

microbiologie de l'eau – nouvelle méthode !

Fin 2012, le manuel suisse des denrées alimentaires (MSDA) a introduit une nouvelle méthode pour évaluer l'état microbiologique de l'eau : le procédé n°333 « Détermination par cytométrie en flux du nombre total de cellules et du rapport entre cellules à forte et faible teneur en acides nucléiques dans l'eau douce ».

analyse TCC & LNA/HNA

La cytométrie en flux (FCM, *flow cytometry*) permet de quantifier – en 20 minutes seulement – le nombre total de cellules (TCC, *total cell count*) présentes dans un échantillon d'eau. Contrairement aux méthodes traditionnelles, ce paramètre donne une description réaliste et complète de l'état microbiologique de l'eau.

En parallèle, la méthode permet aussi de déterminer les fractions de cellules à faible (LNA, *low nucleic acid*) et forte (HNA, *high nucleic acid*) teneur en acides nucléiques. Ces fractions LNA/HNA constituent une véritable « empreinte digitale » de la communauté microbiologique et sont typiques à chaque eau.

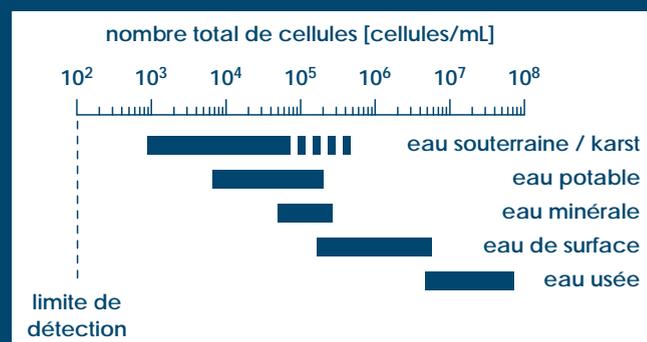
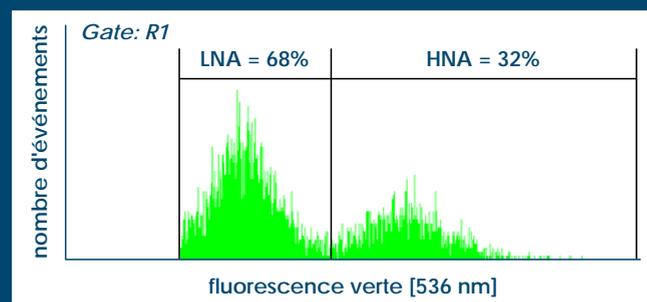
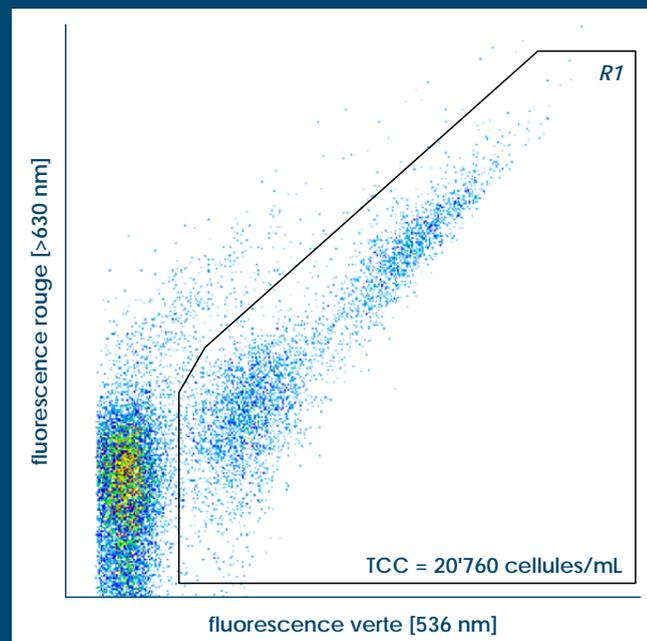
Une variation de ces paramètres est synonyme d'une instabilité de l'état microbiologique de l'eau. Elle peut être signe d'une contamination ou d'un problème technique dans l'installation de traitement ou dans le réseau de distribution d'eau potable.

analyse Live/Dead

En complément à l'analyse TCC & LNA/HNA, la cytométrie en flux permet également de fournir des renseignements sur les fractions de cellules intactes (Live) et endommagées (Dead). Ce paramètre est particulièrement intéressant pour évaluer l'efficacité des processus de désinfection de l'eau (p. ex. la chloration, l'ozonation).

applications

- évaluation spatiale et temporelle de la stabilité / activité microbiologique de l'eau potable dans le réseau de distribution
- évaluation de l'état microbiologique de l'eau lors des différents processus de traitement d'eau potable
- détection de phénomènes de (re)croissance et de contamination microbiologique
- étude de l'impact des eaux de surface sur la qualité microbiologique des eaux souterraines



avantages du procédé n°333 par FCM

- méthode rapide et fiable
- bonne reproductibilité / répétabilité : CV < 3 %
- faible limite de détection : 100 cellules/mL
- convient à tout type d'eau

principe du procédé n°333 par FCM

Les cellules présentes dans un échantillon d'eau sont marquées avec un colorant fluorescent se liant à l'ADN. L'échantillon est ensuite introduit dans le cytomètre en flux, où les cellules et d'autres particules subissent une focalisation hydrodynamique par un liquide vecteur dans la chambre de flux. Celles-ci, passant une à une le faisceau lumineux du laser, diffusent la lumière et émettent de la fluorescence. Ces signaux sont ensuite séparés par un jeu de miroirs dichroïques et filtres optiques, collectés par des photomultiplicateurs ou photodiodes, puis amplifiés et numérisés.

La cytométrie en flux est un procédé multiparamétrique, c'est-à-dire qu'elle attribue à chaque cellule / particule les différents signaux optiques émis. Elle peut déceler, analyser et traiter plusieurs centaines à quelques milliers d'événements par seconde. Par une combinaison des paramètres enregistrés, il est ainsi possible d'énumérer rapidement le nombre total de cellules et de distinguer les fractions LNA/HNA et Live/Dead.

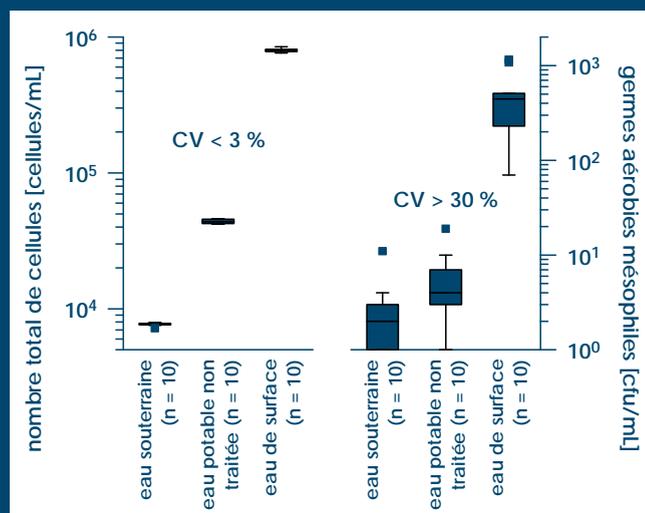
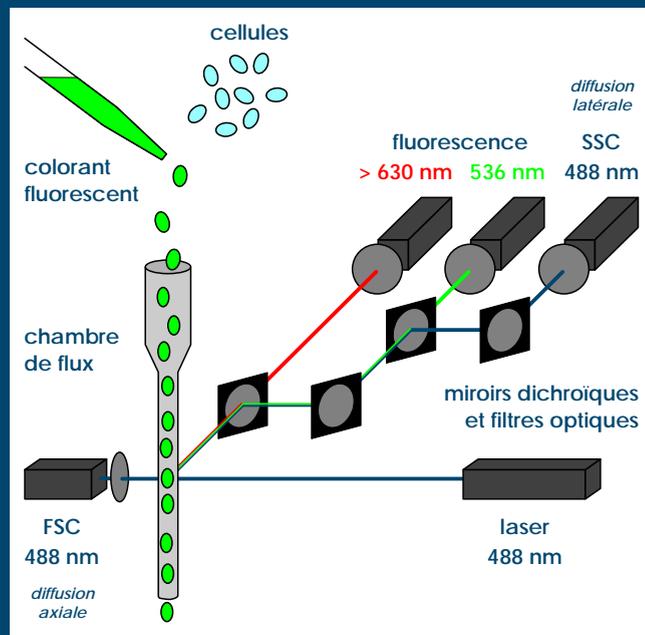
cytométrie en flux vs. inoculation en gélose

Une grande majorité des microorganismes de l'eau est viable mais non-cultivable. Par conséquent, il est généralement admis que moins de 0.1% des cellules bactériennes présentes dans un échantillon d'eau sont décelées lors des analyses classiques par ensemencement en milieu gélosé (p. ex. l'analyse des germes aérobies mésophiles). Contrairement à la cytométrie en flux, les techniques traditionnelles donnent donc une image très incomplète de l'état microbiologique de l'eau.

Outre la rapidité de l'analyse par cytométrie en flux (env. 20 minutes contre minimum 72 h pour les analyses traditionnelles), cette technique est également très fiable. En effet, l'évaluation de la reproductibilité et de la répétabilité des mesures a montré des coefficients de variation inférieurs à 3%.

à propos de fcm-lab

fcm-lab Sàrl est un laboratoire spécialisé dans l'analyse microbiologique de l'eau par la cytométrie en flux. Il propose également ses services de conseil / expertise dans le domaine de la microbiologie de l'eau, notamment pour les eaux souterraines. fcm-lab Sàrl a ouvert ses portes à l'été 2014 à Boudry (NE).



contact

fcm-lab Sàrl
Rue Louis-Favre 2
CH-2017 Boudry

t +41 (0)32 721 25 52
m +41 (0)78 886 72 00
e info@fcm-lab.ch
w www.fcm-lab.ch

heures d'ouverture

lu - je 07h45 - 18h00
ve 07h45 - 14h00