

1ères rencontres nationales « gestion des baignades en eau douce »

**La méthode Coliplage® , un outil de diagnostic rapide
pour le suivi de la qualité des eaux de baignade**

Cahors, le 25 juin 2009

Annabelle HENRY



■ Les eaux de baignade: contexte et réglementation

➔ Directive européenne de 1976 ([76/160/CEE](#))



➔ Directive 2006/7/CE concernant la gestion de la qualité des eaux de baignade et abrogeant la directive 76/160/CEE.

- Nouveaux seuils et distinguo entre les eaux douces et les eaux de mer
- Le contrôle = 2 paramètres microbiologiques

Eaux de mer					
Paramètres microbiologiques (100mL)	Directive 1976		Future directive Européenne		
	Guide	Impérative	Excellente qualité	Bonne qualité	Qualité suffisante
<i>Escherichia coli</i>	100	2000	250	500*	500**
Streptocoques Fécaux	100	-	100	200*	185**

Eaux douces					
Paramètres microbiologiques (100mL)	Directive 1976		Future directive Européenne		
	Guide	Impérative	Excellente qualité	Bonne qualité	Qualité suffisante
<i>Escherichia coli</i>	100	2000	500	1000*	900**
Streptocoques Fécaux	100	-	200	400*	330**

■ Les méthodes de suivi existantes pour le paramètre microbiologique *Escherichia coli*.

	Méthode miniaturisée	Quantitray
Référence normative	ISO 9308-3 (DDASS) 	EPA 
Principe	Activité enzymatique Avec culture bactérienne en milieu liquide	
Sélectivité	<i>E. coli</i> : Activité glucuronidasique Thermo tolérance de <i>E.coli</i> à 44°C	<i>E. coli</i> : Activité glucuronidasique & galactosidasique
Bactéries détectables	<i>Escherichia coli</i> viables cultivables	
Délai de réponse	36-72 heures	18 heures
Communication du résultat	Quantitative Évaluation statistique	Quantitative Évaluation statistique

■ Méthode actuelle (ISO 9308-3)

➔ « Il s'écoule donc au minimum 48h entre le prélèvement et la connaissance du dénombrement, ce qui n'est pas sans conséquence pour la mise place d'une procédure « d'alerte précoce » telle que préconisée par la directive européenne dans le cas des pollutions à court terme » AFSSET, septembre 2007

■ Nécessité d'une surveillance en temps quasi réel et donc d'outils analytiques adaptés

- ➔ pour détecter les pollutions à court terme,
- ➔ les prévenir et les gérer (annexe II)



■ Que sont ces méthodes alternatives

→ Biochimique (enzymatique)

- ✓ Délai = 1H
- ✓ 6 échantillons en simultané
- ✓ Facile à mettre en œuvre
- ✓ Laboratoire de proximité
- ✓ Equipement et analyses peu coûteux
- ✓ Non discriminante vis-à-vis des VBNC

→ Biologie moléculaire (PCR / RT-qPCR/FISH)

- ✓ Délai = 3H – 6H
- ✓ 10-15 échantillons en simultané
- ✓ Opérateurs expérimentés
- ✓ Laboratoire centralisé
- ✓ Equipement coûteux
- PCR: Non discriminante vis-à-vis des VBNC et des mortes
- RT-qPCR: Non discriminante vis-à-vis des VBNC

La méthode Coliplage®

■ La méthode Coliplage®

→ Partenariat

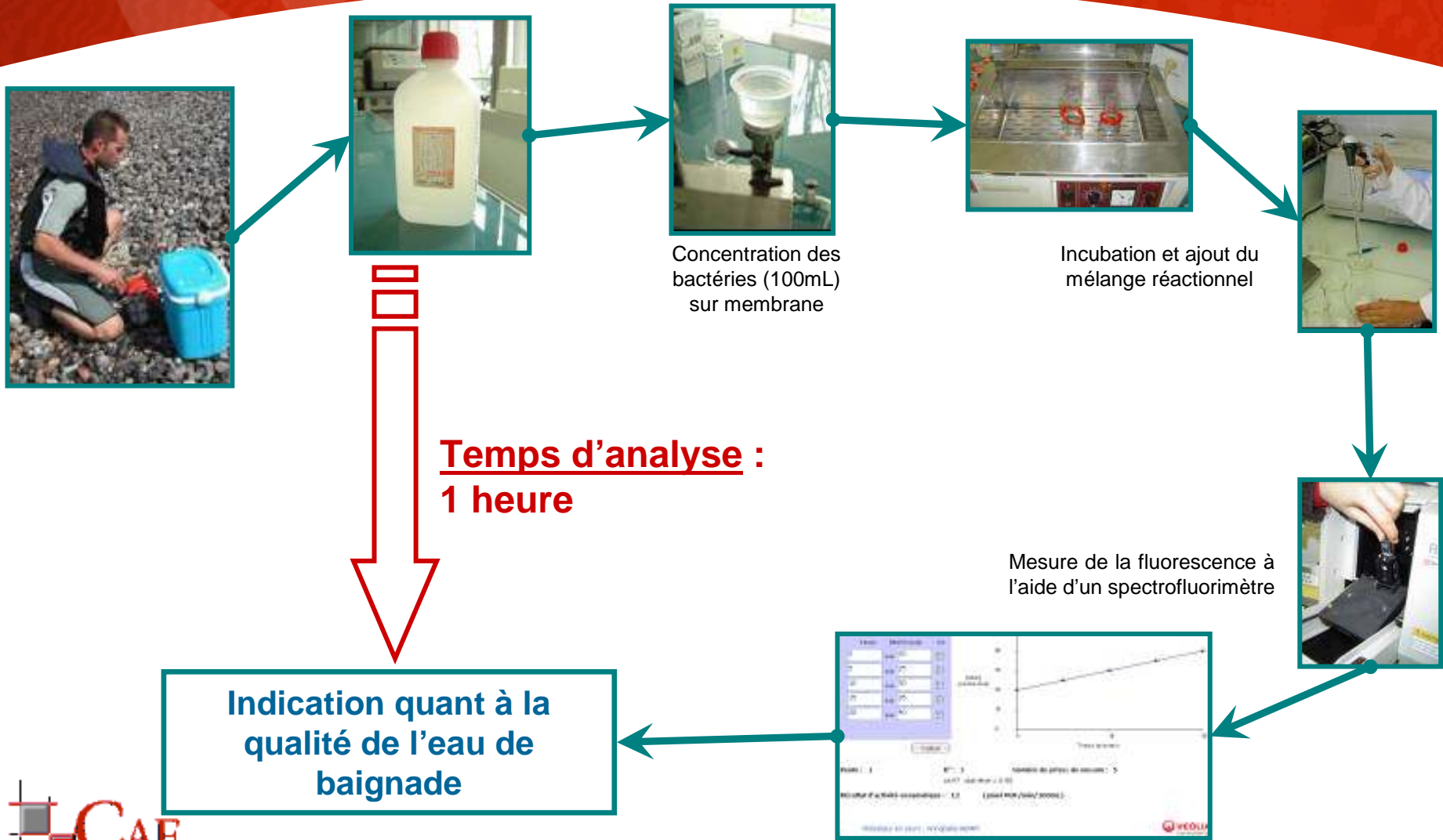
- Observatoire Océanologique de Banyuls sur Mer
- Université Libre de Bruxelles

→ Principe

- Spécifique à *E. coli*
- Recherche de l'activité glucuronidasique

→ Protocole





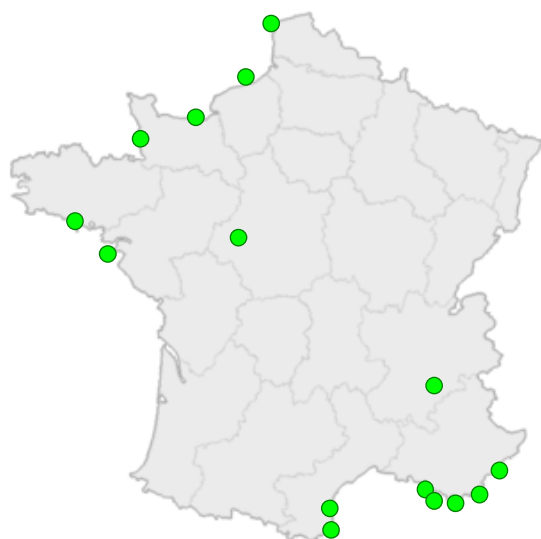
Document à usage strictement confidentiel



Recherche & Développement

- ➔ Indicateur de contamination fécale
- ➔ Comment interpréter les résultats
 - ✓ Constat d'absence de risque apparent suite aux analyses et aux observations de la plage
 - ✓ Présence d'un signal microbiologique ; investigations complémentaires en cours
 - ✓ Signal d'alerte
- ➔ Elles permettent de réitérer les analyses dans un délai très court et ainsi de suivre l'évolution de la pollution
 - ✓ Confirmation des premiers résultats dans les 4-5 heures

■ Déploiement en 2008



- Région FAP
- Région Normandie
- Région Bretagne
- Région Centre
- Région Sud
- Région Sud Est

	2006		2007		2008	
Nombre de laboratoires	16		14		15	
Nombre de sites suivis	≈ 100		≈ 100		≈ 100	
Nombre de résultats Coliplage	2162		2203		2533	
Nombre de résultats Coliplage-microplaque	1265		766		846	
Coliplage = Microplaque	1088	86,01%	696	90,86%	787	93,03%
microplaque < 2000 < Coliplage	108	8,54%	42	5,48%	47	5,56%
Coliplage < 2000 < microplaque	69	5,45%	28	3,66%	12	1,42%

acter

Docum

■ Les limites d'applicabilité de la méthode Coliplage®

- ➔ Une capitalisation de nos résultats depuis 2004 nous a permis de:
 - ✓ Définir les causes de discordances observées sur certains sites
 - ✓ Définir les contextes et environnements où la méthode présente ses limites.
- ➔ **Causes et origines**
 - Les bactéries *E. coli* dans un état physiologique Viable Non Cultivable
 - Les bactéries non spécifiques
 - Les MES (Matières En Suspension)
- ➔ **Localisation**
 - Sortie de lagunage, eau stagnante, zone de baignade fermée
 - Sortie ou embouchure de Port
 - Zone estuarienne

→ Les bactéries dans un état physiologique Viable Non Cultivable : VBNC

- Définition: bactéries, qui lorsque soumises à des conditions environnementales défavorables:
 - ✓ perdent la faculté de pousser sur les milieux habituellement utilisés (*Blackburn and McCarthy, 2000 ; Ward et al., 1990*),
 - ✓ gardent un potentiel de membrane, des activités métaboliques etc... (*Besnard et al., 2000 ; del Mar Lleó et al., 2000*).
- Interprétation:
 - ✓ Indicateur de pollution ancienne
 - ✓ Viabilité des pathogènes associés
 - ✓ Outil opérationnel

■ Un outil opérationnel

➔ Exemple de Barcelonnette: *Lac du Lauzet, Mai 2009*

➔ Historique

- ✓ **Détection** d'un fort signal enzymatique par la méthode Coliplage
- ✓ **Réitération** des analyses et **communication** à la collectivité. **Recherche** des sources de pollution.
- ✓ **Identification visuelle de la source de pollution.**
- ✓ **Fermeture préventive** de la plage suite à l'identification du point de rejet.
- ✓ Maintien d'un signal fort et une analyse microplaque de la veille présentant un résultat <100 → forte suspicion de bactéries VBNC.
- ✓ **Hypothèse confirmée : Prospection et identification du point de rejet** par des investigations opérationnelles (caméra) et des analyses microbiologiques.
- ✓ Prise de mesures pour **éliminer** la source de pollution.
- ✓ Retour à la normale de la plage et réouverture

- **Le diagnostic établi grâce à la méthode Coliplage® s'est donc révélé pertinent et a permis aux pouvoirs publics de réagir efficacement et de prendre les mesures nécessaires pour préserver la sécurité sanitaire des baigneurs.**

■ Limites de la méthode

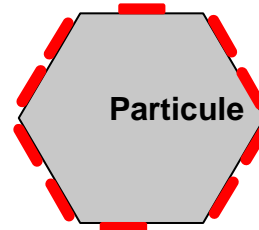
→ Les bactéries dans un état physiologique Viable Non Cultivable : VBNC

- Définition
- Où

→ Les bactéries non spécifiques

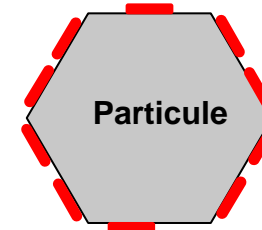
→ Les MES

— = 1 *E. coli*



Méthode microplaque
(ISO 9308-3)

Dénombré
comme
1 bactérie



Méthode rapide enzymatique

Dénombré
comme
10 bactéries

- Positionnement des analyses rapides dans une démarche d'amélioration de la qualité des eaux de baignade
 - ➔ Elles sont complémentaires aux analyses officielles et permettent une réelle gestion des pollutions
 - ➔ Elles sont un des indicateurs à prendre en compte dans une démarche globale comprenant notamment les profils de vulnérabilité et une observation journalière du site.

■ Offre «Maîtriser la qualité des eaux de baignade de Veolia Eau »

- ➔ Démarche volontaire tournée vers la gestion active de la qualité des eaux de baignade,
- ➔ Notre expérience depuis 2005, nous permet de proposer
 - Un accompagnement des collectivités dans la réalisation des profils de vulnérabilité,
 - La mise en œuvre d'une stratégie de surveillance durant la période estivale,
 - Un accompagnement des collectivités lors de gestion de crise,
 - Un suivi de prestations
 - ✓ Bilan annuel de la campagne estivale
 - ✓ Propositions de solutions de mise en œuvre pour améliorer durablement la qualité des eaux de baignade.

■ Conclusions:

- ➔ Prémises de l'évolution du suivi analytique et une ouverture aux méthodes alternatives.
- ➔ Utiliser correctement ces méthodes rapides comme des indicateurs de contamination fécale dans le cadre d'une gestion active globale des eaux de baignade.
- ➔ La méthode enzymatique est actuellement la plus rapide, avec des performances et une fiabilité équivalente de celles des autres méthodes rapides.



Coliplage® an alternative method for the real time monitoring of *E. coli* numbers in bathing waters

Henry Annabelle*, Baudart J.**, Scherpereel G.†, Servais P.***, Lebaron P.**, Alloway C.****, Delabre K.*

*Veolia Environnement, Centre d'Analyses Environnementales, France
**Université libre de Bruxelles, Belgique
***Veolia Water North America, USA
****Central, annabelle.henry@veoliaenv.fr - coliplage@veolia.fr

■ Merci de votre attention

■ Publications associées

- ➔ **Philippe Lebaron, A. Henry, A.-S. Lepeuple, G. Pena, P. Servais;** *An operational method for the real-time monitoring of E. coli numbers in bathing waters;* Marine Pollution Bulletin 50 (2005) 652–659.
- ➔ **Moira Cambrezy, Annabelle Henry, Philippe Lebaron, Pierre Servais ;** *Les eaux de baignade : gestion active et nouveaux outils de détection des pollutions fécales;* Eau industrie et nuisances 313 (2008) 81-91
- ➔ **Henry, A., Baudart, J., Scherpereel, G., Servais, P., Lebaron, P., Essemiani, K. & Delabre, K.** *Coliplage an alternative method for the real-time monitoring of E. coli numbers in bathing waters.* Proceedings American Water Works Association Conference 2008.
- ➔ **Baudart J., Servais P., De Paoli H., Henry A., Lebaron P.** 2009. *Rapid enumeration of Escherichia coli in marine bathing waters : potential interference of non-target bacteria.* J. Appl. Microbiol. (Accepté, JAM 4392, e-proof).