



Health
Canada

Santé
Canada

*Your health and
safety... our priority.*

*Votre santé et votre
sécurité... notre priorité.*

Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada : Échantillonnage et analyse microbiologiques

Document technique
pour consultation publique

La période de consultation se termine
le 20 juin 2023

Canada 

Objet de la consultation

Le présent document technique résume les renseignements disponibles sur les activités d'échantillonnage et d'analyse microbiologiques dans les zones récréatives dans le but de mettre à jour les conseils sur le sujet. La présente consultation vise à solliciter des commentaires sur l'approche proposée et sur les répercussions possibles de la mise en œuvre des recommandations.

Le document a été révisé par des spécialistes externes et modifié par la suite. Nous sollicitons maintenant les commentaires du public. Ce document fera l'objet d'une consultation publique d'une durée de 60 jours. Les commentaires, avec justification pertinente le cas échéant, peuvent être envoyés à Santé Canada par courrier électronique à l'adresse water-eau@hc-sc.gc.ca.

Il est également possible de transmettre ses commentaires par la poste à l'adresse suivante :

Bureau de la qualité de l'eau et de l'air
Santé Canada
269, avenue Laurier Ouest, IA 4903D
Ottawa (Ontario) K1A 0K9

Tous les commentaires doivent nous parvenir avant le 20 juin 2023. Les commentaires reçus dans le cadre de la consultation seront transmis, avec le nom et l'affiliation de leurs auteurs, aux membres du Groupe de travail fédéral-provincial sur la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives. Les personnes qui ne veulent pas que leur nom et leur affiliation soient communiqués aux membres du groupe de travail doivent joindre à leurs commentaires une déclaration à cet égard.

Il est à noter que le présent document technique sera révisé après l'analyse des commentaires reçus et que, s'il y a lieu, les recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives seront mises à jour. Ce document devrait donc être considéré uniquement comme une ébauche aux fins de consultation.

Table des matières

Objet de la consultation	2
Avant-propos.....	1
1.0 Aperçu de l'échantillonnage et de l'analyse microbiologiques	2
2.0 Échantillonnage microbiologique	3
2.1 Prélèvement d'échantillons : eau.....	4
2.1.1 Données supplémentaires	5
2.1.2 Échantillonnage composite	5
2.2 Prélèvement d'échantillons : sable et sédiments	6
2.3 Transport, conservation et entreposage des échantillons	7
3.0 Méthodes d'analyse microbiologique	7
3.1 Indicateurs de contamination fécale recommandés.....	7
3.1.1 Méthodes fondées sur les cultures.....	7
3.1.2 Méthodes fondées sur la réaction en chaîne de la polymérase (PCR)	10
3.1.2.1 PCR quantitative (qPCR)	10
3.1.2.2 PCR numérique (dPCR).....	14
3.1.3 Méthodes de dépistage des sources de pollution fécale	15
3.2 Autres indicateurs de pollution fécale.....	15
3.3 Microorganismes pathogènes	16
Références.....	18
Annexe A : Liste des abréviations	27

Échantillonnage et analyse microbiologiques

Avant-propos

Les Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada sont composées de plusieurs documents techniques qui tiennent compte des divers facteurs susceptibles de nuire à la salubrité des eaux utilisées à des fins récréatives du point de vue de la santé humaine. Il s'agit notamment de documents techniques sur la compréhension et la gestion des risques dans les eaux utilisées à des fins récréatives, les indicateurs de contamination fécale, l'échantillonnage et l'analyse microbiologiques, les cyanobactéries et leurs toxines, les caractéristiques physiques, esthétiques et chimiques, ainsi que les agents pathogènes microbiologiques et les autres risques biologiques. Ces documents fournissent des valeurs indicatives pour des paramètres précis utilisés pour surveiller les dangers liés à la qualité de l'eau et recommandent des stratégies de surveillance et de gestion des risques reposant sur des données scientifiques.

Par « eaux utilisées à des fins récréatives », on entend les plans d'eaux douces, marines ou estuariennes naturelles utilisés à de telles fins; cela comprend les lacs, les rivières et les ouvrages (p. ex. les bassins d'eaux pluviales, les lacs artificiels) qui sont remplis d'eaux naturelles non traitées. Les différentes autorités responsables peuvent choisir d'appliquer ces recommandations à d'autres eaux naturelles qui font l'objet d'un traitement limité (p. ex. l'application à court terme d'un désinfectant pour une manifestation sportive). Toutefois, dans de telles situations, la prudence est de mise au moment d'appliquer les recommandations. Certains microorganismes pathogènes (p. ex. protozoaires pathogènes) résistent davantage à la désinfection que les organismes indicateurs de contamination fécale. Ces microorganismes pathogènes peuvent encore être présents, même si la désinfection a réduit les indicateurs de contamination fécale à des niveaux acceptables.

Les activités aquatiques récréatives qui pourraient présenter un risque pour la santé humaine à la suite d'une immersion ou d'une ingestion intentionnelle ou accidentelle comprennent les activités entraînant un contact primaire (p. ex. la natation, le pataugeage, la planche à voile et le ski nautique) et les activités entraînant un contact secondaire (p. ex. le canot, la navigation de plaisance et la pêche).

Chaque document technique s'appuie sur des publications scientifiques récentes portant sur les effets sur la santé, les effets esthétiques et les considérations relatives à la gestion des plages. La responsabilité de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives relève généralement de la compétence des provinces et des territoires. Les politiques, les approches et les décisions de gestion qui en découlent peuvent par conséquent varier d'une région à l'autre. Les documents techniques sont destinés à guider les décisions des autorités provinciales, territoriales et locales assurant la gestion des eaux utilisées à des fins récréatives.

Le présent document contient des renseignements sur l'échantillonnage et l'analyse des paramètres microbiologiques. Pour obtenir une liste complète des documents techniques disponibles, veuillez consulter le document de synthèse des Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada sur le site Canada.ca (en cours de publication).

1.0 Aperçu de l'échantillonnage et de l'analyse microbiologiques

La surveillance de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives est un élément important d'une approche préventive de la gestion des risques. Ses principales fonctions sont de caractériser la qualité de l'eau, de confirmer l'efficacité des activités de gestion des risques déjà en place et d'orienter les mesures d'atténuation futures. Il est essentiel que les gestionnaires et les autorités disposent d'un programme de surveillance bien structuré et bien planifié pour les aires aquatiques récréatives afin d'évaluer les risques, d'éclairer les décisions en matière de santé publique et de communiquer l'information sur la qualité de l'eau au public. Dans la plupart des zones, les dangers microbiologiques prioritaires sont les déchets fécaux introduits dans l'eau par les humains et les animaux, et les efflorescences cyanobactériennes nuisibles.

Les activités courantes d'échantillonnage et d'analyse des principaux indicateurs de la contamination fécale dans l'eau – *Escherichia coli* (*E. coli*, eau douce) et les entérocoques (eau marine et eau douce) – permettent d'orienter les décisions quotidiennes en matière de gestion (p. ex. l'émission d'avis d'interdiction de baignade) et de déterminer si une zone d'eau se prête à des activités récréatives. Les données supplémentaires recueillies au cours des enquêtes sur place (p. ex. conditions environnementales, activités de la zone) permettent d'interpréter et de prévoir les résultats relatifs à la qualité de l'eau. D'autres indicateurs de contamination fécale peuvent être inclus dans les programmes de surveillance ou utilisés dans les études de dépistage des sources afin de fournir des renseignements additionnels sur les sources de contamination fécale et ainsi de préciser les risques potentiels pour la santé. Il est également possible de procéder à l'échantillonnage et à l'analyse du sable et des sédiments dans le cadre des enquêtes, car on sait que ces matrices peuvent abriter des microorganismes provenant de matières fécales et d'autres sources environnementales, notamment des indicateurs de contamination fécale et des agents pathogènes. Pour obtenir l'évaluation la plus exacte possible de la qualité de l'eau, il est essentiel d'avoir recours à des procédures normalisées pour le prélèvement, le transport et l'analyse des échantillons. Il existe des méthodes normalisées fondées sur les cultures et la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) pour la quantification des indicateurs de contamination fécale. Toutefois, le choix des méthodes d'analyse dépend de facteurs tels que les exigences du programme de surveillance, la compétence et la capacité du laboratoire, les considérations propres à la plage (p. ex. les caractéristiques de la source d'eau) et les exigences des autorités compétentes.

Les microorganismes pathogènes (c.-à-d. les bactéries pathogènes, les protozoaires, les virus et les champignons) peuvent être présents dans les eaux utilisées à des fins récréatives. La surveillance de routine de ces micro-organismes n'est pas recommandée, en raison de la complexité et des coûts associés à l'analyse (voir section 3.3). La recherche d'agents pathogènes spécifiques peut être effectuée à des fins d'enquête, par exemple en réponse à une épidémie de maladie d'origine hydrique. Les principaux indicateurs de contamination fécale sont utilisés pour montrer la présence potentielle d'agents pathogènes fécaux (WHO, 2000b; Hussain, 2019). Les renseignements issus du dépistage des sources de pollution microbienne peuvent également aider à interpréter les résultats des indicateurs de contamination fécale (Schoen et coll., 2011; Alberta Health, 2022).

Les efflorescences cyanobactériennes constituent également un danger important pour certains plans d'eau utilisés à des fins récréatives. Les documents techniques sur les cyanobactéries et leurs toxines qui ont été élaborés pour les Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada (Santé Canada, 2022) et les Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada (Santé Canada, 2017) contiennent

des renseignements sur les paramètres et les méthodes de surveillance utilisés dans les plans de gestion des cyanobactéries. Différentes méthodes et techniques sont employées pour prélever les échantillons destinés à l'identification des cyanobactéries ou à l'analyse des toxines. Pour obtenir des renseignements détaillés, consulter Water Quality Research Australia (2009); APHA et coll. (2017); et Welker et Raymond (2021).

2.0 Échantillonnage microbiologique

L'échantillonnage microbiologique de routine vise à décrire avec exactitude la qualité de l'eau à différents endroits de la zone de loisirs aquatiques (p. ex. les zones très achalandées ou les zones adjacentes à des sources connues ou potentielles de pollution fécale). Plusieurs facteurs peuvent influencer la variabilité temporelle et spatiale des bactéries indicatrices de contamination fécale sur les plages, notamment les facteurs climatiques et environnementaux (p. ex. les tempêtes, la température, l'hydrodynamisme de la zone), les sources d'indicateurs fécaux (p. ex. la pollution fécale, le sable et les sédiments de la plage), les activités des baigneurs et les caractéristiques du site qui peuvent empêcher ou favoriser le mélange (p. ex. les brise-lames, les jetées) (U.S. EPA, 2010). Chaque plage possède ses propres caractéristiques, en fonction des facteurs qui prédominent à un moment donné. Les plans de surveillance des plages doivent donc être conçus selon la connaissance précise que l'on a de la plage et de la variabilité possible de la qualité de l'eau à cet endroit. On trouvera des conseils sur l'élaboration de programmes de surveillance des plages dans le document technique *Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada : Comprendre et gérer les risques dans les eaux récréatives* (Santé Canada, en cours de publication-b).

Lors de l'échantillonnage, tous les prélèvements et toutes les analyses de laboratoire doivent être effectués conformément aux instructions des autorités compétentes. Les exploitants de plages doivent consulter les autorités compétentes pour vérifier s'il y a des exigences particulières à respecter, par exemple le recours à un laboratoire accrédité pour l'analyse des échantillons. Lorsqu'ils achètent des services de laboratoire, les exploitants de plages doivent consulter le laboratoire d'analyse au sujet de questions telles que le rendement des méthodes, les programmes d'assurance et de contrôle de la qualité, les exigences relatives à la chaîne de possession, les exigences en matière de prélèvement, d'étiquetage, de transport et de durée de conservation des échantillons, et le délai d'obtention des résultats.

Le laboratoire d'analyse doit préparer et fournir des récipients stériles pour les échantillons (p. ex. des bouteilles stériles en verre ou en plastique, des sacs en plastique préstérilisés avec fermeture à fil). Le volume de l'échantillon doit permettre de réaliser l'ensemble des analyses requises et de les répéter, au besoin. Des bouteilles pouvant contenir un volume de 250 à 500 ml devraient être suffisantes pour la plupart des analyses de routine de l'eau (WHO, 2000a; Robertson et coll., 2003). Il peut être nécessaire de prélever des volumes d'eau plus importants (p. ex. 1 litre, 10 litres ou plus) dans certaines circonstances, notamment lors d'analyses ciblant des agents pathogènes d'origine hydrique ou d'autres indicateurs (WHO, 2000a; U.S. EPA, 2018).

Les laboratoires doivent fournir les formulaires de soumission d'échantillons ou de chaîne de possession à joindre aux échantillons, et ils doivent définir les exigences à respecter au moment de remplir les formulaires et d'étiqueter les échantillons. Il peut s'agir d'instructions sur l'utilisation de stylos et d'étiquettes imperméables, sur l'étiquetage des récipients avant le prélèvement pour éviter les erreurs et sur la manière d'éviter que les formulaires et les étiquettes soient endommagés pendant le transport vers le laboratoire.

Quelle que soit la méthode utilisée, il est primordial d'utiliser de l'équipement stérilisé et une technique aseptique pour réduire le plus possible le risque de contamination accidentelle des échantillons.

2.1 Prélèvement d'échantillons : eau

Le plan de surveillance de plage élaboré par les autorités compétentes doit préciser le lieu, l'heure et la fréquence du prélèvement des échantillons. Il est possible d'obtenir des instructions détaillées sur le prélèvement des échantillons auprès d'autres sources (U.S. EPA, 1997; APHA et coll., 2017; ISO, 2021b). Certains aspects fondamentaux sont traités dans le présent document.

En présence de courant, les échantillons doivent être prélevés en amont de la personne qui fait le prélèvement, de l'embarcation ou de toute autre plateforme d'échantillonnage. Les échantillons prélevés dans la zone de déferlement doivent être recueillis lorsque les vagues ou les houles arrivent. Les perturbations du sable et des sédiments de l'estran peuvent entraîner une remise en suspension des microorganismes indicateurs de contamination fécale, gonflant ainsi les estimations microbiologiques. Il faut prendre des mesures pour limiter le plus possible le prélèvement de sable et de sédiments en suspension. Par exemple, la personne qui prélève des échantillons en eaux calmes doit éviter de soulever les sédiments du fond lorsqu'elle se rend au point d'échantillonnage, ou elle doit attendre que les sédiments se déposent. Lors du prélèvement des échantillons, il faut porter des gants propres et jetables ou avoir les mains propres et désinfectées.

Les récipients pour échantillons ne doivent être ouverts qu'au moment du prélèvement. Il faut prendre soin de ne pas toucher l'intérieur de la bouteille ou du bouchon, le goulot de la bouteille ou l'intérieur du sac en plastique avec les mains ou avec d'autres surfaces pendant toute la durée du prélèvement. La personne qui effectue le prélèvement doit dévisser le bouchon de la bouteille ou ouvrir le sac en plastique en déchirant la bande le long des perforations, puis elle doit plonger la bouteille ou le sac dans l'eau en dirigeant l'ouverture vers le bas, dans la direction opposée à elle-même. À la profondeur voulue, la personne doit tourner la bouteille vers le haut ou ouvrir le sac et attendre que la bouteille ou le sac se remplisse. Il convient de laisser un espace d'air d'au moins 2,5 cm pour permettre un bon mélange avant l'analyse; on peut enlever un peu d'eau, au besoin. La personne qui effectue le prélèvement doit ensuite remettre le bouchon sur la bouteille ou fermer et sceller le sac à l'aide du système de fermeture.

La profondeur à laquelle l'échantillon d'eau est prélevé est moins importante que la profondeur globale de l'eau ou la « zone de profondeur » où l'échantillonnage est effectué (U.S. EPA, 2010). Les échantillons d'eau prélevés dans les zones peu profondes (p. ex. où l'eau est à la hauteur des chevilles ou des genoux) contiennent souvent un nombre plus élevé de bactéries indicatrices de contamination fécale que les échantillons prélevés dans les zones plus profondes (p. ex. où l'eau arrive à la poitrine) (Edge et Hill, 2007; Edge et coll., 2010; U.S. EPA, 2010). Les autorités compétentes doivent définir la zone de profondeur requise pour l'échantillonnage, et les échantillons d'eau doivent systématiquement être prélevés dans la zone de profondeur définie.

Les échantillons prélevés de 15 à 30 cm sous la surface de l'eau fournissent une mesure adéquate de la qualité de l'eau et de l'exposition humaine (U.S. EPA, 2005c, 2010). Les méthodes normalisées (APHA et coll., 2017) recommandent de prélever les échantillons à 30 cm sous la surface de l'eau. L'Environmental Protection Agency des États-Unis (U.S. EPA) a également utilisé une profondeur de 30 cm sous la surface de l'eau dans les études de

surveillance des eaux récréatives et d'évaluation des méthodes qu'elle a menées (Haugland et coll., 2005; U.S. EPA, 2005c).

2.1.1 Données supplémentaires

Au moment de l'échantillonnage, il peut être utile de recueillir des données supplémentaires pour définir les facteurs propres à la plage qui influencent la qualité de l'eau et pour prévoir les circonstances dans lesquelles les objectifs de qualité de l'eau pourraient être dépassés. Les paramètres couramment mesurés comprennent la direction et la vitesse du vent, la hauteur des vagues, la turbidité, la température de l'eau, les précipitations antérieures et les éléments à proximité susceptibles d'altérer la qualité de l'eau (p. ex. le nombre d'animaux présents, la densité de baigneurs) (Francy et coll., 2013a; U.S. EPA, 2016). Les enquêtes relatives à la sécurité et à l'hygiène du milieu (ESHM), l'équivalent des relevés sanitaires des plages de l'U.S. EPA, permettent de recueillir des données auxiliaires cohérentes, ainsi que d'examiner les données avant et après la saison pour orienter les mesures qui seront prises (Santé Canada, en cours de publication-b). Les données issues des ESHM peuvent aussi être utilisées pour élaborer des modèles de prédiction de la qualité de l'eau et les mettre à l'essai (U.S. EPA, 2008; Kinzelman et coll., 2012; Santé Canada, en publication-b). Il existe des publications qui traitent de l'élaboration et de l'utilisation d'outils de modélisation prédictive et de logiciels de modélisation gratuits (Francy et coll., 2013a, U.S. EPA, 2016, 2022).

2.1.2 Échantillonnage composite

L'échantillonnage composite est une solution de recharge à l'échantillonnage traditionnel; il permet d'évaluer la qualité de l'eau à différents endroits le long d'une plage sans augmenter le nombre d'analyses de laboratoire requises, ce qui peut avoir pour effet de réduire les coûts connexes.

Les exploitants de plages qui envisagent d'intégrer l'échantillonnage composite à leur programme de surveillance de plages doivent comprendre que les concentrations de bactéries indicatrices de contamination fécale varient selon l'endroit échantillonné le long du segment de plage sélectionné. Les plages peuvent présenter une variabilité spatiale importante en ce qui concerne les sources de pollution fécale et les concentrations de bactéries indicatrices (Edge et coll., 2010). Les points chauds (lieux d'échantillonnage où les concentrations de bactéries indicatrices de contamination fécale sont constamment élevées) posent un problème dans le cadre des stratégies d'échantillonnage composite (Kinzelman et coll., 2006; Edge et coll., 2010). Les résultats de mauvaise qualité de l'eau provenant de ces zones peuvent passer inaperçus lorsqu'un échantillon est mélangé dans un échantillon composite. Par conséquent, les échantillons qui proviennent de points chauds ne doivent pas être mélangés avec d'autres échantillons (Kinzelman et coll., 2006).

Les exploitants de plages doivent également comprendre la différence entre l'analyse d'échantillons composites et l'analyse d'échantillons individuels. L'échantillonnage composite ajoute une couche d'incertitude au processus d'évaluation de la qualité de l'eau; en effet, on utilise un échantillon combiné pour estimer la densité moyenne des indicateurs de l'ensemble des échantillons, puis on utilise cette estimation pour caractériser la qualité de l'eau de la plage tout entière. Cette étape additionnelle peut introduire des erreurs dans les résultats finaux de qualité de l'eau. Le fait d'augmenter le nombre d'échantillons qui forment l'échantillon composite peut compenser l'incertitude supplémentaire et améliorer la précision des résultats (U.S. EPA, 2005c, 2010).

L'échantillonnage composite permet de calculer approximativement la moyenne arithmétique plutôt que la moyenne géométrique, laquelle est couramment utilisée dans les évaluations des tendances relatives à la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives. Le rapport EMPACT (Environmental Monitoring for Public Access and Community Tracking) de l'U.S. EPA (U.S. EPA, 2005c) présente les différences entre la moyenne arithmétique et la moyenne géométrique. Les auteurs font remarquer que, selon les principes mathématiques, la moyenne arithmétique est toujours égale ou supérieure à la moyenne géométrique. De plus, dans les distributions de données log-normales, la moyenne arithmétique et la moyenne géométrique sont liées, et la moyenne géométrique peut être estimée lorsque la variance des densités d'indicateurs est connue (U.S. EPA, 2005c). Les résultats des échantillons composites peuvent être utilisés en tant qu'estimation prudente de la qualité de l'eau, ou ils peuvent être convertis en une estimation de la moyenne géométrique (à condition que la variance soit connue) (U.S. EPA, 2010).

Pour déterminer la faisabilité d'un échantillonnage composite sur une plage donnée, on peut avoir recours à des études de distribution spatiale, aux données microbiologiques historiques et aux renseignements sur les caractéristiques de la plage fournis par une ESHM (Santé Canada, en cours de publication-b). Il est également conseillé de consulter les laboratoires pour connaître les exigences relatives à la préparation et à l'analyse des échantillons composites. On peut trouver de plus amples renseignements sur l'échantillonnage composite et son application aux programmes de surveillance des eaux récréatives auprès d'autres sources (Kinzelman et coll., 2006; Bertke, 2007; Reicherts et Emerson, 2010; U.S. EPA, 2005c, 2010).

2.2 Prélèvement d'échantillons : sable et sédiments

Il n'existe pas de méthode normalisée reconnue pour le prélèvement d'échantillons de sable de plage destinés au dénombrement des microorganismes. Cependant, des méthodes de recherche sont décrites dans la littérature scientifique et ont été utilisées avec succès pour le prélèvement d'échantillons. Le sable étant hétérogène par nature, les échantillons doivent être prélevés à de nombreux endroits représentatifs, y compris aux points chauds potentiels, afin de caractériser au mieux la plage (Brandão, 2019). L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande d'utiliser des cuillères d'échantillonnage stériles (ou des carottiers) pour prélever plusieurs aliquotes peu profondes à la surface de la zone cible (jusqu'à 10 cm de profondeur) (WHO, 2021). D'autres méthodes publiées ont recours à des instruments stérilisés tels que des cuillères d'échantillonnage, des pelles, des carottiers ou des sondes pour échantillonner le sable et l'eau interstitielle sur les plages (Vogel et coll., 2017). Les caractéristiques de la plage peuvent influencer les résultats lors de l'utilisation de différentes méthodes de prélèvement (Vogel et coll., 2017). Les autorités compétentes et les exploitants de plages doivent consulter la littérature pour déterminer les méthodes les mieux adaptées à leurs besoins. Vogel et coll. (2017) passent en revue les différentes méthodes utilisées dans les milieux de recherche. Les pratiques exemplaires en matière de prélèvement d'échantillons figurent dans les méthodes normalisées ou dans d'autres méthodes publiées relatives au prélèvement, à la conservation et à la manipulation d'échantillons d'eau, de sédiments ou de sol (APHA et coll., 2017; Wollum, 2018; ISO, 2021b).

Pour éluer les bactéries indicatrices de contamination fécale des particules de sable en vue de leur dénombrement, on a eu recours au brassage manuel, à la sonication et à des mélangeurs (Whitman et Nevers, 2003; Kinzelman et coll., 2004; Boehm et coll., 2009). L'OMS (WHO, 2021) recommande l'extraction des microorganismes du sable de plage selon la méthode décrite par Boehm et coll. (2009).

Pour obtenir des conseils sur l'échantillonnage des sédiments, on consultera les méthodes normalisées (APHA et coll., 2017; ISO, 2021b).

2.3 Transport, conservation et entreposage des échantillons

Une fois recueillis, les échantillons doivent être conservés au frais, mais non congelés (c.-à-d. à une température de 4 °C à 10 °C), et à l'abri de la lumière jusqu'à l'analyse (APHA et coll., 2017; U.S. EPA, 2021). On peut utiliser des glacières isothermes contenant des blocs réfrigérants pour transporter les échantillons jusqu'au laboratoire. Les échantillons doivent être protégés du contact direct avec les blocs réfrigérants et disposés de manière à ne pas basculer. Une fois au laboratoire, les échantillons doivent être conservés à basse température (c.-à-d. entre 2 °C et 10 °C).

Pour les échantillons d'eaux utilisées à des fins récréatives, il est préférable de ne pas laisser s'écouler plus de huit heures entre le prélèvement de l'échantillon et l'analyse (APHA et coll., 2017; U.S. EPA, 2021). Les documents d'orientation sur l'évaluation de la qualité de l'eau recommandent une durée de conservation maximale de 24 heures (WHO, 2000a; Payment et coll., 2003). Bien qu'il existe peu de données sur les effets de l'entreposage sur les concentrations microbiennes (Pope et coll., 2003; Thapa et coll., 2020), les conséquences d'une période de conservation prolongée doivent être abordées avec le laboratoire d'analyse. Plus précisément, il est important de prendre en compte le risque ou les répercussions de résultats inexacts lorsque des méthodes d'analyse fondées sur les cultures doivent être utilisées en raison de la diminution du nombre de bactéries indicatrices de contamination fécale qui peut se produire pendant un entreposage prolongé. Il faut mettre en balance ce risque ou ces répercussions et l'incidence qu'aurait le fait de ne soumettre aucun échantillon si l'exploitant de la plage est incapable de faire livrer les échantillons dans les délais de conservation requis. Si les échantillons ne peuvent pas être analysés dans les délais de conservation requis, on peut envisager d'effectuer des analyses sur le terrain à l'aide de méthodes d'analyse commercialisées ou d'utiliser des procédures d'incubation retardée (APHA et coll., 2017).

3.0 Méthodes d'analyse microbiologique

3.1 Indicateurs de contamination fécale recommandés

3.1.1 Méthodes fondées sur les cultures

Les méthodes normalisées et approuvées par l'U.S. EPA disponibles pour la détection d'*E. coli* et des entérocoques dans les eaux utilisées à des fins récréatives sont résumées dans le tableau 1. Les deux principales méthodes fondées sur les cultures employées pour le dénombrement des bactéries indicatrices de contamination fécale sont la technique du nombre le plus probable (NPP) et la technique de filtration sur membrane (FM). La technique NPP exige de diluer ou de répartir l'échantillon dans des tubes ou des puits. Les tubes ou les puits sont ensuite incubés, puis les données statistiques NPP sont utilisées pour calculer le nombre de bactéries dans l'échantillon selon le nombre de tubes ou de puits qui ont donné un résultat positif au test. Dans le cas de la technique FM, l'échantillon est filtré, puis le filtre est transféré sur un milieu de croissance à usage diagnostique contenant des agents différentiels et sélectifs. Après incubation, on procède au dénombrement des colonies cibles obtenues.

Tableau 1. Méthodes fondées sur les cultures normalisées et approuvées par l’U.S. EPA pour la détection d’*E. coli* et des entérocoques dans les eaux utilisées à des fins récréatives

Méthode	Milieu	Format	Délai d’obtention des résultats	Méthode approuvée par l’U.S. EPA ^b
<i>E. coli</i>				
SM 9223 B ^a ISO 9308-2:2012 ^b	Milieu Colilert-18®	DST-NPP	18 h	O
SM 9223 B ^a	Milieu Colilert®	DST-NPP	24 h	O
SM 9223 B ^a	Milieu Colisure®	DST-NPP	24 h	N
ISO 9308-3 ^b	Milieu MUG/EC	FTM-NPP	36 h à 72 h	N
SM 9213D ^a U.S. EPA 1103.1 ^c	Gélose mTEC (2 étapes)	FM	24 h	O
SM 9213D ^a U.S. EPA 1603 ^c	Gélose mTEC modifiée	FM	24 h	O
U.S. EPA 1604 ^c	Milieu MI	FM	24 h	O
U.S. EPA – S.O. ^{c,d}	Milieu EC KwikCount	FM	8 h à 10 h	O
U.S. EPA – S.O. ^c	Bouillon m-ColiBlue24®	FM	24 h	O
Entérocoques				
SM 9230 D ^a	Milieu Enterolert®	DST-NPP	24 h	O
ISO 7899-1:2000 ^b	Milieu MUD/SF	FTM-NPP	36 h à 72 h	N
SM 9230 B ^a	Bouillon de dextrose azide et gélose bile-esculine-azide (2 étapes)	FTM-NPP	48 h à 72 h ^e	O
SM 9230 C ^a U.S. EPA 1600 ^c	Gélose mEI	FM	24 h	O
ISO 7899-2:2000 ^b	Gélose de Slanetz et Bartley et gélose bile-esculine-azide (2 étapes)	FM	46 h	N
SM 9230 C ^a U.S. EPA 1106.1 ^c	Gélose mE et milieu EIA (2 étapes)	FM	48 h	O
SM 9230 C ^a	Gélose m-Enterococcus	FM	48 h	O

^a APHA et coll., 2017; ^b U.S. EPA, 2021; ^c ISO, 2021a; ^d Approuvé pour l’eau douce seulement, ^e Entérocoques et/ou streptocoques féaux confirmés

SM – Standard Method (méthode normalisée); EC – *Escherichia coli*; DST – Defined Substrate Technology (technologie à substrat défini); FM – filtration sur membrane; FTM – fermentation en tubes multiples; NPP – nombre le plus probable

La plupart des méthodes NPP et FM reposent sur la détection d’enzymes précises considérées comme caractéristiques des microorganismes cibles. Des substrats chromogènes ou fluorogènes sont incorporés dans les milieux de croissance. Lorsqu’ils sont métabolisés par le microorganisme cible, ils confèrent à la colonie en développement ou au milieu environnant une propriété unique (p. ex. la présence d’une couleur ou d’une fluorescence) qui permet le diagnostic. Certaines méthodes commerciales utilisent la technologie à substrat défini, un système de réactif où le substrat sert également de source principale de carbone et d’énergie aux bactéries cibles.

Les essais enzymatiques sur culture couplés à la détection automatisée de l’activité enzymatique par fluorimétrie sont un domaine de recherche actif. Les méthodes faisant appel à cette approche permettent d’obtenir des résultats plus rapidement que les méthodes

traditionnelles fondées sur les cultures. Différentes technologies ont été étudiées pour une utilisation en laboratoire (Bramburger et coll., 2015; Schang et coll., 2016) et pour la surveillance sur place, en combinaison avec une technologie d'échantillonnage autonome (Nijak et coll., 2012; Angelescu et coll., 2019). Une méthode d'analyse rapide sur place qui repose sur la détection de l'activité enzymatique et qui ne nécessite pas d'étape d'incubation ou de croissance a également été étudiée (Cazals et coll., 2020). Il faut poursuivre l'étude des méthodes de détection rapide de l'activité enzymatique avant de pouvoir les appliquer à grande échelle.

L'utilisation de méthodes fondées sur les cultures présente plusieurs avantages et inconvénients (voir le tableau 2).

Tableau 2. Avantages et inconvénients des méthodes fondées sur les cultures

Méthode	Références
Avantages	
Méthodes faciles à réaliser qui nécessitent des installations de laboratoire de bactériologie de base et du personnel formé.	WHO, 2000a, 2000b; Köster et coll., 2003; Payment et coll., 2003
Fournissent une mesure acceptable de la viabilité des microorganismes.	WHO, 2000a; Köster et coll., 2003; Payment et coll., 2003
Montrent une association avec les maladies gastrointestinales sur les plages touchées par la contamination fécale humaine.	<i>E. coli</i> : Dufour, 1984; U.S. EPA, 1986; Wiedenmann et coll., 2006; Marion et coll., 2010 Entérocoques : Cabelli, 1983; Wiedenmann et coll., 2006; Wade et coll., 2006, 2008, 2010
Moins coûteuses que les méthodes PCR (équipement de départ, coûts d'analyse).	Shrestha et Dorevitch, 2020; Saleem et coll., 2022.
Inconvénients	
Ne permettent pas de détecter les microorganismes à l'état viable mais non cultivable, ce qui peut entraîner une sous-estimation des concentrations de microorganismes.	Del Mar Lleó et coll., 1998; Zimmerman et coll., 2009
Le délai entre le prélèvement des échantillons et l'obtention des résultats (plus de 18 heures) retarde les décisions de gestion; les résultats peuvent ne plus être représentatifs de la qualité de l'eau du moment.	Whitman et coll., 1999; U.S. EPA, 2005c; Boehm, 2007; Nevers et Whitman, 2010
Les méthodes de détection enzymatique sont moins spécifiques que les méthodes moléculaires, qui détectent les cibles de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ou de l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr).	Zhang et coll., 2015, Maheux et coll., 2017
L'interférence d'échantillons turbides et la prolifération de microorganismes non ciblés peuvent entraîner une sous-estimation des concentrations de la cible.	Kinzelman et coll., 2003; Sercu et coll., 2011; Nevers et coll., 2014

Les entérocoques sont l'indicateur privilégié de la contamination fécale dans les eaux marines; dans les eaux douces, on peut utiliser soit *E. coli*, soit les entérocoques. Les corrélations entre les concentrations d'*E. coli* et les concentrations d'entérocoques détectées par les méthodes fondées sur les cultures peuvent varier d'un endroit à l'autre (Kinzelman et coll., 2003; Francy et coll.; 2013b; Nevers et coll., 2013). Les études mesurant les deux indicateurs sur les plages ont démontré que le risque de dépasser la concentration maximale dans un seul échantillon ou la valeur des mesures requises à la plage (*beach action value* ou BAV) que recommande l'U.S. EPA est plus grand pour les entérocoques (61 unités formant colonies [UFC]/100 mL ou

70 UFC/100 mL, respectivement) par comparaison au risque de dépasser la valeur BAV recommandée par l’U.S. EPA pour *E. coli* (235 UFC/100 mL) (Kinzelman et coll., 2003; Dorevitch et coll., 2011; Francy et coll., 2013b; Nevers et coll., 2013; Byappanahalli et coll., 2018; Campbell et Kleinheinz, 2020). Les exploitants de plages qui envisagent de changer l’indicateur de contamination fécale qu’ils utilisent à des fins de surveillance systématique doivent analyser en parallèle l’indicateur actuel et l’indicateur proposé avant la mise en œuvre.

3.1.2 Méthodes fondées sur la réaction en chaîne de la polymérase (PCR)

L’utilisation de méthodes PCR pour analyser les bactéries indicatrices de contamination fécale dans les eaux récréatives suscite un intérêt croissant. Les analyses qui reposent sur cette approche moléculaire nécessitent un équipement spécialisé et du personnel hautement qualifié. Il est conseillé aux autorités compétentes et aux exploitants de plages qui envisagent d’intégrer des méthodes PCR à leurs programmes de surveillance des eaux récréatives de consulter les laboratoires pour connaître les exigences relatives à la mise en œuvre des procédures d’analyse. La consultation d’autres autorités compétentes, d’autres exploitants de plages ou de professionnels de la qualité des eaux récréatives ayant une expérience en la matière peut aider à définir les mesures qui se sont avérées efficaces ailleurs.

3.1.2.1 PCR quantitative (qPCR)

L’utilisation de méthodes qPCR aux fins de la surveillance des bactéries indicatrices de contamination fécale sur les plages permet d’obtenir des renseignements sur la qualité de l’eau en quelques heures (Haugland et coll., 2021). L’U.S. EPA a validé deux méthodes qPCR pour la quantification d’*Enterococcus* dans les eaux utilisées à des fins récréatives (tableau 3).

Tableau 3. Méthodes qPCR normalisées pour la détection des entérocoques dans les eaux utilisées à des fins récréatives

Organisation et méthode	Nom
U.S. EPA, 1609.1 ^a	TaqMan® qPCR with internal amplification control assay (test qPCR TaqMan® avec témoin interne d’amplification)
U.S. EPA, 1611.1 ^a	TaqMan® qPCR Assay (test qPCR TaqMan®)

^a U.S. EPA, 2019c

Les méthodes qPCR reposent sur la détection d’une séquence cible du gène de l’ARNr de la grande sous-unité (ARNr 23S) que l’on trouve dans toutes les espèces connues d’*Enterococcus* présentes dans l’eau (U.S. EPA 2015a, 2015b). En résumé, la méthode consiste à filtrer des échantillons d’eau, à extraire l’ADN total et à détecter les séquences d’entérocoques par qPCR en temps réel. Des échantillons étalons contenant des quantités définies de cellules d’*Enterococcus* et un témoin de traitement de l’échantillon sont extraits et analysés de la même manière. Pour déterminer le rendement de l’instrument et des tests qPCR, les laboratoires génèrent également des courbes d’étalonnage à l’aide d’étalons d’ADN pour l’analyse PCR d’*Enterococcus*. À l’aide du ratio obtenu entre les séquences cibles des échantillons d’essai et celles des cellules étalons (ajusté en fonction des différences dans la récupération de l’ADN), on estime les équivalents de cellules d’entérocoques (appelés « équivalents de cellules étalons ») dans les échantillons d’eau. Il existe deux méthodes acceptables de l’U.S. EPA : la méthode 1611.1 et la méthode 1609.1. L’U.S. EPA préconise davantage l’utilisation de la méthode 1609.1 (Nappier et coll., 2019), laquelle a été appliquée avec succès dans plusieurs études approfondies (Shrestha et Dorevitch, 2019, 2020; Campbell et Kleinheinz, 2020; Saleem

et coll., 2022). Un « projet de méthode C » (« Draft Method C ») visant le dénombrement d'*E. coli* par qPCR a été élaboré et validé de façon préliminaire par l’U.S. EPA, mais son utilisation n’a pas été approuvée (Lane et coll., 2020; Haugland et coll., 2021).

La qPCR est désormais une technique bien établie qui permet de mesurer rapidement la qualité microbiologique des eaux utilisées à des fins récréatives. Depuis qu’une méthode validée a été établie pour les entérocoques, plusieurs administrations aux États-Unis et au Canada ont intégré la technologie qPCR à leurs programmes de surveillance des plages et de diffusion d’avis à la population (Griffith et Weisberg, 2011; Dorevitch et coll., 2017; Byappanahalli et coll., 2018; Alberta Health, 2022). D’autres administrations utilisent le « projet de méthode C » de l’U.S. EPA ou d’autres méthodes qPCR approuvées par l’U.S. EPA pour mesurer les concentrations d'*E. coli* sur les plages (Kinzelman et coll., 2011; EGLE, 2019). Il s’est ainsi constitué un ensemble de connaissances et d’expériences liées aux méthodes qPCR, lequel ensemble peut être mis à profit pour renseigner et aider les éventuels nouveaux utilisateurs.

Bien que les méthodes qPCR proposent plusieurs avantages par rapport aux méthodes fondées sur les cultures, elles présentent aussi des inconvénients (voir le tableau 4).

Tableau 4. Avantages et inconvénients des méthodes qPCR

Méthode	Références
Avantages	
Les résultats sont disponibles dans les deux à six heures suivant l’analyse de l’échantillon et peuvent donc être communiqués le jour même.	Lavender et Kinzelman, 2009; Griffith et Weisberg, 2011; Sheth et coll., 2016; Campbell et Kleinheinz, 2020; Shrestha et Dorevitch, 2020; Saleem et coll., 2022
Les séquences d’ADN ou d’ARN sont un attribut plus spécifique que l’expression enzymatique aux fins de la détection des microorganismes.	Frahm et coll., 1998; Frahm et Obst, 2003; Zhang et coll., 2015; Maheux et coll., 2017
La méthode qPCR utilisée pour les entérocoques montre une association plus forte avec les maladies gastrointestinales que la méthode fondée sur les cultures utilisée pour les entérocoques sur les plages touchées par la contamination fécale humaine.	Wade et coll., 2006, 2008, 2010, 2022
Permettent de détecter les microorganismes cultivables et les microorganismes non cultivables.	Haugland et coll., 2005; Higgins et coll., 2007; Viau et Peccia, 2009
Possibilité de congeler les filtres à membrane pour des analyses futures.	U.S. EPA, 2015a, 2015b; Kinzelman et coll., 2020; Shrestha et Dorevitch, 2020
Les instruments et la formation peuvent également être appliqués aux études de dépistage des sources de pollution microbienne (DSPM).	Harwood et coll., 2014; Lane et coll., 2020
Les extraits d’ADN peuvent également servir à des tests de DSPM par qPCR afin de fournir des renseignements sur les sources de contamination fécale.	Alberta Health, 2022
Inconvénients	
Méthodes complexes nécessitant une technologie de pointe, des procédures d’étalonnage et du personnel formé.	Griffith et Weisberg, 2011; Shanks et coll., 2012; Ferretti et coll., 2013; Haugland et coll., 2016; Byappanahalli et coll., 2018; Aw et coll., 2019; Sivaganesan et coll., 2019; Lane et coll., 2020; Shrestha et Dorevitch, 2020; Saleem et coll., 2022
Plus coûteuses que les méthodes fondées sur les cultures.	Byappanahalli et coll., 2018; Lane et coll., 2020; Shrestha et Dorevitch, 2020; Saleem et coll., 2022

Méthode	Références
Ne permettent pas de faire la distinction entre les cibles provenant de cellules viables et celles provenant de cellules non viables, ce qui peut entraîner une surestimation des concentrations de microorganismes.	Haugland et coll., 2005
Les échantillons d'eau peuvent contenir des substances qui interfèrent avec la détection et entraîner une sous-estimation des concentrations de la cible.	Cao et coll., 2012; Haugland et coll., 2012; Sivaganesan et coll., 2019
Nécessitent de renseigner les intervenants sur la signification des unités de mesure qui leur sont peu familières.	Ferretti et coll., 2013; Shrestha et Dorevitch, 2020
Une association prévisible avec les maladies gastrointestinales n'a pas été établie pour les méthodes qPCR applicables à <i>E. coli</i> .	U.S. EPA, 2012c; Shrestha et Dorevitch, 2019

Les méthodes qPCR sont plus complexes et exigent plus de travail que les méthodes traditionnelles fondées sur les cultures (Ferretti et coll., 2013; Shrestha et Dorevitch, 2020). L'équipement requis inclut des postes de travail dédiés équipés de hottes à flux laminaire, des appareils utilisés pour les étapes de l'extraction et de l'analyse de l'ADN (broyeur à billes, microcentrifugeuse, spectrophotomètres visibles et UV, thermocycleur PCR) et un congélateur capable d'atteindre une température de -80 °C pour l'entreposage à long terme des souches, des étalons et des échantillons (U.S. EPA, 2015a, 2015b). Les analystes de laboratoire doivent suivre une formation sur l'utilisation des méthodes qPCR de l'U.S. EPA (Shanks et coll., 2012; Aw et coll., 2019; Lane et coll., 2020). Les laboratoires utilisant les méthodes de l'U.S. EPA doivent également respecter les critères d'acceptation de la qualité pour les paramètres du modèle d'étalonnage (p. ex. courbe d'étalonnage), les témoins positifs et négatifs, et les interférences liées à la matrice afin de garantir la production de données de grande qualité (U.S. EPA, 2015a, 2015b; Sivaganesan et coll., 2019). Des études ont confirmé que les laboratoires qui offrent une formation adéquate peuvent mettre en œuvre la technologie qPCR dans les programmes de surveillance des plages avec un niveau de confiance élevé (Haugland et coll., 2016; Aw et coll., 2019; Lane et coll., 2020; Saleem et coll., 2022).

Il est recommandé de mener des études propres au site pour évaluer le rendement des méthodes et cerner les problèmes d'interférences touchant les échantillons avant d'adopter les méthodes qPCR et les valeurs BAV connexes (U.S. EPA, 2012c; Ferretti et coll., 2013; Campbell et Kleinheinz, 2020; Shrestha et Dorevitch, 2020; Saleem et coll., 2022). Les études devraient prévoir une analyse en parallèle des échantillons d'eau, c'est-à-dire une analyse qui fait appel à la fois à une méthode qPCR et à une méthode fondée sur les cultures, ce qui permettrait aux exploitants de plages de mieux comprendre les différences dans les résultats selon la méthode utilisée et les effets possibles de l'utilisation d'une méthode sur les décisions en matière de gestion des plages (Dorevitch et coll., 2017; Campbell et Kleinheinz, 2020; Saleem et coll., 2022). En ce qui concerne les études visant à démontrer le rendement d'une méthode, l'U.S. EPA recommande de prélever au moins 10 échantillons recueillis des jours différents, de procéder à un échantillonnage représentatif des conditions dans lesquelles les activités récréatives devraient avoir lieu et d'inclure des échantillons prélevés après des épisodes de fortes pluies (U.S. EPA, 2013). Dans les publications évaluées par des pairs décrivant la mise en œuvre de programmes de diffusion d'avis fondés sur des méthodes qPCR sur des plages, on a prélevé un à plusieurs échantillons par semaine sur des périodes allant de six à quatorze semaines (soit

toute la saison des plages) (Lavender et Kinzelman, 2009; Sheth et coll., 2016; Dorevitch et coll., 2017; Byappanahalli et coll., 2018; Saleem et coll., 2022).

Les techniques de détection par qPCR et par culture se concentrent sur différents attributs de l'indicateur de contamination fécale (U.S. EPA, 2012c). Les méthodes fondées sur les cultures permettent de détecter les microorganismes viables qui peuvent croître en culture. Les méthodes qPCR permettent de détecter les séquences d'ADN qui peuvent provenir de formes viables ou non viables de microorganismes. Les résultats produits par ces méthodes sont différents et ne sont pas directement interchangeables (U.S. EPA, 2012c). Les sources de pollution fécale, les facteurs environnementaux et les caractéristiques du site peuvent avoir une incidence sur le nombre de microorganismes viables, non viables et non cultivables dans les eaux utilisées à des fins récréatives, et cette incidence varie d'un endroit à l'autre (Lavender et Kinzelman, 2009; Raith et coll., 2014; Campbell et Kleinheinz, 2020). Certaines études font état d'une augmentation du nombre d'échantillons dépassant les valeurs BAV établies par l'U.S. EPA lors de l'utilisation de mesures obtenues par des méthodes qPCR plutôt que par des méthodes fondées sur les cultures (Sheth et coll., 2016; Campbell et Kleinheinz, 2020), tandis que d'autres études rapportent un nombre supérieur de dépassements lors de l'utilisation de méthodes fondées sur les cultures (Nevers et coll., 2013; Dorevitch et coll., 2017; Byappanahalli et coll., 2018).

La présence d'interférences dues à des substances contenues dans les plans d'eau naturels est également un point important à considérer lorsque l'on envisage de mettre en œuvre des méthodes qPCR. En effet, certaines substances peuvent interférer avec la PCR en inhibant la fonction polymérase ou en empêchant les amorces de se lier, ce qui entraîne une efficacité réduite et une sous-estimation des résultats (Haugland et coll., 2012; U.S. EPA, 2012c). Les acides humiques et tanniques, le calcium, le fer et les composés contenant du fer, certains types de particules argileuses, les limons et les sables coralliens sont quelques exemples de substances susceptibles de provoquer des interférences (Haugland et coll., 2012; Nappier et coll., 2019). L'inhibition de la PCR pendant l'analyse peut entraîner le non-respect des critères de contrôle de la qualité et faire en sorte que l'échantillon soit rejeté (Lane et coll., 2020). Par conséquent, les exploitants de plages doivent réfléchir aux mesures de gestion à prendre en présence d'un échantillon non valide (Lane et coll., 2020). Selon les études, le pourcentage d'échantillons pour lesquels on observe des problèmes d'inhibition varie de 1 % à 11 % (Sivaganesan et coll., 2019; Haugland et coll., 2016; Byappanahalli et coll., 2018; Shrestha et Dorevitch, 2019; Campbell et Kleinheinz, 2020; Lane et coll., 2020). L'U.S. EPA a apporté des adaptations aux méthodes de façon à ce qu'elles permettent de mieux estimer et maîtriser les interférences. Il s'agit notamment de la mise à jour des essais visant à estimer la quantité d'ADN récupérée et à détecter l'inhibition, et de l'utilisation de nouveaux réactifs qui reposent sur un principe chimique plus évolué (Nappier et coll., 2019; U.S. EPA 2015a, 2015b). Enfin, il est recommandé de diluer les extraits d'ADN de l'échantillon (p. ex. dilution au cinquième) afin de réduire les interférences dans les échantillons d'eau susceptibles de ne pas respecter les critères de contrôle de la qualité (U.S. EPA, 2013, 2015a, 2015b; Nappier et coll., 2019). On trouvera d'autres conseils sur la réalisation des tests qPCR dans Bustin et coll. (2009).

La rapidité de la collecte et du transport des échantillons, de l'analyse en laboratoire et de la communication des résultats au public est importante pour permettre la surveillance des eaux de plage et la diffusion d'avis à la population le jour même à l'aide des méthodes qPCR (Griffith et Weisberg, 2011; Ferretti et coll., 2013; Shrestha et Dorevitch, 2020). L'avantage le plus notable de la méthode qPCR utilisée pour *Enterococcus* est la protection accrue de la santé

publique que devrait offrir la diffusion plus rapide d'avis aux baigneurs lorsque les concentrations de bactéries indicatrices de contamination fécale sont élevées (U.S. EPA, 2012c). Pour les plages situées à plus d'une heure d'un laboratoire capable d'effectuer des tests qPCR, il peut être difficile de produire des avis le jour même. Il est également recommandé de discuter des délais d'exécution des tests avec le laboratoire d'analyse pour s'assurer que les résultats de surveillance peuvent être communiqués, ou mis à jour, rapidement. Les plages très fréquentées qui desservent un grand bassin de population et qui sont situées à courte distance d'un laboratoire centralisé sont peut-être les mieux placées pour examiner l'utilisation des méthodes moléculaires rapides (Griffith et Weisberg, 2011; Ferretti et coll., 2013; Shrestha et Dorevitch, 2020). Les plages qui surveillent quotidiennement les indicateurs bactériens de contamination fécale sont celles qui profiteraient le plus de la rapidité d'obtention des résultats fournie par les méthodes qPCR (Griffith et Weisberg, 2011). Les plages situées près d'une embouchure ou d'autres sources de pollution fécale qui peuvent avoir des répercussions rapides sur la qualité de l'eau de la plage bénéficieraient également de la rapidité d'obtention des résultats que procurent les méthodes qPCR et de l'accès le jour même aux données sur la qualité de l'eau pour la diffusion d'avis liés à la plage (Saleem et coll., 2022).

Les expériences d'autres autorités compétentes qui ont délaissé les méthodes fondées sur les cultures au profit des méthodes qPCR dans le cadre de leurs programmes de surveillance des plages et de diffusion d'avis peuvent aussi être utiles. Par exemple, Dorevitch et coll. (2017) et Shrestha et Dorevitch (2020) décrivent la transition effectuée par les plages du Chicago Park District. Lors de la transition aux méthodes qPCR, il est également important que les exploitants de plages mettent au point un plan de communication pour informer les usagers de la page de la nouvelle technologie de surveillance employée et des avantages qu'elle offre lorsqu'elle est utilisée dans un programme de surveillance de plage.

3.1.2.2 PCR numérique (dPCR)

La dPCR est une technologie en plein essor qui permet de déterminer la quantité d'ADN présente dans un échantillon d'eau. Contrairement aux méthodes PCR traditionnelles, où l'ADN est mesuré dans un seul tube, la technique dPCR répartit l'échantillon d'ADN dans des milliers, voire des millions de petits compartiments réactionnels (c.-à-d. dans des microchambres sur une puce pour la PCR numérique en microchambres ou dans des gouttelettes en émulsion eau-huile pour la PCR numérique en gouttelettes) (Cao et coll., 2015; Nappier et coll., 2019). Le processus de répartition fait en sorte que la cible d'ADN est présente dans certains compartiments et absente d'autres (Cao et coll., 2015). L'amplification par PCR ne se produit que dans une partie de ces compartiments, et on utilise la fréquence des réactions positives avec des statistiques de Poisson pour estimer la concentration d'ADN cible (Cao et coll., 2015; Nappier et coll., 2019). L'un des principaux avantages de la dPCR par rapport à la qPCR est qu'elle ne nécessite pas la préparation de courbes d'étalonnage, lesquelles exigent du travail supplémentaire et sont une source potentielle de variabilité des méthodes (Cao et coll., 2015). La dPCR permet également de réduire la sensibilité des échantillons à certaines interférences, en plus d'offrir une capacité supérieure de quantification de cibles multiples (Cao et coll., 2015, 2016a; Wang et coll., 2016; Nappier et coll., 2019), et la possibilité d'une sensibilité, d'une précision et d'une reproductibilité accrues (Tiwari et coll., 2022). Le fait que la dPCR entraîne des coûts en capital et des coûts liés aux produits consommables plus importants que la qPCR est une limite de la dPCR (Cao et coll., 2016b; Tiwari et coll., 2022). Les études comparant la dPCR à la qPCR et aux méthodes fondées sur les cultures aux fins de la détection des entérocoques dans les échantillons d'eaux récréatives ont démontré de bonnes corrélations entre les résultats des

méthodes (Cao et coll., 2015; Wang et coll., 2016; Crain et coll., 2021). L’élaboration d’une méthode dPCR validée qui pourrait être utilisée dans les programmes de surveillance des plages nécessite encore du travail. Il existe des conseils sur les normes de réalisation des tests dPCR (The dMIQE Group, 2020). On trouvera des renseignements plus détaillés sur les avantages, les limites et les applications de la dPCR pour la surveillance de la qualité de l’eau dans Cao et coll. (2016b) et dans Tiwari et coll. (2022).

3.1.3 Méthodes de dépistage des sources de pollution fécale

Il existe une panoplie de méthodes de dépistage des sources de pollution fécale (DSPF). Le choix de la cible et de la méthode de DSPF dépend de l’ampleur et des objectifs de l’étude approfondie (Stoeckel, 2005). Le DSPF peut être utile pour détecter les sources de pollution telles que les eaux d’égout résidentielles et la contamination fécale provenant des ruminants ainsi que des espèces canines et aviaires qui peuvent toucher les zones de loisirs, ou encore pour appuyer les enquêtes sur les éclosions de maladies d’origine hydrique (Goodwin et coll., 2016; Shanks et Mattioli, 2018; Ballesté et coll., 2020; McKee et coll., 2020). Le document technique intitulé *Comprendre et gérer les risques dans les eaux récréatives* contient des renseignements généraux sur les méthodes de DSPF (Santé Canada, en cours de publication-b). Parmi les méthodes de DSPF le plus souvent utilisées figure le DSPM, qui s’appuie sur les attributs des microorganismes propres à l’hôte pour identifier et quantifier les sources de contamination fécale (Harwood et coll., 2014). Des publications scientifiques fournissent des détails sur les approches méthodologiques qui ont été utilisées pour le DSPM (p. ex. Stoeckel, 2005; U.S. EPA, 2005b; Badgley et Hagedorn, 2015; Edge et coll., 2021) et se penchent sur les méthodes de DSPM et leur rendement (Boehm et coll., 2013; Harwood et coll., 2014).

L’U.S. EPA a validé deux méthodes de DSPM par qPCR pour la caractérisation des sources humaines de pollution fécale dans les eaux douces et marines; ces méthodes font appel à des séquences génétiques d’origine humaine provenant de microorganismes de type *Bacteroides* (U.S. EPA, 2019a, 2019b). L’intégration de méthodes de DSPM par qPCR dans un programme de surveillance des indicateurs de contamination fécale fondée sur la qPCR peut être une façon rentable d’obtenir de l’information supplémentaire sur l’origine de la pollution fécale sur les plages. La province de l’Alberta utilise des tests qPCR de DSPM pour les marqueurs génétiques de *Bacteroides* spécifiques à l’humain ou aux ruminants sur les plages qui dépassent les critères de qualité des eaux récréatives établis pour les méthodes qPCR visant les entérocoques (Alberta Health, 2022). L’information ainsi obtenue permet d’évaluer les sources de pollution fécale et de prendre des décisions de gestion des risques en fonction des sources (Alberta Health, 2022).

3.2 Autres indicateurs de pollution fécale

On peut envisager l’analyse d’autres organismes indicateurs de contamination fécale (coliphages, *Bacteroides* spp., bactériophages des *Bacteroides* spp., *Clostridium perfringens*) afin d’obtenir des renseignements supplémentaires sur la contamination fécale associée à une zone de loisirs. Les méthodes normalisées permettant la détection de ces microorganismes sont résumées dans le tableau 5. L’utilisation d’organismes indicateurs de contamination fécale aux fins du DSPM est abordée dans la section 3.1.3.

Tableau 5. Méthodes normalisées permettant la détection des coliphages, des *Bacteroides* spp., des bactériophages des *Bacteroides* spp. et de *Clostridium perfringens* dans les eaux utilisées à des fins récréatives

Organisation et méthode	Nom
Bactériophages des <i>Bacteroides</i> spp.	
ISO 10704-4:2001 ^a	Dénombrement des bactériophages infectant <i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	
ISO 14189:2013 ^a	Dénombrement de <i>Clostridium perfringens</i> – Méthode par filtration sur membrane
Coliphages	
ISO 10705:1:1995 ^a	Dénombrement des bactériophages ARN F spécifiques
ISO 10705-2:2000 ^a	Dénombrement des coliphages somatiques
SM 9224 B-F ^b	Détection des coliphages
U.S. EPA 1602 ^c	Method 1602: Male-specific (F+) and somatic coliphage in water by single agar layer procedure [méthode 1602 : dénombrement des coliphages mâles spécifiques (F+) et somatiques dans les eaux par un procédé sur gélose en simple couche]
U.S. EPA 1642 ^d	Method 1642: Male-specific (F+) and somatic coliphage in recreational waters and wastewater by ultrafiltration and single agar layer procedure [méthode 1642 : dénombrement des coliphages mâles spécifiques (F+) et somatiques dans les eaux récréatives et les eaux usées par ultrafiltration et par un procédé sur gélose en simple couche]

^a ISO, 2021a; ^b APHA et coll., 2017; ^c U.S. EPA, 2001b; ^d U.S. EPA, 2018

La littérature scientifique contient des détails sur l'utilisation de ces méthodes dans le contexte de la recherche (Mocé-Llivina et coll., 2005; Weidenmann et coll., 2006; Wade et coll., 2010; Gonzalez et coll., 2012; Griffith et coll., 2016; Stachler et coll., 2018; Blanch et coll., 2020).

3.3 Microorganismes pathogènes

La surveillance de routine des microorganismes pathogènes (c.-à-d. les bactéries, les virus et les protozoaires pathogènes) n'est pas recommandée en raison de la complexité et des coûts qui s'y rattachent. L'utilisation d'indicateurs primaires de contamination fécale pour démontrer la présence potentielle d'agents pathogènes fécaux est une pratique acceptée (WHO, 2000b; Hussain, 2019). Cependant, dans certaines circonstances, il peut être justifié de réaliser des tests pour déceler la présence de microorganismes précis, par exemple lors d'enquêtes sur des éclosions de maladies d'origine hydrique. On trouvera des renseignements sur les microorganismes pathogènes potentiellement préoccupants dans le document technique *Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada : Agents pathogènes microbiologiques et dangers biologiques* (Santé Canada, en cours de publication-a).

L'analyse des bactéries pathogènes peut être effectuée par du personnel qualifié, dans des laboratoires dont le niveau de biosécurité, la conception, les procédures et l'équipement sont adéquats. Lorsque des tests doivent être réalisés, les autorités doivent consulter les laboratoires pour déterminer s'ils ont les capacités d'analyse nécessaires. Il existe des méthodes normalisées applicables aux bactéries pathogènes qui peuvent être présentes dans les eaux récréatives canadiennes (APHA et coll., 2017; ISO, 2021a).

L'analyse des protozoaires et des virus pathogènes (p. ex. *Giardia*, *Cryptosporidium*, les virus entériques tels que les norovirus) ne fait pas partie des services offerts par la plupart des

laboratoires d'analyse de l'eau. En effet, ce type d'analyse nécessite de l'équipement spécialisé et du personnel hautement qualifié. Il existe des méthodes normalisées que les laboratoires ayant les capacités d'analyse nécessaires peuvent consulter (ASTM, 2004; APHA et coll., 2017; ISO, 2021a; U.S. EPA, 1996, 2001a, 2005a, 2006, 2012a, 2012b).

Références

- Alberta Health (2022). Alberta safe beach protocol. Alberta Health, Government of Alberta. May 2022. Consulté en juillet 2022 à l'adresse <https://open.alberta.ca/publications/9781460145395>
- Angelescu, D.E., Huynh, V., Hausot, A., Yalkin, G., Plet, V., Mouchel, J.-M., Guérin-Rechdaoui, S., Azimi, S. et Rocher, V. (2019). Autonomous system for rapid field quantification of *Escherichia coli* in surface waters. *J. Appl. Microbiol.*, 126(1): 332–343.
- APHA, AWWA et WEF. (2017). Standard methods for the examination of water and wastewater. 23rd edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environment Federation, Washington, DC.
- ASTM (2004). ASTM D244-92: Standard practice for recovery of enteroviruses from waters. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
- Aw, T.G., Sivaganesan, M., Briggs, S., Dreelin, E., Aslan, A., Dorevitch, S., Shrestha, A., Isaacs, N., Kinzelman, J., Kleinheinz, G., Noble, R., Rediske, R., Scull, B., Rosenberg, S., Weberman, B., Sivy, T., Southwell, B., Siefring, S., Oshima, K. et Haugland, R. (2019). Evaluation of multiple laboratory performance and variability in analysis of recreational freshwaters by a rapid *Escherichia coli* qPCR method (draft method C). *Water Res.*, 156: 465–474.
- Badgley, B. et Hagedorn, C. (2015). Microbial source tracking: Advances in research and a guide to application. In: Advances in Watershed Science and Assessment. Younos, T and Parece, T.E. eds. The Handbook of Environmental Chemistry. Springer International Publishing, Switzerland. pp. 267–288.
- Ballesté, E., Demeter, K., Masterson, B., Timoneda, N., Sala-Comorera, L. et Meijer, W.G. (2020). Implementation and integration of microbial source tracking in a river watershed monitoring plan. *Sci. Tot. Environ.*, 736(2020):139573.
- Bertke, E.E. (2007). Composite analysis for *Escherichia coli* at coastal beaches. *J. Great Lakes Res.*, 33(2): 335–341.
- Blanch, A.R., Lucena, F., Muniesa, M. et Jofre, J. (2020). Fast and easy methods for the detection of coliphages. *J. Microbiol. Methods*, 173.
- Boehm, A.B. (2007). Enterococci concentrations in diverse coastal environments exhibit extreme variability. *Environ. Sci. Technol.*, 41(24): 8227–8232.
- Boehm, A.B., Griffith, J., McGee, C., Edge, T.A., Solo-Gabriele, H.M., Whitman, R., Cao, Y., Getrich, M., Jay, J.A., Ferguson, D., Goodwin, K.D., Lee, C.M., Madison, M. et Weisberg, S.B. (2009). Faecal indicator bacteria enumeration in beach sand: A comparison study of extraction methods in medium to coarse sands. *J. Appl. Microbiol.*, 107(5): 1740–1750.
- Boehm, A.B., Van De Werfhorst, L.C., Griffith, J.F., Holden, P.A., Jay, J.A., Shanks, O.C., Wang, D. et Weisberg, S.B. (2013). Performance of forty-one microbial source tracking methods: A twenty-seven lab evaluation study. *Water Res.*, 47(18): 6812–6828.
- Bramburger, A.J., Stephen Brown, R., Haley, J. et Ridal, J.J. (2015). A new, automated rapid fluorometric method for the detection of *Escherichia coli* in recreational waters. *J. Great Lakes Res.*, 41(1): 298–302.
- Brandão, J. (2019). Microorganisms in beach sands: what do we still not know? In: Encyclopedia of Environmental Health. Nriagu, J. (ed.). Elsevier, 390–2.

Bustin, S.A., Benes, V., Garson, J.A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M.W., Shipley, G.L., Vandesompele, J. et Wittwer, C.T. (2009). The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin. Chem.*, 55(4): 611–622.

Byappanahalli, M.N., Nevers, M.B., Shively, D.A., Spoljaric, A. et Otto, C. (2018). Real-time water quality monitoring at a Great Lakes national park. *J. Environ. Qual.*, 47(5): 1086–1093.

Cabelli, V.J. (1983). Health effects criteria for marine recreational waters. United States Environmental Protection Agency, Document No.: EPA-600/1-80-031, Cincinnati, OH.

Campbell, A. et Kleinheinz, G. (2020). Comparison of qPCR and traditional beach monitoring methods at select Great Lakes beaches and the impact on beach management. *Lake Reserv. Manage.*, 36(2): 155–168.

Cao, Y., Griffith, J.F., Dorevitch, S. et Weisberg, S.B. (2012). Effectiveness of qPCR permutations, internal controls and dilution as means for minimizing the impact of inhibition while measuring *Enterococcus* in environmental waters. *J. Appl. Microbiol.*, 113(1): 66–75.

Cao, Y., Raith, M.R. et Griffith, J.F. (2015). Droplet digital PCR for simultaneous quantification of general and human-associated fecal indicators for water quality assessment. *Water Res.*, 70: 337–349.

Cao, Y., Raith, M.R. et Griffith, J.F. (2016a). A duplex digital PCR assay for simultaneous quantification of the *Enterococcus* spp. and the human fecal-associated HF183 marker in waters. *J. Visualized Exp.*, 2016(109).

Cao, Y., Griffith, J.F. et Weisberg, S.B. (2016b). The next-generation PCR-based quantification method for ambient waters: Digital PCR. p. 18.

Cazals, M., Stott, R., Fleury, C., Proulx, F., Prévost, M., Servais, P., Dorner, S. et Burnet, J.-B. (2020). Near real-time notification of water quality impairments in recreational freshwaters using rapid online detection of β-D-glucuronidase activity as a surrogate for *Escherichia coli* monitoring. *Sci. Total Environ.*, 720.

Crain, C., Kezer, K., Steele, S., Owiti, J., Rao, S., Victorio, M., Austin, B., Volner, A., Draper, W., Griffith, J., Steele, J. et Seifert, M. (2021). Application of ddPCR for detection of *Enterococcus* spp. in coastal water quality monitoring. *J. Microbiol. Methods*, 184.

Del Mar Lleó, M., Tafi, M.C. et Canepari, P. (1998). Nonculturable *Enterococcus faecalis* cells are metabolically active and capable of resuming active growth. *Syst. Appl. Microbiol.*, 21(3): 333–339.

Dorevitch, S., Doi, M., Hsu, F.-C., Lin, K.-T., Roberts, J.D., Liu, L.C., Gladding, R., Vannoy, E., Li, H., Javor, M. et Scheff, P.A. (2011). A comparison of rapid and conventional measures of indicator bacteria as predictors of waterborne protozoan pathogen presence and density. *J. Environ. Monit.*, 13(9): 2427–2435.

Dorevitch, S., Shrestha, A., DeFlorio-Barker, S., Breitenbach, C. et Heimler, I. (2017). Monitoring urban beaches with qPCR vs. culture measures of fecal indicator bacteria: Implications for public notification. *Environ. Health*, 16(1): 45.

Dufour, A.P. (1984). Health effects criteria for fresh water recreational waters. United States Environmental Protection Agency, Document Number: EPA 600/1-84-004, Cincinnati, OH.

Edge, T.A., Boyd, R.J., Shum, P. et Thomas, J.L. (2021). Microbial source tracking to identify fecal sources contaminating the Toronto harbour and Don River watershed in wet and dry weather. *J. Great Lakes Res.*, 47(2): 366–377.

Edge, T.A. et Hill, S. (2007). Multiple lines of evidence to identify the sources of fecal pollution at a freshwater beach in Hamilton Harbour, Lake Ontario. *Water Res.* 41: 3585–3594.

Edge, T.A., Hill, S., Seto, P. et Marsalek, J. (2010). Library-dependent and library-independent microbial source tracking to identify spatial variation in faecal contamination sources along a Lake Ontario beach (Ontario, Canada). *Water Sci. Technol.* 62: 719–727.

EGLE (2019). EGLE is creating safer beaches with rapid-testing technology. Michigan Department of Environment, Great Lakes and Energy (EGLE). Michigan. Consulté en mars 2022 à l'adresse <https://www.michigan.gov/mienvironment/0,9349,7-385-90161-499038--,00.html>

Ferretti, J.A., Tran, H.V., Peterson, S.J. et Loftin, V. (2013). Rapid method demonstration project at four New Jersey marine beaches using real time quantitative polymerase chain reaction (qPCR). *Mar. Pollut. Bull.*, 71(1-2): 51–63.

Frahm, E., Heiber, I., Hoffmann, S., Koob, C., Meier, H., Ludwig, W., Amann, R., Schleifer, K.H. et Obst, U. (1998). Application of 235 rDNA-targeted oligonucleotide probes specific for enterococci to water hygiene control. *Syst. Appl. Microbiol.*, 21(3): 450–453.

Frahm, E. and Obst, U. (2003). Application of the fluorogenic probe technique (TaqMan PCR) to the detection of *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* in water samples. *J. Microbiol. Methods*, 52(1): 123–131.

Francy, D.S., Brady, A.M.G., Carvin, R.B., Corsi, S.R., Fuller, L.M., Harrison, J.H., Hayhurst, B.A., Lant, J., Nevers, M.B., Terrio, P.J. et Zimmerman, T.M. (2013a). Developing and implementing predictive models for estimating recreational water quality at Great Lakes beaches: United States Geological Survey Scientific Investigations Report 2013-5166, 68 p., [http://dx.doi.org/10.3133/sir20135166/](http://dx.doi.org/10.3133/sir20135166)

Francy, D.S., Bushon, R.N., Brady, A.M.G. et Kephart, C.M. (2013b). Comparing rapid and culture indicator bacteria methods at inland lake beaches. *Lake Reserv. Manage.*, 29(2): 99–102.

Gonzalez, R.A., Conn, K.E., Crosswell, J.R. et Noble, R.T. (2012). Application of empirical predictive modeling using conventional and alternative fecal indicator bacteria in eastern North Carolina waters. *Water Res.*, 46(18): 5871–5882.

Goodwin, K.D., Gruber, S., Vondrak, M. et Crumpacker, A. (2016). Watershed assessment with beach microbial source tracking and outcomes of resulting gull management. *Environ. Sci. Technol.*, 50(18): 9900–9906.

Griffith, J.F. et Weisberg, S.B. (2011). Challenges in implementing new technology for beach water quality monitoring: Lessons from a California demonstration project. *Mar. Technol. Soc. J.*, 45(2): 65–73.

Griffith, J.F., Weisberg, S.B., Arnold, B.F., Cao, Y., Schiff, K.C. et Colford, J.M., Jr. (2016). Epidemiologic evaluation of multiple alternate microbial water quality monitoring indicators at three California beaches. *Water Res.*, 94: 371–381.

Harwood, V.J., Staley, C., Badgley, B.D., Borges, K. et Korajkic, A. (2014). Microbial source tracking markers for detection of fecal contamination in environmental waters: Relationships between pathogens and human health outcomes. *FEMS Microbiol. Rev.*, 38(1): 1–40.

Haugland, R., Oshima, K., Sivaganesan, M., Dufour, A., Varma, M., Siefring, S., Nappier, S., Schnitker, B. et Briggs, S. (2021). Large-scale comparison of *E. coli* levels determined by culture and a qPCR method (EPA draft method C) in Michigan towards the implementation of rapid, multi-site beach testing. *J. Microbiol. Methods*, 184.

Haugland, R.A., Siefring, S., Lavender, J. et Varma, M. (2012). Influences of sample interference and interference controls on quantification of enterococci fecal indicator bacteria in surface water samples by the qPCR method. *Water Res.*, 46(18): 5989–6001.

Haugland, R.A., Siefring, S., Varma, M., Oshima, K.H., Sivaganesan, M., Cao, Y., Raith, M., Griffith, J., Weisberg, S.B., Noble, R.T., Blackwood, A.D., Kinzelman, J., Anan'eva, T., Bushon, R.N., Stelzer, E.A., Harwood, V.J., Gordon, K.V. et Sinigalliano, C. (2016). Multi-laboratory survey of qPCR enterococci analysis method performance in US coastal and inland surface waters. *J. Microbiol. Methods*, 123: 114–125.

Haugland, R.A., Siefring, S.C., Wymer, L.J., Brenner, K.P. et Dufour, A.P. (2005). Comparison of *Enterococcus* measurements in freshwater at two recreational beaches by quantitative polymerase chain reaction and membrane filter culture analysis. *Water Res.*, 39(4): 559–568.

Higgins, M.J., Chen, Y-C., Murthy, S.N., Hendrickson, D., Farrel, J. et Schafer, P. (2007). Reactivation and growth of non-culturable indicator bacteria in anaerobically digested biosolids after centrifuge dewatering. *Water Res.*, 41(3): 665–673.

Hussain, Q. (2019). Chapter 10: Bacteria – the natural indicator of environmental pollution. In: *Freshwater Microbiology Perspectives of Bacterial Dynamics in Lake Ecosystems*, Bandh, S.A., Shafi, S. and Shameem, N. (eds.), Academic Press.

ISO. (2021a). ISO ICS 07.100.20 – Microbiologie de l'eau. Organisation internationale de normalisation. Genève, Suisse. Consulté à l'adresse www.iso.org

ISO. (2021b). ISO ICS 13.060.45 – Essais des eaux en général. Organisation internationale de normalisation. Genève, Suisse. Consulté à l'adresse www.iso.org

Kinzelman, J.L., Bushon, R.N., Dorevitch, S. et Noble, R.T. (2011). Comparative evaluation of molecular and culture methods for fecal indicator bacteria for use in inland recreational waters. Report #1569. Water Research Foundation, Denver, CO.

Kinzelman, J., Byappanahalli, M.N., Nevers, M.B., Shively, D., Kurdas, S. et Nakatsu, C. (2020). Utilization of multiple microbial tools to evaluate efficacy of restoration strategies to improve recreational water quality at a Lake Michigan beach (Racine, WI). *J. Microbiol. Methods*, 178.

Kinzelman, J.L., Dufour, A.P., Wymer, L.J., Rees, G., Pond, K.R. et Bagley, R.C. (2006). Comparison of multiple point and composite sampling for monitoring bathing water quality. *Lake Reserv. Manage.*, 22(2): 95–102.

Kinzelman, J.L., Field, K.G., Green, H.C., Harwood, V.J. et McPhail, C. (2012). Chapter 9: Indicators, sanitary surveys and source attribution techniques. In: *Animal Waste, Water Quality and Human Health*. Dufour, A.P., Bartram, J., Bos, R., and Gannon, V. IWA, London, U.K. and World Health Organization. Geneva, Switzerland.

Kinzelman, J., Ng, C., Jackson, E., Gradus, S. et Bagley, R. (2003). Enterococci as indicators of Lake Michigan recreational water quality: Comparison of two methodologies and their impacts on public health regulatory events. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(1): 92–96.

Kinzelman, J.L., Pond, K.R., Longmaid, K.D. et Bagley, R.C. (2004). The effect of two mechanical beach grooming strategies on *Escherichia coli* density in beach sand at a southwestern Lake Michigan beach. *Aquatic Ecosyst. Health Manage.*, 7(3): 425–432.

Köster, W., Egli, T., Ashbolt, N., Botzenhart, K., Burlion, N., Endo, T., Grumont, P., Guillot, E., Mabilat, C., Newport, L., Niemi, M., Payment, P., Prescott, A., Renaud, P. et Rust, A. (2003). Chapter 8: Analytical methods for microbiological water quality testing. In: *Assessing Microbial Safety of Drinking Water – Improving approaches and methods*. World Health Organization and Organisation for Economic Co-operation and Development. IWA Publishing, London, U.K.. pp. 237–282.

Lane, M.J., Rediske, R.R., McNair, J.N., Briggs, S., Rhodes, G., Dreelin, E., Sivy, T., Flood, M., Scull, B., Szlag, D., Southwell, B., Isaacs, N.M. et Pike, S. (2020). A comparison of *E. coli* concentration estimates quantified by the EPA and a Michigan laboratory network using EPA draft method C. *J. Microbiol. Methods*, 179.

Lavender, J.S. et Kinzelman, J.L. (2009). A cross comparison of QPCR to agar-based or defined substrate test methods for the determination of *Escherichia coli* and enterococci in municipal water quality monitoring programs. *Water Res.*, 43(19): 4967–4979.

- Maheux, A.F., Bouchard, S., Bérubé, E. et Bergeron, M.G. (2017). Rapid molecular identification of fecal origin-colonies growing on *Enterococcus* spp.-specific culture methods. *J. Water Health*, 15(2): 239–250.
- Marion, J.W., Lee, J., Lemeshow, S. et Buckley, T.J. (2010). Association of gastrointestinal illness and recreational water exposure at an inland U.S. beach. *Water Res.*, 44(16): 4796–4804.
- McKee, A., Molina, M., Cyterski, M. et Couch, A. (2020). Microbial source tracking (MST) in Chattahoochee River National Recreation Area: Seasonal and precipitation trends in MST marker concentrations, and associations with *E. coli* levels, pathogenic marker presence, and land use. *Wat. Research*, 171(2020):115435.
- Mocé-Llivina, L., Lucena, F. et Jofre, J. (2005). Enteroviruses and bacteriophages in bathing waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(11): 6838–6844.
- Nappier, S.P., Ichida, A., Jaglo, K., Haugland, R. et Jones, K.R. (2019). Advancements in mitigating interference in quantitative polymerase chain reaction (qPCR) for microbial water quality monitoring. *Sci. Total Environ.*, 671: 732–740.
- Nevers, M.B., Byappanahalli, M.N., Edge, T.A. et Whitman, R.L. (2014). Beach science in the Great Lakes. *J. Great Lakes Res.*, 40(1): 1–14.
- Nevers, M.B., Byappanahalli, M.N. et Whitman, R.L. (2013). Choices in recreational water quality monitoring: New opportunities and health risk trade-offs. *Environ. Sci. Technol.*, 47(7): 3073–3081.
- Nevers, M.B. et Whitman, R.L. (2010). Policies and practices of beach monitoring in the Great Lakes, USA: A critical review. *J. Environ. Monit.*, 12(3): 581–590.
- Nijak, G.M., Geary, J.R., Larson, S.L. et Talley, J.W. (2012). Autonomous, wireless in-situ sensor (AWISS) for rapid warning of *Escherichia coli* outbreaks in recreational and source waters. *Environ. Eng. Sci.*, 29(1): 64–69.
- OMS (2000a). Chapter 8: Sanitary inspection and microbiological water quality. In: *Monitoring Bathing Waters*. Bartram, J. and Rees, G. (eds.) World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- OMS (2000b). Chapter 9: Approaches to microbiological monitoring. In: *Monitoring Bathing Waters*. Bartram, J. and Rees, G. (eds.) World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- OMS (2021). Chapter 7: Beach sand. In: *Guidelines on Recreational Water Quality. Volume 1, Coastal and Fresh Waters*. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- Payment, P., Waite, M. et Dufour, A. (2003). Chapter 2: Introducing parameters for the assessment of drinking water quality. In: *Assessing Microbial Safety of Drinking Water – Improving approaches and methods*. World Health Organization and Organisation for Economic Co-operation and Development. IWA Publishing, London, U.K. pp. 47–77.
- Pope M.L., Bussen M., Feige M.A., Shadix, L., Gonder, S., Rodgers, C., Chambers, Y., Pulz, J., Miller, K., Connell, K. et Standridge, J. (2003). Assessment of the effects of holding time and temperature on *Escherichia coli* densities in surface water samples. *Appl Environ Microbiol.*, 69(10): 6201–6207.
- Raith, M.R., Ebentier, D.L., Cao, Y., Griffith, J.F. et Weisberg, S.B. (2014). Factors affecting the relationship between quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and culture-based enumeration of *Enterococcus* in environmental waters. *J. Appl. Microbiol.*, 116(3): 737–746.
- Reicherts, J.D. et Emerson, C.W. (2010). Monitoring bathing beach water quality using composite sampling. *Environ. Monit. Assess.*, 168: 33–43.
- Robertson, W., Stanfield, G., Howard, G. et Bartram, J. (2003). Chapter 6: Monitoring the quality of drinking water during storage and distribution. *Assessing Microbial Safety of Drinking Water – Improving approaches and*

methods. World Health Organization and Organisation for Economic Co-operation and Development. IWA Publishing, London, U.K. pp. 179–204.

Saleem, F., Edge, T.A. et Schellhorn, H.E. (2022). Validation of qPCR method for enterococci quantification at Toronto beaches: Application for rapid recreational water monitoring. *J. Great Lakes Res.*, 48(3): 707–716.

Santé Canada (2017). Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : les toxines cyanobactériennes. Document préparé par le Comité fédéral-provincial-territorial sur l'eau potable du Comité fédéral-provincial-territorial sur la santé et l'environnement, Ottawa (Ont.).

Santé Canada (2022). Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada – Les cyanobactéries et leurs toxines. Bureau de la qualité de l'eau et de l'air, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ont.).

Santé Canada (en cours de publication-a). Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada : Agents pathogènes microbiologiques et dangers biologiques. Bureau de la qualité de l'eau et de l'air, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ont.).

Santé Canada (en cours de publication-b). Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada : Comprendre et gérer les risques dans les eaux récréatives. Bureau de la qualité de l'eau et de l'air, Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ont.).

Schang, C., Henry, R., Kolotelo, P.A., Prosser, T., Crosbie, N., Grant, T., Cottam, D., O'Brien, P., Coutts, S., Deletic, A. et McCarthy, D.T. (2016). Evaluation of techniques for measuring microbial hazards in bathing waters: A comparative study. *PLoS ONE*, 11(5).

Schoen, M.E., Soller, J.A. et Ashbolt, N.J. (2011). Evaluating the importance of faecal sources in human-impacted waters. *Water Res.*, 45(8): 2670–2680.

Sercu, B., Van De Werfhorst, L. C., Murray, J.L.S. et Holden, P.A. (2011). Cultivation-independent analysis of bacteria in IDEXX quanti-tray/2000 fecal indicator assays. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(2): 627–633.

Shanks, O. et Mattioli, M. (2018). Use of microbial source tracking tools in waterborne disease outbreak response. SSWR Webinar, Cincinnati, OH, June 27, 2018.

Shanks, O.C., Sivaganesan, M., Peed, L., Kelty, C.A., Blackwood, A.D., Greene, M.R., Noble, R.T., Bushon, R.N., Stelzer, E.A., Kinzelman, J., Anan'Eva, T., Sinigalliano, C., Wanless, D., Griffith, J., Cao, Y., Weisberg, S., Harwood, V.J., Staley, C., Oshima, K.H., Varma, M. et Haugland, R.A. (2012). Interlaboratory comparison of real-time PCR protocols for quantification of general fecal indicator bacteria. *Environ. Sci. Technol.*, 46(2): 945–953.

Sheth, N., McDermott, C., Busse, K. et Kleinheinz, G. (2016). Evaluation of *Enterococcus* concentrations at beaches in Door County, WI (Lake Michigan, USA) by qPCR and defined substrate culture analysis. *J. Great Lakes Res.*, 42(4): 768–774.

Shrestha, A. et Dorevitch, S. (2019). Evaluation of rapid qPCR method for quantification of *E. coli* at non-point source impacted Lake Michigan beaches. *Water Res.*, 156: 395–403.

Shrestha, A. et Dorevitch, S. (2020). Slow adoption of rapid testing: Beach monitoring and notification using qPCR. *J. Microbiol. Methods*, 174.

Sivaganesan, M., Aw, T.G., Briggs, S., Dreelin, E., Aslan, A., Dorevitch, S., Shrestha, A., Isaacs, N., Kinzelman, J., Kleinheinz, G., Noble, R., Rediske, R., Scull, B., Rosenberg, S., Weberman, B., Sivy, T., Southwell, B., Siefring, S., Oshima, K. et Haugland, R. (2019). Standardized data quality acceptance criteria for a rapid *Escherichia coli* qPCR method (draft method C) for water quality monitoring at recreational beaches. *Water Res.*, 156: 456–464.

Stachler, E., Akyon, B., De Carvalho, N.A., Ference, C. et Bibby, K. (2018). Correlation of crAssphage qPCR markers with culturable and molecular indicators of human fecal pollution in an impacted urban watershed. *Environmental Science and Technology*, 52(13): 7505–7512.

Stoeckel, D.M. (2005). Selection and application of microbial source tracking tools for water-quality investigations. United States Geological Survey, United States Department of the Interior. 43 pp. Techniques and Methods 2-A3. Accessible à l'adresse http://pubs.usgs.gov/tm/2005/tm2a3/pdf/Book2_Collection%20of%20Environmental%20Data.pdf

Thapa, S., Stoodley, S., Farnsworth-Hobeck, K. et Dzialowski, A. (2020). Review on effects of holding time exceedances on ambient water quality. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 100:102–111.

The dMIQE Group (2020). The Digital MIQE Guidelines Update: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments for 2020. *Clin. Chem.* 66(8): 1012–1029.

Tiwari, A., Ahmed, W., Oikarinen, S., Sherchan, S.P., Heikinheimo, A., Jiang, G., Simpson, S.L., Greaves, J. et Bivins, A. (2022). Application of digital PCR for public health-related water quality monitoring. *Sci. Total Environ.*, 837.

U.S. EPA (1986). Ambient water quality criteria for bacteria—1986. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, January (EPA 440/5-84-02).

U.S. EPA (1996). ICR microbial laboratory manual. Office of Research and Development, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC (Report No. EPA/600/R-95/178).

U.S. EPA (1997) Chapter 5: Water quality conditions. In: Volunteer stream monitoring – a methods manual. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. EPA 841-B-97-003. Consulté en avril 2022 à l'adresse <https://archive.epa.gov/water/archive/web/html/vms50.html>

U.S. EPA (2001a). Manual of methods for virology. Office of Research and Development, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC (Report No. EPA/600/4-84/013).

U.S. EPA (2001b). Method 1602: Male-specific (F+) and somatic coliphage in water by single agar layer (SAL) procedure. Office of Water, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA 821-R-01-029).

U.S. EPA (2005a). Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA. Office of Water, Office of Science and Technology, Engineering and Analysis Division, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA 821-R-01-025).

U.S. EPA (2005b). Microbial source tracking guide. Office of Research and Development, United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH. 133 pp. (EPA/600-R-05-064).

U.S. EPA. (2005c). The EMPIACT beaches project. Results from a study on microbiological monitoring in recreational waters. United States Environmental Protection Agency. Office of Research and Development. Cincinnati, OH.

U.S. EPA (2006). National Primary Drinking Water Regulations: Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment; final rule. *Fed. Regist.*, 71(3):678–671; 782–783.

U.S. EPA (2008). Great Lakes beach sanitary survey user manual. Office of Water, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC. 81 pp. (EPA/823-B06-001).

U.S. EPA (2010). Sampling and consideration of variability (temporal and spatial) for monitoring of recreational waters. EPA-823-R-10-005. United States Environmental Protection Agency. Office of Water. December 2010.

Consulté en août 2021 à l'adresse <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-11/documents/sampling-consideration-recreational-waters.pdf>

U.S. EPA (2012a). Method 1615.1: Measurement of enterovirus and norovirus occurrence in water by culture and RT-qPCR. Office of Research and Development, National Exposure Research Laboratory, United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH (Report No. EPA 600/R-10/181).

U.S. EPA (2012b). Method 1623.1: *Cryptosporidium* and *Giardia* in water by filtration/IMS/FA. Office of Water, Office of Science and Technology, Engineering and Analysis Division, United States Environmental Protection Agency, Washington, DC (EPA 821-R-01-025).

U.S. EPA (2012c). Recreational water quality criteria. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, 820-F-12-058.

U.S. EPA (2013). Acceptability of the EPA qPCR Test at Your Beach. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-820-R-13-012.

U.S. EPA (2015a). Method 1609.1: Enterococci in water by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) with internal amplification control (IAC) assay. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-820-R-15-099.

U.S. EPA (2015b). Method 1611.1: Enterococci in water by TaqMan® quantitative polymerase chain reaction (qPCR). United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-820-R-15-008.

U.S. EPA (2016). Six key steps for developing and using predictive tools at your beach. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-820-R-16-001.

U.S. EPA (2018). Method 1642: Male-specific (F+) and somatic coliphage in recreational waters and wastewater by ultrafiltration (UF) and single agar layer (SAL) procedure. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-820-R-18-001.

U.S. EPA (2019a). Method 1696: Characterization of human fecal pollution in water by HF183/BacR287 TaqMan® quantitative polymerase chain reaction (qPCR) assay. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-821-R-19-002.

U.S. EPA (2019b). Method 1697: Characterization of human fecal pollution in water by HumM2 TaqMan® quantitative polymerase chain reaction (qPCR) assay. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. EPA-821-R-19-003.

U.S. EPA. (2019c). Other Clean Water Act test methods: Microbiological. United States Environmental Protection Agency. Office of Water, Washington, DC. Consulté en novembre 2021 à l'adresse <https://www.epa.gov/cwa-methods/other-clean-water-act-test-methods-microbiological>

U.S. EPA. (2021). Code of Federal Regulations 40 CFR 136. Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants. Consulté le 18 août 2021 à l'adresse <https://www.ecfr.gov/>

U.S. EPA. (2022). Environmental modeling community of practice: Virtual Beach (VB). United States Environmental Protection Agency. Center for Exposure Assessment Modeling (CEAM). Athens, GA. Consulté le 8 septembre 2022 à l'adresse <https://www.epa.gov/ceam/virtual-beach-vb>

Viau, E. et Peccia, J. (2009). Evaluation of the enterococci indicator in biosolids using culture-based and quantitative PCR assays. *Water Res.*, 43(19): 4878–4887.

Vogel, L.J., Edge, T.A., O'Carroll, D.M., Solo-Gabriele, H.M., Kushnir, C.S.E. et Robinson, C.E. (2017). Evaluation of methods to sample fecal indicator bacteria in foreshore sand and pore water at freshwater beaches. *Water Res.*, 121: 204–212.

Wade, T.J., Arnold, B.F., Schiff, K., Colford, J.M., Jr., Weisberg, S.B., Griffith, J.F. et Dufour, A.P. (2022). Health risks to children from exposure to fecally-contaminated recreational water. *PLoS ONE*, 17(4 April).

Wade, T.J., Calderon, R.L., Brenner, K.P., Sams, E., Beach, M., Haugland, R., Wymer, L. et Dufour, A.P. (2008). High sensitivity of children to swimming-associated gastrointestinal illness: Results using a rapid assay of recreational water quality. *Epidemiology*, 19(3): 375–383.

Wade, T.J., Calderon, R.L., Sams, E., Beach, M., Brenner, K.P., Williams, A.H. et Dufour, A.P. (2006). Rapidly measured indicators of recreational water quality are predictive of swimming-associated gastrointestinal illness. *Environ. Health Perspect.*, 114(1): 24–28.

Wade, T.J., Sams, E., Brenner, K.P., Haugland, R., Chern, E., Beach, M., Wymer, L., Rankin, C.C., Love, D., Li, Q., Noble, R. et Dufour, A.P. (2010). Rapidly measured indicators of recreational water quality and swimming-associated illness at marine beaches: A prospective cohort study. *Environ. Health Global Access Sci. Sour.*, 9(1).

Wang, D., Yamahara, K.M., Cao, Y. et Boehm, A.B. (2016). Absolute quantification of enterococcal 23S rRNA gene using digital PCR. *Environ. Sci. Technol.*, 50(7): 3399–3408.

Water Quality Research Australia (2009). Chapter 3. Development and implementation of a monitoring program. In: International Guidance Manual for the Management of Toxic Cyanobacteria. Newcombe, G (ed.). Global Water Research Coalition, London, U.K. pp. 18–37.

Welker, M. et Raymond, H. (2021). Chapter 12. Fieldwork: Site inspection and sampling. In: Toxic Cyanobacteria in Water (2nd ed.). Chorus, I. and Welker, M. (eds.). World Health Organization. Geneva, Switzerland. pp. 669–688.

Whitman, R.L. et Nevers, M.B. (2003). Foreshore sand as a source of *Escherichia coli* in nearshore water of a Lake Michigan beach. *Appl Environ Microbiol.*, 69(9): 5555–5562.

Whitman, R. L., Nevers, M. B. et Gerovac, P.J. (1999). Interaction of ambient conditions and fecal coliform bacteria in southern Lake Michigan waters: Monitoring program implications. *Nat. Areas J.* 19:166–171.

Wiedenmann, A., Krüger, P., Dietz, K., López-Pila, J.M., Szewzyk, R. et Botzenhart, K. (2006). A randomized controlled trial assessing infectious disease risks from bathing in fresh recreational waters in relation to the concentration of *Escherichia coli*, intestinal enterococci, *Clostridium perfringens*, and somatic coliphages. *Environ. Health Perspect.* 114(2): 228–236.

Wollum, A.G. (2018). Soil sampling for microbiological analysis. In: Methods of soil analysis, part 2: Microbiological and biochemical properties. Soil sampling for microbiological analysis. pp. 1–14.

Zhang, Y., Hong, P-Y., LeChevallier, M.W. et Liu, W.-T. (2015). Phenotypic and phylogenetic identification of coliform bacteria obtained using 12 coliform methods approved by the US Environmental Protection Agency. *Appl. Environ. Microbiol.*, 81(17): 6012–6023.

Zimmerman, A.M., Rebarchik, D.M., Flowers, A.R., Williams, J.L. et Grimes, D.J. (2009). *Escherichia coli* detection using mTEC agar and fluorescent antibody direct viable counting on coastal recreational water samples. *Lett. Appl. Microbiol.*, 49(4): 478–483.

Annexe A : Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
APHA	American Public Health Association
ARNr	acide ribonucléique ribosomique
BAV	beach action value (valeur des mesures requises à la plage)
dPCR	réaction en chaîne de la polymérase numérique
DSPF	dépistage des sources de pollution fécale
DSPM	dépistage des sources de pollution microbienne
DST	defined substrate technology (technologie à substrat défini)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMPACT	Environmental Monitoring for Public Access and Community Tracking
FM	filtration sur membrane
FTM	fermentation en tubes multiples
NPP	nombre le plus probable
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PCR	réaction en chaîne de la polymérase
qPCR	réaction en chaîne de la polymérase quantitative
SM	standard method (méthode normalisée) (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater)
U.S. EPA	Environmental Protection Agency des États-Unis