expérimentaux montre qu'elle prédit sensiblement mieux le coefficient  $\eta_0$ .

### 1.2.2. Détermination de l'efficacité d'attachement $\alpha$ .

La probabilité pour la particule de rester attachée à la phase solide lors qu'elle a été interceptée est exprimée par l'efficacité d'attachement  $\alpha$ . Une valeur de 1 indique que chaque interception résulte en un attachement, alors qu'une valeur de 0 indique que

l'adhésion ne se fait pas malgré les rencontres avec la phase solide. Comparativement à  $\eta_0$ , la détermination de  $\alpha$  a reçu moins d'attention.

Le coefficient d'attachement  $\alpha$  est généralement déterminé expérimentalement à partir de courbes d'élution. Pour un système avec injection continue de colloïdes, la constante de déposition est donnée par (Tufenkji et Elimelech 2004):

$$k_d = -\frac{v}{\theta L} \ln(C/C_0) \quad [30]$$

$C$  étant la concentration à la sortie de la colonne dans la phase « plateau » et  $C_0$  la concentration d'injection. En combinant avec la relation donnée pour  $k_d$  (Eq. 21 ) on a l'expression :

$$\alpha = -\frac{2}{3} \frac{d_c}{(1-\theta)L\eta_0} \ln(C/C_0) \quad [31]$$

Il semble alors logique d'essayer de corréler  $\alpha$  aux propriétés de surface des cellules et du milieu poreux. C'est ce qu'ont essayé de faire certains auteurs (Chen et Strevett 2003; Gross et Logan 1995). Dong *et al.* ont récemment tenté de déterminer un  $\alpha$  théorique à partir des propriétés de surface des bactéries et des grains du milieu poreux en utilisant le théorie XDLVO (Dong *et al.* 2002). Les auteurs ont comparé la valeur théorique de  $\alpha$  calculé avec des valeurs expérimentales. Ils concluent qu'il est possible de prédire le coefficient d'attachement  $\alpha$  à partir des propriétés de surface connue des cellules et de la matrice poreux. Toutefois, la grande dispersion des coefficients  $\alpha$  mesurés pour la souche utilisée (variation dans un rapport de 1 à 10) nous semble poser un problème quant à l'évaluation du modèle proposé.

## La théorie ne reflète pas la réalité

### 2.1. Déviation du modèle de filtration classique

Un nombre croissant de travaux a montré qu'il existe des écarts entre les observations et les prédictions réalisées avec le modèle de la filtration classique (MFC). Les principales déviations observées sont d'une part de la rétention de colloïdes dans des conditions à priori non favorables à leur rétention (Li *et al.* 2005; Tong et Johnson 2006) et d'autre part des profils de déposition qui ne présentent pas une diminution log linéaire avec la profondeur comme il est prédit par la théorie (Brown et Abramson 2006; Li *et al.* 2004; Liu *et al.* 2007; Simoni *et al.* 1998; Tufenkji et Elimelech 2005; Tufenkji *et al.* 2003). Les écarts entre la réalité et la prédiction par le MFC peuvent aussi être causés par d'autres facteurs comme le blocage (Bradford et Bettahar 2005; Bradford *et al.* 2005; Bradford *et al.* 2002), l'hétérogénéité du milieu poreux ou de la population bactérienne (Bolster *et al.* 1999; Harter *et al.* 2000; Shellenberger et Logan 2002), la mobilité cellulaire (Camper *et al.* 1993), les rugosités de surface (Shellenberger et Logan 2002), les forces hydrodynamiques (Li *et al.* 2005) ou le détachement de colloïdes (Kim et Tobiasson 2004; Li *et al.* 2004).

### 2.2. Déposition en conditions non favorables.

Le constat général est que la déposition de colloïdes ou de cellules bactériennes en milieu poreux est surestimée par le MFC en condition non favorable (Li *et al.* 2004; Tufenkji et Elimelech 2005). La présence d'une barrière énergétique devrait en théorie empêcher toute rétention de colloïdes dans un milieu poreux. Cependant en dépit des conditions non favorables de nombreux auteurs ont observé la déposition de colloïdes en milieu poreux (Li *et al.* 2004; Li *et al.* 2005; Tong *et al.* 2005; Tong et Johnson 2006). Johnson *et al.* ont avancé une explication en se basant sur des simulations d'un modèle de transport en milieu poreux à un échelle microscopique. Les auteurs ont simulé le passage de colloïdes ( $\varnothing = 1\mu\text{m}$ ) à travers un pore constitué par l'empilement de 4 billes de verre. Ils considèrent que les colloïdes, comme les billes de verre sont chargées négativement

pour imiter des conditions non favorables de déposition. Leurs travaux ont montré que la déposition de colloïdes dans un milieu poreux en condition non favorable de déposition peut se produire grâce à deux phénomènes : (i) le blocage au niveau du contact entre grains du milieu poreux (voir figure 9 page 80) et (ii) les zones de stagnation (zones où la vitesse d'écoulement de la phase liquide est nulle).

### 2.3. Profil de déposition non log-linéaires

D'après le MFC la concentration de colloïdes dans la phase liquide diminue exponentiellement avec la distance lors du transport dans un milieu poreux. Mais un nombre croissant de travaux suggère que la filtration de particules bactérienne par un milieu poreux n'obéit pas à cette loi, surtout en condition de déposition non favorable (Simoni *et al.* 1998; Tufenkji et Elimelech 2005; Tufenkji *et al.* 2003). Pour démontrer que le profil de déposition des bactéries ne décroît pas exponentiellement plusieurs auteurs ont entrepris de mesurer la concentration de colloïdes retenue par la phase solide (Bolster *et al.* 1999; Camesano et Logan 1998; Li *et al.* 2004). Dans ce type d'expérience une colonne contenant un milieu poreux est découpée en tranches horizontales après avoir reçu un pulse de colloïdes en entrée. La quantité de colloïde de chaque tranche de milieu poreux est ensuite déterminée (cytométrie de flux, comptage au microscope ou radiodétection). Ces travaux ont mis en évidence que la déposition de bactéries dans un milieu poreux en conditions non favorable dévie de la déposition prédite par la MFC. Typiquement la quantité de cellules retenues par la phase solide décroît plus rapidement avec la distance que le prédit la MFC. Ceci implique qu'une portion de la population est capable de voyager plus profond dans un milieu que les prédictions habituelles (Simoni *et al.* 1998). Plusieurs explications ont été élaborées tel que la hétérogénéité de la population cellulaire ou encore l'hétérogénéité de la surface des grains du milieu poreux (Dong 2002). Une distribution du coefficient d'attachement  $\alpha$  qui reflète ces hétérogénéités a été proposée afin d'améliorer le MFC (Brown et Abramson 2006). Bolster *et al.* ont montré qu'une distribution bimodale de  $\alpha$  pouvait passer inaperçue sur des colonnes courtes mais pouvait apparaître sur des distances de transport plus longues (Bolster 2000). Les auteurs montrent aussi que la bi-modalité des coefficients d'adhésion

pour une population bactérienne conduit à une migration cellules bien plus importante que prédite en supposant une constante de déposition unique. Tufenkji et Elimelech ont développé un modèle qui reprend ce concept de dualité avec deux modes de déposition : un rapide et un autre lent (Tufenkji et Elimelech 2005). Les auteurs supposent que malgré la déposition en condition non favorable (qu'ils considèrent lente) il peut exister des conditions exceptionnelles de déposition favorable (rapides). Ces conditions de déposition favorables seraient dues à des interactions spécifiques entre les macromolécules de la paroi des cellules et la surface des billes de verre. L'étude de Liu *et al.* révèle également un profil bimodal du transport bactérien qui pourrait expliquer le rôle des EPS dans ce phénomène (Liu *et al.* 2007). En testant le transport de 3 souches de *Pseudomonas aeruginosa* avec des capacités de fabrication d'EPS variables il est apparu que seulement les mutants fabriquant des EPS avaient un profil de déposition qui dévie de celui prédit par le MFC. De plus les cellules ayant perdu leur EPS pendant le transport (EPS restés collés sur les billes de verre en entrée de colonne) adhèrent mieux aux billes de verre. Il apparaît alors comme une dualité de comportement de transport dans une population clonale : le comportement des cellules avec EPS et celui des cellules ayant perdu des EPS.



## C. Le transport de bactéries pathogènes en milieu poreux

### 1. Introduction

Il existe plusieurs sources de bactéries pathogènes susceptibles de contaminer des nappes phréatiques ou des eaux de baignades après transport à travers un sol. Parmi les sources les plus souvent citées on trouve les eaux usées (Stevik *et al.* 2004), les boues des stations d'épuration ou le fumier des élevages intensifs (Cools *et al.* 2001). Plusieurs auteurs ont fait le point sur les études faites en matière de transport de souches pathogènes dans des environnements aquifères (Ferguson *et al.* 2003; Santamaria et Toranzos 2003; Stevik *et al.* 2004). Cependant la littérature comporte un nombre limité de travaux sur les conséquences liées au déplacement microbien dans un sol. Unc et Goss relatent l'événement tragique de mai 2000 à Walkerton (Ontario, Canada) où l'eau du robinet fut contaminée par les souches pathogènes *Escherichia coli* 0157:H7 et *Campylobacter* (Unc et Goss 2004). Cette contamination a entraîné l'hospitalisation de 2300 personnes dont 7 sont décédées sur un total de 5000 habitants que compte la ville de Walkerton. L'enquête sur les origines du drame a montré que la contamination était vraisemblablement due à des bactéries issues de lisiers qui ont réussi à atteindre l'aquifère.

Dans les zones rurales l'utilisation de systèmes d'assainissement des eaux usées autonome se développe rapidement. Aux Etats-Unis 25% de la population bénéficie de ce type de système (US Environmental Agency, (1997). Les eaux usées sont d'abord stockées dans une fosse septique pour permettre la décantation de la phase solide. Le surnageant est envoyé dans le sol via un réseau de drains. Ce type d'assainissement a été conçu en considérant que le sol agit comme un filtre. En effet des expériences ont

démontré que les microorganismes issus de ce type de système d'assainissement sont filtrés sur des distances relativement courtes en milieu poreux insaturé (Hagedorn 1981). Cependant Gerba *et al.* ont constaté que des bactéries coliformes pouvait être transportées jusqu'à une distance de 450 mètres à partir du point de contamination (Gerba 1975). La migration de souches pathogènes peut ainsi aboutir à la contamination des réserves en eaux potables et porter atteinte à la santé publique. Selon Scandura et Sobsey les effluents des fosses septiques sont une source importante responsable de la contamination des nappes phréatiques (Scandura et Sobsey 1997). Les bactéries pathogènes importante dans ce type de contamination sont : *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Vibrio cholerea*, *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Leptospira* sp., *Francisella tularensis*, *Dyspepsia coli*, et des souches productrices d'entérotoxines comme *E. coli* et *Pseudomonas* (Matthess 1985).

## **2. Le sort des bactéries pathogènes entérique dans un sol**

### **2.1. La survie**

Les bactéries entériques vivent normalement exclusivement dans le tractus digestif des mammifères. De ce fait ces microorganismes sont peu adaptés à la survie dans d'autres environnements et en particulier le sol. Néanmoins plusieurs auteurs ont constaté que des coliformes fécaux issues de stations d'épuration pouvaient survivre plusieurs mois dans un sol (Ngole 2006; Pourcher 2007). Une augmentation de l'humidité du sol (Ngole 2006), la diminution de la température ou encore la quantité de matière organique disponible favoriserait la survie des souches entériques.

### **2.2. Le déplacement**

L'argile favoriserait la réduction du transport de bactéries entériques dans un sol par filtration et adsorption. En effet l'argile est constitué de particules très fines (<2µm) bloquant ainsi le passage des cellules bactériennes (Huysman et Verstraete 1993). De plus la présence de groupements chargés positivement sur les particules d'argile favorise l'adhésion électrostatique des bactéries généralement de charge opposée (Fletcher 1979).

Scandura et Sobsey soutiennent également que des sols avec au moins 15% d'argile sont capable de retenir des bactéries et des virus et réduisent fortement les risques de contamination (Scandura et Sobsey 1997). Cependant Conboy et Goss en réalisant une surveillance de plusieurs puits ont remarqué que les sols riches en argile sont les plus susceptibles à permettre une contamination bactérienne d'origine fécale (Conboy 2000). Les événements pluvieux favoriseraient le déplacement de bactéries entériques dans un sol. Plusieurs auteurs ont observé le déplacement de coliformes sur plus de 150 mètres lors d'épisodes pluvieux importants (Celico *et al.* 2004; Gerba 1984).

### **2.3. Détection de pollutions fécales**

Traditionnellement les coliformes fécaux (aussi appelés coliformes thermo tolérants) ont été utilisés comme indicateur de contamination fécale. Plus récemment l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis (EPA) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) proposent d'utiliser *E. coli* et les entérocoques de l'intestin comme indicateurs de pollution fécale. De plus, des techniques de biologie moléculaire ont été développées pour la détection d'*E. coli* dans des environnements comme le sol (Sabat 2000) ou les eaux usées (Bertrand 2007). Bertrand et Roig ont développé une technique PCR pour détecter spécifiquement la souche pathogène *E. coli* 0157 H7 avec une sensibilité de 200CFU/litre (Bertrand 2007). La conférence annuelle de la Société Américaine de Microbiologie (ASM) de 2007 (Toronto, Ontario, Canada) a montré l'essor de méthodes de détection de souches pathogènes dans l'environnement (Esseilli 2007; Haffar 2007; Hallier-Soulier 2007). Plusieurs études ont donc permis de détecter des pollutions fécales dans l'environnement au moyen de ces techniques. Cependant la littérature ne mentionne pas de lien clair entre une pollution fécale et le transport de bactéries fécales en milieu poreux.



