

Unité Bactériologie

LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL D' ANALYSES

1 – Présentation

L'eau intervient à plus d'un titre dans notre alimentation d'abord en tant qu'aliment de base : l'eau consommée doit satisfaire à des critères de potabilité assurant la protection du consommateur. Mais l'eau intervient aussi largement dans la préparation des aliments et constitue un vecteur possible de germes dangereux.

2 - Prélèvement demande d'analyses

Préparation de l'échantillon: après avoir pris soin de réaliser les prélèvements et de les acheminer au laboratoire dans les meilleures conditions possibles, la première étape de l'analyse est constituée par la préparation de l'échantillon qui peut se dérouler de deux façons différentes selon le taux de pollution de l'échantillon et le paramètre recherché. L'analyse bactériologique n'est pas seulement qualitative mais aussi quantitative.

3 - Principe des techniques utilisées

Dans ce type de méthode les bactéries se multiplient librement dans le milieu liquide. Par suite de l'utilisation de milieux sélectifs, on peut mettre en évidence la présence ou l'absence d'une bactérie appartenant à un groupe défini.

Méthodes de dénombrement direct par numération de colonies isolées après ensemencement sur un support nutritif solide. Dans ce type de méthode, les bactéries maintenues dispersées dans un milieu liquide ou solide, donnent naissance, dans des conditions déterminées, à des colonies isolées les unes des autres qui, de ce fait, peuvent être comptées. Le nombre de bactéries est exprimé par rapport à un volume d'eau.

Les micro-organismes indicateurs de pollution ou d'efficacité de traitement.

Les germes revivifiables

Ces examens visent à dénombrer non spécifiquement le plus grand nombre de micro-organismes. Ces dénombrements sont utilisés comme indicateur de pollution des milieux naturels (vérification de la protection vis-à-vis de toute contamination) et vérification de la qualité du réseau, des réservoirs et des canalisations.

Dénombrement des bactéries aérobies à 22 °C

L'eau est inoculée par incorporation dans un milieu non sélectif, la lecture est faite après 72 heures d'incubation à 22°C.

Dénombrement des bactéries aérobies à 36 °C

La lecture se fait après 48 heures d'incubation à 36 °C.

Les coliformes

Ces micro-organismes vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs fécaux de première importance.

Leur résistance, à certains agents antiseptiques fait qu'ils constituent également des indicateurs d'efficacité de traitement.

Dénombrement des coliformes

Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies de coliformes de se développer préférentiellement au cours de l'incubation à une température de 36°C. Cette étape est suivie d'un test de confirmation spécifique.

Dénombrement des *Escherichia coli*

L'incubation se fait à 44°C, les tests de confirmations spécifiques sur les colonies typiques permettent de mettre en évidence ce type de bactéries.

Dénombrement des *Escherichia coli* (NPP en microplaque) pour les eaux de rivière et baignades

Il s'agit d'une méthode par dilution dans des microplaques dont les puits contiennent un milieu spécifique

adapté. La lecture après incubation se fait par comptage des puits fluorescents sous lampe de WOOD.

Les ASR ou Bactéries anaérobies sulfito-réductrices

Dénombrement des bactéries anaérobies sulfito-réductrices

Ces bactéries sont souvent considérées comme des témoins de pollution fécale, elles ont la propriété de se transformer sous une forme résistante (spore) dans des conditions défavorables. Elles sont aussi un indicateur de l'efficacité d'un traitement physique ou de protection naturelle d'une nappe alluviale par exemple.

Après destruction des formes végétatives par chauffage, une quantité d'échantillon est filtrée sur membrane, et transférée sur un milieu gélosé contenant des sels de fer et du sulfite de sodium. L'incubation se fait en anaérobiose, les bactéries se développent sous forme de colonies.

Les entérocoque intestinaux

Dénombrement des entérocoques intestinaux

Ces micro-organismes ont un habitat fécal et sont plus résistants que les coliformes. Ils sont utilisés comme indicateur de pollution : le rapport entre le taux de coliformes et le taux d'entérocoques permet de cerner l'origine de la pollution (humaine ou animale). Ils sont aussi utilisés comme indicateur d'efficacité de traitement.

Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies d'entérocoques de se développer préférentiellement au cours de l'incubation à 36°C et sous un aspect caractéristique. Cette étape est suivie d'un test de confirmation spécifique avec le transfert de la membrane sur un milieu d'identification.

Dénombrement des entérocoques (NPP en microplaque) pour les eaux de rivière et baignade

Il s'agit d'une méthode par dilution dans des microplaques dont les puits contiennent un milieu spécifique adapté. La lecture s'effectue après incubation par un comptage des puits fluorescents sous une lampe WOOD.

Les micro-organismes pathogènes

Ces micro-organismes peuvent provoquer des maladies après absorption par voie orale.

Dénombrement des staphylocoques pathogène à coagulase positive

Ce micro-organisme, quand il peut se multiplier abondamment, produit une toxine thermostable provoquant une intoxication alimentaire. Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies de staphylocoques pathogène à coagulase positive de se développer préférentiellement au cours de l'incubation à 36°C puis à 44°C et sous un aspect caractéristique.

Recherche des *Salmonella*

Les Salmonelles sont responsables d'intoxication alimentaire provoquant des maladies infectieuses.

La recherche s'effectue après filtration sur une ou plusieurs membranes dans 5L d'eau pour concentration.

Ces membranes sont introduites dans un milieu d'enrichissement, la recherche s'effectue ensuite sur des milieux d'isolements sélectifs avec une identification.

Dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa*

Les *Pseudomonas aeruginosa* sont des bactéries pathogènes vivant dans les sols et en milieu humide, également opportunistes de certains animaux. Elles sont très résistantes à de nombreux antibiotiques et sont fréquentes en milieu hospitalier. Elles présentent un risque de contamination pour l'homme et provoquent des infections (infections cutanées, otites, conjonctivites). Cette bactérie peut également être un agent responsable des infections urinaires, pulmonaires, digestives et de septicémie.

Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies de *Pseudomonas* de se développer préférentiellement au cours de l'incubation à 36°C et sous un aspect caractéristique, les tests de confirmation spécifiques sur les colonies typiques permettent de mettre en évidence ce type de bactéries.



Les légionelles

Ce sont des bactéries naturellement présentes dans l'eau, responsables d'une maladie respiratoire (la légionellose aussi appelée « la maladie de légionnaire »). L'infection résulte de l'inhalation de gouttelettes d'eau contaminées.

Ces bactéries colonisent les réseaux de distribution d'eau notamment les réseaux d'eau chaudes sanitaires ainsi que les tours aéro-réfrigérantes, les humidificateurs, les bains bouillonnants et autres dispositifs contenant de l'eau tiède.

Les légionelles se développent et prolifèrent dans l'eau stagnante, lorsque la température est comprise entre 25 et 45°C et en présence de dépôts de tartre.

Les établissements à risques sont les bâtiments recevant du public, équipés d'installations collectives :

- les établissements de santé (hôpitaux, cliniques, maisons de retraites...),
- les établissements sociaux et médico-sociaux,
- les hôtels et résidences de tourisme (centres de vacances, gîtes, maisons d'hôtes...),
- les campings,
- les autres établissements recevant du public possédant des points d'usage à risque (douches, douchettes, bains à remous ou à jets...), établissements scolaires, centres de loisirs et sportifs, entreprises équipées de douches collectives...

Agréée par le **Ministère de la Santé** et accréditée par le **COFRAC**, le Laboratoire Départemental d'Analyses de la Lozère vous propose :

- Plan d'échantillonnage, prélèvements et analyses de légionelles :

Le laboratoire est accrédité par le COFRAC pour les interventions suivantes :

- **Le prélèvement instantané** des eaux chaudes sanitaires et des tours aéro-réfrigérantes selon le fascicule AFNOR – FDT 90-522 (prise d'un échantillon unique à chaque point de prélèvement)
- **L'analyse de légionelles** par la méthode dite de culture, en 10 jours, selon la norme NF T90-431.

Rappel : Analyses de légionelles à réaliser au minimum une fois par an.

Le LDA 48, vous propose également une prestation de location de thermomètres afin de réaliser la surveillance des points d'usage. Cette location comprend une vérification métrologique annuelle et le remplacement du matériel défectueux en cas de dérive.