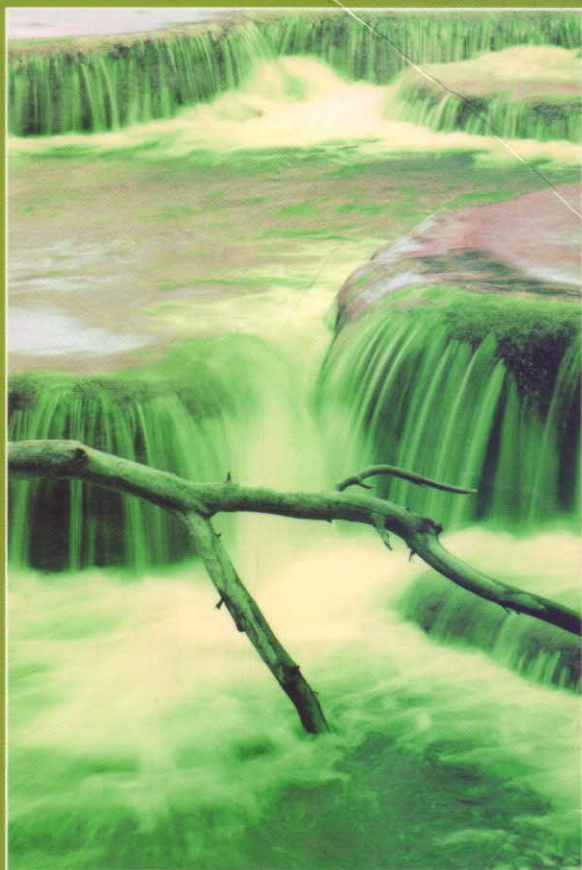


Camille Delarras
avec la participation de Bernard Trébaol

SURVEILLANCE SANITAIRE ET MICROBIOLOGIQUE DES EAUX



Réglementation — Prélèvements — Analyses

E
M
inter

Editions
TEC
& **DOC**

Sommaire

Avant-propos.....	XXIX
-------------------	------

Introduction.....	1
-------------------	---

✧ Chapitre 1

Règlementations européenne et française 3

1. Eaux destinées à la consommation humaine, non minérales	3
1.1. Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998	3
1.1.1. Objectif	3
1.1.2. Définitions	3
1.1.3. Extraits microbiologiques de la directive	4
1.1.4. Commentaire général (B. Trébaol)	4
1.2. Législation française	4
1.2.1. Historique	4
1.2.2. Décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001	5
1.3. Paramètres et normes microbiologiques de qualité	5
1.3.1. Limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine	5
1.3.1.1. Eaux de distribution.....	6
1.3.1.2. Eaux vendues en bouteilles ou en conteneurs	6
1.3.1.3. « Eaux de boissons »	7
1.3.2. Paramètres indicateurs de qualité des eaux destinées à la consommation humaine	7
1.3.3. Limites de qualité des eaux douces superficielles	8
1.3.3.1. Limites de qualité des eaux brutes utilisées	8
1.3.3.2. Groupes A1, A2 et A3	8
1.3.3.3. Critères de qualité de l'annexe I-3.....	9

1.4.	Contrôle sanitaire et méthodes d'analyses	9
1.4.1.	Contrôle sanitaire et surveillance	9
1.4.2.	Méthodes d'analyses de référence	10
1.5.	Périmètres de protection	10
2.	Eaux minérales naturelles et eaux de sources	10
2.1.	Directive 96/70/CE du Conseil du 28 octobre 1996 (JOCE n° L80/777/CEE)	10
2.1.1.	Objectifs	11
2.1.2.	Définitions	11
2.2.	Législation française	11
2.3.	Paramètres microbiologiques et critères exigibles	11
3.	Eaux thermales	14
3.1.	Législation	14
3.2.	Surveillance microbiologique des eaux thermales	15
3.2.1.	Paramètres microbiologiques	15
3.2.2.	Normes de qualité microbiologique	16
3.2.2.1.	Surveillance dans les établissements thermaux	16
3.2.2.2.	Normes microbiologiques des eaux minérales naturelles	16
3.2.3.	Cas des piscines thermales	16
4.	Eaux récréatives ou de loisirs	18
4.1.	Directive 76/160/CEE du 8 décembre 1975	18
4.1.1.	Objectif	18
4.1.2.	Définitions	19
4.2.	Législation française	19
4.3.	Eaux récréatives ou de loisirs	20
4.3.1.	Baignades aménagées	20
4.3.1.1.	Définition	20
4.3.1.2.	Méthodes microbiologiques de référence	20
4.3.1.3.	Paramètres microbiologiques et critères exigibles	21
4.3.1.4.	Autres recherches circonstanciées	23
4.3.2.	Piscines	23
4.3.2.1.	Définition	23
4.3.2.2.	Méthodes microbiologiques de référence	23
4.3.2.3.	Paramètres et normes microbiologiques	23
4.3.3.	Contrôle sanitaire des eaux de loisirs	23
5.	Eaux conchyliques	23
5.1.	Directive 91/492/CEE du Conseil du 15 juillet 1991	23
5.1.1.	Objectif	25
5.1.2.	Définitions	25
5.2.	Législation française	26
5.3.	Surveillance et contrôle microbiologiques	26
5.3.1.	Organismes et services concernés	26
5.3.2.	Au niveau de la production	26
5.3.3.	Au niveau de la consommation	28
5.4.	Classement de salubrité des zones de production	29
5.5.	Zones de pêche à pied récréatives marines non professionnelles	29

6. Eaux résiduaires, épurées ou non, eaux douces superficielles, eaux marines ...	30
6.1. Directive 91/271 du Conseil du 21 mai 1991	30
6.1.1. Objectif	30
6.1.2. Définitions	31
6.1.3. Autres définitions	31
6.1.4. Modification de la directive	32
6.2. Législation française	32
6.3. Paramètres microbiologiques et zones sensibles	32
6.3.1. Désinfection des eaux usées urbaines	32
6.3.1.1. Décret n° 96-540 du 12 juin 1996	33
6.3.1.2. Circulaire DGS/VS4 n° 98-426 du 10 juillet 1998.....	34
6.3.2. Paramètres microbiologiques des « usages eaux marines »	34
6.3.2.1. Baignades aménagées ou non, en mer et en eaux douces	34
6.3.2.2. Classement de salubrité des zones de production conchylicoles	34
6.3.3. Paramètres microbiologiques des « usages eaux douces »	35
6.3.3.1. Usage « production d'eau potable »	36
6.3.3.2. Usage « loisirs et sports aquatiques »	36
6.3.3.3. Usage « Irrigation »	36
6.3.3.4. Usage « Abreuvement »	37
6.3.3.5. Usage « Aquaculture » (piscicultures)	38
6.4. Exemple d'arrêt d'objectif de réduction des flux de l'agglomération XXX	38

✧ Chapitre 2

Contrôles sanitaires	43
1. Contrôle sanitaire de l'eau destinée à la consommation humaine	43
1.1. Organisation administrative du contrôle	43
1.1.1. État des lieux – Mise à jour d'une base de données	44
1.1.2. Adaptation du programme de visite	44
1.1.2.1. Programme annuel	44
1.1.2.2. Planning mensuel	45
1.1.2.3. Types de visites	45
1.1.3. Choix des lieux de prélèvements	45
1.1.3.1. Points fixes – Surveillance générale de la qualité	45
1.1.3.2. Points mobiles – Identification des risques singuliers..	46
1.1.4. Que savoir aux points de prélèvements ?	46
1.1.4.1. à la ressource d'eau brute	46
1.1.4.2. à l'unité de production	46
1.1.4.3. En distribution	46
1.1.5. Gestion des moyens : une logistique de référence	46
1.2. Procédures de visite	47
1.2.1. Préparation de la tournée	47
1.2.1.1. Édition des documents de traçabilité	47
1.2.1.2. Préparation du flaconnage	47
1.2.1.3. Matériel de mesures de terrain	47

1.2.2.	Méthodologie des visites	48
1.2.2.1.	Sur la ressource.....	48
1.2.2.2.	Sur les installations de production.....	48
1.2.2.3.	Sur la distribution	48
1.2.3.	Prélèvements – Règles de l’art	48
1.2.3.1.	Règles communes.....	48
1.2.3.2.	Puisage en l’absence de robinet.....	49
1.2.3.3.	Puisage au robinet de distribution	49
1.2.3.4.	Prélèvement spécifique pour la recherche de <i>Legionella</i>	50
1.2.4.	Conditionnement et transport des échantillons	50
1.2.4.1.	Pour l’analyse bactériologique	50
1.2.4.2.	Pour l’analyse chimique	51
1.3.	Gestion du risque sanitaire	51
1.3.1.	Analyse de risque – Interprétation de toutes les données	51
1.3.2.	Références de qualité – Normes et indicateurs	51
1.3.2.1.	Normes réglementaires.....	51
1.3.2.2.	Indicateurs sanitaires	52
1.3.2.3.	Indicateurs de fonctionnement	52
1.3.3.	Procédures d’alerte et de contre-analyse	52
1.3.3.1.	Contact journalier laboratoire-DDASS pour la bactériologie	52
1.3.3.2.	Information hebdomadaire pour les micropolluants et les substances toxiques	53
1.3.3.3.	Notification immédiate à l’exploitant et au maire concerné.....	53
1.3.3.4.	Intervention rapide sur le site	53
1.3.3.5.	Mesures conservatoires et veille sanitaire	53
1.3.4.	Plans de secours spécialisés	54
1.3.4.1.	Plans d’urgence relevant de la législation générale.....	54
1.3.4.2.	Plans de secours spécialisés pour l’alimentation en eau potable.....	54
1.4.	Information : une attente exigeante	54
1.5.	Évolution de la réglementation	54
1.5.1.	Dispositions transitoires	55
1.5.2.	Principe de subsidiarité	55
1.5.3.	Nouveaux objectifs	55
1.5.4.	Nécessité de mettre en œuvre des démarches de qualité	55
2.	Contrôle des eaux récréatives ou de loisirs	56
2.1.	Organisation du contrôle des eaux de loisirs	56
2.1.1.	Base de données pour chaque point de surveillance	56
2.1.2.	Définition du programme de surveillance	57
2.1.2.1.	Planning mensuel pour les piscines.....	57
2.1.2.2.	Campagne estivale pour les baignades	57
2.1.3.	Logistique	57
2.1.3.1.	Moyens spécifiques aux piscines.....	57
2.1.3.2.	Moyens spécifiques aux baignades	57

2.2. Procédure de visite	58
2.2.1. Méthodologie du contrôle en piscine	58
2.2.1.1. Examen des installations	58
2.2.1.2. Prélèvements et les mesures	58
2.2.1.3. Rencontrer un responsable	58
2.2.2. Méthodologie du contrôle des baignades	58
2.3. Gestion du risque et de l'information	59
2.3.1. Interprétation des résultats	59
2.3.1.1. Interprétation ponctuelle.....	59
2.3.1.2. Interprétation statistique	59
2.3.2. Information	59
2.3.3. Mesures prises après la campagne estivale	60
3. Surveillance des zones de pêche à pied récréative	60
3.1. Modalités de la surveillance	60
3.1.1. Inventaire des zones de pêche à pied récréative	60
3.1.2. Mise en œuvre de la surveillance	60
3.1.3. Mission en partie déléguée	61
3.1.3.1. Méthode de collecte des coquillages	61
3.1.3.2. Communication des résultats.....	61
3.2. Interprétation des résultats	61
3.2.1. Appréciation ponctuelle des résultats	61
3.2.2. Appréciation globale des résultats	61
3.3. Surveillance des phycotoxines marines	61
3.3.1. Familles de phycotoxines recherchées	62
3.3.2. Plans nationaux de surveillance et de contrôle	62
3.3.2.1. Plans de surveillance	62
3.3.2.2. Plans de contrôle.....	62
3.3.3. Réseau Réphy	62
3.3.3.1. Surveillance quasi constante du milieu	62
3.3.3.2. Seuils d'alerte dans l'eau de mer	63
3.3.3.3. Seuils de sécurité sanitaire.....	63
3.4. Prélèvement, transport et préparation d'une suspension mère de coquillages bi- valves	63
3.4.1. Prélèvement et transport des échantillons	63
3.4.2. Préparation de la suspension mère de coquillages	64
3.4.3. Analyse bactériologique des coquillages	64

Chapitre 3

Techniques générales de recherche et de dénombrement des bactéries dans les eaux

1. Germes indicateurs de contamination fécale	65
1.1. Coliformes (totaux) et thermotolérants	65
1.1.1. Classifications des <i>Enterobacteriaceae</i>	65
1.1.2. Entérobactéries coliformes	66
1.1.2.1. Classification primitive	66
1.1.2.2. Classification contemporaine	67

1.2. Streptocoques fécaux, streptocoques du groupe D, entérocoques fécaux (intestinaux)	67
1.2.1. Classifications des streptocoques et des entérocoques	67
1.2.2. Sérogroupe D	68
1.2.3. Méthodes de travail et milieux de cultures	68
1.3. Bactéries anaérobies sulfitoréductrices et <i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs ...	68
1.3.1. Classifications des <i>Clostridium</i>	69
1.3.2. Espèces sulfitoréductrices	69
1.3.3. <i>Clostridium perfringens</i>	70
1.4. Cas particulier des micro-organismes revivifiables	70
1.4.1. Eaux destinées à la consommation humaine	71
1.4.2. Eaux minérales naturelles	71
1.4.3. Eaux de sources	71
1.4.4. Eaux thermales	71
1.4.5. Eaux de piscines	72
1.4.6. Tours aëroréfrigérantes	72
2. Technique générale des dilutions en milieu liquide	72
2.1. Principe général	72
2.2. Applications	73
3. Technique du NPP à 3 tubes par série	73
3.1. Préparation des dilutions	73
3.2. Protocole de recherche et de dénombrement pour les coliformes totaux et thermotolérants	73
3.2.1. Premier temps : présomptif	73
3.2.1.1. Premier choix.....	73
3.2.1.2. Deuxième choix.....	73
3.2.2. Deuxième temps : confirmatif coliformes totaux	74
3.2.3. Deuxième temps : confirmatif coliformes thermotolérants	74
3.2.3.1. Première possibilité : sur milieu de Schubert avec cloche de Durham (Bio-Rad).....	74
3.2.3.2. Deuxième possibilité : avec le test d'Eijkman modifié par Mackensie.....	74
3.2.4. Applications	75
3.3. Protocole de recherche et de dénombrement pour les « streptocoques fécaux »	75
3.3.1. Premier temps : présomptif	75
3.3.2. Deuxième temps : confirmatif	76
3.3.2.1. Première possibilité : sur bouillon azide éthyl violet (bioMérieux SA) ou sur milieu de Litsky (Bio-Rad)	76
3.3.2.2. Deuxième possibilité : sur gélose BEA ou bile-esculine-azide (Bio-Rad).....	76
3.3.3. Applications	76
4. Technique du NPP à 5 tubes par série	76
4.1. Préparation des dilutions	76
4.2. Milieu et ensemencement	77
4.3. Lecture et repiquage	77

4.4.	Dénombrement	77
4.5.	Application	77
5.	Technique du NPP 96 par microplaques	78
5.1.	Principe	78
5.1.1.	Microplaque « <i>Escherichia coli</i> »	78
5.1.2.	Microplaque « Entérocoques »	78
5.2.	Traitement des échantillons	79
5.2.1.	Choix des dilutions	79
5.2.2.	Préparation des dilutions	79
5.2.2.1.	Eaux douces et eaux saumâtres	79
5.2.2.2.	Eaux de mer	80
5.3.	Précautions de travail	80
5.4.	Ensemencement des microplaques	80
5.5.	Lecture	81
5.5.1.	Conventionnelle	81
5.5.2.	Automatique	81
5.6.	Calcul du NPP	81
5.6.1.	Application aux eaux de baignade	81
5.6.2.	Application aux autres eaux superficielles	82
5.6.3.	Application aux eaux résiduaires	82
5.7.	Applications	82
6.	Technique de filtration sur membranes	83
6.1.	Principe	83
6.2.	Indications de la filtration sur membranes	83
6.3.	Volumes d'eau à filtrer	83
6.4.	Matériel de filtration	83
6.4.1.	En salle de travaux pratiques	83
6.4.2.	En laboratoire d'analyses microbiologiques	84
6.5.	Filtration de l'eau et mise en culture	84
6.6.	Application aux coliformes	85
6.6.1.	Milieu : gélose lactosée au TTC et au tergitol 7 (Bio-Rad)	85
6.6.2.	Filtration et mise en culture	85
6.6.3.	Lecture	85
6.6.3.1.	Coliformes à 37 °C	85
6.6.3.2.	<i>Escherichia coli</i> à 44 °C	85
6.6.4.	Autre milieu : Rapid' <i>E. coli</i> 2-gélose avec supplément (Bio-Rad)	86
6.7.	Application aux « streptocoques fécaux »	86
6.7.1.	Milieu : milieu de Slanetz et Bartley (Bio-Rad)	86
6.7.2.	Filtration et mise en culture	86
6.7.3.	Lecture et confirmation	87
6.7.4.	Autre milieu : Rapid' <i>Enterococcus</i> -gélose (Bio-Rad)	87
7.	Technique de dénombrement par ensemencement en profondeur	87
7.1.	Technique	87
7.2.	Application	88
8.	Technique de dénombrement en anaérobiose	88
8.1.	Incorporation en gélose en tubes profonds	88
8.1.1.	Milieu et ensemencement	88

8.1.2.	Lecture et dénombrement	89
8.1.3.	Confirmation <i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs	89
8.2.	Filtration sur membrane et culture en boîte de Petri	89
8.3.	Applications	90
9.	Techniques rapides de détection et/ou de dénombrement de germes	90
9.1.	Readycult® Merck	90
9.1.1.	Principe	90
9.1.2.	Mode d'utilisation	90
9.1.3.	Observations et interprétation des résultats	91
9.1.3.1.	Pour les Readycult® Coliformes.....	91
9.1.3.2.	Pour les Readycult® Entérocoques.....	91
9.1.4.	Applications	91
9.2.	Système Malthus (System V Analyseurs)	92
9.2.1.	Principe	92
9.2.2.	Appareil de mesure de l'impédance	92
9.2.3.	Applications	93
9.3.	Dénombrement de germes par épifluorescence	93
9.3.1.	Principe	93
9.3.2.	Mode opératoire	94
10.	ChemScan® RDI	94
10.1.	Principe	94
10.2.	Protocole d'analyse	95
10.2.1.	Filtration et marquage des échantillons	95
10.2.2.	Analyseur ChemScan	95
10.3.	Applications	95

Chapitre 4

Recherches et dénombrements microbiologiques spécifiques dans les eaux

1.	Salmonelles	97
1.1.	Germes	97
1.1.1.	Classification	97
1.1.2.	Salmonelles, « eaux et aliments »	97
1.2.	Le paramètre <i>Salmonella</i> et ses normes dans les eaux	98
1.3.	Recherche et dénombrement des salmonelles	98
1.3.1.	Méthodes normalisées	98
1.3.1.1.	En microbiologie des eaux	98
1.3.1.2.	En microbiologie alimentaire	99
1.3.2.	Cas général des eaux peu ou pas contaminées	100
1.3.2.1.	Filtration de l'eau	100
1.3.2.2.	Pré-enrichissement	100
1.3.2.3.	Milieux d'enrichissement	100
1.3.2.4.	Milieux sélectifs d'isolement	100
1.3.2.5.	Identification.....	101
1.3.3.	Cas des eaux fortement contaminées	101

1.3.4.	Cas des eaux conchylicoles et des coquillages	101
1.3.4.1.	Pré-enrichissement	101
1.3.4.2.	Enrichissement	102
1.3.4.3.	Isolement	102
1.3.4.4.	Confirmation.....	102
2.	Staphylocoques	103
2.1.	Germes	103
2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i>	103
2.3.	Le paramètre <i>Staphylococcus aureus</i> et ses normes dans les eaux	103
2.3.1.	Eaux de piscines	103
2.3.2.	Eaux conchylicoles et coquillages	103
2.4.	Méthodes de recherche et de dénombrement des staphylocoques pathogènes	104
2.4.1.	Eaux de piscines	104
2.4.1.1.	Milieu de culture, filtration et ensemencement	104
2.4.1.2.	Lecture et confirmation des <i>S. aureus</i>	104
2.4.2.	Eaux conchylicoles et coquillages	105
2.4.2.1.	Méthodes normalisées	105
2.4.2.2.	Préparation de la suspension mère	105
2.4.2.3.	Milieu de culture et ensemencement	105
2.4.2.4.	Lecture et dénombrement	105
3.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	106
3.1.	Germe	106
3.1.1.	Classifications des <i>Pseudomonas</i>	106
3.1.2.	Caractéristiques principales	106
3.1.3.	<i>Ps. aeruginosa</i> et les eaux	106
3.2.	Le paramètre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et ses normes dans les eaux	107
3.3.	Recherche et dénombrement dans les eaux	107
3.3.1.	Méthodes normalisées	107
3.2.	Prélèvements, transport des échantillons et filtration de l'eau	108
3.3.3.	Protocole de recherche	108
3.3.3.1.	Milieu de culture et ensemencement	108
3.3.3.2.	Lecture	108
3.3.3.3.	Identification et dénombrement.....	108
4.	Légionelles	109
4.1.	Bref historique	109
4.2.	Le paramètre <i>Legionella</i> et ses normes dans les eaux	109
4.2.1.	Premières valeurs seuils pour les <i>Legionella</i>	109
4.2.2.	Nouveaux niveaux de concentration en <i>Legionella</i>	110
4.3.	Prélèvements d'eau et transport des échantillons	110
4.4.	Protocole de recherche dans les eaux	111
4.4.1.	Préparation des échantillons d'eaux et ensemencement du milieu pour <i>Legionella</i>	111
4.4.1.1.	Préparation des boîtes de Petri	111
4.4.1.2.	Dilution et ensemencement	111
4.4.1.3.	Filtration, concentration et ensemencement	111
4.4.1.4.	Traitement à chaud du concentré et ensemencement	112

4.4.1.5.	Traitement acide et ensemencement.....	112
4.4.1.6.	Incubation des boîtes de Petri.....	112
4.4.1.7.	Observation et dénombrement présomptif	112
4.4.1.8.	Confirmation de <i>Legionella</i>	112
4.4.2.	<i>Legionella pneumophila</i>	113
4.4.2.1.	Principe.....	113
4.4.2.2.	Matériel du kit	113
4.4.2.3.	Préparation des frottis après culture	113
4.4.2.4.	Coloration	114
4.4.2.5.	Lecture	114
4.4.2.6.	Interprétation des résultats.....	114
4.4.2.7.	Conclusion.....	115
5.	<i>Vibrio</i>	115
5.1.	Germes	115
5.1.1.	Classifications	115
5.1.2.	Caractères typiques	115
5.1.3.	<i>Vibrio</i> , « eaux et aliments »	116
5.1.3.1.	Vibrions cholériques des eaux.....	116
5.1.3.2.	Vibrions halophiles.....	116
5.1.3.3.	Vibrions « VNC ».....	117
5.2.	Le paramètre <i>Vibrio</i> et ses normes dans les eaux	118
5.3.	Méthode de recherche et de dénombrement pour <i>V. parahaemolyticus</i> ..	118
5.3.1.	Méthodes normalisées	118
5.3.2.	Recherche conventionnelle de <i>V. parahaemolyticus</i>	118
5.3.2.1.	Enrichissement	118
5.3.2.2.	Isolement	119
5.3.2.3.	Observations et interprétation.....	119
5.3.2.4.	Confirmation.....	119
5.3.2.5.	Autres <i>Vibrio</i>	120
6.	<i>Listeria monocytogenes</i>	120
6.1.	<i>Listeria</i>	120
6.2.	Le paramètre <i>Listeria</i> et ses normes	120
6.3.	Recherche et dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i>	121
6.3.1.	Méthodes normalisées pour les aliments	121
6.3.2.	Cas des coquillages comestibles	121
6.4.	« Méthode alternative Bio-Rad »	122
6.4.1.	Protocole de recherche	122
6.4.1.1.	Enrichissement sélectif primaire	122
6.4.1.2.	Isolement sélectif direct.....	122
6.4.1.3.	Enrichissement sélectif secondaire.....	122
6.4.1.4.	Isolement sélectif après enrichissement secondaire	122
6.4.1.5.	Détection des colonies de <i>L. monocytogenes</i>	123
6.4.2.	Protocole de dénombrement	123
6.4.2.1.	Revivification d'une suspension de l'échantillon.....	123
6.4.2.2.	Isolement sélectif.....	124
6.4.2.3.	Dénombrement des <i>L. monocytogenes</i>	124

6.5. « Méthode alternative ALOA ONE DAY AES Laboratoire »	124
6.5.1. Protocole analytique	124
6.5.2. Protocole de dénombrement	124
6.6. Identification biochimique sur API <i>Listeria</i> (bioMérieux SA, version 2001/03) 125	
6.6.1. Préparation de la souche à identifier	126
6.6.2. Utilisation de la galerie API <i>Listeria</i>	126
7. Autres recherches microbiologiques	127
7.1. <i>Campylobacter</i>	128
7.2. <i>Leptospira</i>	129

Chapitre 5

Base technique microbiologique des eaux 131

1. Examens microscopiques	131
1.1. État frais	131
1.1.1. Intérêt	131
1.1.2. Technique	131
1.2. Coloration de Gram	132
1.2.1. Découverte	132
1.2.2. Principe général	132
1.2.3. Technique américaine dite « Gram Hucker »	132
1.2.3.1. Mode opératoire.....	132
1.2.3.2. Colorants du Gram Hucker.....	133
1.2.4. « Color Gram 2 » bioMérieux SA	133
1.3. Coloration des capsules	134
1.3.1. Capsule bactérienne	134
1.3.2. Méthodes de colorations négatives	134
1.3.2.1. Méthode de « l'état frais » à l'encre de Chine « spéciale pour bactériologie ».....	134
1.3.2.2. Aspect sur la coloration de Gram : « Gram-sérum ».....	134
1.4. Coloration des spores bactériennes	135
1.4.1. Spore bactérienne	135
1.4.2. Méthodes d'observation	135
1.4.2.1. À l'état frais, sans coloration.....	135
1.4.2.2. Sur une coloration de Gram.....	135
1.4.2.3. Sur une coloration spécifique	135
1.4.3. Coloration des spores au vert malachite	135
1.4.4. Colorants	136
2. Tests biochimique utiles	136
2.1. Test ONPG hydrolase et test β -galactosidase	136
2.1.1. Principe	136
2.1.2. Dans le Rambach® Agar	137
2.2. Test catalase	137
2.2.1. Principe	137
2.2.2. Intérêt du test	137
2.2.3. Technique rapide	137

2.2.4.	Avec « ID color Catalase », BioMérieux SA	137
2.2.4.1.	Composition chimique	137
2.2.4.2.	Test, lecture et interprétation	138
2.3.	Test coagulase	138
2.3.1.	Utilité du test	138
2.3.2.	Réalisation pratique	138
2.4.	Test esculine	139
2.5.	Test indole	139
2.6.	Test LDC (lysine décarboxylase)	139
2.7.	Test H ₂ S (hydrogène sulfuré)	139
2.7.1.	Dans la gélose désoxycholate-citrate-lactose et dans la gélose TCBS	139
2.7.2.	Dans la gélose tryptose-sulfite à la D-cyclosérine et dans la gélose viande-foie-sulfite-citrate	140
2.7.3.	Dans le milieu de Wilson-Blair	140
2.7.4.	Dans la gélose XLD	140
2.8.	Test oxydase	140
2.8.1.	Principe (bioMérieux SA, 2001)	140
2.8.2.	Utilité du test	140
2.8.3.	Procédure conventionnelle	141
2.8.4.	Avec l'« Oxidase Reagent », BioMérieux SA	141
3.	Milieux de culture	141
3.1.	Acétamide-solution nutritive	142
3.1.1.	Composition chimique	142
3.1.2.	À savoir sur les constituants chimiques	142
3.1.3.	Observations et interprétation	142
3.2.	Agar Caso ou agar aux peptones de caséine et de farine de soja, Merck .	143
3.2.1.	Composition chimique	143
3.2.2.	À savoir sur les constituants chimiques	143
3.3.	ALOA® ou Agar <i>Listeria</i> selon Ottaviani et Agosti, AES Laboratoire ...	143
3.3.1.	Composition chimique	144
3.3.1.1.	Milieu complet ALOA®	144
3.3.1.2.	Réactif L. Monodisk	144
3.3.2.	À savoir sur les constituants chimiques du milieu ALOA®	144
3.3.3.	Observations et interprétation du milieu ALOA®	145
3.3.4.	Utilisation du réactif L. Monodisk	145
3.4.	Asap (AES Salmonella Agar Plate), AES laboratoire	146
3.4.1.	Composition chimique	146
3.4.2.	À savoir sur les constituants chimiques	146
3.4.3.	Observations et interprétation	147
3.5.	Baird-Parker RPF-gélose, bioMérieux SA	147
3.5.1.	Composition chimique	147
3.5.2.	À savoir sur les constituants chimiques	148
3.5.3.	Observations et interprétation	148
3.6.	Bile et vert brillant-bouillon (bioMérieux SA) et BLBVB (Bio Rad) avec cloche de Durham	148
3.6.1.	Composition chimique bioMérieux SA	148

3.6.2.	À savoir sur les constituants chimiques	149
3.6.3.	Observations et interprétation	149
3.7.	Bouillon au sulfate de lauryle, Merck	149
3.7.1.	Composition chimique	149
3.7.2.	À savoir sur les constituants chimiques	149
3.7.3.	Observations et interprétation	149
3.8.	Bouillons d'enrichissement Fraser, Bio-Rad et bioMérieux SA	150
3.8.1.	Composition chimique du bouillon Fraser, Bio-Rad	150
3.8.2.	Composition chimique du bouillon Fraser 1/2	150
3.8.3.	Composition chimique du bouillon Fraser (ou Fraser 1)	150
3.8.4.	Bouillons d'enrichissement Fraser, bioMérieux SA	150
3.8.5.	À savoir sur les constituants chimiques de ces deux milieux	151
3.8.6.	Observations et interprétation	151
3.9.	Bouillon EC, Merck	151
3.9.1.	Composition chimique	151
3.9.2.	À savoir sur les constituants chimiques	151
3.9.3.	Observations et interprétation	152
3.10.	Bouillons lactosés	152
3.10.1.	Bouillon lactosé, bioMérieux SA	152
3.10.1.1.	Composition chimique	152
3.10.1.2.	À savoir sur les constituants chimiques	152
3.10.1.3.	Observations et interprétation	153
3.10.2.	Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol ou BCP, Bio-Rad ...	153
3.10.2.1.	Composition chimique	153
3.10.2.2.	À savoir sur les constituants chimiques	153
3.10.2.3.	Observations et interprétation	153
3.11.	Bouillon de Müller-Kaufmann au tétrathionate novobiocine	154
3.11.1.	Composition chimique du MKTTn, Bio-Rad	154
3.11.2.	Composition chimique du MKTT-n, bioMérieux SA	154
3.11.3.	À savoir sur les constituants chimiques des deux milieux	154
3.11.4.	Observation	155
3.12.	Bouillon Rappaport-Vassiliadis soja ou RVS, bioMérieux SA	155
3.12.1.	Composition chimique	155
3.12.2.	À savoir sur les constituants chimiques	155
3.12.3.	Observation	156
3.13.	Chapman-milieu, bioMérieux SA	156
3.13.1.	Composition chimique	156
3.13.2.	À savoir sur les constituants chimiques	156
3.13.3.	Observations et interprétation	156
3.14.	Eau peptonée exempte d'indole, Bio-Rad	157
3.14.1.	Composition chimique	157
3.14.2.	À savoir sur les constituants chimiques	157
3.14.3.	Observations et interprétation	157
3.15.	Eau peptonée tamponnée, bioMérieux SA	157
3.15.1.	Composition chimique	157
3.15.2.	À savoir sur les constituants chimiques	158

3.16. Eau peptonée salée alcaline	158
3.16.1. Composition chimique	158
3.16.2. À savoir sur les constituants chimiques	158
3.16.3. Observations et interprétation	158
3.17. Gélose cétrimide, bioMérieux SA	158
3.17.1. Composition chimique du milieu prêt à l'emploi	159
3.17.2. À savoir sur les constituants chimiques	159
3.17.3. Observations et interprétation	159
3.18. Gélose BEA ou gélose-bile-esculine-azide, Bio-Rad	159
3.18.1. Composition chimique	159
3.18.2. À savoir sur les constituants chimiques	160
3.18.3. Observations et interprétation	160
3.19. Gélose Campylosel, bioMérieux SA	160
3.19.1. Composition chimique	160
3.19.2. À savoir sur les constituants chimiques	161
3.19.3. Lecture et interprétation	161
3.20. Gélose Columbia, bioMérieux SA	161
3.20.1. Composition chimique	161
3.20.2. À savoir sur les constituants chimiques	162
3.20.2.1. Constituants chimiques selon les différentes utilisations de la gélose Columbia	162
3.20.2.2. Zones d'hémolyse des streptocoques et entérocoques ...	162
3.21. Gélose désoxycholate-citrate-lactose ou DCL, Bio-Rad ou milieu de Hynes	162
3.21.1. Composition chimique	163
3.21.2. À savoir sur les constituants chimiques	163
3.21.3. Observations et interprétation	163
3.22. Gélose lactosée au TTC et au tergitol 7, Bio-Rad	164
3.22.1. Composition chimique	164
3.22.2. À savoir sur les constituants chimiques	165
3.22.3. Observations et interprétation	165
3.23. Gélose TCBS, Bio-Rad	165
3.23.1. Composition chimique	165
3.23.2. À savoir sur les constituants chimiques	166
3.23.3. Observations et interprétation	166
3.24. Gélose trypticase soja, bioMérieux SA	166
3.24.1. Composition chimique	166
3.24.2. À savoir	166
3.25. Gélose XLD, bioMérieux SA	167
3.25.1. Composition chimique	167
3.25.2. À savoir sur les constituants chimiques	167
3.25.3. Observations et interprétation	168
3.26. Gélose XLT4, Bio-Rad	168
3.26.1. Composition chimique	168
3.26.2. À savoir sur les constituants chimiques	169
3.26.3. Observations et interprétation	169

3.27. <i>Legionella</i> GVPC, BCY et BCYE, bioMérieux SA	169
3.27.1. Milieu <i>Legionella</i> GVPC (GVPC)	169
3.27.2. Composition chimique du GVPC	169
3.27.3. Composition chimique des BCY et BCYE	169
3.27.4. À savoir sur les constituants chimiques des trois milieux	170
3.27.5. Observations et interprétation	170
3.28. Litsky	170
3.28.1. Composition chimique	170
3.28.2. À savoir sur les constituants chimiques	171
3.28.3. Observations et interprétation	171
3.29. Milieux de King A et King B, Bio-Rad	171
3.29.1. Composition chimique du milieu de King A	171
3.29.2. Composition chimique du milieu de King B	172
3.29.3. À savoir sur ces milieux	172
3.29.4. Pigments chez les <i>Pseudomonas</i> et espèces reclassées	172
3.30. Milieu de Schubert avec cloche de Durham, Bio-Rad	172
3.30.1. Composition chimique	173
3.30.2. À savoir sur les constituants chimiques	173
3.30.3. Observations et interprétation	174
3.31. Milieu de Slanetz et Bartley (milieu présomptif gélose pour entérocoques), Bio-Rad	174
3.31.1. Composition chimique	175
3.31.2. À savoir sur les constituants chimiques	175
3.31.3. Observations et interprétation	175
3.32. Milieu de Wilson-Blair, bioMérieux SA	175
3.32.1. Composition chimique	175
3.32.2. À savoir sur les constituants chimiques	176
3.32.3. Observations et interprétation	176
3.33. MUD/SF, Bio-Rad	176
3.33.1. Composition chimique	176
3.33.2. À savoir sur les constituants chimiques	177
3.33.3. Observations et interprétation	177
3.34. MUG/EC, Bio-Rad	177
3.34.1. Composition chimique	177
3.34.2. À savoir sur les constituants chimiques	178
3.34.3. Observations et interprétation	178
3.35. PCA sans glucose-gélose ou Plate Count Agar, Bio-Rad	178
3.35.1. Composition chimique	178
3.35.2. À savoir sur les constituants chimiques	178
3.35.3. Ensemencement et incubation	178
3.35.4. Observations et dénombrement	179
3.36. Rambach® Agar, Merck	179
3.36.1. Composition chimique	179
3.36.2. À savoir sur les constituants chimiques	179
3.36.3. Observations et interprétation	179
3.37. Rapid'Enterococcus-gélose, Bio-Rad	180
3.37.1. Composition chimique	180

3.37.2. À savoir sur les constituants chimiques	180
3.37.3. Observations et dénombrement	181
3.38. Rapid [®] <i>E. coli</i> 2-gélose, Bio-Rad	181
3.38.1. Composition chimique	181
3.38.2. À savoir sur les constituants chimiques	181
3.38.3. Observations et interprétation	182
3.38.4. Dénombrement	182
3.39. Rapid [®] L. Mono, Bio-Rad	182
3.39.1. Composition chimique	182
3.39.2. À savoir sur les constituants chimiques	183
3.39.3. Observations et interprétation	183
3.39.4. Dénombrement	183
3.40. Readycult [®] , Merck	183
3.40.1. Readycult [®] Coliformes 50 ou 100	183
3.40.1.1. Composition chimique	184
3.40.1.2. À savoir sur les constituants chimiques	184
3.40.1.3. Observations et interprétation	184
3.40.2. Readycult [®] Entérocoques 100	185
3.40.2.1. Composition chimique	185
3.40.2.2. À savoir sur les constituants chimiques	185
3.40.2.3. Observations et interprétation	185
3.41. Rothe	185
3.41.1. Composition chimique	186
3.41.2. À savoir sur les constituants chimiques	186
3.41.3. Observations et interprétation	186
3.42. Sélénite-cystine-bouillon, bioMérieux SA	186
3.42.1. Composition chimique	186
3.42.2. À savoir sur les constituants chimiques	187
3.42.3. Utilisation générale et application	187
3.43. Sélénite F-bouillon, bioMérieux SA	187
3.43.1. Composition chimique	187
3.43.2. À savoir sur les constituants chimiques	188
3.43.3. Utilisation et application	188
3.44. Tampons, Merck	188
3.44.1. Tampon phosphaté salé	188
3.44.2. Tampon HCl et KCl	188
3.45. Tryptone sel, bioMérieux SA	188
3.46. Tryptose-sulfite à la D-cyclosérine-gélose ou TSC, Bio-Rad	189
3.46.1. Composition chimique	189
3.46.2. À savoir sur les constituants chimiques	189
3.46.3. Observations et interprétation	189
3.47. Viande-foie-glucose-bouillon, Bio-Rad	189
3.47.1. Composition chimique	190
3.47.2. À savoir sur les constituants chimiques	190
3.47.3. Observation et interprétation	190
3.48. Viande-foie-sulfite-citrate-gélose, Bio-Rad	190
3.48.1. Composition chimique (milieu complet)	190

3.48.2. À savoir sur les constituants chimiques	191
3.48.3. Observations et interprétation	191

Chapitre 6

Informations microbiologiques, environnementales et sanitaires	193
1. <i>Campylobacter</i>, « eaux et aliments »	193
1.1. Classifications	193
1.1.1. Classification de Bergey	193
1.1.2. Classification phylogénique (Larpen, 2000)	193
1.2. Morphologie et coloration de Gram	193
1.3. Quelques caractères importants	194
1.4. Habitat	194
1.5. Espèces pathogènes pour l'homme	194
1.6. Transmission et épidémiologie	194
2. <i>Legionella</i> et eaux	195
2.1. Fiche microbiologique	195
2.1.1. Classifications	195
2.1.1.1. Classification de Bergey	195
2.1.1.2. Classification phylogénique (Larpen, 2000)	195
2.1.2. Morphologie et coloration de Gram	195
2.1.3. Quelques caractères importants	196
2.1.4. Habitat naturel	196
2.1.5. <i>Legionella pneumophila</i> et autres espèces	196
2.1.6. Transmission	196
2.1.7. Épidémiologie	197
2.2. Surveillance de la légionellose	197
2.3. Législation en relation avec la légionellose	197
2.3.1. Historique	197
2.3.2. Guide de recommandations de bonnes pratiques sanitaires dans les établissements thermaux de juin 1995	198
2.3.3. Textes réglementaires en relation avec la légionellose	198
2.3.4. Textes relatifs à l'entretien des réseaux d'eau	199
2.3.5. Textes intéressant les établissements de santé	199
2.3.6. Textes relatifs au thermalisme (établissements, eaux thermales...)	200
2.4. « Eaux thermales et légionellose »	200
2.5. Habitats artificiels et voies de contamination	200
2.5.1. Réseaux d'eau chaude sanitaire	200
2.5.1.1. Principe	200
2.5.1.2. Réseaux d'eau chaude sanitaire et légionellose	201
2.5.1.3. Propositions de niveaux de concentration en <i>Legionella</i>	202
2.5.2. Installations de conditionnement d'air	202
2.5.3. Tours aéroréfrigérantes	203
2.5.3.1. Principe de fonctionnement	203
2.5.3.2. Tours aéroréfrigérantes et légionellose	203
2.5.3.3. Niveaux de concentration en <i>Legionella</i>	204
2.5.4. Autres habitats artificiels	204

2.6.	Cas des eaux thermales	205
2.7.	Cas des eaux de piscines publiques	205
2.8.	Prévention de la légionellose dans les établissements recevant du public. Exemple d'arrêté préfectoral	206
3.	<i>Leptospira</i> , « eaux, loisirs et leptospirose »	208
3.1.	Classifications	208
3.1.1.	Classification de Bergey	208
3.1.2.	Classification phylogénique (Larpent, 2000)	209
3.2.	Morphologie et coloration de Gram	209
3.3.	Quelques caractères importants	209
3.4.	Réservoir naturel et habitat	209
3.5.	Espèces	209
3.6.	Transmission et maladie	210
3.7.	Épidémiologie	210
3.8.	Prévention	210
4.	<i>Listeria</i> et aliments	211
4.1.	Fiche microbiologique <i>Listeria</i>	211
4.1.1.	Classifications	211
4.1.1.1.	Classification de Bergey	211
4.1.1.2.	Classification phylogénique (Larpent, 2000)	211
4.1.2.	Morphologie et coloration de Gram	211
4.1.3.	Quelques caractères importants	211
4.1.4.	Habitat	212
4.1.5.	Espèces	212
4.1.5.1.	<i>Listeria monocytogenes</i>	212
4.1.5.2.	Autres espèces	212
4.1.6.	Transmission	212
4.2.	Surveillance de la listériose humaine	212
4.3.	<i>Listeria</i> et aliments en cause	213
4.3.1.	Épidémies de listériose	213
4.3.1.1.	Aliments divers	213
4.3.1.2.	Cas des produits de la mer	214
4.3.2.	Origine de la contamination des aliments	214
5.	<i>Staphylococcus aureus</i> , « eaux et aliments »	215
5.1.	Classifications	215
5.1.1.	Classification de Bergey	215
5.1.2.	Classification phylogénique (Larpent, 2000)	215
5.2.	Morphologie et coloration de Gram	216
5.3.	Quelques caractères importants des staphylocoques	216
5.4.	Habitat	216
5.5.	Espèces du genre <i>Staphylococcus</i>	216
5.5.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	217
5.5.2.	Autres espèces	217
5.5.3.	Infections engendrées chez l'homme	217
5.6.	Voies de contamination « eaux-aliments »	217
5.7.	Intoxication alimentaire et toxi-infection alimentaire collective (Tiac) ..	218

6. Principales maladies microbiennes humaines d'origine hydrique	218
7. Activités du technicien en environnement et risques infectieux principaux	218

✓ Chapitre 7

Compléments sur la réglementation et informations diverses — 225

1. Gestion de l'eau en France	225
1.1. Cadre législatif français et européen	225
1.2. Au service de l'eau... ..	226
1.2.1. Agences de l'eau	226
1.2.2. Comités de bassin	226
1.2.3. Sdage et Sage	227
2. Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 (JOCE n° L327 du 22 décembre 2000)	227
2.1. Objectifs	227
2.2. Définitions	228
2.3. Commentaires	229
3. Eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales	229
3.1. Historique	229
3.2. Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 (JOCE n° L330/32 du 5 décembre 1998)	230
3.2.1. Objectifs	230
3.2.2. Extraits de la directive	231
3.2.2.1. Extrait de l'article 4 : « Obligations générales »	231
3.2.2.2. Extrait de l'article 5 : « Normes de qualité »	231
3.2.2.3. Extrait de l'article 7 : « Contrôle »	232
3.3. Décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001	235
3.3.1. Eaux fournies par un réseau de distribution	235
3.3.1.1. Contenu des analyses.....	235
3.3.1.2. Fréquence des prélèvements d'eau à analyser	236
3.3.2. Eaux conditionnées, glace alimentaire et industries agroalimentaires non raccordées	237
4. Périmètres de protection des captages	238
4.1. Définition	238
4.1.1. Périmètre de protection immédiate	239
4.1.2. Périmètre de protection rapprochée	239
4.1.3. Périmètre de protection éloignée	239
4.2. Mise en place des périmètres de protection	239
5. Proposition de directive 2002/0254/COD du 24 octobre 2002 (Bulletin/2002/10/)	240
5.1. Nouveaux paramètres de qualité des eaux de baignade	240
5.2. Évaluation et classification des eaux de baignade	241
5.3. Profil des eaux de baignade	242
5.4. Fréquence des contrôles des eaux de baignade	243
6. Pavillons bleus d'Europe	243
6.1. Bref historique	243
6.2. Critères d'attribution du Pavillon bleu d'Europe 2002 pour	

les communes	244
6.3. Pavillon bleu d'Europe et directive 76/160/CEE (1975) sur la qualité des eaux de baignade	245
6.3.1. Première condition : la qualité de l'eau	246
6.3.2. Deuxième condition : la fréquence des prélèvements	246
6.3.3. Troisième condition : date de la première analyse	246
6.3.4. Quatrième condition : respect des quotas fixés par le Pavillon bleu	246
6.4. Pavillon bleu d'Europe et directive 91/271/CEE (1991) sur l'assainissement	247
6.5. Modalités et conditions d'utilisation du label par les lauréats	248
7. Agence française de sécurité sanitaire environnementale (Afsse)	249
Annexe générale – Lexique de microbiologie	251
Bibliographie	253
Index	261