TEST DE NUMÉRATION SUR PLAQUE DES BACTÉRIES HÉTÉROTROPHES

Par Dan Kroll

Qu'est-ce qu'un hétérotrophe ?

Les hétérotrophes sont des groupes de micro-organismes, incluant les levures, les moisissures et les bactéries qui utilisent le carbone organique comme seule source d'énergie et de carbone. Cette classification est à opposer aux organismes autotrophes, tels que les algues, qui peuvent utiliser le carbone inorganique et le soleil pour couvrir leurs besoins. Une écrasante majorité d'espèces connues de bactéries, qu'elles soient aérobies ou anaérobies, est hétérotrophe. La plupart de ces organismes consomment des composés carbonés, tels que des sucres, de l'alcool et des acides organiques. Néanmoins, certains organismes spécialisés sont capables de décomposer la cellulose, la lignine, la chitine, la kératine, les hydrocarbures complexes, le phénol et autres substances. Les organismes hétérotrophes sont très répandus dans la terre, l'eau, la nourriture et le sol au fond des plans d'eau.

Pourquoi mesurer les hétérotrophes ?

Les micro-organismes se développent normalement dans l'eau et sous forme de biofilms sur les surfaces en contact avec de l'eau. La croissance de ces organismes après traitement de l'eau est généralement considérée comme une repousse. Cette repousse est le plus souvent révélée par l'augmentation des valeurs de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes dans les échantillons d'eau. Des valeurs de numération élevées sont fréquentes dans les sections stagnantes des systèmes de distribution, la plomberie résidentielle et l'eau en bouteille, et elles sont associées à des appareils raccordés à la tuyauterie, tels que des adoucisseurs, des filtres à charbon et des distributeurs automatiques de boissons.

Les tests de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes ont longtemps été utilisés pour vérifier la qualité de l'eau. Ils servaient généralement à vérifier la qualité des processus de traitement de l'eau, après une filtration au sable, et étaient considérés comme un indicateur de salubrité de l'eau. Alors que des techniques de surveillance spécialisées, notamment pour *E. coli* et les coliformes totaux se sont généralisées, l'utilisation de la numération sur plaque des bactéries hétérotrophes a décliné. Elle figure encore dans de nombreuses réglementations et directives et demeure un outil précieux de contrôle des processus.

Les mesures de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes sont utilisées pour :

- mesurer l'efficacité du processus de traitement de l'eau et donner une indication indirecte de la suppression d'agents pathogènes ;
- constater l'occurrence et le nombre de nouvelles croissances d'organismes pouvant avoir ou non des implications sanitaires ;
- évaluer le risque d'interférence avec le lactose en fonction des mesures de coliformes ;
- déterminer le degré d'application des mesures de protection de la santé publique et de prévention dans le cadre des programmes de qualité de l'eau ;
- évaluer la capacité de l'ensemble de la chaîne d'approvisionnement en eau à fournir une eau conforme aux objectifs de qualité ;
- surveiller les étapes de la chaîne d'approvisionnement qui sont d'une importance déterminante pour la salubrité de l'eau potable ;
- s'assurer que la tuyauterie sur site, ce qui inclut les réservoirs de stockage, fait l'objet de procédures de nettoyage et d'entretien adaptées en vue de la réduction des risques de santé publique ;
- mesurer les performances des processus de filtration et de désinfection ;
- suivre les systèmes de distribution pour lesquels les mesures de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes servent à anticiper les problèmes du système de distribution pouvant résulter d'une stagnation, de la perte de désinfectant résiduel, de hauts niveaux de carbone organique assimilable, d'une température plus élevée de l'eau et de la présence de nutriments ;
- contrôler les systèmes chloraminés et les systèmes contenant de l'ammoniac dans l'arrivée d'eau pour signaler le début possible d'un processus de nitrification ;
- servir d'indicateur potentiel de l'apparition de problèmes de goût et d'odeurs, et autres problèmes esthétiques.

Test de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes :

Comme la définition donnée ci-dessus le laisse entendre, les hétérotrophes peuvent être définis au sens large comme un groupe diversifié d'organismes nécessitant du carbone organique pour leur croissance. Au fil des années, différents tests de culture simples conçus pour révéler les micro-organismes hydriques ont été introduits. Ces types de test sont appelés des procédures de « numération sur plaque des bactéries hétérotrophes ».

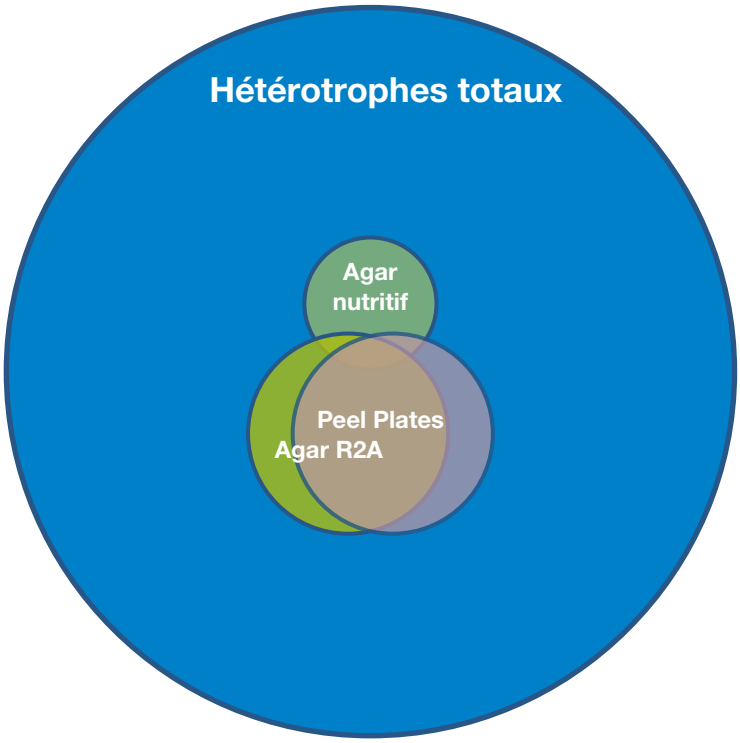
Il n'existe aucun test universel pour ce type de mesure. En général, en raison de la grande variété de méthodes de test disponibles et de la diversité des organismes pouvant être présents, il est préconisé de choisir une méthode conçue pour le site à évaluer et d'accorder plus d'importance aux tendances qu'aux numérations ponctuelles. En effet, différentes méthodes renvoient de meilleurs résultats (à savoir, révèlent davantage de micro-organismes) selon l'échantillon mesuré. Cela ne signifie pas qu'une méthode est plus efficace que l'autre, mais simplement que chaque méthode cible des populations différentes qui peuvent être présentes, ou non, dans l'échantillon concerné. Les analyses de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes sont un parfait exemple de paramètre défini par la méthode.

Certains aspects des méthodes de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes sont normalisés, notamment l'utilisation d'agar nutritif ou agar R2A, mais ces méthodes impliquent des paramètres de test très divers dépendant de l'utilisateur, ce qui est source de variations quantitatives et qualitatives considérables. Les méthodes les plus récentes (Reasoner et Geldreich 1985, alias R2A) permettent d'augmenter considérablement la proportion de bactéries pouvant être cultivées à partir d'échantillons d'eau potable par rapport aux méthodes plus anciennes, telles que l'agar nutritif. L'utilisation de milieux faibles en nutriments (par ex. R2A), mieux adaptés aux besoins des micro-organismes recherchés dans l'eau potable, permet d'augmenter la proportion de micro-organismes hydriques pouvant être révélés avec la méthode de culture par rapport à la méthode classique avec l'agar nutritif. Par contre, cette méthode a pour désavantage un temps de culture plus long (5 à 7 jours à 28 °C).

Il n'est pas possible d'isoler un facteur de croissance déterminant, qu'il s'agisse de la température, de la lumière ou du temps, couvrant l'ensemble des espèces et souches de bactéries potentiellement présentes dans un échantillon. Par conséquent, il a fallu élaborer différentes méthodes pour la mesure, chacune avec des milieux de culture, des temps d'incubation et des températures différents. Les températures d'incubation typiques sont aux alentours de 20 à 40° C, avec un temps d'incubation allant de quelques heures à sept jours, voire quelques semaines. D'autre part, le taux de nutriments peut varier considérablement, en allant de l'abondance propre à l'agar nutritif, à des milieux pauvres en nutriments, caractéristiques de la méthode R2A. Les méthodes de culture peuvent également varier et inclure des techniques de dénombrement par étalement, en milieu coulé, ainsi que des méthodes de filtration sur membrane.

Le test de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes ne spécifie pas en lui-même les organismes qui sont détectés. En réalité, seule une petite proportion des micro-organismes au métabolisme actif présents dans un échantillon d'eau peut se développer et être détectée quelles que soient les conditions. D'autre part, la population récupérée varie de manière

significative selon la méthode utilisée. Environ 0,01 % des micro-organismes hydriques appartient au groupe des bactéries hétérotrophes cultivables, et environ 1 % des bactéries viables n'est pas cultivable. Les corrélations des résultats de différents échantillons soumis à la même méthode et du même échantillon utilisant des méthodes différentes, voire de simples variantes de la même méthode, sont souvent difficiles, car elles peuvent renvoyer des résultats spectaculairement différents. Les organismes révélés avec la numération sur plaque des bactéries hétérotrophes peuvent également varier considérablement en fonction du site, de la saison, voire entre plusieurs échantillons consécutifs d'un même site. Les micro-organismes révélés par les tests de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes appartiennent généralement au microbiote naturel (généralement inoffensif) de l'eau. Dans certains cas toutefois, ils peuvent inclure des organismes dérivés de sources de polluants et/ou d'agents pathogènes.



Différentes méthodes détectent différentes sous-populations de bactéries hétérotrophes totales.

Conclusion

Les analyses de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes constituent un outil utile pour l'évaluation des échantillons d'eau potable. L'application correcte de mesures de surveillance de ce type permet d'évaluer l'efficacité des processus de traitement de l'eau, de la vérification continue de la chaîne d'approvisionnement en eau et d'obtenir une indication en cas de risque de dysfonctionnement du système. Un nombre élevé de bactéries hétérotrophes peut être symptomatique d'une perturbation du processus, voire d'un danger pour la santé publique. La sélection et l'application d'un test de numération sur plaque des bactéries hétérotrophes peuvent fournir des informations précieuses sur l'état de l'eau potable tout au long du système de production et de distribution.

Source : Heterotrophic Plate Counts and Drinking-water Safety. The Significance of HPCs for Water Quality and Human Health. Edité par J. Bartam, J. Cotruvo, M. Exner, C Fricker et A. Glasmacher. Publié au nom de l'Organisation mondiale de la santé par IWA Publishing, Alliance House, 12 Caxton Street, Londres SW1H 0QS, Royaume-Uni. 2003

DOC042.77.20226.Mar16