



## Présentation des activités

1. Introduction
2. Méthodes d'analyse microbiologique
3. Évaluation des méthodes d'analyse microbiologique
4. Révision

## Résultats d'apprentissage

À la fin de cette session, les participants pourront :

1. Identifier les méthodes d'analyse microbiologique
2. Évaluer les différentes méthodes d'analyse microbiologique
3. Déterminer quand utiliser les analyses Présence/Absence (P-A), Nombre le Plus Probable (NPP) et Filtration par membrane (FM).

### Matériel et préparation

- Démonstration des méthodes d'analyse microbiologique
- Préparation : Échantillon pour l'analyse P-A (ex. : Pathoscreen Hach ou Enpho)
- Préparation : Échantillon pour l'analyse NPP (ex. : kit de terrain Pathoscreen Hach ou sachets à compartiment Aquagenx)
- Préparation : Échantillon pour analyse par filtration sur membrane (ex. : kit Palintest ou Delagua)
- Utilisez la présentation PowerPoint (facultatif) : Méthodes d'analyse microbiologique (à utiliser si des échantillons de chaque méthode d'analyse ne sont pas disponibles)

### Lectures recommandées

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

5 minutes



## Introduction

1. Présentez les scénarios suivants :
  - Vous êtes un responsable de projet qui avez fait forer un nouveau puits dans un village éloigné. Vous voulez vérifier que le forage a été correctement désinfecté après la mise en service, mais ne pouvez pas vous rendre facilement sur le site et ne disposez pas de personnel de laboratoire formé.
  - Vous disposez d'un technicien de qualité de l'eau formé et d'un laboratoire, et vous devez vérifier l'efficacité d'une technologie de traitement de l'eau (par exemple un filtre biosable).
  - Vous n'avez pas de matériel de laboratoire, mais vous devez connaître le nombre approximatif d'E. coli qui contaminent un point d'eau.
2. Demandez s'il est possible d'utiliser le même type d'analyse dans chaque scénario. Demandez aux participants pour quelles raisons ils pourraient ne pas être en mesure ou ne pas vouloir utiliser les mêmes méthodes.
  - Il existe différents niveaux d'étude ou d'examen, qui dépendent de plusieurs facteurs, parmi lesquels :
    - i. Les objectifs
    - ii. Les ressources
    - iii. Horaire
    - iv. Le degré d'exactitude, etc.
3. Expliquez que pendant cette session, nous allons identifier et évaluer des méthodes particulières d'analyse microbiologique et décider quand utiliser chaque méthode.
4. Présentez les attentes d'apprentissage ou donnez un aperçu du cours.

15 minutes



## Méthodes d'analyse microbiologique

1. Rappelez aux participants qu'il existe différentes façons de réaliser l'analyse et que nous allons examiner les trois principales méthodes d'analyse microbiologique.
2. Présentez les trois principales méthodes d'analyse microbiologique :
  - Présence-Absence (P-A): une analyse simple qui indique une contamination par un changement de couleur.
  - Nombre le plus probable (NPP) : utilise le même principe que la méthode P-A, mais estime le nombre de bactéries indicatrices susceptibles d'être présentes dans l'eau.
  - Filtration sur membrane (FM) : la méthode la plus précise pour déterminer le nombre de bactéries indicatrices dans un échantillon d'eau. C'est une méthode standard internationalement reconnue.

3. Montrez des exemples de chaque méthode en distribuant des échantillons ou des kits d'analyse et en expliquant comment utiliser chaque type d'analyse. *(Facultatif) Utilisez la présentation PowerPoint : Méthodes d'analyse microbiologique si des échantillons de chaque méthode d'analyse ne sont pas disponibles.*

#### Présence-absence (P-A)

- Méthode la plus simple
- Ajoutez un échantillon d'eau à une bouteille contenant le milieu de culture et laissez reposer de 24 à 48 heures.
- La couleur va changer si l'organisme indicateur est présent.
- Ne dénombre pas les bactéries.
- Si l'échantillon est positif, l'eau doit être analysée à nouveau au moyen d'une filtration par membrane afin de déterminer le nombre de bactéries

#### Nombre le Plus Probable (NPP)

- Indique le nombre le plus probable de bactéries présentes dans l'échantillon d'eau.
- Ajoutez l'échantillon d'eau dans 5 à 10 tubes à essai (ou une plaque comportant entre 10 et 96 cavités, ou un sachet à compartiments) contenant un milieu de culture.
- Laissez incuber pendant 24 à 48 heures.
- C'est une méthode statistique basée sur le nombre de tubes (ou cavités) positifs.
- Dans le tableau fourni, le nombre de tubes positifs est indiqué en nombre de colonies par 100 mL d'échantillon (NPP/100 mL), où NPP représente le nombre le plus probable.

#### Filtration sur membrane — FM

- Méthode la plus précise pour dénombrer les bactéries (reconnue internationalement).
- Filtrez 100 mL d'un échantillon d'eau à l'aide du matériel de filtration.
- Ajoutez le milieu de culture dans une boîte de Pétri pour fournir des éléments nutritifs aux organismes indicateurs afin qu'ils se développent.
- Transférez le papier filtre dans la boîte de Pétri.
- Laissez incuber pendant 24 à 48 heures en fonction du milieu de culture.
- Si l'organisme indicateur est présent, les colonies apparaissent sur le papier filtre et peuvent être dénombrées.
- Les résultats sont présentés en nombre de colonies par 100 mL d'échantillon (UFC/100 mL), où les UFC = unités formatrices de colonies

4. Expliquez aux participants qu'ils mettront en pratique la technique de filtration sur membrane sur leurs échantillons d'eau plus tard.

## Évaluation des méthodes d'analyse microbiologique



1. Expliquez que les participants seront divisés en groupes et qu'ils discuteront des avantages et des inconvénients des trois méthodes d'analyse.
2. Expliquez que chaque groupe doit discuter de son thème et se préparer à présenter ses résultats avant de voter pour la méthode d'analyse qu'il juge la plus appropriée.
3. Répartissez les participants dans six groupes en leur attribuant un chiffre de un à six. Organisez ensuite les groupes (tous les uns ensemble, les deux ensemble, etc.)
4. Affectez à chaque groupe un thème à traiter.
  - Le Groupe 1 traite des avantages de l'analyse P-A.
  - Le Groupe 2 traite des limites de l'analyse P-A.
  - Le Groupe 3 traite des avantages de l'analyse NPP.
  - Le Groupe 4 traite des limites de l'analyse NPP.
  - Le Groupe 5 traite des avantages de l'analyse FM.
  - Le Groupe 6 traite des limites de l'analyse FM.
5. Accordez cinq minutes aux groupes pour délibérer et noter leurs idées.
6. Invitez ensuite les groupes correspondants à présenter leurs idées en comparant les avantages et les limites de chaque méthode d'analyse.
7. Notez les idées au tableau.
8. Ajoutez les points absents (voir les points clés ci-dessous à titre de référence).
9. Invitez les participants à noter les points importants dans leur cahier d'exercices.

### Points clés

- Avantages de la méthode P-A : 1. Simple à comprendre et utiliser ; 2. Résultats rapides (dans les 24 heures) ; 3. Ne requiert pas beaucoup de matériel ; 4. Portable et durable sur le terrain ; 5. Relativement bon marché.
- Inconvénients du P-A : 1. N'indique pas combien de bactéries sont présentes dans l'échantillon ; Non recommandé par l'OMS pour l'analyse de l'eau de surface et l'eau non traitée des sources communautaires Not ; 3. Non recommandé pour vérifier l'efficacité des technologies de traitement de l'eau à domicile technologies (ex : filtre biosable)
- Avantages de la méthode NPP : 1. Résultats semi-quantitatifs ; 2. Simple à comprendre et utiliser ; 3. Relativement bon marché ; 4. Peut être utilisée avec de l'eau turbide.
- Inconvénients de la méthode NPP : 1. Requiert plus de travail que le P-A ; 2. Requiert une certaine formation ; 3. Requiert un incubateur et du matériel supplémentaire ; 4. Les plaques jetables génèrent beaucoup de déchets.
- Avantages de la méthode FM : 1. Capable de dénombrer les bactéries ; 2. Méthode d'analyse la plus précise ; 3. Méthode reconnue internationalement ; 4. Capable d'analyser de nombreux échantillons simultanément.
- Inconvénients de la FM : 1. Demande plus de travail que le NPP et la P-A ; 2. Requiert davantage de formation ; 3. Requiert du matériel supplémentaire ; 4. Le coût des consommables peut être élevé dans de nombreux pays ; 5.

## Questionnaire de révision



1. Expliquez que nous allons reprendre les scénarios de l'activité d'introduction afin d'identifier la méthode appropriée pour chacun.
2. Demandez : "Quelle méthode utiliseriez-vous si on vous présentait les scénarios suivants ?"
3. Lisez chaque scénario à haute voix et laissez quelques minutes aux participants pour prendre leur décision et la faire connaître.
  - Scénario 1 : "Vous êtes un responsable de projet qui avez fait forer un nouveau puits dans un village éloigné. Vous voulez vérifier que le forage a été correctement désinfecté après la mise en service, mais ne pouvez pas vous rendre facilement sur le site et ne disposez pas de personnel de laboratoire formé. Quelle méthode d'analyse microbiologique pourriez-vous faire utiliser au foreur sur le terrain ?"
    - i. Présence-absence
  - Scénario 2 : "Vous disposez d'un technicien de qualité de l'eau formé et d'un laboratoire, et vous devez vérifier l'efficacité d'une technologie de traitement de l'eau (par exemple un filtre biosable). Quelle méthode d'analyse microbiologique utiliseriez-vous ?"
    - i. Filtration par membrane
  - Scénario 3 : "Vous n'avez pas de matériel de laboratoire mais vous devez connaître le nombre approximatif de E. coli qui contaminent un point d'eau. Quelle méthode d'analyse microbiologique utiliseriez-vous ?"
    - i. Nombre le plus probable

---

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)).

