

Comptage Hétérotrophe sur Plaque (CHP)

École Secondaire

But: Déterminer si un échantillon d'eau est dans la norme des recommandations canadiennes pour l'eau potable en ce qui concerne la croissance bactérienne. La méthode de comptage hétérotrophe sur plaque sera utilisée pour évaluer le nombre de colonies bactériennes qui se développent.

Les tests seront effectués sur 4 eaux de sources différentes et une source de contrôle:

- eau urbaine traitée
- eau rurale traitée (d'une communauté indigène ou non indigène)
- eau de source brute, non traitée
- eau traitée de votre communauté locale
- eau d'un échantillon contrôle

Les recommandations canadiennes établissent des niveaux de bactéries ne dépassant pas 500 UFC (unités formant des colonies)/ml. Bien qu'il n'y ait aucune loi imposant cette valeur maximale, si ce niveau est dépassé pour l'eau potable municipale, une inspection est souvent conduite pour déterminer la cause de l'augmentation. Souvent, les changements anormaux de bactéries hétérotrophes peuvent être une indication d'autres problèmes dans les systèmes d'eau.

Matériel:

5 - pipettes stériles

5 - spatules en plastique

5 - boîtes de pétri

4 - tubes de prélèvement hétérotrophe

(contient 10 % de thiosulfate de sodium pour enlever le chlore de l'échantillon d'eau)

Méthodologie:

1. Étiquetez une boîte de pétri " contrôle " et les autres selon la provenance de l'eau, donc, "urbaine traitée", "rurale traitée", "source brute, non traitée", "locale traitée".

Opération Goutte d'Eau

Visitez le site web de la Fondation de l'Eau Potable Sûre www.safewater.org

2. Étiquetez les 5 pipettes stériles: "contrôle", et les autres selon la provenance de l'eau, donc, "urbaine traitée", "rurale traitée", "source brute, non traitée", "locale traitée".
3. Étiquetez les 4 tubes de prélèvement hétérotrophe comme suit: "urbaine traitée", "rurale traitée", "source brute, non traitée", "locale traitée". Remplissez le tube de prélèvement hétérotrophe à l'aide de la pipette lui correspondant jusqu'à la marque de 5 ml avec l'eau adéquate, reboucher et agiter pour mélanger. Le tube de prélèvement hétérotrophe contient 10 % de thiosulfate de sodium qui enlève le chlore de l'échantillon d'eau - le chlore est la substance qui empêche la formation de bactéries dans notre eau. En enlevant le chlore de l'échantillon, des colonies de bactéries devraient se former sur la plaque.
4. En utilisant la pipette marquée "urbaine traitée", déposer 2 gouttes provenant de l'échantillon d'eau urbaine traitée dans la gélose de la boîte de pétri "contrôle".
5. Utilisant une spatule en plastique, avec un mouvement de va-et-vient, répandre l'eau de l'échantillon dans la boîte. Tournez la boîte d'un quart de tour et continuez le mouvement de va-et-vient pour étaler l'échantillon. Continuez de tourner et d'écartier jusqu'à ce que tout le liquide ait été absorbé dans la boîte. Assurez vous de bien étaler l'eau à la surface de la gélose et de ne pas l'enfoncer dedans. La gélose ne doit pas être endommagée.
6. Répétez les points 4 et 5 en utilisant les autres échantillons des tubes de prélèvement hétérotrophe et les mettre dans les boîtes de pétri adéquates, avec les pipettes adéquates. Souvenez d'utiliser les pipettes avec les échantillons d'eau qui ont les mêmes étiquettes, par exemple la pipette "urbaine traitée" avec l'échantillon "urbaine traitée".
7. Fermez les boîtes de pétri et laissez-les reposer pendant 10 minutes.
8. Renversez les boîtes, gélose orientée vers le haut, et stocker pendant 7 jours à température ambiante.
9. Après 7 jours comptez les colonies de bactéries dans les boîtes de pétri "urbaine traitée", "rurale traitée", "source brute, non traitée", et "locale traitée". Chaque colonie ressemble à un petit point rond sur la gélose et peut varier en taille, en forme et en couleur. La boîte de pétri contrôle ne devrait pas avoir de colonies.
10. Notez le nombre de colonies comptées.

Résultats Le nombre de colonies de bactéries comptées dans les boîtes de pétri "urbaine traitée", "rurale traitée", "source brute, non traitée", et "locale traitée" est moins que 500, alors l'eau respecte les recommandations canadiennes pour l'eau potable. Il ne devrait pas y avoir de colonies de bactéries dans la boîte de pétri contrôle.

Opération Goutte d'Eau

Visitez le site web de la Fondation de l'Eau Potable Sûre www.safewater.org

S'il y a, ceci signifie que la boîte a été souillée, probablement par de l'air ou autre chose.

C'est quoi la signification des différentes couleurs de bactéries?

Mycobacterium avium est brun pâle. *Aeromonas hydrophila* est jaune ou vert avec un point plus foncé au centre, *E. coli* est blanc, *Salmonella* est gris, *Campylobacter* est bleu et *Pseudomonas aeruginosa* peut être bleu, vert, jaune, rouge et brun en une combinaison décrite comme nacrés.

Manipulation sans risque du matériel

La manipulation de produits chimiques requiert une attention permanente. Ce test peut être effectué sans risque dans n'importe quelle région, toutefois veuillez faire preuve de prudence avec le matériel fourni.

Visitez le site de la Fondation de l'Eau Potable Sûre www.safewater.org pour en savoir plus sur les questions liées à l'eau potable.

Comptage Hétérotrophe sur Plaque (CHP)

Qu'est-ce qu'un hétérotrophe?

Un hétérotrophe est un organisme qui ne peut pas fabriquer sa propre nourriture et dépend donc d'autres substances pour sa nutrition. Par exemple, tous les animaux et êtres humains sont des hétérotrophes parce que nous devons manger d'autres plantes et animaux afin de survivre. Les bactéries, la levure, et les moisissures sont également des hétérotrophes, car elles ne sont pas capables de produire tous les nutriments nécessaires pour leur croissance. D'autre part, les plantes emploient l'énergie du soleil pour faire leur propre nourriture; c'est pourquoi, elles s'appellent les autotrophes.



Qu'est ce que le comptage d'hétérotrophe sur plaque?

Le comptage d'hétérotrophe sur plaque (CHP) est un procédé employé pour estimer le nombre de bactéries hétérotrophes présentes dans un échantillon d'eau. Un échantillon de l'eau est mis sur une plaque (boîte de pétri) qui contient des aliments dont les bactéries ont besoin pour survivre et se développer. La combinaison de nutriments le plus souvent employé pour cet essai s'appelle gélose R2A. Cette substance s'apparentant à de la gélatine est la plus adaptée aux besoins des bactéries de l'eau. Après 5-7 jours, le nombre de petites taches sur la plaque, appelées colonies, est compté, et on peut déterminer combien de bactéries sont présentes dans chaque millilitre d'eau. Les résultats de comptage de bactéries hétérotrophes sont généralement rapportés comme UFC/ml ou unités formant des colonies par millilitre. Chaque unité formant des colonies représente une bactérie unique qui a été capable de se multiplier. Il faut comprendre que le décompte de colonies ne permet pas, à lui seul, de tirer des conclusions sur les risques sanitaires. Cependant, c'est un

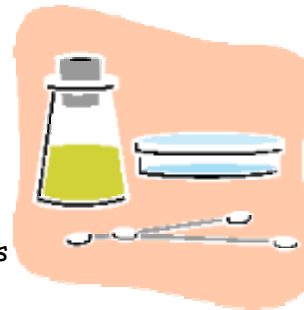
Opération Goutte d'Eau

Visitez le site web de la Fondation de l'Eau Potable Sûre www.safewater.org

moyen relativement facile de mesurer l'efficacité de la filtration et de la désinfection de l'eau. Il sert aussi à estimer le nombre de bactéries dans des zones qui ont un potentiel de contamination.

Quelle est la limite actuelle pour les CHP au Canada?

Les recommandations canadiennes établissent des niveaux de bactéries ne dépassant pas 500 UFC (unités formant des colonies)/ml. Bien qu'il n'y ait aucune loi imposant cette valeur maximale, si le niveau est excédé en eau potable municipale, une inspection est souvent conduite pour déterminer la cause de l'augmentation. Souvent, les changements anormaux de bactéries hétérotrophes peuvent être une indication d'autres problèmes dans les systèmes d'eau.



Quels sont les risques sanitaires liés à des niveaux de compte hétérotrophes sur plaque élevés?

Différentes bactéries posent différents problèmes de santé publique. Les micro-organismes qui sont mis en lumière par des tests de comptage de bactéries incluent ceux qui font partie de la flore microbienne naturelle (et non-dangereuse) de l'eau. Quelques espèces bactériennes prédominantes détectées en eau potable, ainsi que les doses qui devraient être ingérées pour causer une infection sont décrits dans la table ci-dessous.

Espèce de Bactérie	Dose infectieuse (par ingestion)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$10^8 - 10^9$ UFC
<i>Aeromonas hydrophila</i>	$> 10^{10}$ UFC
<i>Mycobacterium avium</i>	$10^4 - 10^7$ UFC
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	$10^6 - 10^9$ UFC

Bactéries trouvées communément dans l'eau potable
Source : http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/en/HPC2.pdf

Un risque plus élevé existe pour les personnes ayant un système immunitaire affaibli, tel que les personnes âgées, les enfants en bas âge, et les personnes ayant contracté le virus du SIDA. Les personnes sous antibiotiques semblent également courir un risque d'infection accru. Certaines des bactéries hétérotrophes trouvées dans l'eau potable peuvent poser d'autres problèmes tels que des infections de la peau et des blessures, dans la communauté, mais plus souvent dans les hôpitaux. Par exemple, certaines bactéries peuvent se développer dans de grands nombres sur des cathéters utilisés dans les hôpitaux et sont capables de causer une infection au point où le cathéter est inséré.

Opération Goutte d'Eau

Visitez le site web de la Fondation de l'Eau Potable Sûre www.safewater.org

Il est important de dire que toutes les espèces bactériennes ne sont pas forcément hétérotrophes et certaines, qu'on ne trouve généralement pas dans l'eau potable, peuvent présenter de risques sérieux à la santé publique. Référez-vous à la page "waterborne pathogens fact sheet" pour une liste complète des bactéries pouvant des maladies chez l'homme.

Que faire si mon eau dépasse les valeurs limites de bactéries hétérotrophes?

Le développement de bactéries dans l'eau potable déjà traitée est généralement appelé "re-développement". Ce type de développement est clairement reflété par des valeurs de comptage élevées. Le re-développement se produit généralement dans les zones ou dans les systèmes de plomberie dans lesquels l'eau stagne pendant une longue période, comme les bouteilles, les systèmes d'adoucissement et les filtres à charbon. Afin de s'assurer que le re-développement soit minimal, il faut des pratiques de sécurité en matière d'eau, telles que des protocoles d'entretien, un nettoyage régulier, une gestion de la température, et une désinfection (au chlore) soient mis en place. Si le niveau de bactéries hétérotrophes dépasse les recommandations, il faut vérifier que le système de distribution d'eau ait été nettoyé, que la désinfection est efficace et que l'eau est maintenue à une température adéquate. Une lacune dans ces mesures peut impliquer une élévation des niveaux de bactéries hétérotrophes.

Opération Goutte d'Eau

Visitez le site web de la Fondation de l'Eau Potable Sûre www.safewater.org