



## Présentation des activités

1. Introduction
2. Démonstration de la méthode de présence-absence (P-A) et de la méthode du nombre le plus probable (NPP)
3. Démonstration et pratique de la filtration sur membrane (FM)
4. Révision

## Résultats d'apprentissage

À la fin de cette session, les participants pourront :

1. Décrire les procédures de l'analyse P-A et de l'analyse NPP
2. Faire une démonstration des procédures de l'analyse FM

### Matériel et préparation

- Activité : Introduction (préparation d'un échantillon)
- Cuvette (propre et désinfectée)
- Bouteille d'eau (1 à 2 litres)
- Sachets Whirl-Pak®
- Polycopié : Formulaire d'enregistrement des données, voir annexe 3 (une page, imprimer un exemplaire par participant)
- Activité : Démonstration et pratique des analyses P-A, NPP et FM
- Préparation : Imprimer les procédures des analyses FM, P-A et NPP, voir annexe 5.
- Préparation : Préparer un poste d'analyse P-A et NPP comprenant un kit de terrain Pathoscreen Hach NPP et un kit de sachets à compartiments Aquagenx.
- Préparation : Installer les postes d'analyse FM, voir un exemple de mise en place à la fin du cours.
- Dispositifs Palintest (Wagtech) et/ou Delagua MF(2-4)
- Dispositif jetable Nalgene MF (1-2)
- Désinfectant pour les mains (un par table)
- Désinfectant (ex. : Dettol, alcool) (500 mL)

## Matériel et préparation (suite)

- Méthanol (au moins 500 mL)
- Petite bouteille à col large ou compte-gouttes pour le méthanol
- Éthanol ou alcool isopropylique (au moins 500 mL)
- Tampons alcoolisés ou boules de coton à tremper dans l'alcool (une boîte ou suffisamment pour deux par participant)
- Seringues stériles de 3 mL sans aiguilles (deux par bouteille de milieu de culture)
- Boîtes de Petri (en aluminium ou en plastique jetable), une ou deux par participant
- Préparation : Marquer un numéro unique sur chaque boîte de Pétri pour éviter les doublons.
- Tampons pour les boites de Pétri, un ou deux par participant
- Distributeurs de tampons (un par table)
- Milieu de culture (Coliscan, Hach m-ColiBlue24 ou MLSB) 2 mL par boîte
- (Facultatif) Si vous utilisez le MLSB, préparez le milieu selon les instructions du fabricant.
- Papier filtre de 47 mm, taille des pores 0,45  $\mu\text{m}$  (une boîte)
- Bouteilles de rinçage (une par table)
- Eau stérile (bouillie) pour le rinçage, assez pour remplir les bouteilles de rinçage, environ 2 litres
- (Facultatif) Eau en bouteille pour les échantillons témoins
- Forceps (un jeu par poste)
- Essuie-tout (un rouleau par table)
- Seaux pour déchets secs et humides avec couvercles (un jeu par table)
- Échantillons d'eau des participants provenant de l'exercice d'échantillonnage
- Incubateur réglé à la température appropriée pour le milieu (MLSB = 44 °C, Coliscan et m-ColiBlue24 = 35 °C)
- Balle pour le Jeu de balle d'apprentissage

## Lectures recommandées

- Dossier technique : Aspects microbiologiques de l'eau de boisson

10 minutes



## Introduction

1. Expliquez : "Nous allons prendre un échantillon d'eau pour l'analyser."
2. Demandez : "Au bout de combien de temps doit-on analyser un échantillon d'eau avant de le jeter ?"
  - Analyse : dans les six heures ; mise au rebut : après 24 h.
3. Versez de l'eau propre (utilisez de l'eau en bouteille) sur les mains de chaque participant au-dessus d'une cuvette propre.
4. Versez l'eau de rinçage dans un récipient à échantillons stérile ou un sachet Whirl-Pak®.
5. Demandez : "Comment pouvons-nous analyser la contamination microbiologique de cet échantillon ?"
  - P-A, NPP ou FM
6. Présentez les attentes d'apprentissage ou donnez un aperçu du cours.

15 minutes

## Démonstration de la méthode de présence-absence (P-A) et de la méthode du nombre le plus probable NPP



1. Expliquez : "Nous allons analyser l'échantillon de rinçage des mains en utilisant les méthodes d'analyse P-A et/ou NPP."
2. Indiquez les postes d'analyse mis en place pour la séance pratique et invitez les participants à se rassembler autour du poste avec le matériel requis pour effectuer les analyses P-A et NPP.
3. Demandez deux volontaires pour la démonstration des analyses P-A et NPP.
4. Expliquez les procédures générales des analyses avant que les volontaires ne les réalisent.
  - Se désinfecter les mains avant de commencer.
  - Étiqueter le récipient d'analyse (tube ou sac) avec un numéro de référence avant d'ajouter l'échantillon d'eau.
  - Noter le numéro et les informations de l'échantillon sur un formulaire d'enregistrement des données.
  - Agiter l'échantillon pendant 10 secondes avant l'analyse pour disperser les bactéries.
  - Lire toutes les instructions avant de commencer la procédure.
5. Demandez aux volontaires de suivre les procédures imprimées affichées sur le poste pour réaliser les analyses devant le groupe. Utilisez l'échantillon d'eau de rinçage des mains pour les analyses.
6. (Facultatif) Demandez à un autre volontaire de lire les instructions à haute voix.
7. Encouragez les commentaires et les questions.

**Points clés**

- Il faut agiter l'échantillon d'eau avant de l'analyser car les bactéries ont tendance à s'agglutiner, à se coller aux parois du récipient et à se déposer au fond. Cela permet une meilleure répartition.
- Les résultats des analyses P-A et NPP seront prêts en 24 à 48 heures.
- Lisez toujours les procédures car les différents fabricants ont des instructions spécifiques à leur produit.
- Le changement de couleur du résultat positif varie selon le fabricant et l'organisme indicateur analysé.
- Le Pathoscreen teste les bactéries productrices de H<sub>2</sub>S qui ne sont pas aussi spécifiques de la contamination fécale que les coliformes. Des faux positifs peuvent se produire dans les eaux à forte teneur en soufre ou à cause d'autres bactéries non fécales.

90 minutes

**Démonstration et pratique de la filtration sur membrane (FM)**

1. Expliquez : "Ce cours a pour but de vous donner une expérience pratique de quelques méthodes d'analyse microbiologique."
2. Invitez les participants à se rassembler autour d'un poste FM pour une démonstration de la technique qu'ils vont utiliser sur leurs échantillons d'eau.
3. Montrez au groupe complet la procédure de la filtration sur membrane avec les dispositifs Palintest (Wagtech) ou Delagua.
4. Préparez un échantillon témoin avec de l'eau stérile (bouillie). Si vous ne disposez pas d'eau bouillie, utilisez de l'eau en bouteille non ouverte.
5. Séparez les participants en petits groupes de deux ou trois personnes, en fonction du nombre de postes et de participants.
6. Distribuez les échantillons d'eau prélevés par les participants.
7. Distribuez un formulaire d'enregistrement des données par participant.
8. Donnez les instructions : "Enregistrez les données de votre échantillon sur vos formulaires d'enregistrement des données. Veuillez conserver les formulaires car toutes les données des analyses y seront enregistrées, y compris les aspects microbiologiques, chimiques et d'acceptabilité. Vous aurez besoin de ces formulaires lors des prochaines sessions."
9. Rappelez aux participants de secouer l'échantillon pendant 10 secondes avant de le filtrer.
10. Demandez-leur d'analyser leurs échantillons d'eau avec le matériel disposé sur leur poste, en suivant les procédures affichées.
11. Demandez à une personne de déposer l'échantillon de lavage des mains dans les boîtes de Pétri si le temps le permet.

**Conseils aux formateurs**

Supervisez les petits groupes aux postes d'analyse.

La filtration sur membrane implique de nombreux éléments, dont il peut être difficile de se rappeler la première fois.

12. (Facultatif) Montrez comment utiliser le dispositif Nalgene au petit groupe affecté à ce poste.
13. Laissez les petits groupes pratiquer la filtration sur membrane de sorte que chaque participant fasse au moins une analyse.
14. Faites-leur changer de poste si le temps le permet.
15. Récupérez les échantillons en boîtes de Pétri et laissez-les se régénérer pendant 1 à 4 heures avant de les placer dans l'incubateur.

### Conseils aux formateurs

Le nouvel incubateur en kit Palintest possède une fonction qui permet une période de régénération.

### Points clés

- Les échantillons témoins font partie du contrôle de la qualité pour vérifier que le milieu de culture est stérile.
- Si des colonies bactériennes se développent sur la plaque témoin, il y a eu contamination secondaire.
- Analysez une plaque témoin tous les 10 à 20 échantillons.
- Analysez les échantillons en partant du moins contaminé vers le plus contaminé.
- La période de régénération permet aux bactéries de se remettre du stress du processus de filtration et d'assurer leur survie et leur croissance.

## Révision



1. Demandez aux participants de former un cercle.
2. Lancez une balle à un participant.
3. Demandez : "Pouvez-vous décrire une étape de la procédure d'analyse de présence-absence ?"
4. Demandez au participant de décrire une étape et de lancer la balle à une autre personne pour qu'elle décrive l'étape suivante.
5. Continuez ainsi jusqu'à ce que toutes les étapes aient été décrites.
6. Rappelez aux participants de conserver leurs formulaires d'enregistrement des données pour les séances d'analyse du lendemain.

Le contenu de ce document est en libre accès et sous licence [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). Reportez-vous aux directives de CAWST pour la distribution, la traduction, l'adaptation ou le référencement des ressources de CAWST ([resources.cawst.org/cc](https://resources.cawst.org/cc)).



## Postes d'analyse microbiologique

**Exemple d'aménagement d'un poste d'analyse**