

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

UTILISATION DES SPORES DE BACTÉRIES SPORULANTES AÉROBIES
COMME INDICATEUR D'INTRUSION EN RÉSEAU
DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE

CLÉMENT CARTIER
DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)
AVRIL 2006



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 978-0-494-17933-8

Our file Notre référence

ISBN: 978-0-494-17933-8

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

UTILISATION DES SPORES DE BACTÉRIES SPORULANTES AÉROBIES
COMME INDICATEUR D'INTRUSION EN RÉSEAU
DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE

présenté par : CARTIER Clément

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. DESJARDINS Raymond, M.Ing., président

Mme PRÉVOST Michèle, Ph.D., directrice de recherche

M. PAYMENT Pierre, Ph.D., membre

Remerciements

En premier lieu, j'aimerais adresser des remerciements particuliers à ma directrice de recherche, Mme Michèle Prévost, titulaire de la Chaire CRSNG-Industrielle en Eau Potable. Elle a toujours trouvé le moyen de me motiver en mettant l'accent sur l'aspect positif dans mes travaux. Parfois, la tâche pouvait être complexe. Elle m'a également empêché de perdre du temps sur des points moins importants et a su me diriger vers une approche originale tout en conservant mes initiatives. Je tiens également à remercier M. Raymond Desjardins, professeur au département de Génie Civil et Pierre Payment, professeur à l'Institut Armand-Frappier, d'avoir accepté de juger ce mémoire. C'est grâce à M. Desjardins que j'ai commencé à travailler dans le domaine de l'eau potable et je lui en suis extrêmement reconnaissant.

L'appui que j'ai eu de l'ensemble de l'équipe de recherche a été essentiel pour la réussite de mon projet. En ce sens, je tiens à remercier Mme Marie-Claude Besner qui a été pour moi un exemple d'organisation et de minutie, qualités qui me faisaient défaut. Les deux années à travailler ensemble m'ont permis, jusqu'à un certain point, d'améliorer ces faiblesses. Mes remerciements vont également à M. Benoit Barbeau, qui m'a apporté beaucoup tout au long de mon cheminement. Entre autre, il a su m'insuffler l'énergie nécessaire pour mener à bien mon Projet de Fin d'Étude. Je ne peux passer sous silence toute l'aide qui m'a été donnée par le personnel de laboratoire : Mme Jacinthe Mailly, Mme Julie Philibert, et surtout M. Yves Fontaine et Mme Mélanie Rivard. Mélanie m'a été d'une aide inestimable pour valider certains résultats, cela fut énormément apprécié.

Je tiens enfin à remercier tout le personnel de Ville de Laval pour l'appui donné à ce projet. Des remerciements plus particuliers vont à M. Jean-François Therrien. Il a toujours su me donner de son précieux temps même dans les périodes les plus chargées.

Résumé

L'objectif principal de cette étude est d'utiliser les spores de bactéries sporulantes aérobies (BSA) comme indicateur d'intrusion de sol dans un réseau de distribution d'eau potable lors de réparations de conduites. Les spores de BSA sont des organismes couramment utilisés pour mesurer les performances de traitement en usine. Elles ont également été proposées comme indicateur d'une intrusion de sol en réseau de distribution.

La méthode de mesures des spores de BSA par filtration membranaire n'est pas adaptée à l'eau distribuée. Certaines problématiques ont été décelées : 1) la faible concentration de spores de BSA retrouvée dans la phase aqueuse combinée à la présence de turbidité entraînant la formation d'un gâteau sur le filtre; 2) la présence d'agrégats de spores de BSA ou de particules colonisées entraînées par les différents traitements effectués en usine ou comme méthode de résistance à un environnement impropre à la prolifération. Il a été démontré que la filtration d'un volume d'eau supérieur à 5 L pouvait diminuer de manière significative la récupération des spores de BSA. Plusieurs paramètres ont été étudiés et les résultats suggèrent que la présence de MES sur le gâteau formé sur le filtre lors de la filtration est celui ayant le plus grand impact sur la baisse de récupération de spores de BSA observées. Cet impact est plus important pour les spores qui sont situées à la surface du gâteau ou sous celui-ci comparativement à des spores uniformément distribuées dans le gâteau. Le volume maximal d'eau filtrée (mL) est donc fixé en fonction de la turbidité (UTN) à une valeur de $V = 500/\text{turbidité}$. L'accumulation de cuivre sur le gâteau pourrait également entraîner une baisse de la récupération. L'aggrégation est un autre facteur causant une baisse de la récupération des spores de BSA. L'utilisation d'un agent dispersant, le Tween® 80 à une concentration de 0,1% permet d'augmenter de manière significative le nombre de spores de BSA récupérées (jusqu'à $>1000 \times$). Le traitement de mélange optimal à combiner avec l'agent dispersant est une simple triple

inversion. Cet effet n'a pas été visible pour la mesure des spores de BSA dans des suspensions de sol.

Pour mesurer une intrusion éventuelle de sol, l'utilisation d'agent dispersant est rejetée car elle n'améliore pas la récupération des spores de BSA présents dans le sol (selon les tests effectués). Les concentrations de spores de BSA ont été mesurées pendant 1 an à trois sites d'un réseau de distribution (usine et 2 points en bout de réseau). La concentration de spores de BSA n'est pas significativement différente aux trois sites et elle est en moyenne de 0,13 UFC/100 mL (entre 0,05 et 1,3 UFC/100 mL). Les spores de BSA en réseau de distribution ne sont donc pas affectées par la présence d'un résiduel de désinfectant comme le chlore. Pour les échantillons de 2 L, le dénombrement des spores de BSA en réseau peut être représentée par une loi géométrique et la probabilité d'obtenir 10 UFC/100 mL ou plus est très faible ($< 10^{-9}$). La concentration de spores de BSA dans l'eau de rinçage de conduite de routine est plus importante (7 UFC/100 mL en moyenne). Cette augmentation suggère une colonisation des particules présentes dans les réseaux de distributions par les spores de BSA ou une agrégation dans le biofilm. Des concentrations plus significativement plus importantes ont été mesurées dans des échantillons d'eau prélevés lors de vidange de réparation de conduites (Mann-Whitney U-test; 2 X: $p < 0,05$; 2 X: $p < 0,10$). L'hypothèse la plus plausible est que ces échantillons contenaient une fraction de suspension de sol ayant une forte concentration de spores de BSA.

Il est démontré d'un point de vue hydraulique que les échantillons posant un risque de contamination par intrusion pouvaient être contaminés par de l'eau provenant de la zone de réparation. L'étude suggère également que trois des quatre rinçages effectués suivaient les critères permettant un rinçage efficace. Le quatrième rinçage provenant d'un autre réseau de distribution n'a respecté aucun critère (durée, vitesse développée, nombre de conduites rincées et séquence d'ouverture des vannes).

Ces différents constats suggèrent qu'il est possible d'utiliser les spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol dans un réseau de distribution d'eau potable. Un tel indicateur de gestion permettrait de définir certaines pratiques à proscrire lors de travaux sur des réseaux de distribution d'eau potable. Par contre, un suivi de la concentration en spores de BSA doit être fait pour chaque réseau de distribution étudié pour s'assurer que les concentrations de spores à l'eau traitées soient suffisamment faibles pour permettre l'utilisation de cet indicateur.

Abstract

The main objective of this study is to use spores of aerobic spore-forming bacteria (ASFB) as an indicator of soil intrusion in water distribution systems during water pipe repairs. ASFB spores are organisms that are widely used for the validation of water treatments. Their utilisation is also proposed to indicate soil intrusion in distribution systems.

The measurement method by membrane filtration is not adapted to distributed water. Two factors may influence the spore recovery: 1) the low concentration of ASFB spores combine with the presence of turbidity causing the formation of a cake on the filter during the measurement and the aggregation of spores coming from water treatments and resistance mechanisms to chlorine in distribution system. It was demonstrated that the filtration of water volumes greater than 5 L significantly decrease the ASFB spores recuperation. A number of parameters were studied and the results suggest that the SS resulting in the presence of a filtration cake is the most meaningful parameter. This impact is more important for the spores situated on the filtration cake or under it. The maximum volume of filtered water (V) is determined by turbidity (NTU) at a value of $V=500/\text{turbidity}$. The presence of copper in the filtration cake may also lower the recuperation. Another factor affecting spore recuperation is aggregation. The use of dispersing agent, Tween® 80, at a concentration of 0,1%, could significantly increase the number of recuperated spores (up to $> 1000 \times$). The optimum mixing treatment combined with the dispersing agent is a manual inversion, done three times. The dispersion methods studied had no effect on the recuperation of spores from one soil.

For the detection of possible intrusion, the use of a dispersing agent is rejected because it lowers the capacity of detect soil intrusion. The ASFB spores were measured annually at 3 sites of a water distribution system (water treatment plant and 2 points at the network end). The concentration of ASFB spores is not significantly

different at the three sites, with a mean of 0,13 UFC/100 mL (between 0,05 and 1,3 CFU/100 mL). The ASFB spores present in the distribution system are not affected by the presence of a residual disinfectant (chlorine). For the 2 litres samples, the enumeration of ASFB spores could be represented by a geometric distribution with a probability to have more than 10 CFU /100 mL of $<10^{-9}$. The BSA spore concentration in flushing water is more important (mean of 7 CFU/100 mL). This increase suggests a colonization of particles or an aggregation in the biofilm by the BSA spores in the distribution system. Concentrations significantly more important are measured in water samples taken during flushings done after pipe repairs (Mann-Whitney U-test; 2 X: $p<0,05$; 2 X: $p<0,10$). The most probable hypothesis is that these samples contain ASFB spores coming from a fraction of soil suspension.

It was established by hydraulic analysis that the water samples with significantly higher concentration of ASFB spores could come from the repair zone. The study also suggests that three out of the four flushings done after repair were done following good practice. The fourth flushing, done on another distribution system, didn't respect the established criteria (duration, velocity, number of valves open and sequence of opening).

These findings suggest that it is possible to use ASFB spores for indicator of soil intrusion in water distribution systems. An indicator of soil presence in water is a good management tool for routine distribution system operations. For example, this indicator could be used to validate some bad practices done during pipe repairs. But, monitoring of the concentration of ASFB spores must be done previously to ensure that their concentration in treated water is low enough to detect the intrusion of soil.

Table des matières

REMERCIEMENTS	iv
RÉSUMÉ	v
ABSTRACT	viii
TABLE DES MATIÈRES.....	x
LISTE DES TABLEAUX.....	xiv
LISTE DES FIGURES	xv
Chapitre 1: INTRODUCTION	1
Chapitre 2: REVUE DE LITTÉRATURE	3
2.1 Critères de potabilité de l'eau dans les réseaux de distribution	3
2.2 Évidence de contamination directe des réseaux de distribution.....	6
2.3 Possibilité d'intrusion dans les réseaux de distribution	7
2.3.1 La présence des microorganismes pathogènes à proximité des conduites	8
2.3.2 La fréquence et la cause des événements de pression relative négative....	9
2.3.3 Les preuves de l'intrusion lors des pressions transitoires.....	11
2.3.4 L'intrusion lors des réparations de conduites	12
2.4 Indicateurs de contamination utilisés	13
2.5 Objectifs de recherche.....	14
Chapitre 3: OPTIMIZATION OF THE DETECTION OF SPORES OF AEROBIC SPORE-FORMING BACTERIA IN ENVIRONMENTAL CONDITIONS (SCIENTIFIC PAPER)	17
3.1 Abstract	19
3.2 Introduction	19
3.2.1 Interference caused by competing microorganisms	21
3.2.2 The impact of the accumulation of particles on the filter.....	21
3.2.3 Aggregation in response to adverse environmental conditions.....	22
3.3 <i>Objectives</i>	24

3.4.1	Influence of suspended solids and metals on the recovery of <i>B. subtilis</i>	24
3.4.2	Influence of aggregation on the recovery of ASFB spores	26
3.5	Results	28
3.5.1	Influence of water quality on <i>B. subtilis</i> spore recovery	28
3.5.2	Influence of the mode of homogenization and the surfactant concentration on the recovery of ASFB spores	29
3.6	Discussion	31
3.6.1	Presence of a diffusion barrier and interference caused by metals	31
3.6.2	Aggregation or colonization phenomenon requiring dispersion	33
3.7	Conclusion	34
3.8	Acknowledgments	34
3.9	References	35
3.10	Tables and figures	40
Chapitre 4: ÉVALUATION DES SPORES DE BACTÉRIES SPORULANTES AÉROBIES COMME INDICATEUR D'INTRUSION DANS UN RÉSEAU DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE		46
4.1	Résumé	48
4.2	Introduction	50
4.2.1	Impact du réseau de distribution sur la santé	50
4.2.2	Choix d'un indicateur de contamination	51
4.2.3	Les spores de BSA comme indicateur d'intrusion dans les réseaux	52
4.3	Matériel et méthodes	55
4.4	Résultats	59
4.4.1	Mesure dans l'eau du réseau de distribution	59
4.4.2	Mesures des spores de BSA dans les eaux de rinçage de routine en absence de réparation	62
4.4.3	Mesure des spores de BSA dans les eaux de rinçages pendant les réparations	63
4.5	Discussion	66
4.5.1	Concentrations de spores de BSA dans l'eau distribuée	66

4.5.2	Concentrations de spores de BSA dans les eaux de rinçage en absence de réparation.....	68
4.5.3	Les concentrations en spores de BSA des échantillons prélevés pendant les rinçages suite à des réparations de conduites.....	70
4.6	Conclusion.....	71
4.7	Remerciements	72

Chapitre 5: ÉTUDE DES PARAMÈTRES DE RINÇAGES LORS DE RÉPARATIONS DE CONDUITES	80
5.1 Introduction	81
5.1.1 Mise en contexte	81
5.1.2 Procédure standard de remise en service	82
5.1.3 Critères d'une vidange efficace	83
5.1.4 Objectifs.....	84
5.2 Matériel et méthode.....	85
5.2.1 Modélisation : Estimation des mélanges et des temps de séjour dans le tronçon isolé.....	85
5.2.1.1 Estimation du volume d'intrusion	85
5.2.1.2 Modélisation du mélange	86
5.2.2 Mélange pendant l'écoulement de l'eau dans la conduite	90
5.2.3 Validation de la mise en suspension des spores	93
5.2.4 Étude de cas terrain.....	94
5.3 Résultats	96
5.3.1 Utilisation du modèle hydraulique de mélange pour l'analyse des concentrations de spores	98
5.3.2 Utilisation du modèle de mélange pour l'analyse des durées des rinçages étudiés	103
5.4 Discussion	106
5.4.1 Utilisation du modèle hydraulique pour valider l'intrusion de spores ..	106
5.4.2 Utilisation du modèle hydraulique pour valider les durées des vidanges étudiées	108

5.5 Conclusion.....	110
Chapitre 6: DISCUSSION GÉNÉRALE	111
6.1 Amélioration de la détection des spores de bactéries aérobies dans les réseaux de distribution	111
6.2 Évaluation des spores de bactéries sporulantes aérobies comme indicateur d'intrusion dans un réseau de distribution d'eau potable	115
6.3 Étude des paramètres de rinçages lors de réparations de conduites	119
6.4 Implications des résultats obtenus lors des trois études	121
Chapitre 7: CONCLUSION GÉNÉRALE ET RECOMMANDATION	125
BIBLIOGRAPHIE.....	127

Liste des tableaux

Tableau 2.1: Événements générateurs de pression transitoires (adapté de Gullick <i>et al.</i>).....	11
Tableau 4.1: Concentration en chlore aux sites d'échantillonnage pour la période étudiée (année 2005)	56
Tableau 4.2: Valeurs de BSA, SS et VSS dans les échantillons d'eau de rinçage de routine	62
Tableau 4.3: Probabilité que deux échantillons soient significativement différents	65
Tableau 5.1: Caractéristiques hydrauliques des mélanges selon la modélisation.....	98
Tableau 5.2: Concentrations de spores de BSA observées pendant les réparations	99
Tableau 5.3: Paramètres calculés pour une contamination prévue et observations effectuées pour la réparation 1	100
Tableau 5.4: Paramètres calculés pour une contamination prévue et observations effectuées pour la réparation 2	101
Tableau 5.5: Caractéristiques des vidanges effectuées pour une réparation.....	105

Liste des figures

Figure 3.1 Schematic representation of the three types of <i>B. subtilis</i> seeding.....	40
Figure 3.2 Recovery of <i>B. subtilis</i> spores as a function of the concentration of copper in the nutrient medium.....	42
Figure 3.3 Number of spores of ASFB in a soil suspension according to the type of homogenization and the concentration of Tween® 80 added.....	43
Figure 3.4 Number of spores of ASFB in the flushing water according to the type of homogenization and the concentration of Tween® 80 added.....	44
Figure 4.1: Concentration en spores de BSA dans l'eau en sortie d'usine et à deux points sur le réseau de distribution (A et B).	60
Figure 4.2: Distribution des fréquences relatives du nombre de spores par échantillon pour l'ensemble des trois points d'échantillonnage.....	61
Figure 4.3: Dénombrement de spores pour différents échantillons	64
Figure 5.1: Résumé des trois cas de mélange	87
Figure 5.2: Représentation schématique des trois cas de mélange	88
Figure 5.3: Explication du principe de mélange et de convolution	92
Figure 5.4: Schémas des sections de réseaux d'étude des rinçages étudiés (pas à l'échelle)	97
Figure 5.5: Ratio des concentrations C/C_0 en fonction du temps de passage dans la conduite vidangée pour la réparation 1 et une conduite remplie à 95% soumise à un jet turbulent	101
Figure 5.6: Ratio des concentrations C/C_0 en fonction du temps de passage dans la conduite vidangée pour la réparation 2 et une conduite remplie à 50% soumise à un jet turbulent	102

Chapitre 1: Introduction

Depuis les années 90, le domaine de l'eau potable privilégie une approche ciblant les traitements avancés pour un enlèvement accru de microorganismes augmentant globalement la qualité de l'eau traitée. La distribution, auparavant considérée comme un simple moyen de transport de l'eau, peut entraîner une détérioration de la qualité de l'eau au robinet. De plus, le vieillissement des infrastructures enfouies compromet leur intégrité, augmentant le risque de contamination durant la distribution. Le déficit en infrastructures d'eau potable atteint 11 milliards de dollars aux États-Unis et les investissements requis atteignent 151 milliards pour les 20 prochaines années (American Society of Civil Engineers (ASCE) 2005). Ces investissements massifs permettront une accélération des réparations et remplacements mais multiplieront les sites potentiels d'entrée de contaminants. Il est donc urgent de mieux comprendre la dynamique des réseaux et d'identifier les principales causes de contamination. Parmi les causes potentielles de contamination des réseaux de distributions, les opérations de routine et de maintenance sont des interventions pouvant poser un risque élevé de contamination de l'eau potable par Kirmeyer *et al.* (2001). Le but principal de ce projet est donc de détecter une intrusion dans un réseau de distribution d'eau potable pendant les réparations de conduites d'aqueduc en utilisant les spores de bactéries sporulantes aérobies (BSA) comme indicateur de gestion d'une intrusion de sol. Il sera possible par la suite, pour d'autres chercheurs d'émettre des recommandations sur les pratiques à proscrire et celles permettant de minimiser une telle contamination.

Le Chapitre 2 présente une revue de littérature des différentes études faites sur la problématique de la contamination des réseaux de distribution et de l'utilisation des spores de BSA dans le domaine de l'eau potable. Enfin, la démarche suivie et les objectifs de recherche sont présentés brièvement.

Différents essais ont été effectués afin d'optimiser la mesure des spores de BSA en réseau de distributions par filtration membranaire. L'impact du gâteau sur la récupération des spores de BSA ainsi que l'utilisation de méthode de dispersion sont étudiés afin d'augmenter la récupération des spores dans des échantillons d'eau et de suspension de sol. Les résultats de ces essais sont présentés au Chapitre 3.

À partir des résultats du Chapitre 3, une méthode de mesure des BSA est proposée pour maximiser la détection d'une intrusion de sol dans des échantillons d'eau de vidange. Par la suite, une comparaison est faite entre les concentrations de spores de BSA des échantillons d'eau distribuée, d'eau de vidange de routine et d'eau de vidange provenant de réparations de conduites. Cette comparaison sert à déterminer si la concentration en spores de BSA dans l'eau distribuée est significativement moins importante que celle qui serait retrouvée dans le cas d'une intrusion de sol.

Ensuite, un modèle a été développé afin d'estimer le type de mélange se produisant dans une conduite vidangée suite à une réparation de conduite. Cette démarche est présentée au Chapitre 5. Ce modèle est utilisé par la suite pour deux objectifs : i) valider si les événements de fortes concentrations en spores de BSA qui ont été retrouvées peuvent correspondre, d'un point de vue hydraulique, avec une éventuelle intrusion et ii) examiner si les vidanges faites suite aux réparations de conduites étudiées permettent l'extraction de la totalité d'une contamination éventuelle.

Enfin, une discussion portant sur l'ensemble des résultats est présentée au chapitre 6. La mise en commun des résultats permet d'obtenir une évaluation de l'utilisation des spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol pendant les réparations de conduites. Cette discussion est suivie d'une brève conclusion au chapitre 7.

Chapitre 2: Revue de littérature

2.1 Critères de potabilité de l'eau dans les réseaux de distribution

Afin de juger de la potabilité d'une eau de consommation, différentes mesures sont faites sur l'eau traitée. Les coliformes totaux, fécaux et *Escherichia coli* ont été choisies comme indicateur par les autorités gouvernementales (United States Environmental Protection Agency (USEPA) 1990, Gouvernement du Québec 2005). À la sortie de l'usine de traitements, l'eau doit être exempte de ces trois organismes. Dans le réseau de distribution, les règlements exigent l'absence de *E. coli*, de coliformes totaux et permettent un maximum de 5% des échantillons positifs pour les coliformes totaux par mois.

Certaines circonstances peuvent expliquer la présence de coliformes totaux dans le réseau de distribution (Besner, Gauthier et al. 2002a, LeChevallier, Welch et al. 1996). La détection de coliformes totaux dans l'eau de consommation est sensée indiquer aux gestionnaire d'usine de traitement qu'une brèche s'est produite dans le traitement ou la distribution de l'eau permettant une contamination microbienne de l'eau et la rendant inappropriée à la consommation (Besner, Gauthier et al. 2002b). Par contre, seuls les coliformes fécaux et *E. coli* sont des indicateurs de contamination fécale (Santé Canada 1996, World Health Organization (WHO) 2004, Gouvernement du Québec 2005).

Des liens ont été établis entre la présence de coliformes et certaines épidémies d'origine hydrique. Ainsi, pour les épidémies survenues aux États-Unis entre les années 1983 et 1992, il y a eu présence de coliformes totaux lors de l'investigation de 73% des épidémies ayant des données disponibles (Craun, Berger et al. 1997). Cela suggère que les événements de contaminations n'étaient pas de nature ponctuelle et significativement importants, permettant aux autorités de déceler des traces de la

contamination même après l'événement (Craun et Calderon 2001). Par contre, l'occurrence de coliformes ne semble pas être reliée aux épidémies causées par les protozoaires *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium* (Craun, Berger et al. 1997, Kramer, Herwaldt et al. 1996, Chauret, Armstrong et al. 1995).

Certaines études suggèrent que la dégradation de la qualité de l'eau durant sa distribution explique de 20% à 30% des maladies d'origine hydriques (Payment, Siemiatycki et al. 1997, Craun et Calderon 2001, Blackburn, Craun et al. 2004). Des coliformes ont été recensés suite à 75% des épidémies ayant des données de qualités (Craun, Berger et al. 1997, Craun et Calderon 2001). Plusieurs autres épidémies ne sont pas recensées ou ignorées fautes de cas d'infection grave (Kramer, Herwaldt et al. 1996, Craun et Calderon 2001). Ainsi, les cas de maladies gastro-intestinales étant de l'ordre de 0,7-0,9 épisodes/personnes-années (Payment, Siemiatycki et al. 1997, Semenza, Roberts et al. 1998), de 10% à 30% de ces cas sont causées par la consommation d'eau potable. Cette eau peut provenir d'un réseau de distribution suivant en tout point les règlements de qualité d'eau tout particulièrement en ce qui a trait à la présence de bactéries coliformes totales ou fécales (Payment, 1997). Également, il est fort possible que certains consommateurs décident de ne pas consommer l'eau de leur robinet à cause de son odeur ou de son apparence douteuse (Kramer, Herwaldt et al. 1996, Craun et Calderon 2001).

Il est possible que des coliformes totaux puissent recroître dans le réseau de distribution (LeChevallier, 1990). En effet, si la concentration en désinfectant résiduel est trop faible et si les nutriments sont disponibles, les coliformes, comme les autres bactéries hétérotrophes, peuvent se multiplier à l'intérieur du réseau de distribution d'eau potable à l'intérieur de dépôts meubles présents dans le réseau ou sur les parois des conduites sous forme de biofilm. L'accès aux coliformes par le désinfectant est alors limité en fonction du matériau du support (LeChevallier, Lowry et al. 1993, Morin, Gauthier et al. 1997). Lorsque la vitesse de l'eau augmente dans une conduite, le biofilm formé peut se détacher en partie et les bactéries présentes dans ce dernier

sont ainsi libérées dans l'eau (LeChevallier, 1990, Besner, Gauthier et al. 2002b). Aussi, il est fort possible que la présence de coliformes dans l'eau d'un réseau de distribution ne puisse être expliquée par des événements récents, la contamination pouvant s'être produit par le passé ou ailleurs dans le réseau. Il est alors question de transport ou de ressuspension (Besner, Gauthier et al. 2002b).

Néanmoins, des études effectuées sur le terrain ont permis de relier l'occurrence des coliformes à certaines situations particulières. Une étude à grande échelle effectuée par LeChevallier *et al.* (1996) sur 31 systèmes de distribution d'eau potable présente plus de 115 000 échantillons testés pour les coliformes totaux, avec une occurrence de coliformes de 1,37% (LeChevallier, Welch et al. 1996). Une étude similaire faite sur le réseau de la ville de Montréal pendant 3 ans (Gauthier, Besner et al. 2001) a démontré une occurrence de coliformes dans 0,69% des échantillons prélevés. La fréquence importante de ces épisodes a mené les auteurs à se questionner sur la cause de ces événements. Selon ces études, les épisodes de coliformes sont plus importants à des températures plus élevées et pour des temps de résidence hydraulique plus grands. Par contre, elles diminuent en fonction de la concentration résiduelle de désinfectant (LeChevallier, Welch et al. 1996, Gauthier, Besner et al. 2001). LeChevallier *et al.* (1996) dénote également une augmentation des coliformes en fonction de la concentration en carbone biodégradable dissous dans l'eau. Ces facteurs influencent tous la prolifération des bactéries et du biofilm dans les conduites. En utilisant une approche intégrée à l'aide de bases de données, Besner *et al.* (2002b) ont permis d'expliquer 43% des occurrences de coliformes répertoriées par Gauthier *et al.* (2001). Parmi les causes étudiées, on remarque que plusieurs épisodes semblent provenir de changements de vitesse dans les conduites provoqués soit par une augmentation de la consommation, à des rinçages unidirectionnelles ou d'autres opérations d'entretien sur le réseau (manipulation de borne-fontaine (BF) ou de vannes). Ces changements de vitesse sont susceptibles d'arracher du biofilm ou remettre en suspension de particules contenant des coliformes agrégés (Herson, Marshall et al. 1991, Oliver et Harbour 1995).

Les études effectuées sur l'occurrence des coliformes ont également proposé d'autres causes de la présence des coliformes qui ne sont pas liées à la recroissance. En effet, pour des réseaux utilisant le chlore comme désinfectant résiduel, une augmentation des précipitations amène une hausse de l'occurrence des coliformes de 66% dû à leur passage à travers la filière de traitement (LeChevallier, Welch et al. 1996). Aussi, Besner *et al.* (2002) fait un lien entre un événement de basse pression causé par une réparation d'aqueduc et cinq cas de détection de coliformes.

2.2 Évidence de contamination directe des réseaux de distribution

Selon l'étude de Payment *et al.* (1997), les individus utilisant l'eau du robinet pour leur consommation ont eu un taux de maladies gastro-intestinales 14% plus élevé que ceux consommant de l'eau embouteillée provenant de la même usine de traitement, même si ces derniers continuaient d'utiliser l'eau du robinet pour 40% de leur consommation. Le réseau de distribution est donc probablement tenu responsable de cette augmentation. Comme il n'y a pas de lien entre le temps de résidence de l'eau et le taux de maladies gastro-entériques, la recroissance bactérienne n'est probablement pas la cause des maladies observées. Dans les réseaux de distribution, l'absence rapportée d'indicateurs tels que les coliformes est expliquée par l'action masquante du chlore résiduel qui inactiverait ces organismes (*eg. E. coli*) sans inactiver les autres pathogènes (*polyovirus*, *Giardia* et *Cryptosporidium*) menant alors à un faux sentiment de sécurité (Payment, 1999).

Le risque d'infection suite à la consommation d'eau traitée devrait être très faible, de l'ordre de 10^{-4} infections/année. Dans la région de Montréal, la mesure des concentrations d'organismes pathogènes (*Giardia* et *Cryptosporidium*) associée aux crédits accordées par les autorités (USEPA et MENVQ), suggèrent que les risques

d'infections sont plus élevées que le risque visé pour environ 50% de la population (Barbeau, Payment et al. 2000). Or, les crédits accordés pour la filtration sont surestimés selon Aboytes *et al.* (2004) qui ont mesuré des concentrations importantes de *Cryptosporidium* dans des eaux traitées ayant de très faibles turbidités (Aboytes, Di Giovanni et al. 2004).

Compte tenu de ces différentes observations, il semble que le taux d'infection lié à la consommation d'eau serait augmenté par un traitement insuffisant ou une contamination en réseau. Un risque accru sera présent si l'eau potable ne répond pas aux exigences de réduction des pathogènes (Barbeau, Payment et al. 2000, Aboytes, Di Giovanni et al. 2004), ou si des sources significatives de contamination des réseaux de distribution sont présentes (Payment, Siemiatycki et al. 1997, Payment, 1998). Une contamination en réseau pourrait provenir d'intrusions dans les réseaux de distribution. Selon LeChevallier *et al.* (2003), le risque pour la santé lié aux pressions transitoires est particulièrement important plus précisément en ce qui a trait à la contamination microbienne, surtout dans le cas de microorganismes ayant une très faible dose infectieuse (LeChevallier, Gullick et al. 2003).

2.3 Possibilité d'intrusion dans les réseaux de distribution

La qualité de l'eau dans un réseau de distribution est principalement protégée par le maintien d'une pression positive à l'intérieur des conduites. Lorsque cette pression devient inférieure à la pression externe d'eau sur la conduite, il y a risque d'intrusion si une brèche ou un orifice est présent dans la conduite. Certaines études (Craun et Calderon 2001, Besner, Gauthier et al. 2002a, Lahti et Hiisvirta 1995, Semenza, Roberts et al. 1998, Hunter, Chalmers et al. 2005) font le lien entre des événements de basses pressions ou de pressions négatives et certaines épidémies ou la présence d'indicateurs de contamination comme les bactéries coliformes. L'intrusion de

produits chimiques ou de microorganismes pathogènes dans les réseaux de distribution soit par connexions croisées ou par succion est la principale cause d'épidémies dans les réseaux communautaires (50,6%) et dans les réseaux non-communautaires (62,5%) (Craun et Calderon 2001). Par exemple, en décembre 1990, la réparation de deux conduites est liée à une épidémie impliquant 243 cas. Une modélisation faite à l'aide d'EPANET a démontré que l'eau contaminée s'était infiltrée sur le lieu des réparations (Geldreich, Fox et al. 1992).

Dans le cas de basses pressions, des retours d'eau peuvent se produire aux robinets des propriétés privées, aux entrées de services des institutions publiques et des compagnies privées, aux joints mal scellés entre les conduites, aux vannes fuyantes et à tous les autres orifices potentiels. La détérioration de l'étanchéité du réseau associée au vieillissement des infrastructures multiplie les possibilités d'intrusions à ces divers sites.

2.3.1 La présence des microorganismes pathogènes à proximité des conduites

Normalement, la concentration de microorganismes pathogènes dans un sol qui n'est pas en contact avec de l'eau de ruissellement devrait être minime. Par contre, la concentration en bactéries dans le sol est augmentée significativement (100 X) à proximité des conduites de distribution d'eau potable (Harris, 1960). La présence de conduites d'eaux usées près de conduites d'eau potable peut entraîner une contamination plus particulièrement lors des cas de surverses combinées à un bris ou de catastrophes, comme les tremblements de terre entraînant le bris des deux conduites (Haas, Chitluru et al. 1998, Kirmeyer G.J., Friedman et al. 2001, Pierson, Martel et al. 2001). Une étude a été effectuée à partir de 33 échantillons de sol et 32 échantillons d'eau prélevés à proximité de conduite mises à nues par des réparations de conduites ou des constructions dans huit réseaux de distribution (Karim, Abbaszadegan et al. 2003). Des coliformes fécaux sont présents dans 43% des échantillons d'eau de tranché analysés et dans 50% des échantillons de sol. Ces

concentrations varient dans les échantillons d'eau de tranchée entre <2 et $1,6 \times 10^3$ UFC/100 ml et dans les échantillons de sols entre <2 et $1,6 \times 10^4$ UFC/100 g de sol. Des spores de *Clostridium perfringens* sont détectées dans 30% des échantillons d'eau de tranchées et dans 25% des échantillons de sols. Des concentrations importantes de spores de *Bacillus* sont fréquemment détectées (80% des échantillons d'eau et 97% des échantillons de sol). La présence de virus entériques fut détectée dans le sol (9,3% des échantillons) et dans l'eau (10% des échantillons). Finalement, un échantillon d'eau contenait le virus de Norwalk et un échantillon de sol est positif pour le virus de l'hépatite A. Il ressort clairement de cette étude que l'environnement des conduites de distribution d'eau potable est un milieu accessible aux pathogènes et, possiblement favorable à leur survie.

2.3.2 La fréquence et la cause des événements de pression relative négative

Par définition, pour un système d'aqueduc est en équilibre, l'eau ne subit aucune variation de vitesse; cette situation est très rare en réalité. En effet, la variation de la demande en eau des consommateurs amène une instabilité initiale importante. De plus, plusieurs opérations de routine faites sur les composantes du réseau nécessitent l'arrêt/départ d'une pompe ou la fermeture/ouverture d'une vanne. Lorsque ces changements de vitesse sont trop brusque ou touche un grand volume d'eau, ils mettent le réseau dans un état instable, amenant des variations de pressions nommées pressions transitoires ou coup de bélier (Chadwick, Morfett et al. 2004). Deux propriétés de l'eau explique l'importance des coups de bélier : sa masse volumique importante et sa quasi-incompressibilité (Karney et McInnis 1990). Il y a alors transfert de la force de l'eau en une onde de pression qui voyage dans la conduite touchée et l'ensemble du réseau à une célérité voisine de la vitesse du son. Pour un phénomène pur, les ondes sont de type sinusoïdal amorti. Dans le cas d'une vanne fermée rapidement, il y a en amont une surpression suivie d'une diminution de pression importante. Or, en aval de la vanne, la première onde consiste à une

diminution de pression qui pourrait générer une succion si la pression devenait trop basse et donc une intrusion dans le réseau de distribution si l'intégrité du réseau n'est pas respectée à cet endroit.

La modélisation informatique des événements de pressions transitoires a été validée par plusieurs données terrain. Par contre, elle n'est possible que lorsque les réseaux hydrauliques sont très bien calibrés (Boulos, Karney et al. 2005). Ainsi, il est préférable d'avoir des données de pressions prises sur le terrain pour prouver hors de tout doute l'occurrence de pressions négatives importantes. Les travaux pionniers ont été effectués par Gullick *et al.* (2004) qui ont mesuré les pressions à l'aide de capteurs installés à des points spécifiques de huit réseaux de distribution (Gullick, LeChevallier et al. 2004). Les mesures de pressions pendant une durée de temps de plus de 9 ans dans un des cas. Généralement, les capteurs de pression étaient ajustés pour acquérir 20 valeurs par secondes afin de garantir l'identification de tout événement significatif se produisant sur le réseau. Ces auteurs rapportent un total de 15 événements de pression négative, tous sauf un, liés à l'arrêt de pompe à haute pression causé dans le cas le plus grave par une panne de courant. Afin de bien classer les différentes causes de pressions négatives, le tableau suivant, adapté de l'étude de Gullick *et al.* (2004), permet de résumer certains cas répertoriés.

Tableau 2.1: Événements générateurs de pression transitoires (adapté de Gullick *et al.*)

	Diminution de pression psi (kPa)	Pression minimale atteinte psi (kPa)	
Panne à la station de pompage			
Panne de courant	60,4 (443)	-4,4 (30,3)	Pression mesurée 6,4 km plus loin et négative pendant 22 secondes
Arrêt d'une pompe	44 (303)	18 (124)	Arrêt d'une pompe de 20 mgd
Fermeture de l'alimentation	64-77 (441-530)	-13,8 (-96)	Temps de fermeture : environ 30 secondes
Opération de vidanges	31 (214)	>20 (138)	
Débit d'incendie	40 (276)	<20 psi	
Bris d'aqueduc		14,1 (97,3)	Pression demeurée à 18,2 psi pendant 55 min
Augmentation de la demande et ouverture d'une vanne papillon	25 (190)	55-65 (379-448)	

2.3.3 Les preuves de l'intrusion lors des pressions transitoires

À prime abord, l'intrusion dans une conduite lors d'événements de pression négative semble évidente. L'intrusion lors de pressions négatives causées par des pressions transitoires est légèrement complexe en raison de la nature même du phénomène. En effet, l'onde de pression négative est suivie d'une onde positive qui peut atteindre une amplitude significative tout dépendamment des conditions (vitesse de l'eau, matériau de la conduite, volume d'eau déplacé, rapidité du phénomène, etc.). Immédiatement après l'intrusion, une portion de l'eau introduite à l'intérieure de la conduite peut être expulsée à l'extérieur par l'orifice d'intrusion. Ainsi, Boyd *et al.* (2004a, 2004b) ont effectué des essais sur un pilote conçu pour simuler un réseau d'aqueduc (Boyd, Wang et al. 2004a, Boyd, Wang et al. 2004b). Dans cette étude, une conduite était soumise à une fermeture rapide de vanne (< 1 s) causant l'apparition de pressions transitoires négatives. Les volumes d'intrusions étaient estimés de trois manières : par observation volumétrique, par l'utilisation d'un traceur et par calculs théoriques. Les

résultats obtenus montrent que des volumes significatifs d'eau peuvent entrer dans un réseau de distribution par des petites fuites lors d'événements de pressions transitoires. Les résultats montrent aussi que l'eau introduite dans la conduite durant les pressions négatives n'est pas totalement expulsée lors des ondes de pressions positives subséquentes.

2.3.4 L'intrusion lors des réparations de conduites

L'installation et la réparation de conduites d'aqueduc est une des principales voies d'entrée des pathogènes (Haas, Chitluru et al. 1998, Kirmeyer G.J., Friedman et al. 2001, Pierson, Martel et al. 2001, LeChevallier, Gullick et al. 2003). En effet, pendant une réparation, différents outils ou pièces utilisés lors de la réparation ont potentiellement été mis en présence de pathogènes. Le contact avec des cadavres d'animaux ou des rejets d'origine humaine ou animale pose un risque très élevé de contamination (Pierson, Martel et al. 2001). Cette situation est particulièrement envisageable lorsque les conduites de remplacement sont laissées à la surface sans recouvrement des orifices. Selon l'auteur, l'intrusion de particules de sol ou d'eau de tranchée est beaucoup plus fréquente mais représente un risque beaucoup moins grand. Pour palier à cette situation, les instruments et pièces utilisés pendant la réparation doivent être désinfectés fréquemment et minutieusement et il est nécessaire de recouvrir les extrémités des conduites et de faire un examen visuel de l'intérieur de ces dernières avant de les installer (Pierson, Martel et al. 2001).

Une pratique courante consiste à diminuer la pression dans le tronçon de conduites isolé pendant la réparation afin de faciliter la tâche des ouvriers. Or, une diminution de la pression peut faciliter l'entrée d'eau souillée dans le tronçon isolé pendant la réparation du bris; il peut alors se produire une contamination du tronçon de conduite. Il est donc essentiel d'effectuer un nettoyage du tronçon suite à la réparation. Une bonne pratique consiste à effectuer un premier rinçage de la conduite avec une vitesse

d'écoulement entre 1,5 et 3 m/s, une désinfection et un second rinçage (Pierson, Martel et al. 2001, Slaats, Rosenthal et al. 2003).

Les rinçages de conduites ne sont pas suffisants pour décoller totalement le biofilm et extraire l'ensemble des organismes et particules présents dans la conduite (LeChevallier, Lowry et al. 1990, LeChevallier, 1999, Pierson, Martel et al. 2001). Des pratiques douteuses de nettoyage suivant une réparation de conduites sont mises en cause lors d'une épidémie de *E. coli* (Geldreich, Fox et al. 1992). Conséquemment, il est possible que des microorganismes pénètrent dans le réseau de distribution pendant une réparation qui n'est pas faite avec suffisamment de précautions et y demeure même après une procédure de nettoyage minimale.

2.4 Indicateurs de contamination utilisés

Les spores de BSA sont de plus en plus utilisées comme indicateur de l'efficacité de traitement (Rice, Fox et al. 1996, Barbeau, Boulos et al. 1999, Nieminski, Bellamy et al. 2000, Huertas, Barbeau et al. 2003, Galofré, Israel et al. 2004, Mazoua et Chauveheid 2005, Brown et Cornwell 2005). Les principaux avantages des spores de BSA résident en leur taille similaire à celle des protozoaires pathogènes, leur concentration élevée à l'eau brute et leur grande résistance aux traitements de l'eau (Rice, Fox et al. 1996). De plus, la mesure des spores de BSA par filtration membranaire est relativement simple, peu coûteuse, requiert une période d'incubation relativement courte (≈ 24 heures) et peut être complétée par du personnel peu spécialisé.

Les spores de BSA sont communes dans les eaux de surface et proviennent du ruissellement et de l'érosion du sol. Ces organismes sont donc toujours présents en concentrations élevées à l'eau brute des usines utilisant des eaux de surfaces. Leur habitat naturel les rend aussi potentiellement utilisables comme indicateur de la

présence de particules de sol. Elles pourraient servir d'indicateur d'intrusion de sol durant une réparation (Karim, Abbaszadegan et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2005). En effet, les études sur le sujet ont permis de déceler des concentrations de spores de BSA de l'ordre de $1,5 \times 10^4$ UFC/100 mL dans la majorité des échantillons d'eau de tranchée (66%, 100% et 100%) (Karim, Abbaszadegan et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2004, Besner, Cartier et al. 2005). La concentration de spores de BSA est typiquement très faible dans l'eau traitée d'une usine (<10 UFC/100 mL).

Les faiblesses de l'utilisation des spores de BSA comme indicateur d'efficacité de traitement ou d'intrusion sont liées au fait que 1) la récupération des spores peut être influencée par la qualité de l'eau; 2) la filtration membranaire ne permet pas de distinguer une spore de BSA d'un agglomérat de spores. Si l'agglomérat est stable, cette situation entraîne peu de conséquences. Par contre, si le degré d'agglomération varie, n'est plus valide. Il a été démontré que pendant le traitement (coagulation), les spores de BSA s'agrégent (Gale, van Dijk et al. 1997). Ainsi, la mesure de l'efficacité du traitement par la filière coagulation/floculation/filtration peut être faussée si la méthode de mesure des spores de BSA n'est pas adéquate.

2.5 Objectifs de recherche

L'objectif principal de ce projet est d'évaluer la possibilité d'utiliser les spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol.

Le premier objectif est de déterminer la méthode de mesure permettant une récupération optimale des spores de BSA pour les eaux étudiées. Cette méthode doit permettre un taux de récupération acceptable et constant du nombre de spores de BSA. Deux aspects sont étudiés:

1. Vérifier l'impact de la concentration de grands volumes d'eau distribuée sur la récupération des spores de BSA par filtration membranaire. Deux paramètres pouvant modifier la récupération de spores de BSA sont étudiés: la présence de gâteau en terme de particules et la nature des particules du gâteau.
2. Confirmer la présence d'agrégats et estimer l'impact de leur dispersion sur la récupération des spores dans des échantillons de sol et d'eau de vidange de réseaux de distribution.

Cette étude est présentée au Chapitre 3.

Le deuxième objectif, présenté au Chapitre 4 est de déterminer la possibilité d'utiliser les spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol pour un réseau de distribution d'eau potable.

3. Caractériser la distribution des concentrations de spores de BSA sur l'ensemble du réseau étudié pour une période d'une année.
4. Déterminer, à l'aide de tests statistiques: i) la probabilité d'obtenir une concentration donnée en spores de BSA dans l'eau distribuée; ii) la dépendance entre les concentrations de spores de BSA dans l'eau distribuée et lors des rinçages de conduites de routine – permettant d'évaluer s'il y a une présence significative de spores de BSA dans les dépôts meubles et le biofilm du réseau étudié; iii) la dépendance entre les échantillons prélevés pendant les réparations de conduites et les deux autres types d'échantillons précédents. Une concentration de spores de BSA significativement plus élevée dans les échantillons d'eau prélevés pendant les réparations de conduites, par rapport aux autres échantillons, amènerait à conclure en un très fort risque d'intrusion de sol pendant la réparation.

Deux objectifs distincts sont présentés au Chapitre 5.

5. Valider si les concentrations de spores de BSA dans les échantillons prélevés lors des vidanges de conduites peuvent être expliquées d'un point de vue hydraulique.
6. Examiner si les durées des rinçages et les vitesses développées sont adéquates selon les critères ayant été retenus pour des rinçages unidirectionnels.

Chapitre 3: Optimization of the detection of spores of aerobic spore-forming bacteria (ASFB) in environmental conditions (scientific paper)

Le chapitre suivant traite de différentes modifications de procédures pour améliorer la détection des spores de BSA par filtration membranaire dans des eaux de réseau de distribution. Les résultats expérimentaux obtenus montrent que des modifications de la procédure de mesure des spores de BSA sont nécessaires dans certaines conditions environnementales, soit pour des échantillons de réseau de distribution et de suspension de sol. Ces résultats sont présentés sous forme d'un article qui a été soumis à la revue *Journal of Water Supply: Research and Technology – AQUA*.

À partir des résultats présentés dans le cadre de cet article, il s'avère que l'utilisation d'agent dispersant n'est pas appropriée pour la suite du projet. En effet, la concentration de spores de BSA dans les eaux de rinçage de routine est augmentée d'un facteur pouvant dépasser 1000 X lors de la dispersion. Par contre, l'agent dispersant n'a aucun effet sur la concentration en spores de BSA dans les échantillons de sol. L'utilisation d'un agent dispersant peut diminuer de manière très importante la limite de détection d'une intrusion. La méthode utilisée pour la mesure des spores de BSA dans l'eau du réseau étudiée comprend néanmoins la limitation du volume maximal filtré en fonction de la turbidité.

Optimization of the detection of spores of aerobic spore-forming bacteria (ASFB) in environmental conditions

Clément CARTIER

Junior Engineer, City of Montréal, Infrastructures, transport and environment services,
Strategic of water distribution system, Montréal (Québec) Canada H3A 3P1

E-mail: clementcartier@ville.montreal.qc.ca

Fax : 514 280 4269

Tel : 514 872 8934

Benoit BARBEAU

Assistant Professor and Associate Chairholder, NSERC Industrial Chair on Drinking Water, École Polytechnique de Montreal, Department of Civil, Geologic and Mining Engineering, P.O. Box 6079, Succ. Centre Ville, Montreal (Quebec) Canada H3C 3A7

E-mail: benoit.barbeau@polymtl.ca

Fax: 514 340 5918

Tel: 514 340 4778

Marie Claude BESNER

Research associate, École Polytechnique de Montreal, Department of Civil, Geologic and Mining Engineering, P.O. Box 6079, Succ. Centre Ville, Montreal (Quebec) Canada H3C 3A7

E-mail: marie-claude.besner@polymtl.ca

Fax: 514 340 5918

Tel: 514 340 4778

Pierre PAYMENT

Professor, INRS- Institut Armand-Frappier, 531, boul. des Prairies,
Laval (Québec) Canada H7V 1B7

E-mail : Pierre.Payment@iaf.inrs.ca

Fax: 450 686 5626

Tel: 450 687 5010

***Michèle PREVOST**

Professor and Senior Chairholder, NSERC Industrial Chair on Drinking Water, École Polytechnique de Montreal, Department of Civil, Geologic and Mining Engineering, P.O. Box 6079, Succ. Centre Ville, Montreal (Quebec) Canada H3C 3A7

Fax: 514 340 5918

Tel: 514 340 4778

*Contact author: Tel:1(514) 340 4711 (5924), Fax: 1 (514) 340 5918,
E-mail:michele.prevost@polymtl.ca

3.1 Abstract

The measurement of spores of aerobic spore-forming bacteria (ASFB) is becoming an increasingly widespread method for validating the effectiveness of treatments applied in drinking water treatment plants. They have been proposed as indicators of soil intrusion in distribution systems. Nevertheless, the measurement of spores of ASFB by membrane filtration has certain limitations with respect to the rate of recovery of the spores of ASFB present in the distributed water. This is mainly due to the low concentrations of spores of ASFB. Two factors may decrease spore recovery: the presence of a cake on the filter, and the aggregation of spores. For distributed water, our data suggests is to limit the volume of water filtered (V in mL) as a function of its turbidity according to the relation: $V=500/\text{turbidity}$. The addition of a surfactant, Tween[®] 80, can increase the recovery of spores very significantly (1000 X). The experimental results show that a triple manual inversion will ensure a significantly higher rate of recovery.

Keywords distribution system, drinking, spore, aerobic spores, water, ASFB, intrusion, indicator.

3.2 Introduction

The direct use of pathogenic microorganisms to measure microbial removal or inactivation during treatment and during drinking water distribution is a highly complex and costly endeavor. In addition, the low concentrations found and the sporadic presence of pathogens in the environment often make it necessary to work near, or under, the detection limits of the available methods. Moreover, the detection of multiple pathogens necessitates the use of many specific measurement methods.

Bacterial indicators, such as total and fecal coliforms and *Escherichia coli*, are widely used, but their usefulness is limited as indicators of organisms that are larger and more resistant to chlorination (Rice *et al.* 1993). As an alternative solution, organisms such as spores of aerobic spore-forming bacteria (ASFB) have been proposed as indicators of the effectiveness of treatment processes (Rice *et al.* 1996; Barbeau *et al.* 1997; Nieminski *et al.* 2000; Huertas *et al.* 2003; Galofré *et al.* 2004; Mazoua and Chauveheid 2005; Brown and Cornwell 2005). The main advantages of spores of ASFB are their dimensions, which are similar to those of known pathogenic protozoa, their abundance in raw water and their high resistance to water disinfection treatments (Rice *et al.* 1996). More recently, spores of ASFB have been proposed as indicators of contamination in distribution systems, primarily to detect intrusion events (Karim *et al.* 2003; Besner *et al.* 2005). The interest in their use for this application is based on the hypothesis that spores of ASFB are abundant in soils but not in treated drinking water in distribution pipes. Therefore, their detection in water from distribution systems could indicate the intrusion of soils and/or water into the distribution system and the potential for fecal contamination (Besner *et al.* 2005; Cartier *et al.* submitted).

Two main methods have been proposed for the recovery of spores of ASFB in water (Rice *et al.* 1996; Barbeau *et al.* 1997). These two methods include membrane filtration on a 0.45 µm filter, followed by pasteurization either in a liquid medium (Rice *et al.* 1996) or directly on Petri plates (Barbeau *et al.* 1997). Other methods for measuring spores of ASFB (Nieminski *et al.* 2000; Francis *et al.* 2001) are derived from these two methods. Conventional treatment processes such as chemically assisted filtration and disinfection remove and inactivate spores of ASFB found in source water (Rice *et al.* 1996; Galofré *et al.* 2004; Brown and Cornwell 2005), resulting in low concentrations in treated and distributed water. To enable the precise enumeration of these lower concentrations of spores of ASFB, larger volumes of water must be filtered.

Three factors which can influence the enumeration of bacteria (ASFB and other bacteria) by membrane filtration in water samples can be considered. These factors

are especially relevant to waters which require higher filtered volumes and that are loaded with particles.

3.2.1 Interference caused by competing microorganisms

When the membrane filtration method is used in the presence of competing microorganisms evaluated by the heterotrophic plate count (HPC) method, a reduction in the number of coliforms can be observed (Geldreich *et al.* 1978; Herson and Victoreen 1980). The pasteurization step required for the detection of spores of ASFB leaves the environment free of competing bacteria, which could reduce the growth of ASFB. This factor is therefore not considered significant for the enumeration of spores of ASFB in samples with a high concentration of non-spore-forming bacteria.

3.2.2 The impact of the accumulation of particles on the filter

Filtration of water with particles can lead to the formation of a cake that may constitute a diffusion barrier (O₂, nutrients, etc.) or cause some interference (metals, etc.). The accumulation of turbidity can lead to an underestimation of the coliform concentration in water samples when membrane filtration is used because of the formation of a cake on the membrane (Geldreich *et al.* 1978; Herson and Victoreen 1980; LeChevallier *et al.* 1981). The least severe impact was observed by LeChevallier *et al.* (1981), who maintains that a turbidity of 5 NTU is acceptable for the measurement of total coliforms in 100 mL samples. The impact of the cake on the detection of ASFB spores is not well established. Some testing was done on relatively small volumes of raw water (500 mL) inoculated with spores of *Bacillus subtilis* (Nieminski and Bellamy. 2000) or with sulfate-reducing *Clostridia* in large volumes (>50 L) of treated water of high quality (Hijnen *et al.* 2000). These studies suggest that the impact of particles accumulation on the recovery rate is not significant (not

significant or higher than 75% recovery). No direct verification of the interference of turbidity in the enumeration of environmental ASFB spores in distributed water is available.

In the case of distributed water, the presence of metals such as copper and lead, in both soluble and particulate form, is common and could reduce the recovery rate of ASFB spores because of their inhibiting effect on bacterial growth. Specifically, when copper is added to the culture medium, it limits the growth of sulfate-reducing bacteria (Utgikar *et al.* 2003), *Bacillus thuringiensis* (Hassen *et al.* 1998) and *Aeromonas spp.*, total coliforms and HPC (Versteegh *et al.* 1989). Moreover, copper can limit the development of the biofilm at the surface of pipes for microorganisms such as non tuberculous mycobacteria (Williams and Donlan 2005), *Flavobacteria sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas maltophilia* (Critchley *et al.* 2002) and *Legionella pneumophila* (Rogers *et al.* 1994). However, the impact of the presence of copper on the growth of the spores of ASFB present in distribution systems, such as *Bacillus subtilis*, is not known.

3.2.3 Aggregation in response to adverse environmental conditions

Drinking water treatment and distribution systems are likely to generate various stresses on the microorganisms present in the liquid phase or in the biofilm. Microorganisms that offer the best resistance to major stress, like spores of ASFB, use particular methods of adaptation, such as aggregation, colonization of sediments or formation of a biofilm (Morin *et al.* 1997).

There is some clear indication that the aggregation of spores or their attachment to particles in distribution systems may be common. It has been shown that spore aggregation occurs during treatment (Gale *et al.* 1997, Barbeau *et al.*, 2005). The colonization of sediments present in distribution systems has been established for coliform bacteria (Herson *et al.* 1991; Oliver and Harbour 1995), for fungi, actinomycetes and total bacteria (Ridgway and Olson 1982; Zacheus *et al.* 2001). Gibbs *et al.* (2003, 2004) report significant colonization of the biofilm by endospores

(2.5×10^4 CFU/cm²) following the injection of wastewater into a pilot distribution system. Moreover, the presence of *Bacillus sp.* in the biofilm of full scale distribution systems has been documented by Rompré *et al.* (1998). While soil constitutes the principal habitat of spores of ASFB (Frobisher 1968; Demain and Solomon 1985), the extent of aggregation of these spores in a natural environment is not well documented.

The culture based enumeration techniques cannot assess the presence of aggregation, since the presence of a colony does not indicate if it is the result of the growth of an aggregate of bacteria or of a single organism. Not accounting for aggregation could lead to a significant underestimation. A dispersing agent (such as a surfactant) can be added and/or a homogenization treatment performed to separate aggregates of spores or to liberate the spores associated with particles. However, the addition of a surfactant and the application of homogenization treatments may inhibit bacterial growth and spore recovery. When isolating organisms from soil samples, the samples are often homogenized in order to destabilize the aggregates (Germida 1993). Barbeau *et al.* (1997) have shown that a homogenization has no influence on spore count for samples of raw water. In contrast, other studies show the usefulness of mechanical methods of bacterial dispersion (Ormeci and Linden 2005; Camper *et al.* 1985; Borst and Selvakumar 2003; Madge 2002). However mixing at high shear stress may result in the destruction of a portion of the microorganisms in the sample (Ormeci and Linden 2005). The use of chemical dispersant, such as Zwittergent 3-12 (Sigma-Aldrich, MO) shows, in some conditions, an increase in recovery rate of coliforms (Camper *et al.* 1985; Ormeci and Linden 2005) and in others conditions, a reduction in recovery rate (Borst and Selvakumar 2003) which makes the use of this substance debatable. Another surfactant, Tween 80[®], has been used to study the extent of the distribution of ASFB spores in coagulated waters (Gale *et al.* 1997). Their results offer somewhat muted conclusions, which suggest that verifications for each type of water and each strain of microorganisms, will be required.

3.3 Objectives

The objectives of this study are:

1. To verify the impact of the concentration of large volumes of distributed water on the recovery of ASFB spores by membrane filtration. Two aspects capable of modifying the recovery of ASFB spores are studied: the presence of cakes in terms of their constituent particles, and the nature of the cake particles.
2. To confirm the presence of aggregates and to estimate the impact of their dispersion on the recovery of spores in soil samples and in samples of flushing water from distribution systems.

3.4 Material and Methods

3.4.1 Influence of suspended solids and metals on the recovery of *B. subtilis*

The culture of *Bacillus subtilis* spores was done with the method described by Barbeau *et al.* (1999). A suspension of *Bacillus subtilis* (ATCC, no. 6633, USA) was prepared from culture on R2A media (Difco, 1826-17-1) at 35°C then left for 10 days in the incubator to sporulate. Spores were collected by rinsing the agar with sterile phosphate buffer. The final spore suspension was heated at 75°C for 15 min and subsequently maintained at 4°C. *B. subtilis* suspensions were diluted into a physiologically sterile water (phosphate buffer, pH 6.5). The method described by Barbeau *et al.* (1997) was used to measure the *B. subtilis* spores. The trypticase soy broth (pH 7.3±0.2; Becton Dickinson, MD, USA) was used for culture medium. Enumeration in test water was performed after pasteurization at 75°C for 15 minutes. Cellulose acetate filters (0.45µm, Millipore, Billerica, MA- HAWG047S3) were used. The concentration of injected spores (N_0) was validated by the use of control filters on which only the spore inoculum was filtered.

Tests on the influence of particles on the recovery of ASFB spores were carried out on tap water with a typical load in terms of particles and metals. Two water samples

were taken from a tap located on a main pipe. Water characteristics include of turbidity < 0.5, pH of 7.5, TOC of 2.13 and alkalinity of 83 mg/L CaCO₃. Samples were sterilized at 121°C during 15 minutes, cooled and seeded with spore suspensions of *Bacillus subtilis*. Three types of seeding were carried out:

- Case A showing a homogeneous distribution of *B. subtilis* spores in the cake with the spore inoculum being added to the sterile tap water, homogenized and then filtered.
- Case B to examine the growth of spores on the cake surface by adding the *B. subtilis* spore inoculum following filtration of the sterile tap water.
- Case C to show the growth of spores under the cake. In this case, the spore inoculum was filtered before the sterile tap water.

A schematic representation of the three types of seeding is presented in Figure 3.1. Each measurement was taken in triplicate.

Figure 3.1

Suspended solids (SS) and volatile suspended solids (VSS) measurements were measured according to Method 2540 (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1998) using 0.7 µm fiberglass filters (Whatman 47 mm, No. 1825047, Maidstone, England).

The metal content of the cake (Cu, Pb, Mn, Fe, Zn) was measured on the filters used for spore enumeration. The metal analyses were performed following mineralization of the filter in a Teflon vial containing 1 mL of HCL, 0.5 mL of HNO₃ and 0.5 mL of H₂O₂. The concentrate was then diluted and analyzed for these metals by an atomic absorption flame spectrometer (A-Analyst 200, PerkinElmer, MA, USA). In order to determine the impact of copper on the growth of *B. subtilis* spores, copper sulfate (C493-500, Fisher Scientific, NJ, USA) was added, prior to sterilization, to culture medium (trypticase soy broth). The concentrations of added copper were: 0.9; 1.6; 4.1 and 7.7 mM. These concentrations were verified by analyzing the copper content

in the culture medium by atomic absorption flame spectrometry. Four replicates of plate counts were performed.

3.4.2 Influence of aggregation on the recovery of ASFB spores

Tests were carried out to evaluate the impact of aggregation of natural strain of ASFB spores by various dispersion techniques. ASFB spores were dispersed by means of a chemical surfactant, Tween[®] 80 (Fisher Scientific, NJ, USA) and an anti-foaming agent, Polypropylene glycol (PPG, Sigma Aldrich, Belgium). Tween[®] 80 was chosen as the surfactant because it is not harmful to the growth of spores of the *Bacillus* type (Brar *et al.* 2005). Slow homogenization (<1000 rpm) was selected in order to minimize the reduction in the number of viable spores. Dispersion tests were carried out on the samples containing a soil suspension, and on the samples of flushing water taken from hydrants of a distribution system. The water was sampled during the first two minutes of flushing at a hydrant attached to a cast-iron pipe. The soil was sampled on university grounds. The soil suspensions were made up by adding 10 mg of soil to 995 mL of sterile saline water (0.85%). The suspension was then agitated gently and continuously with a magnetic stirrer in a 2 L beaker. For dispersion tests, samples of 100 mL each were removed with 60 mL syringes (Becton Dickinson, NJ, USA) from this suspension. In the same way, 100 mL samples of the hydrant flushing water were taken from a 4 L beaker subjected to gentle agitation with a magnetic stirrer.

The reagents (Tween[®] 80, PPG) were first filtered (0.22µm, Millex GS, Millipore, Ireland) to prevent microbiological contamination. The following combinations of reagents and their respective concentrations (v/v) were used: i) Tween[®] 80 0.0% and PPG 0.0%; ii) Tween[®] 80 0.1% and PPG 0.1%; iii) Tween[®] 80 1% and PPG 1%. Finally, three modes of homogenization were tested for the water samples (soil suspension and flushing water) to which the two reagents were added:

1. A manual inversion (3x) (MI) of a sample of volume 100 mL placed in a 125 mL polypropylene bottle (Nalgene, NY, USA), followed by a sampling of 10 mL to be filtered for spore counting from the bottle with a micropipette (Nichipet EX, Nichiryo, Japan).
2. A vortex homogenization (V) during 10 s of a 10 mL sample of water to be analyzed in a 15 mL tube (05-539-5, Fisherbrand, PA, USA), followed by filtration of the contents of the tube for spore counting.
3. Mixing of a 100 mL sample in a 125 mL polypropylene bottle (Nalgene, NY, USA) for a period of 15 minutes by mechanical agitation at 300 rpm (Innova 2300, New Brunswick Scientific, NJ, USA) with 25 glass beads (Fisher Scientific, Czech Republic- 11-312A), as prescribed for soil analysis (MB) (Germida 1993). Then, a volume of 10 mL was sampled using a micropipette. This volume of water was used directly for counting spores by filtration.

For soil suspensions, three replicates were used for each dispersion method and 15 replicates served to establish the concentration of ASFB spores without dispersion. For hydrant water, each pretreatment (MI, V, MB with T0%, T0.1% and T1%) is the mean concentration calculated for triplicate samples (bottles A, B and C), for each of which 9 (bottles A and B) and 7 (bottle C) measurements were repeated for spore counting, which corresponds to a total goal of 25 spore measurements per pretreatment category.

The software Statistica V7 (version 7.0.61.0, StatSoft, USA) was used to carry out the various statistical tests for the analysis of the results. Non parametric tests were applied (Mann-Whitney U-Test and Kruskal-Wallis ANOVA). For the Mann-Whitney U-Test, the p-values considered were those obtained for an adjusted value of Z. P-values of <0.05 were considered significant unless otherwise noted.

3.5 Results

3.5.1 Influence of water quality on *B. subtilis* spore recovery

The effects of the water quality on the recovery of spores in tap waters are summarized in Table 3.1. These results are expressed as a function of the direct count of the *B. subtilis* inoculum without the addition of sterile tap water (N_0). Mann-Whitney tests were carried out based on the replicates used for enumerating the *B. subtilis* spores.

Tableau 3.1

Significantly different results from those for the controls were observed for all the tests for which volumes of 5 L were filtered. For volumes of less than 1 L, five tests out of six were also significantly different from those for the controls ($p < 0.05$). Independent of the type of treatment (A, B or C) and the volume filtered (1 L or 5 L), the extent of spore recovery is less in distribution system water than it is in the sterile physiological solution used for the recovery of the controls.

Spore recovery was significantly less for 5 L than for 1 L for one of the samples from distribution system water. For the sample 2 water, spore recovery was not influenced by the increase in the filtered volume from 1 L to 5 L. For sample 1, spore recovery on the cake and under the cake with a volume of 5 L was significantly less than when spores are within the cake, which was not the case for sample 2. The impact of the volume of water filtered identified for sample 1 was greater when the spores were located either under the cake or on the surface of the cake.

The SS concentrations (13.8 and $5.0 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ for 1 L) differ significantly between the two samples. The effect of filtered volume on the recovery of ASFB spores is dependent on the quantity of solids present in suspension. This effect appears above a

certain threshold of particles having accumulated on the filter. Table 3.1 shows the composition of the filter cakes. Note that the concentrations of soluble metals in the distribution system water studied met the standards of quality of drinking water at all times. In contrast, the accumulation of metals in particulate form by volume of filtered water volume is quite variable.

Preliminary tests had suggested that the concentration of copper on the filter (indicated by a green color) could cause significant reductions of ASFB spores recovery. In order to investigate the impact of copper on the growth of *B. subtilis* spores, increasing concentrations of copper sulfate were added to the culture medium. The results show on Figure 3.2, that, from a copper concentration of 4.1 mM, the recovery of *B. subtilis* spores decreases significantly. For purposes of future comparison, the concentration of copper in the culture medium is also expressed in $\mu\text{g Cu/cm}^2$.

Figure 3.2

3.5.2 Influence of the mode of homogenization and the surfactant concentration on the recovery of ASFB spores

As illustrated in Figure 3.3, the rate of recovery is reduced following the addition of Tween[®] 80 when mixing with beads. The results for the mixing with beads category without surfactant are significantly higher (Mann-Whitney U-Test $P < 0.05$) than those with Tween[®] 80 (0.1% and 1%). There is no other significant difference between the other categories. The variability of the results can be seen in Figure 3.3 suggesting that the heterogeneous distribution of spores in the samples is revealed by dispersion. This is supported by the homogeneous results from the 15 replicates not subjected to dispersion or homogenization.

Figure 3.3

Figure 3.4 illustrates the results obtained for the same type of test, carried out on a sample of hydrant flushing (turbidity of 46 NTU, SS of 37 mg/L and VSS of 13 mg/L).

Figure 3.4

With the exception of the vortex mixing, the results obtained for the three concentrations of surfactant (Tween[®] 80: 0%; 0.1%; 1%) are significantly different (Kruskall-Wallis; $p < 0.001$). The addition of surfactant increases the rate of recovery of ASFB spores in this type of water for homogenization by manual inversion and mixing with beads. The results obtained for all three methods of homogenization are also significantly different for concentrations of surfactant of 0.1% and 1% (Kruskall-Wallis $p < 0.0001$). These results show that the homogenization methodology applied significantly influences the results. The mean concentration of ASFB spores recovered was maximized for the MI-T1% category (Mann-Whitney U-Test). For the flushing water, the addition of Tween[®] 80 at the time of application of the mixing by manual inversion method has a significant impact, even at a low concentration. When using a combination the mixing with beads and adding a surfactant, a concentration of Tween[®] 80 of 1% is needed to obtain a significantly higher count. Finally, the addition of Tween[®] 80 at the time of application of the vortex method has no impact. The results presented in Figure 3.4 are the mean concentration of aggregated results. Figure 3.5 shows detailed results for each bottle with concentrations of Tween[®] 80 of 0.1% and 1%. Results shows that, at the time the surfactant was added, the distribution of the spores in the three bottles of the same pretreatment was not uniform.

A single sample (MI-T0.1%-C) stands out significantly from the others (Mann-Whitney U-Test). This sample is responsible for the higher concentration of ASFB

spores observed when the manual inversion mixing method is used with the addition of Tween[®] 80 (0.1%). For the 1% concentration of Tween[®], two samples (MI-T1%-B and MI-T1%-C) are noticeably different from the other samples (Mann-Whitney U-Test). This suggests a higher concentration of ASFB spores for these three samples (MI-T0.1%-C, MI-T1%-B and MI-T1%-C) than for the other six samples treated by manual inversion with surfactant. In fact, there is no significant difference between the three samples (Kruskall-Wallis $p > 0.3$). These results are a good illustration of the wide variability of the concentration of ASFB spores in samples.

3.6 Discussion

3.6.1 Presence of a diffusion barrier and interference caused by metals

When copper is incorporated in the media, the growth of *B. subtilis* spores is inhibited (70% of reduction with a concentration of cupric sulfate is 4.1 mM or 21.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Similar inhibitions were observed for *B. thuringiensis* by Hassen *et al.* (1998) with a concentration of 200 mM and for sulfate-reducing bacteria with a concentration of 0.11 mM (Utgikar *et al.* 2003).

The concentration of copper accumulated on filters from tap water (0.35 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) is significantly lower than those reported. It is also highly probable that particulate copper is less bio available than cupric sulfate incorporated into the media. This suggests that the presence of copper on the filters is not the cause of the observed reduction in the recovery of *B. subtilis* spores. Therefore, it appears to be more important to take into account the amount of accumulated solids, rather than the nature of the suspended solids, in order to limit the influence of the cake on recovery.

The impact of the cake on recovery has been shown. When using a 5 L volume of filtered water (sample 1), the recoveries of *B. subtilis* spores are significantly lower

when the *B. subtilis* spores are located under the filter cake (18%) or on the surface of the cake (11%) than when they are distributed within the cake (40%). The negative impact of the cake may be attributed to two phenomena: (i) greater difficulty in reaching the nutrient medium (Geldreich *et al.* 1978; LeChevallier *et al.* 1981); or reduce oxygen content under the cake. When spores are distributed within the cake, those phenomena are still present but less pronounced.

The experimental results suggest limiting the volume of water filtered as a function of the quality of the water, as is the case for coliform detection (Geldreich *et al.* 1978; Herson and Victoreen 1980; LeChevallier *et al.* 1981). The extent of the impact of the cake can be estimated approximately by a factor relating the filtered volume and the turbidity. Our results suggest that the recovery of *B. subtilis* spores by membrane filtration is less affected by the influence of the cake than the recovery of coliforms (Geldreich *et al.* 1978; Herson and Victoreen 1980; LeChevallier *et al.* 1981). Taking into account the low concentrations of ASFB spores typically found in treated or distributed water (<10 spores/L), the use of larger volumes than those suggested in the literature is desirable. Increasing the volume of filtered water may cause a reduction in the recovery of ASFB spores if the turbidity of the water is too high. In the case of coliform measurement by membrane filtration, it is suggested that the sample be split when turbidity is high but specific values are not proposed (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 1998). It is also desirable, to avoid multiplication the number of filtrations and unduly burden the analyst. Using the acceptable value of recovery of 75% proposed by Hijnen *et al.* (2000), based on our results, it is proposed to limit the volume filtered (V) as a function of turbidity (NTU), according to the following relation: $\text{Volume (mL)} \times \text{Turbidity (NTU)} = 500$. This limit correspond to 5 NTU for a 100 mL sample, a value which has already been validated for coliforms (LeChevallier *et al.* 1981). It should be noted that the above criterion constitutes a limit that is specific to the waters studied.

3.6.2 Aggregation or colonization phenomenon requiring dispersion

Results in soil suspension show a great deal of heterogeneity in the distribution of ASFB spores in a soil suspension when it is estimated (Figure 3.3). For this reason, a large number of replicates (>3) is desirable in order to determine the concentration of ASFB spores in a soil. The use of Tween[®] 80 does not improve the recovery of ASFB in accordance with Germida (1993). These results suggest that spores of ASFB are not significantly aggregated in the soil suspension studied.

The impacts of homogenization and surfactant on the recovery of ASFB spores in the hydrant flushing water samples differ from the impact observed on the soil suspension. The addition of surfactant reveals wide variability in spore distribution in the water from hydrants, greater than that observed in coagulated waters by Gale et al. (1997). The results observed are in agreement with those of Morin et al. (1997) who suggest that aggregation phenomena increases in the distribution system. The experimental results show that a triple manual inversion will ensure a significantly higher recovery. For the hydrant flushing water used, the addition of a surfactant maximizes recovery. But, the absence of a significant difference between samples MI-T0.1%-C, MI-T1%-B and MI-T1%-C (Mann-Whitney U-Test $p > 0.5$) suggests that a Tween[®] 80 concentration of 0.1%, as used by Gale et al. (1997), is sufficient. Increasing the concentration of surfactant beyond 0.1% does not either increase the recovery of *Aspergillus spp.* (Gomez-Lopez et al. 2005). Moreover, a concentration of Tween[®] 80 of more than 0.1% is more likely to cause foaming. Finally, the high variability of dispersed samples especially the distribution of ASFB spores in triplicates bottles strongly suggest the presence of one or more aggregates or particles colonized by ASFB spores. This substantial heterogeneity is similar to that observed for *Cryptosporidium* (LeChevallier et al. 2003).

3.7 Conclusion

A number of parameters influence the recovery of ASFB spores. Having a significant effect is particle load, which can result in a major reduction in spore recovery. Copper can also inhibit the growth of bacteria, if it is available. The impact of the presence of a cake is difficult to predict based on its composition, and so, for tap water, it is suggested to limit the volume filtered as a function of the turbidity of the water, according to the relation: $\text{Volume (mL)} \times \text{Turbidity (NTU)} = 500$.

The presence of aggregates or colonized particles can also lead to an underestimation of the number of ASFB spores in a sample of flushing water. The beneficial effects of a dispersion method which combines a homogenization and the addition of a surfactant are apparently specific to the type of water involved. The influencing factors studied are dependent on the use a culture method for counting spores of ASFB. In spite of these limitations, it should be possible to compare counts that coming from different samples when pre-treatment procedures are kept constant. Improvements in the detection method could, however, be considered. Lower temperature as used for environmental HPCs could be used. Finally, the development of a counting method using solid phase cytometry (Chemsan[®]) or micro-flow imaging (MFI) particle analysis (Brightwell[®]) could also be of interest, and permit the direct observation of aggregates.

3.8 Acknowledgments

This research was supported by the Canadian Water Network. The author would like to thank the staff of the NSERC Industrial Chair on Drinking Water, specially Mélanie Rivard and Yves Fontaine, for their valuable assistance. The authors would like to acknowledge the assistance of Manon Leduc and Christian Dallaire at École Polytechnique for the metal analysis and Jean-François Therrien from the City of Laval for the field works.

3.9 References

- Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., Prévost, M. & Duchesne, D. 1997 A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* **43**, 976-980.
- Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, C. & Prévost, M. 1999 Examining the use of aerobic spore-forming bacteria to assess the efficiency of chlorination. *Wat. Res.* **33**, 2941-2948.
- Barbeau, B., Desjardins, R., Mysore, C. & Prévost, M. 2005 Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters. *Wat. Res.* **39**, 2024-2033.
- Besner, M.-C., Cartier, C., Morissette, C., Aubin, A., Payment, P. & Prévost, M. 2005 Water quality variations during repairs of pipe leaks. *Proceedings of the AWWA Water Quality Technology Conference*, Quebec City, Quebec, Canada, November 2005.
- Borst, M. & Selvakumar, A. 2003 Particle-associated microorganisms in stormwater runoff. *Wat. Res.* **37**, 215-223.
- Brar, S. K., Verma, M., Barnabe, S., Tyagi, R. D., Valero, J. R. & Surampalli, R. 2005 Impact of Tween 80 during *Bacillus thuringiensis* fermentation of wastewater sludges. *Process Biochemistry* **40**, 2695-2705.
- Brown, R. A. & Cornwell, D. A. 2005 Utilizing spore removal to monitor plant performance for *Cryptosporidium* removal. *Proceedings of the AWWA Annual Conference*, San Francisco, California, June 2005
- Camper, A. K., LeChevallier, M. W., BroadAway, S. C. & McFeters, G. A. 1985 Evaluation of procedures to desorb bacteria from granular activated carbon. *J. Microbiol. Met.* **3**, 187-198.
- Cartier, C., Prévost, M., Barbeau, B., Besner, M. C. & Morissette, C. (Submitted) Evaluation of ASFB spores as indicators of intrusion in full-scale distribution systems. *J. Am. Wat. Wks. Assoc.*

- Critchley, M. M., Cromar, N. J., McClure, N. & Fallowfield, H. J. 2002 Biofilms in copper plumbing systems: Sensitivity to copper and chlorine and implications for corrosion. *Wat. Sci. Techno.: Water Supply* **2**, 81-87.
- Demain, A. L. & Solomon, N. A. 1985 Biology of industrial microorganisms. Stoneham, MA, USA, Benjamin-Cummings Publishing Company.
- Francis, C. A., Lockley, A. C., Sartory, D. P. & Watkins, J. 2001 A simple modified membrane filtration medium for the enumeration of aerobic spore-bearing bacilli in water. *Wat. Res.* **35**, 3758-3761.
- Frobisher, M. 1968 Fundamentals of Microbiology. An introduction to the microorganisms with special reference to the procaryons (8th Edition). 629. Philadelphia, USA, W. B. Saunders Company.
- Gale, P., van Dijk, P. A. H. & Stanfield, G. 1997 Drinking water treatment increases micro-organism clustering; the implications for microbiological risk assessment. *Journal of Water Supply: Research and Technology* **46**, 117-126.
- Galofré, B., Israel, S., Dellunde, J. & Ribas, F. 2004 Aerobic bacterial spores as process indicators for protozoa cysts in water treatment plants. *Water Science and Technology* **50**, 165-172.
- Geldreich, E. E., Allen, M. J. & Taylor, R. H. 1978 Interferences to coliform detection in potable water supplies. In: *Evaluation of the microbiology standards for drinking water*, C.W. Hendricks (ed.) United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA pp. 13-20.
- Germida, J. J. 1993 Cultural Methods for soil microorganisms (Chapter 27). In: *Soil Sampling and Methods of Analysis*, M.R. Carter, Ed. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers, pp. 263-272.
- Gibbs, S. G., Meckes, M. C., Green, C. F. & Scarpino, P. V. 2004 Evaluation of the ability of chlorine to inactivate selected organisms from the biofilm of a drinking water distribution system simulator following a long-term wastewater cross-connection. *Journal of Environmental Engineering and Science* **3**: 97-105.
- Gibbs, S. G., Meckes, M. C. & Scarpino, P. V. 2003 The effect of long-term

- wastewater cross-connection on the biofilm of a simulated water distribution system. *Journal of Environmental Engineering and Science* **2**, 85-98.
- Gomez-Lopez, A., Aberkane, A., Petrikkou, E., Mellado, E., Rodriguez-Tudela, J. L. & Cuenca-Estrella, M. 2005 Analysis of the influence of Tween concentration, inoculum size, assay medium, and reading time on susceptibility testing of *Aspergillus* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **43**, 1251-1255.
- Hassen, A., Saidi, N., Cherif, M. & Boudabous, A. 1998 Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology* **64**, 7-15.
- Herson, D. S., Marshall, D. R., Baker, K. H. & Victoreen, H. T. 1991 Association of microorganisms with surfaces in distribution systems. *J. Am. Wat. Wks. Assoc.* **83**, 103-106.
- Herson, D. S. & Victoreen, H. T. 1980 United States Environmental Protection Agency. Municipal Environmental Research Laboratory. Office of Research and Development.
- Hijnen, W. A. M., Van Veenendaal, D. A., Van Der Speld, W. M. H., Visser, A., Hoogenboezem, W. & Van Der Kooij, D. 2000 Enumeration of faecal indicator bacteria in large water volumes using on site membrane filtration to assess water treatment efficiency. *Wat. Res.* **34**, 1659-1665.
- Huertas, A., Barbeau, B., Desjardins, C., Galarza, A., Figueroa, M. A. & Toranzos, G. A. 2003 Evaluation of *Bacillus subtilis* and coliphage MS2 as indicators of advanced water treatment efficiency. *Wat.Sci. Technol.* **47**, 55-259.
- Karim, M. R., Abbaszadegan, M. & LeChevallier, M. 2003 Potential for pathogen intrusion during pressure transients. *J. Am. Wat. Wks. Assoc.* **95**, 134-146.
- LeChevallier M.W., Di Giovanni, G. D., Clancy, J. L., Bukhari, Z., Bukhari, S., Rosen, J. S., Sobrinho, J. & Frey, M. M. 2003 Comparison of method 1623 and cell culture-PCR for detection of *Cryptosporidium* spp. in source waters. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 971-979.
- LeChevallier, M. W. 1990 Coliform regrowth in drinking water: a review. *J. Am. Wat. Wks. Assoc.* **82**, 74-86.
- LeChevallier, M. W., Evans, T. M. & Seidler, R. J. 1981 Effect of turbidity on

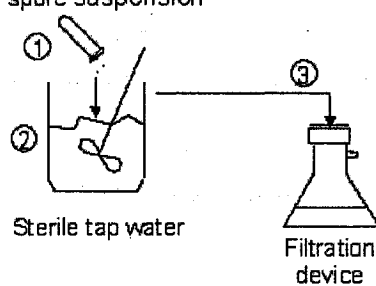
- chlorination efficiency and bacterial persistence in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**, 159-167.
- Madge, B. A. Evaluation of wastewater solids and their relevance in ultraviolet disinfection.thesis, University of New York at Buffalo.
- Mazoua, S. & Chauveheid, E. 2005 Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. *Wat. Res.* **39**, 5186-5198.
- Morin, P., Gauthier, V., Saby, S. & Block, J.-C. 1997 Bacterial resistance to chlorine through attachment to particles and pipes surfaces in drinking water distribution systems. *Proceedings of the Royal Society of Chemistry*. Warwick, United Kingdom. April 1997.
- Nieminski, E. C. & Bellamy, W. D. 2000 Application of surrogate measures to improve treatment plant performance. American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association No. 90811.
- Nieminski, E. C., Bellamy, W. D. & Moss, L. R. 2000 Using surrogates to improve plant performance. *J. Am. Wat. Wks. Assoc.* **92**, 67-78.
- Oliver, E. D. & Harbour, J. D. 1995 Speciation of coliforms isolated from sediments in brown water released during a flushing program undertaken by the Seattle water department. *Proceedings of the AWWA Water Quality Technology Conference*, New Orleans, Louisiana, November 1995.
- Ormecci, B. & Linden, K. G. 2005 Comparison of physical and chemical methods for extraction of coliform from wastewater particles and flocs. *Environmental Engineering and Science* **22**, 459-471.
- Rice, E. W., Covert, T. C., Wild, D. K., Berman, D., Johnson, S. A. & Johnson, C. H. 1993 Comparative resistance of escherichia coli and enterococci to chlorination. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **28**, 89-97.
- Rice, E. W., Fox, K. R., Miltner, R. J., Lytle, D. A. & Johnson, C. H. 1996 Evaluating plant performance with endospores. *J. Am. Wat. Wks. Assoc.* **88**, 122-130.
- Ridgway, H. F. & Olson, B. H. 1982 Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**, 972-987.

- Rogers, J., Dowsett, A. B., Dennis, P. J., Lee, J. V. & Keevil, C. W. 1994 Influence of temperature and plumbing materials selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in model potable water systems contaminating complex microbial flora. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 1585-1592.
- Rompré, A., Prévost, M., Coallier, J. & Servais, P. 1998 Impact of reducing biodegradable organic matter on fixed and suspended biomass in distribution systems (Chapter 4). American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association, Denver, Colorado, USA pp. 57-120.
- Standard methods for the examination of water and wastewater 1998. 20th edition, American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington, DC.
- Utgikar, V. P., Tabak, H. H., Haines, J. R. & Govind, R. 2003 Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc on mixed cultures of sulfate-reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering* **82**, 306-312.
- Versteegh, J. F., Havelaar, A. H., Hoekstra, A. C. & Visser, A. 1989 Complexing of copper in drinking water samples to enhance recovery of *Aeromonas* and other bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* **67**, 561-566.
- Williams, M. M. & Donlan, R. M. 2005 *Mycobacterium fortuitum* biofilm formation on water distribution pipe materials. *Proceedings of the AWWA Water Quality Technology Conference*, Quebec City, Quebec, Canada, November 2005.
- Zacheus, O. M., Lehtola, M. J., Korhonen, L. K. & Martikainen, P. J. 2001 Soft deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. *Wat. Res.* **35**, 1757-1765.

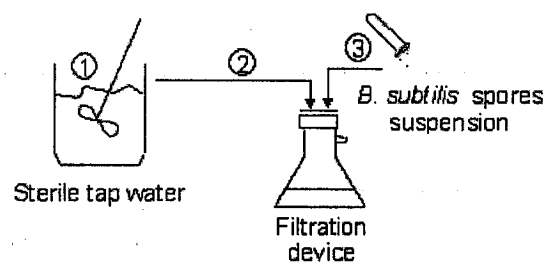
3.10 Tables and figures

Case A

B. subtilis spore suspension



Case B



Case C

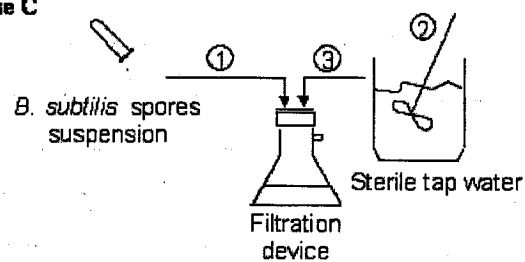


Figure 3.1 Schematic representation of the three types of *B. subtilis* seeding

Tableau 3.1 Percentage recovery of *B. subtilis* spores; particle composition and accumulation

Sample	Case	Volume (L)	Mean	Mann-Whitney U-test	Solids accumulated on the filter	Metal accumulation in the filter cake ($\times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{cm}^2$)				
			N/N ₀	p value <0,05	SS ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Cu	Zn	Fe	Mn	Pb
1	A	1	78%	S	13.8	11	41	69	9	<6
	A	5	40%	S	69.2	233	79	817	24	<6
	B	1	63%	S	-	16	43	79	8	<6
	B	5	11%	S	-	349	52	817	18	<6
	C	1	55%	S	-	ND	ND	ND	ND	ND
	C	5	18%	S	-	ND	ND	ND	ND	ND
2	A	1	61%	S	5.0*	35	38	128	8	<6
	A	5	70%	S	25.2*	192	81	692	19	<6
	B	1	66%	S	-	38	46	242	12	<6
	B	5	67%	S	-	399	53	629	14	<6
	C	1	71%	NS	-	ND	ND	ND	ND	ND
	C	5	73%	S	-	ND	ND	ND	ND	ND

Mann-Whitney U-Test, null hypothesis: [spores] Petri dish = [spores] injected

S: significant NS: Non significant

- : Not required

* Turbidity of sample is 0.36 NTU

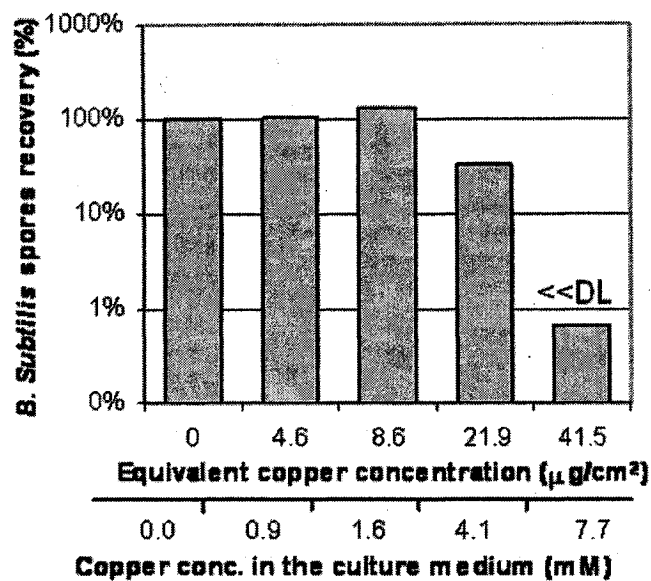


Figure 3.2 Recovery of *B. subtilis* spores as a function of the concentration of copper in the nutrient medium

n= 4 for each concentration of copper

<< DL= under the detection limit

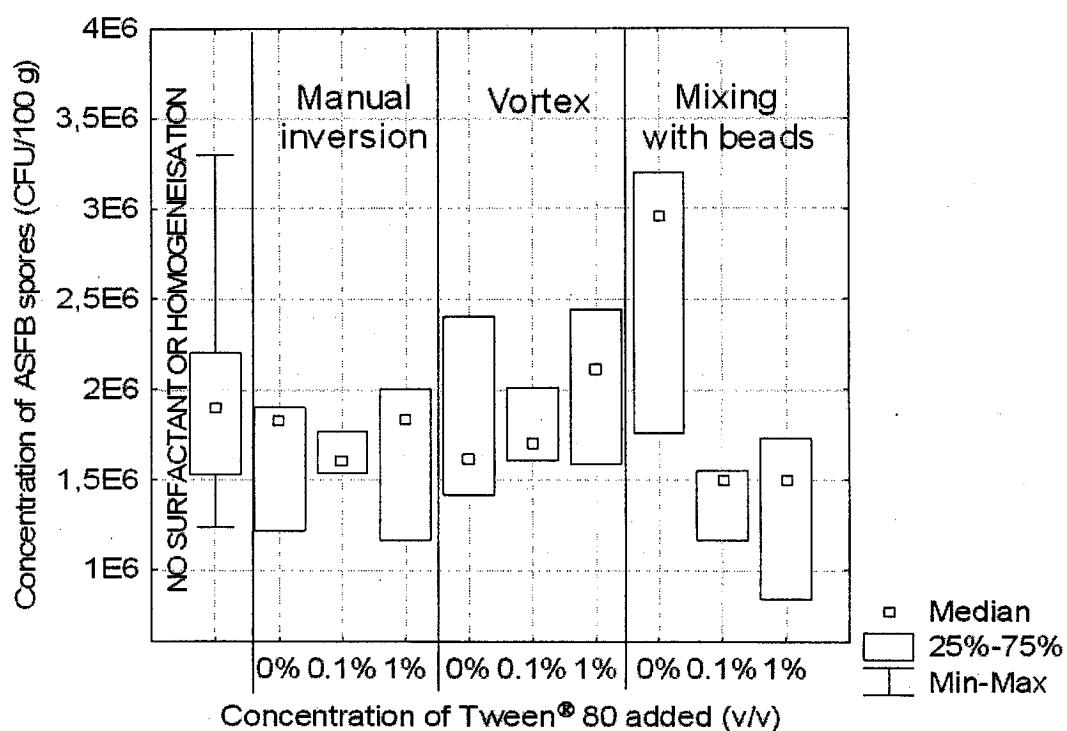


Figure 3.3 Number of spores of ASFB in a soil suspension according to the type of homogenization and the concentration of Tween® 80 added

Homogenization: MI= manual inversion, V=vortex, MB=mixing with beads

Tween® 80 concentration (v/v): 0 (0%); 0.1% (T 0.1%); 1% (T 1%)

(n=3 for each category, except n=15 for the category without surfactant and without mode of homogenization)

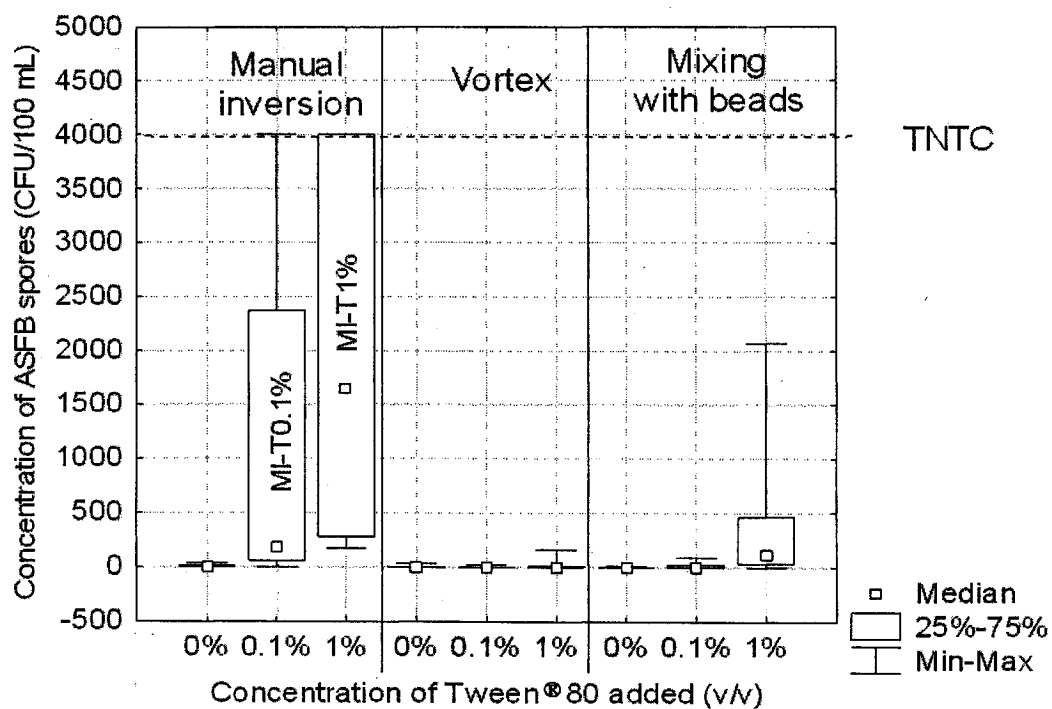


Figure 3.4 Number of spores of ASFB in the flushing water according to the type of homogenization and the concentration of Tween® 80 added

Homogenization: MI=manual inversion, V=vortex, MB=mixing with beads

Tween® 80 concentration (v/v): 0% (T 0%); 0.1% (T 0.1%); 1% (T 1%)

(n=25 for each category)

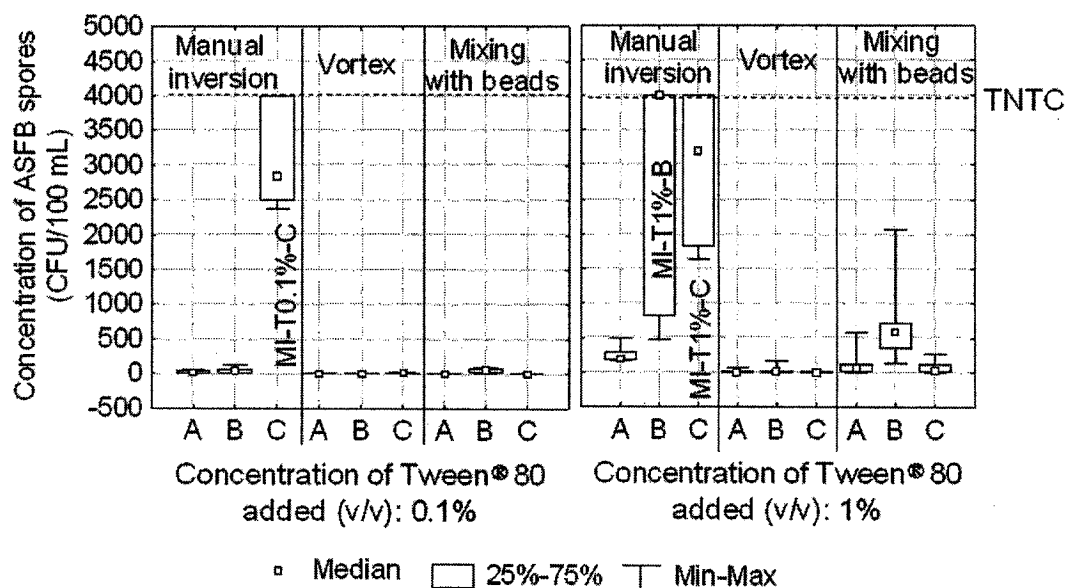


Figure 5 Number of spores of ASFB in the flushing water according to the type of mixture and a concentration of Tween® 80 (v/v) of 0.1% and 1%

Homogenization: MI= manual inversion, V=vortex, MB=mixing with beads

Tween® 80 concentration (v/v) : 0.1% (T 0.1%); 1% (T 0.1%)

(n=9 for bottles A and B and n=7 for bottles C)

**Chapitre 4: *Évaluation des spores de bactéries sporulantes
aérobies comme indicateur d'intrusion dans un
réseau de distribution d'eau potable***

Afin de mieux comprendre le risque de contamination lié à une réparation de conduite, il est essentiel d'en connaître plus sur l'importance de l'intrusion susceptible de se produire pendant une réparation de conduite, une intrusion de sol. Pour cela, l'utilisation d'un indicateur de l'intrusion est requise. Ce paramètre correspondrait donc à un indicateur de gestion des pratiques suivies lors des réparations de conduites. Un bon indicateur devrait correspondre aux critères élaborés par Bonde (1966). En ce sens, différents paramètres physico-chimique et microbiologiques ont été investigués comme indicateur : la turbidité, la conductivité, les coliformes totaux et fécaux, les actinomycètes et les spores de BSA. L'utilisation des actinomycètes semble également adéquate mais la méthode de mesure est particulièrement complexe et comprend une incubation d'au moins 5-7 jours, ce qui ne semble pas approprié dans les circonstances (i.e. mesure par du personnel de laboratoires municipaux et réponse rapide en cas de contamination). La présence de spores de BSA en forte concentration dans tous les échantillons de sol étudiés et les faibles concentrations retrouvées typiquement à l'eau traitée suggèrent que ce microorganisme est le plus approprié pour l'étude. Le contenu du chapitre qui suit sera éventuellement soumis à une revue scientifique traitant du domaine d'étude. Cet article porte sur le thème central de ce projet à savoir l'évaluation des spores de bactéries sporulantes aérobies (BSA) comme indicateur d'intrusion de sol pendant les réparations de conduite. Cette étude comprend différentes comparaisons statistiques effectuées entre les concentrations en spores de BSA dans différentes eaux provenant d'un même réseau de distribution d'eau potable. L'utilisation d'indicateur microbiologique pour mesurer des événements de contamination transitoire est complexe. Les résultats de cette étude démontrent néanmoins qu'elle est possible. La méthodologie et les résultats présentés dans le cadre de cette étude pourront éventuellement être réutilisés afin d'estimer le

risque de contamination et de préciser les bonnes pratiques durant les réparations de conduites.

Evaluation of ASFB as indicators of intrusion in full-scale distribution systems

**CLEMENT CARTIER¹, MARIE-CLAUDE BESNER¹, BENOIT BARBEAU¹,
CHANTAL MORISSETTE², MICHELE PREVOST^{1*}**

¹ École Polytechnique de Montréal, Département de Génie Civil, Géologique et des Mines, CP 6079, Succ. Centre-ville, Montréal (Québec), Canada, H3C 3A7

*Auteur à contacter: Tel:1(514) 340 4711 (5924), Fax: 1 (514) 340 5918,

E-mail:michele.prevost@polymtl.ca

² Ville de Montréal, Service des infrastructures, transport et environnement, Gestion stratégique des réseaux d'eaux, Montréal (Québec) H3A 3P1

4.1 Résumé

L'objectif de cette étude est de valider la possibilité d'utiliser les spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol lors de réparation de conduite. La mesure des spores de BSA a été faite de manière mensuelle pour un réseau de distribution à trois sites (usine et 2 points en bout de réseau). La concentration de spores de BSA n'est pas significativement différente aux trois sites ($p = 0,70$) et elle est en moyenne de 0,13 UFC/100 mL (entre 0 et 1,3 UFC/100 mL). Pour les échantillons de 2 litres, le dénombrement des spores de BSA en réseau peut être représentée par une loi géométrique avec la probabilité d'obtenir une concentration supérieure à 10 UFC/100 mL inférieure à 10^{-10} . La concentration de spores de BSA dans l'eau de rinçage de routine est plus importantes (7 UFC/100 mL en moyenne). Il y a donc colonisation des particules présentes dans les réseaux de distributions par les spores de BSA ou agrégation dans le biofilm. Des concentrations significativement plus importantes (jusqu'à 400 UFC/100 mL) ont été mesurées dans des échantillons d'eau prélevés lors de vidange effectuée suite à des réparations de conduites (Mann-Whitney U-test; 2 X : $p < 0,05$; 2 X : $p < 0,10$). L'hypothèse la plus plausible est que ces échantillons contenaient une fraction de suspension de sol ayant une forte concentration de spores

de BSA. Pour le réseau étudié, il est donc possible d'utiliser les spores de BSA comme indicateur de gestion d'intrusion de sol pendant les réparations de conduites.

4.2 Introduction

4.2.1 Impact du réseau de distribution sur la santé

Certaines études suggèrent que la dégradation de la qualité de l'eau durant sa distribution serait à l'origine de 20% à 30% des maladies d'origine hydriques (Payment, Siemiatycki et al. 1997, Craun et Calderon 2001, Blackburn, Craun et al. 2004). Les causes exactes de la dégradation ne sont pas toujours déterminées et sont probablement multi-factorielles. Des études récentes (Lahti et Hiisvirta 1995, Semenza, Roberts et al. 1998, Craun et Calderon 2001, Besner, Gauthier et al. 2002a, Hunter, Chalmers et al. 2005) proposent un lien entre l'occurrence d'événements de basses pressions ou de pressions négatives et certaines épidémies ou la détection d'indicateurs tels que les coliformes totaux. Ils soulignent l'importance de conserver en tout temps une pression positive dans le réseau de distribution. Dans certains cas, comme durant des réparations de conduites, le système est en contact avec l'extérieure et donc sujet à la contamination directe. Même lorsque la réparation est faite sous pression, il est possible que la pression maintenue dans la conduite ne soit pas suffisante pour empêcher une intrusion. De plus, certaines opérations effectuées sur un réseau de distribution peuvent entraîner le développement de pressions transitoires, lesquels peuvent engendrer des impacts négatifs sur la qualité de l'eau (Kirmeyer, Friedman et al. 2000, LeChevallier, Gullick et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2004, Gullick, LeChevallier et al. 2005, Boulos, Karney et al. 2005). Il est probable que des événements de contamination transitoire directe ou via des intrusions d'eaux contaminées soient associés à des opérations de réparation et de remplacement de conduites. Ainsi, deux épidémies rapportées dans la littérature ont été associées à des réparations de conduites (Geldreich, Fox et al. 1992, Deshayes, Schmitt et al. 2001). Dans le cas des réparations de conduites, la principale source de contamination provient de l'intrusion d'eau et/ou de sol contaminés par des microorganismes ou des composés chimiques présents dans la tranchée autour de la conduite et dans l'excavation. La fréquence et l'importance d'événements de contamination de ce type

sont difficiles à quantifier. Il serait souhaitable de pouvoir compter sur un indicateur de la qualité de l'eau représentatif de ce type de contamination.

4.2.2 Choix d'un indicateur de contamination

L'indicateur recherché vise à détecter une contamination suite à une réparation de bris ou suite à une intrusion pendant une période de pression transitoire. Tel que décrit par (Bonde, 1966), un indicateur de contamination idéal est : (1) présent à tous les endroits où la contamination a lieu; (2) présent en plus grande concentration que le microorganisme pathogène entraînant la contamination; (3) plus résistant que le pathogène à la désinfection et à l'environnement; (4) facile à mesurer et à identifier clairement; (5) distribué uniformément dans les échantillons; et (6) non affecté par la présence d'organismes compétiteurs. Enfin, il est également souhaitable que l'indicateur sanitaire soit présent dans l'eau d'une manière proportionnelle au degré de risque pour la santé (National Research Council of the National Academies 2004).

Pour détecter une contamination fécale, la détection de coliformes fécaux ou de *Escherichia coli* demeure l'approche privilégiée (Medema, Shaw et al. 2003, Gouvernement du Québec 2005). *E. coli* est un bon indicateur de contamination fécale car il est présent lors des contaminations importantes et sa mesure est peu coûteuse, simple et peut être couramment utilisée. L'utilisation directe des pathogènes est plus complexe : en raison de leurs faibles concentrations, elle nécessite des grands volumes d'eau, des méthodes sophistiquées, entraînant des délais et des coûts élevés (Medema, Shaw et al. 2003). L'utilisation des coliformes totaux comme indicateurs d'intrusion dans le réseau est limitée par le fait que leur présence n'est pas systématique dans les échantillons de sol et d'eau de tranchée à proximité des conduites (Karim, Abbaszadegan et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2005). Par ailleurs, la présence de coliformes totaux dans l'eau distribuée n'est pas nécessairement indicatrice de contamination (Besner, Gauthier et al. 2002b). Enfin, l'occurrence de certains parasites, comme *Cryptosporidium*, n'est pas nécessairement corrélée à la présence de

coliformes totaux dans les réseaux de distribution (Craun, Berger et al. 1997) ou de coliformes totaux et fécaux en eaux de surface (Chauret, Armstrong et al. 1995). De plus, la présence d'un résiduel de chlore peut inactiver certains pathogènes et les principaux indicateurs, tels que *E. coli* ou les coliformes totaux, sans toutefois être indicative d'une désinfection adéquate. Ainsi, le chlore résiduel en réseau peut même masquer des problèmes de contamination lorsque le suivi est effectué avec des indicateurs sensibles au chlore (Payment, 1999, van der Kooij, van Lieverloo et al. 1999).

4.2.3 Les spores de BSA comme indicateur d'intrusion dans les réseaux

L'objectif principal de l'application de l'indicateur proposé est de détecter une intrusion ou une contamination du réseau suite à une réparation de bris. Il serait aussi souhaitable que cet indicateur permette de préciser s'il s'agit d'une contamination fécale ou, mieux encore, spécifiquement indiquer le type de pathogènes présents. Malheureusement, cette distinction est difficile à établir et peu fiable lorsqu'il s'agit d'une contamination par des eaux de tranchée. Dans ce cas, le choix d'un indicateur de présence de sol apparaît adéquat comme indicateur de gestion lors de la réparation de bris de conduite. Un tel indicateur permettrait de valider le risque d'intrusion et de préciser les bonnes pratiques pour minimiser l'entrée de contaminants éventuels provenant d'une tranchée dans l'eau de distribution. Comme l'intrusion d'une suspension de sol est une voie de contamination très probable, l'indicateur de cette intrusion devrait être présent en grand nombre dans le sol et en faible concentration dans les eaux traitées. Deux groupes de microorganismes provenant du sol sont utilisés comme paramètres d'analyses dans le domaine de l'eau:

- 1) **les actinomycètes** sont utilisés comme indicateur de fuite dans le sol autour de conduites d'égouts (Dizer et Hagendorf 1991) et comme indicateur de contamination de réseau de distribution d'eau potable suite à des bris majeurs de conduites (Barbeau, Prévost et al. 1999). La présence d'actinomycètes a également été décelée dans les dépôts meubles présents dans certains réseaux de distribution d'eau potable (Ridgway et Olson 1982, Zacheus, Lehtola et al. 2001) diminuant la qualité de ce microorganisme comme indicateur d'intrusion dans ces systèmes. Les actinomycètes sont également des organismes résistants au chlore résiduel (Ridgway et Olson 1982). La mesure des actinomycètes nécessite une incubation entraînant un délai minimum de 5 -7 jours avant d'obtenir les concentrations. Ce délai peut atteindre 14 jours pour avoir la concentration exacte.
- 2) **les spores de BSA** sont couramment utilisées pour valider l'efficacité des traitements en usines en raison de leur présence en grand nombre et de leur résistance aux désinfectants (Rice, Fox et al. 1996, Barbeau, Boulos et al. 1997, Nieminski, Bellamy et al. 2000, Huertas, Barbeau et al. 2003, Galofré, Israel et al. 2004, Mazoua et Chauveheid 2005, Brown et Cornwell 2005). De plus, la mesure des spores de BSA est relativement simple, peu coûteuse, requiert une période d'incubation plus courte (≈ 24 heures) et peut être complétée par du personnel peu spécialisé. La concentration de spores de BSA dans l'eau traitée varie en fonction de la source et du traitement mais elle peut être établie sous forme de distribution statistique (Gale, van Dijk et al. 1997). Les concentrations en spores de BSA à l'eau traitée peuvent varier significativement : 0,5-500 UFC/100 mL (Gale, van Dijk et al. 1997); 0,5-50 UFC/100 mL (Nieminski, Bellamy et al. 2000); 0-3 UFC/100 mL (Mazoua et Chauveheid 2005); 1-20 UFC/100 mL (Brown et Cornwell 2005). Lors du changement de température enregistré à l'automne et au printemps dans les régions nordiques, on peut assister à une brusque variation de la qualité de

l'eau due au phénomène d'inversion thermique des masses d'eau (pour les lacs) et à la crue printanière des eaux (pour les rivières). Durant ces périodes, il peut y avoir une augmentation de la concentration en spores de BSA de l'ordre 100 X dans l'eau distribuée (Gauthier, Barbeau et al. 2003).

Le réseau de distribution peut aussi être considéré comme un écosystème contenant un ensemble de microorganismes, dont des spores de BSA. Le biofilm et les dépôts meubles peuvent contenir des concentrations variables de spores de BSA. Les dépôts meubles provenant des rinçages de borne-fontaine peuvent être colonisés par de nombreuses bactéries dont des coliformes totaux (Herson, Marshall et al. 1991, Oliver et Harbour 1995). Certaines études soulignent la colonisation du biofilm par des spores (Gibbs, Meckes et al. 2003, Gibbs, Meckes et al. 2004) ou des bactéries du genre *Bacillus* (LeChevallier, Lowry et al. 1990, Rompré, Prévost et al. 1998). Ces sources de spores de BSA pourraient, selon les conditions hydrauliques présentes, contribuer aux concentrations de spores de BSA mesurées dans le réseau durant son opération normale et durant des opérations de rinçage ou de réparation.

L'objectif principal de cette étude est de déterminer la validité de l'utilisation des spores de BSA comme indicateur de contamination par intrusion durant des réparations de bris de conduites. En premier lieu, un suivi de la concentration de spores dans un réseau de taille réelle est présenté pour établir les concentrations de spores de BSA de référence. Ensuite, des essais sont effectués afin de déterminer les concentrations maximales de spores de BSA mesurées dans des eaux de rinçage de routine en échantillonnant à même la borne-fontaine. Cette étape permet de définir la contribution potentielle du biofilm et des sédiments colonisés aux concentrations de BSA. Finalement, les concentrations de spores de BSA observées dans l'eau de réseau, l'eau de rinçage de conduite et des échantillons susceptibles d'avoir été contaminés pendant une réparation de conduite sont comparées statistiquement.

4.3 Matériel et méthodes

Trois types d'eau ont été étudiés:

1. des échantillons d'eau en provenance du réseau de distribution du réseau de la ville de Laval, sur le territoire desservi par l'usine de Chomedey (capacité nominale de 180 000 m³/d). Les procédés de traitement comprennent une coagulation (alun et silice activée), une floculation, une décantation, une filtration bicouche (sable, anthracite), une ozonation, une chloration et un ajustement de pH par ajout de chaux.
2. des échantillons d'eau provenant de rinçage de conduites pendant des opérations de routine et prélevés à la borne-fontaine vidangée.
3. des échantillons d'eau prélevés lors de réparations de conduites. Ces échantillons ont été prélevés suite à la remise en service de la conduite chez le consommateur ou à la borne-fontaine utilisée pour rincer la conduite réparée.

L'eau distribuée a été échantillonnée à trois points spécifiques, soit à la sortie de l'usine de traitement, et à deux points servant aux prélèvements hebdomadaires de la municipalité pour le contrôle réglementaire (point A et point B). Le point A est situé sur une conduite de fonte grise de 100 mm de diamètre. Le temps de séjour à ce point est de 15 à 20 heures selon les simulations hydrauliques effectuées (EPANET 2.0, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.). Le point B est situé sur une conduite de fonte grise d'un diamètre de 150 mm. Le temps de séjour varie de 15 à 32 heures. Les échantillons ont été prélevés mensuellement pendant 12 mois. La température de l'eau varie entre 1,1 et 27 °C pour les trois points d'échantillonnage pendant la période étudiée. Les concentrations en chlore résiduel des trois points d'échantillonnage sont présentées au Tableau 4.1 :

Tableau 4.1: Concentration en chlore aux sites d'échantillonnage pour la période étudiée (année 2005)

	Cl ₂ résiduel	Cl ₂ résiduel min.	Cl ₂ résiduel max.	Mean CT ¹ (at site) (mg×min/L)
Plant (n=353)	1.11	0.68	1.64	-
Point A (n=199)	0.30	0.01	0.75	760
Point B (n=199)	0.02	0.01	0.36	780

1 : CT de chloration depuis la sortie de l'usine

Des échantillons de rinçage de routine sont prélevés sur des bornes-fontaines situées sur des conduites particulièrement corrodées n'ayant pas fait l'objet de rinçage unidirectionnel depuis les dernières années. Cinq campagnes d'échantillonnage ont été complétées sur des sites à proximité de ceux utilisés pour les analyses d'eau du réseau. Pour chaque campagne, les échantillons retenus pour l'analyse sont ceux montrant la plus grande turbidité.

Des échantillons ont aussi été prélevés dans le cadre des réparations de conduites. La prise d'échantillon est répartie à des moments fixés en fonction des opérations effectuées dans le cadre des réparations (fermetures de vanne, ouverture de borne-fontaine, etc.) et des endroits différents sur le site (résidence de consommateur, borne-fontaine). La méthodologie utilisée pour l'échantillonnage est détaillée dans Besner *et al.* (2005). Des échantillons sont prélevés avant chacune des réparations de conduites pour évaluer la qualité de l'eau initiale. Des échantillons sont ensuite prélevés lors du rinçage de la conduite qui fait suite à la réparation au moment du passage d'une contamination éventuelle. Cette estimation a été faite en supposant une mise en

suspension immédiate des spores de BSA, un jet turbulent et un écoulement principalement sous forme piston dans les conduites pendant le rinçage de la borne-fontaine. Cette prise d'échantillon est faite à la borne-fontaine vidangée et à une propriété située sur le tronçon rincé. Même si différents échantillons d'eau sont prélevés à différentes étapes, seuls ceux dont la concentration en spores de BSA est importante sont présentés, par conséquent ils ont tous été prélevés pendant les rinçages de conduites suivant les réparations.

La méthode de filtration membranaire de Barbeau *et al.* (1997) a été utilisée pour dénombrer les spores dans les échantillons d'eau. Lorsque des eaux contenant des concentrations de spores très faibles sont analysées, le nombre de colonies comptées par boîte de Pétri peut être inférieur au nombre recommandé de 20 UFC, correspondant à un intervalle de confiance à 95 % d'environ ± 10 UFC (American Public Health Association (APHA) 1998). Pour améliorer la sensibilité de la mesure, on peut augmenter le volume filtré mais cette augmentation risque d'entraîner une sous-estimation des comptes (Geldreich, Allen *et al.* 1978, Herson et Victoreen 1980, Cartier, Besner *et al.* Submitted). On peut aussi utiliser des surfaces filtrantes plus grandes ou multiplier le nombre de filtrations, tel que conseillé pour la mesure des coliformes totaux par filtration membranaire (American Public Health Association (APHA) 1998). Cette dernière approche a été retenue lors de cette étude. Par contre, l'intervalle de confiance suggéré par l'APHA suppose une distribution suivant une loi de Poisson, ce qui n'a pas été observé dans le cas étudié. Les mesures ont donc été réalisées avec plusieurs réplicats afin d'estimer l'erreur sur la mesure. Le volume maximal pouvant être filtré (V) a été fixé de tel sorte que le produit du volume filtré par la turbidité soit inférieure à 500 (Cartier, Besner *et al.* Submitted). Le nombre de réplicats a été augmenté pour compenser les faibles concentrations. Des prétests ont démontré que l'utilisation de cette relation n'entraînait pas de diminution significative de la récupération des spores de BSA pour les trois types d'eaux étudiées (résultats non-présentés).

Pour déterminer la concentration en spores de BSA dans les échantillons d'eau de réseau, le volume utilisé est généralement de 500 mL, étant donné que la turbidité était inférieure à 1 UTN. Néanmoins, pour un échantillon, le volume a été réduit en fonction de la formule précédente étant donné que la turbidité de l'eau était supérieure à 1 UTN. Pour chaque échantillon, un grand nombre de boîtes de Pétri est utilisé (16-20). Les boîtes de Pétri sont par la suite regroupés en réplicats de 4 de manière aléatoire pour chaque échantillon correspondant à un volume filtré de 2 L par réplicat afin de diminuer la variabilité.

Pour les rinçages de routine, les volumes filtrés sont réduits à 0,8-10 mL et trente filtrations sont effectuées (sauf rinçage 4 : 25 filtrations) afin d'éviter les interférences potentielles liées à l'accumulation de particules sur les filtres. Dans ce cas, la variance estimée à partir des trente concentrations mesurées est très importante. Les unités formatrices de colonies ont été additionnées afin d'obtenir un volume d'eau équivalent de 10 mL, qui correspond au volume minimal utilisé pour les échantillons prélevés durant les réparations. Le nombre de réplicats (groupe de boîtes de Pétri) varie entre 3 et 30.

Pour les échantillons d'eau de rinçage prélevés durant les réparations, le volume filtré pour chaque analyse a été fixé en fonction de la turbidité de la même manière que les autres échantillons étudiés et chaque échantillon est analysé en triplicata.

Pour les échantillons d'eaux provenant de rinçage de routine, les MES et MVES sont mesurés en suivant la procédure décrite à la section 2540 du (American Public Health Association (APHA), 1998) en utilisant des filtres de fibre de verre de 0,7 μm (Whatman 47 mm No.1825047, Maidstone, England) afin de se rapprocher du contenu particulaire du gâteau obtenu sur les filtres d'acétate de cellulose (0,45 μm) utilisés pour la mesure des spores.

Le logiciel Statistica 7 (version 7.0.61.0, StatSoft, USA) est utilisé pour effectuer les différents tests statistiques servant à l'analyse des résultats.

4.4 Résultats

La concentration en spores de BSA a été mesurée dans trois types d'eau: de l'eau distribuée par le réseau (à des points d'échantillonnages utilisés par la ville), de l'eau échantillonnée pendant des rinçages de conduite de routine (prélevée à même la borne-fontaine) et durant des réparations de conduites, à différents endroits sur la section du réseau de distribution attenante (propriétés, borne-fontaine).

4.4.1 Mesure dans l'eau du réseau de distribution

La figure 1 présente le suivi annuel de la concentration de spores aux trois sites du réseau de distribution (31 échantillons au total; 199 répliqués au total). Une concentration maximale de 1300 UFC/100 L a été observée le 10 août 2005 à la sortie de l'usine.

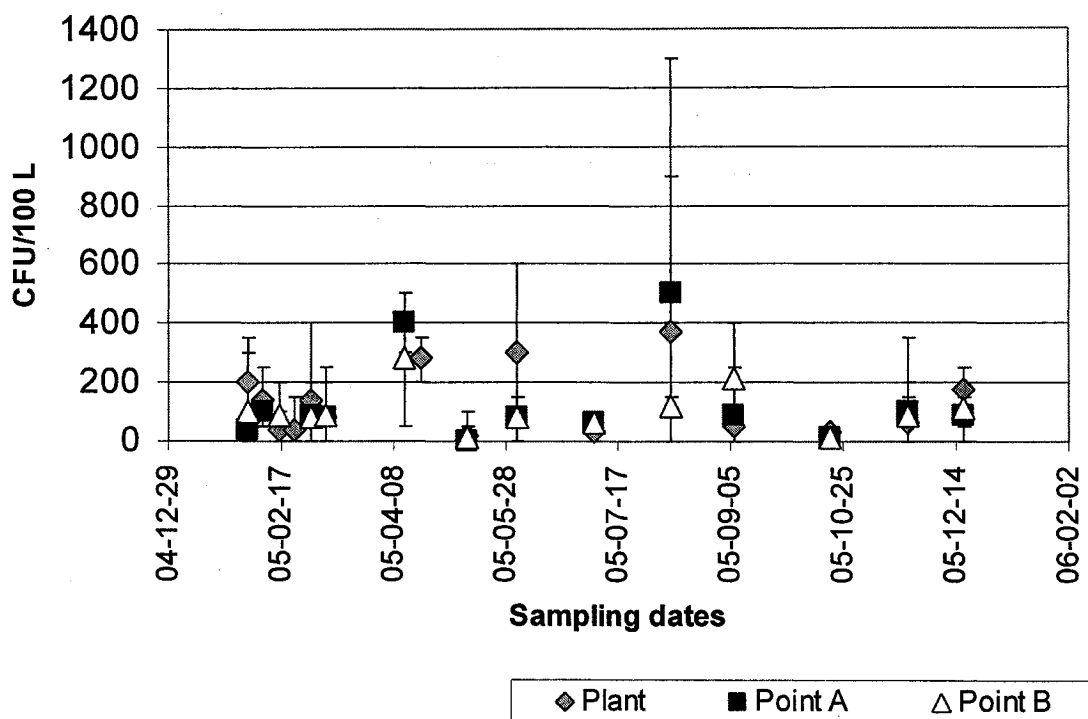


Figure 4.1: Concentration en spores de BSA dans l'eau en sortie d'usine et à deux points sur le réseau de distribution (A et B).

Les barres d'erreur correspondent aux valeurs minimales et maximales observées pour chaque échantillon. Usine : 15 échantillons; Site A : 13 échantillons; Site B : 13 échantillons

Les concentrations de spores aux trois sites ne sont pas significativement différentes (Kruskall-Wallis; $p > 0,70$) malgré une différence au niveau de l'exposition au désinfectant résiduel. Par contre, pour l'ensemble de la période d'étude, les concentrations de spores sont significativement différentes d'un échantillon à l'autre pour chaque site d'échantillonnage (Kruskall Wallis; $p < 0,0001$). Cette hétérogénéité reflète les variations saisonnières de concentration de spores de BSA à la sortie de l'usine qui se répercute sur le réseau. Ainsi, les résultats des trois points d'échantillonnage peuvent être regroupés ensemble pour la suite de l'analyse même si

le temps de séjour entre l'usine et les deux points du réseau est supérieur à 20 heures. La figure 4.2 permet une comparaison entre les résultats combinés des trois points du réseau et la fréquence relative observée pour une distribution géométrique ($p > 0,05$ avec $P=0,30$).

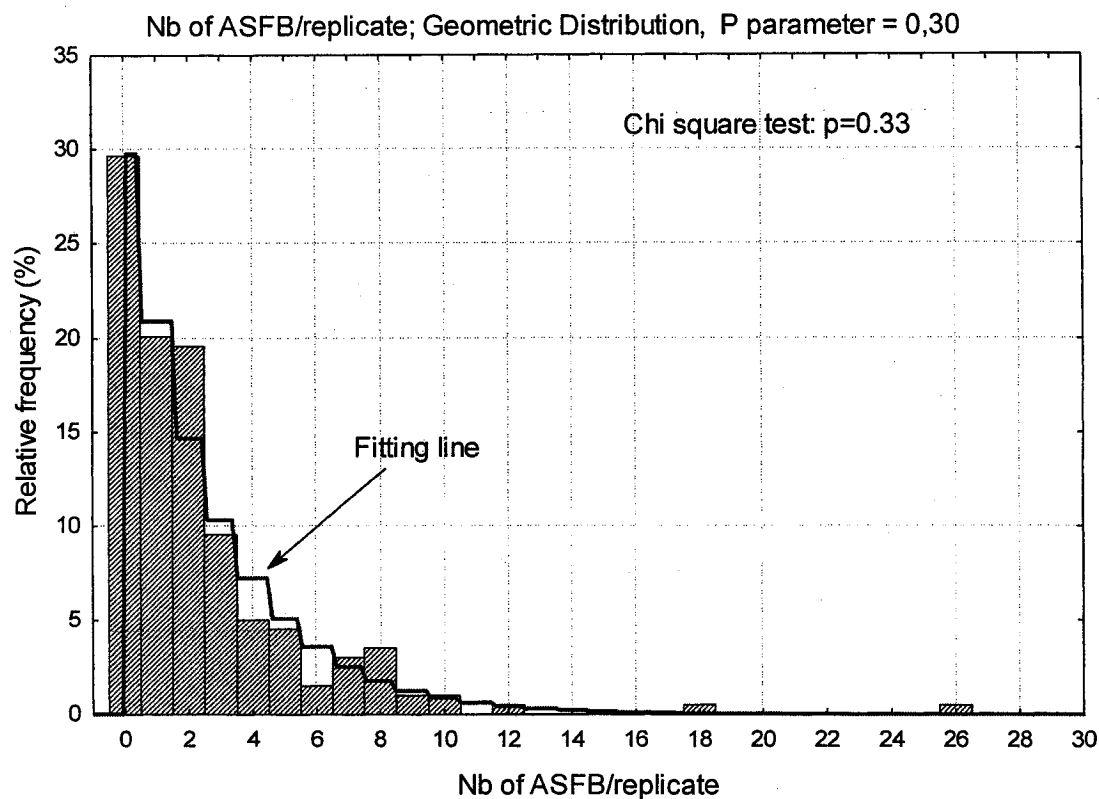


Figure 4.2: Distribution des fréquences relatives du nombre de spores par échantillon pour l'ensemble des trois points d'échantillonnage.

N=31 échantillons et 199 répliqués au total

4.4.2 Mesures des spores de BSA dans les eaux de rinçage de routine en absence de réparation

Comme l'accumulation de particules sur le filtre peut réduire la croissance des BSA (Cartier, Besner et al. Submitted), les dénombrements réalisés sur les eaux de rinçage ont été effectués avec des volumes faibles en raison de la charge importante en particules (MES maximale de 321 mg/L). Le Tableau 4.2 montre les concentrations moyennes de BSA obtenues pour chaque échantillon ainsi que la turbidité et les concentrations de matières en suspension totales et volatiles pour les eaux de rinçages de routine étudiées.

Tableau 4.2: Valeurs de BSA, MES et MVES dans les échantillons d'eau de rinçage de routine

	Pipe material	ASFB ¹ (CFU/ 100 mL)	Filtered volume per replicates (mL)	SS $\pm$ S.D. (mg/L) (3 rep)	VSS $\pm$ S.D. (mg/L) (3 rep)	Turbidity (NTU) 3 rép	Volume (mL) (per dish) x turbidity
FLUSH-1	Cast iron	10,9 (10)	9	107 $\pm$ 1	36 $\pm$ 1	150	450
FLUSH-2	Ductile iron	9,2 (15)	10	56 $\pm$ 3	10 $\pm$ 1	92	460
FLUSH-3	Cast iron	0,0 (3)	8	321 $\pm$ 3	75 $\pm$ 3	500	400
FLUSH-4	Ductile iron	10,0 (25)	10	37 $\pm$ 2	14 $\pm$ 1	46	460
FLUSH-5	Ductile iron	5,6 (6)	9	151 $\pm$ 3	25 $\pm$ 3	260	468

1 : Number in parenthesis denotes the number of replicates

SS: Total suspended solids

VSS: Volatile suspended solids

4.4.3 Mesure des spores de BSA dans les eaux de rinçages pendant les réparations

Pour cette campagne d'échantillonnage réalisée durant les réparations de conduites, 135 échantillons ont été prélevés au total pendant les rinçages de borne-fontaine à différents sites suivant les réparations (borne-fontaine, résidences). De ce groupe, quatre sont considérés pour une analyse plus approfondie. Pour les 131 autres, seulement 8% ont une concentration en spores de BSA supérieure à 10 UFC/100 mL. Ces cinq échantillons sont ceux pour lesquels les plus fortes concentrations de BSA ont été enregistrées. Quatre de ces échantillons ont été recueillis au même site de réparation (REP1) et deux de ceux-ci sont recueillis dans l'eau de rinçage de la borne-fontaine (REP1-i; REP1-ii) le troisième et le quatrième (REP1-iii-REP1-iv) provient de l'eau distribuée pendant le rinçage de la borne fontaine à une maison située sur le tronçon isolé pendant la réparation. Le quatrième échantillon (REP2-i) a été prélevé sur un autre site de réparation également à la borne-fontaine pendant le rinçage. Les concentrations en spores de BSA mesurées pour les trois types d'échantillons d'eau de réseau et de rinçages sont présentées à la figure 4.3. Il est à noter qu'aucune spore de BSA n'est détectée dans l'échantillon FLUSH-3, ce qui correspond à une concentration en spores de BSA < 4 UFC/100 mL.

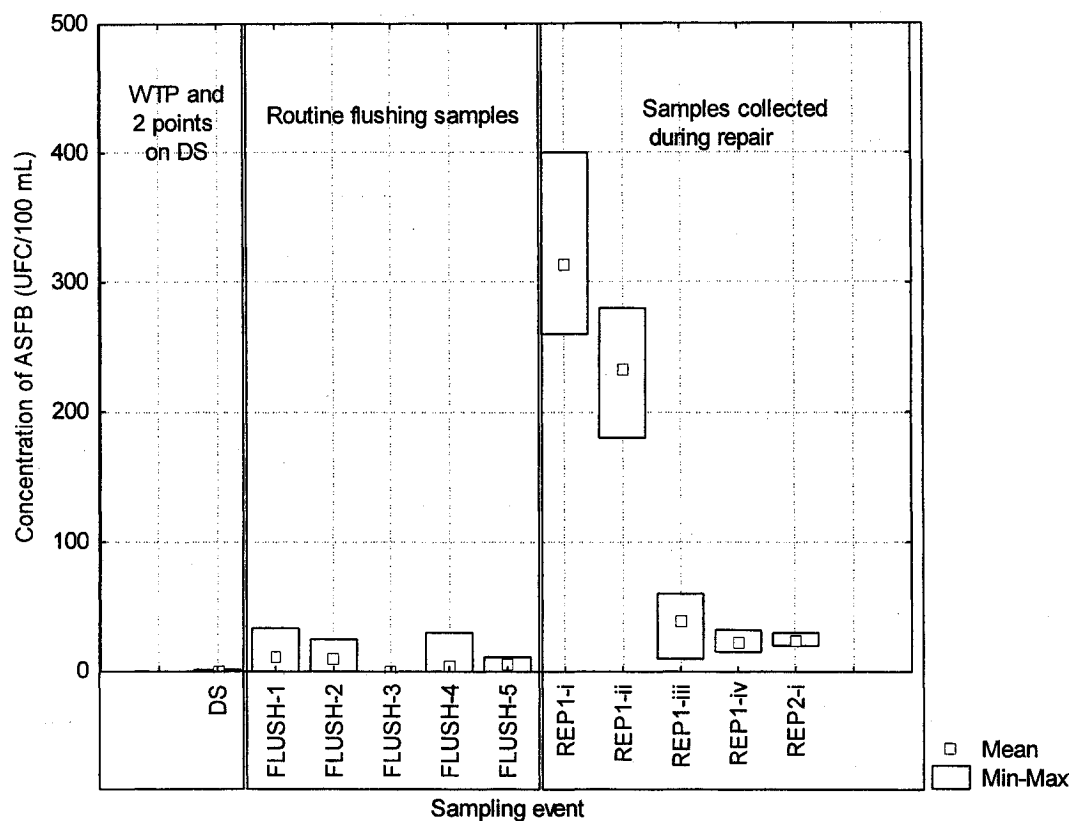


Figure 4.3: Dénombrement de spores pour différents échantillons

DS : N=199; FLUSH-1 : N=10; FLUSH-2 : N=15; FLUSH-3 : N=3 ; VID_4 : N=25; FLUSH-5 : N=6; REP1- (i, ii, iii, iv) et REP2-i : N=3

La comparaison statistique des résultats de la figure 4.3 est présentée au tableau 4.3. Dans ce tableau, une comparaison est faite entre tous les échantillons étudiés. Les concentrations de spores de BSA des eaux de rinçage de conduites prélevées pendant les réparations (REP) sont toutes significativement différentes de l'eau distribuée. Dans 80% des cas, elles sont aussi significativement plus élevées que les eaux de rinçage de routine étudiées.

Tableau 4.3: Probabilité que deux échantillons soient significativement différents

	DS	FLUSH -1	FLUSH -2	FLUSH -3	FLUSH -4	FLUSH -5	REP1 -i	REP1 -ii	REP1 -iii	REP1 -iv	REP2 -i
DS		**		**	*		**	**	**	**	**
FLUSH-1	**			*	**		**	**		*	*
FLUSH-2					**		**	**	*	**	**
FLUSH -3	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-
FLUSH -4	*	**	**				**	**	**	**	**
FLUSH -5							**	**		**	**
REP1-i	**	**	**	**	**	**			**	**	**
REP1-ii	**	**	**	**	**	**			**	**	**
REP1-III	**		*	**	**		**	**			
REP1-iv	**	*	**	**	**	**	**	**			
REP2-i	**	*	**	**	**	**	**	**			

Mann-Withney U-test

*: $p < 0.10$ **: $p < 0.0$ Void: $p \geq 0.10$

- : Not applicable

4.5 Discussion

4.5.1 Concentrations de spores de BSA dans l'eau distribuée

À la sortie de l'usine de traitement, les concentrations de spores varient entre < 0.05 et 1.3 UFC/100 mL avec une moyenne de 0.13 UFC/100 mL. Cette concentration varie d'une journée d'échantillonnage à l'autre (Kruskall Wallis; $p < 0.05$). L'étendue de cette distribution est similaire à celle obtenue par Mazoua et Chauveheid (2005) ($0-3$ UFC/100 mL). Par contre, Brown et Cornwell (2005) ($1-20$ UFC/100 mL); Nieminski *et al.* (2000) ($0,5-50$ UFC/100 mL) et Gale *et al.* (1997) ($0.5-500$ UFC/100 mL) obtiennent des distributions plus étendues et présentant une concentration maximale beaucoup plus importante. Cette différence est tributaire de deux aspects: 1) la concentration de spores à l'eau brute et 2) l'enlèvement obtenu par la filière de traitement.

Dans le réseau de distribution, on pourrait s'attendre à une réduction de la concentration de spores de BSA en raison de la présence de chlore pendant un temps de séjour relativement long. Les CT moyens théoriques aux points A et B sont de 760 et 780 mg*min/L) respectivement. Selon Barbeau *et al.* (1999), cela pourrait correspondre à au moins 6 log d'inactivation avec une souche de spores indigènes (Barbeau, Boulos et al. 1999). Or, les concentrations de spores ne diminuent pas de façon significative entre l'usine et les deux autres points d'échantillonnage ($p > 0,05$) malgré le contact prolongé avec le chlore. L'absence de diminution de spores de BSA a également été observée dans un réseau pilote aussi bien dans la phase liquide que dans le biofilm en présence d'un résiduel de chlore libre de 2 mg/L pendant 72 heures (Gibbs, Meckes et al. 2004). L'absence d'inactivation pourrait être le résultat de plusieurs facteurs. Premièrement, il est possible que les souches de spores de BSA soient beaucoup plus résistantes que celles étudiées par Barbeau *et al.* (1999). En effet, des variations de plus de 5 X peuvent être observées entre les CT requis pour une même inactivation en utilisant des souches différentes (Barbeau, Boulos et al. 1999).

De plus, les spores de BSA qui sont mesurées dans les réseaux de distribution peuvent être présentes sous forme d'agrégats ou attachés à des particules, deux mécanismes de protection bien connues (Morin, Gauthier et al. 1997). Or, les essais d'inactivation sont effectués avec des spores qui ne sont plus agrégées, diminuant ainsi leur résistance au chlore. Selon les résultats obtenus, les spores indigènes de BSA apparaissent donc beaucoup plus résistantes que d'autres microorganismes plus sensibles au chlore et dont la concentration dans la phase liquide diminue en fonction du temps de séjour en réseau (Féliers, Batté et al. 2005).

Comme les trois sites d'échantillonnage ne sont pas significativement différents, les données regroupées sont utilisées pour décrire la distribution de l'occurrence des BSA dans le réseau. Une distribution géométrique a été observée ($P = 0,33$ avec $p > 0,05$). À partir de cette distribution, la probabilité qu'une valeur de concentration de spores de BSA excède 10 UFC/100 mL est inférieure à 10^{-10} . Il est donc suggéré que, pour ce réseau, une concentration de BSA supérieure à 10 UFC dans l'eau distribuée est indicatrice d'un événement de contamination. La distribution observée est produite à partir de mesures de BSA sans ajout de dispersant. L'étalement de la distribution serait possiblement augmenté avec l'utilisation du Tween® 80 comme dispersant entraînant une plus grande variabilité dans les dénombrements de spores de BSA, tel qu'observée par Gale *et al.* (1997). Une dispersion permettrait également d'estimer l'importance de l'agrégation et de mieux comprendre la forme sous laquelle sont présentes les spores de BSA dans le réseau.

4.5.2 Concentrations de spores de BSA dans les eaux de rinçage en absence de réparation

Les résultats bruts de dénombrements de spores de BSA dans les eaux de rinçage de routine correspondent à un nombre de réplicats variant de 3 à 30 pour chaque échantillon. Pour un même échantillon, les concentrations en spores varient entre <10 et 40 UFC/100 mL selon les réplicats. Ces cinq échantillons de rinçages sont considérés comme pouvant faire partie d'un même groupe ayant une distribution non-paramétrique ($p < 0,10$; Kruskal-Wallis). De manière générale, les concentrations moyennes observées à chaque rinçage sont plus de 50 X plus élevées que la moyenne des spores dans l'eau de réseau. Par contre, seul l'échantillon FLUSH-1 montre une concentration de spores de BSA significativement supérieure à la concentration de spores de BSA dans le réseau ($p < 0,05$). Malgré cela, la présence de particules détachées pendant le rinçage semble associée à une hausse de la concentration en spores de BSA dans l'eau du réseau. Ces résultats suggèrent une colonisation des dépôts meubles, comme il a été observé pour les coliformes totaux (Herson, Marshall et al. 1991, Oliver et Harbour 1995, Zacheus, Lehtola et al. 2001). Selon Gibbs *et al.* (2003), cette augmentation pourrait être liée à la présence de spores de BSA colonisant le biofilm présent sur les parois de la conduite. En effet, l'étude pilote effectuée par Gibbs *et al.* (2003) démontre que la concentration de spores de BSA dans le biofilm augmente due à la croissance des BSA en présence d'eaux usées. Par contre, dès l'arrêt de l'alimentation en eau usée, la présence des spores de BSA diminue sous la limite de détection. Dans le biofilm d'un réseau de distribution, les concentrations de *Bacillus sp.* mesurées par Rompré *et al.* (1998) sont d'environ 1×10^5 UFC/cm². Pour une conduite de 150 mm ayant une section de 0.47 m², un décrochage complet du biofilm et sa dispersion dans la phase liquide mènerait à une concentration de cellules végétatives de *Bacillus* de 8×10^6 /100 mL dans l'eau distribuée. La contribution en spores de *Bacillus* ne peut être établie car le rapport cellules végétatives/spores n'est pas connu. Les concentrations de spores mesurées en réseau et lors des rinçages sont beaucoup plus faibles. Il est tout de même possible que

la présence de spores dans les échantillons, plus particulièrement lors des rinçages, provienne d'une érosion partielle du biofilm. La colonisation en spores de BSA n'est pas directement reliée à la concentration en MES ou en MVES dans les échantillons, tel que montré au tableau 4.2. Cette absence de corrélation directe entre les concentrations en spores de BSA et la concentration de matières en suspension est probablement causée par les variations au niveau de la colonisation des particules selon qu'elles proviennent des dépôts remis en suspension ou de biofilm détaché de la surface des conduites. Un premier facteur à considérer pour la colonisation est la taille des particules. Pour être colonisées par des spores de BSA (0,5-1,5 μm), les particules doivent être d'une taille supérieure à 10 μm (Emerick, Loge et al. 1999, Ridgway et Olson 1982). L'importance relative de l'arrachement du biofilm à la surface des conduites dépend de sa densité et des conditions hydrauliques. La densité du biofilm qui comprend une fraction de biomasse en spores de BSA dépend de nombreux facteurs dont principalement la présence de dépôts de corrosion, le rapport surface/volume, la présence d'oxydant résiduel, la teneur en matières organiques biodégradables et le temps de séjour (Prévost, Laurent et al. 2005, Morin, Gauthier et al. 1997, LeChevallier, Lowry et al. 1993).

Les concentrations de spores de BSA dans les eaux de rinçage de conduite sont plus élevées que celles dans l'eau de distribution. Cette observation suggère donc une certaine accumulation de spores de BSA qui se produirait dans le réseau de distribution. Cette accumulation serait évacuée en partie pendant les rinçages de routine. Néanmoins, un seul échantillon d'eau de rinçage entraîne une concentration significativement plus élevée ($p < 0.05$).

4.5.3 Les concentrations en spores de BSA des échantillons prélevés pendant les rinçages suite à des réparations de conduites

Les échantillons d'eau prélevés pendant des réparations de conduites sélectionnées (REP1 et REP2) sont statistiquement différents des échantillons d'eau distribuée ($p < 0.05$). Le Tableau 4.3 montre combien les échantillons REP1-i et REP1-ii se démarquent clairement des autres. En effet, pour ces deux échantillons, la concentration minimale en spores de BSA est plus de 10 X supérieure à la concentration moyenne mesurée dans les eaux de rinçages et 1000 X supérieure aux concentrations typiques observées en réseau. Seuls les résultats des échantillons REP1-i et REP1-ii diffèrent statistiquement de tous les échantillons d'eau de rinçage de routine ($p < 0,05$). Ils diffèrent également des deux autres échantillons prélevés pendant les réparations ($p < 0,05$). Ces différences suggèrent que les valeurs observées représentent une augmentation brève et importante de la concentration en spores de BSA dans le réseau de distribution pendant le rinçage suivant cette réparation. Cette augmentation de spores de BSA pourrait être associée à une contamination. En effet, ces échantillons d'eau ont également été testés positifs pour la présence de coliformes totaux et l'échantillon REP1-i a également été testé positif pour la présence d'actinomycètes et de *E. coli* (Besner, Cartier et al. 2005). Dans le cas de l'échantillon REP1-i, il est clair qu'il y a eu contamination du réseau étant donnée la variété des indicateurs observés. Par contre, pour l'échantillon REP1-ii, aucune contamination fécale n'a été détectée mais une concentration de spores de BSA statistiquement similaire à REP1-i a été mesurée. En plus de ces deux échantillons, les mesures de spores de BSA obtenues pour les échantillons REP1-iv et REP2-i sont significativement différents des échantillons d'eau de rinçage de routine ($p < 0,10$). La faible variabilité des réplicats explique en partie cette observation. La moyenne observée pour ces échantillons est comparable à celle obtenue pour l'échantillon REP1-iii. Aucun coliforme (total ou fécal) n'a été détecté dans ces deux échantillons. Les résultats de spores de BSA suggèrent qu'il n'est toutefois pas exclu que ces échantillons aient été contaminés par du sol.

Conclusion

Le suivi des concentrations de spores de BSA pendant une période de 50 semaines dans l'eau distribuée a permis d'établir le niveau de référence dans l'eau du réseau étudié. Ce niveau est faible (0,13 UFC/100mL) et similaire entre les différents points du réseau mais varie légèrement dans le temps d'un échantillonnage à l'autre. Néanmoins, cette concentration de spores de BSA est faible et négligeable comparativement aux autres résultats obtenus lors de rinçages de borne-fontaine pour l'entretien du réseau ou suite à une réparation de bris. Les concentrations de BSA dans les échantillons d'eau de rinçage sont de 10 X à 100 X plus élevées que le bruit de fond mesuré sur le réseau de distribution. Cette augmentation du nombre de spores de BSA est expliquée par une colonisation des dépôts meubles. Les quatre échantillons provenant de rinçages effectués suite à des réparations de conduites montrent des concentrations encore plus élevées en spores de BSA que les échantillons de rinçages de routine. Par contre, il a été possible de prouver une différence significative pour seulement deux des quatre échantillons ($p < 0.05$). Or, pour un de ces deux cas, d'autres indicateurs de contamination (coliformes totaux, actinomycètes et *E. coli*) ont été détectés, ce qui supporte l'hypothèse d'une contamination.

Les spores de BSA possèdent plusieurs qualités d'un bon indicateur d'intrusion de sol car (i) elles sont présentes dans pratiquement tous les échantillons de sol prélevés à proximité des conduites à réparer (Karim, Abbaszadegan et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2005); (ii) elles ne sont pas présentes en forte concentration dans l'eau du réseau de distribution étudié; (iii)elles sont faciles à mesurer, de manière rapide et peu coûteuse; (iv) contrairement aux coliformes totaux, leur croissance n'est pas influencée par la présence d'autres microorganismes lors de la culture par filtration membranaire étant donné qu'une étape de pasteurisation est effectuée; (v) il est possible d'établir une différence significative entre les concentrations de spores de BSA mesurées lors d'un événement ayant un potentiel d'intrusion de sol et les concentrations mesurées sans contamination directe. Cette approche pourrait entraîner une meilleure compréhension du risque de contamination de l'eau survenant lors des

réparations de conduites et certaines modifications aux pratiques suivies lors des réparations le cas échéant.

4.6 Remerciements

Ce travail a été rendu possible grâce au financement du Canadian Water Network/Réseau Canadien de l'Eau dans le cadre d'une vaste étude effectuée par la Chaire Industrielle CRSNG en Eau Potable sur le risque de contamination associé aux réparations de conduites. Les auteurs tiennent à remercier le personnel de la Chaire Industrielle CRSNG en Eau Potable pour leur appui lors des campagnes d'échantillonnage pendant les réparations: Yves Fontaine, Julie Philibert, Jacinthe Mailly et Mélanie Rivard ainsi que tous les étudiants ayant participé aux travaux sur le terrain. Des remerciements particuliers sont nécessaires pour Jean-François Therrien et son équipe de Ville de Laval pour leur participation dans les différents échantillonnages et les données techniques fournies.

Bibliographie

American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater. 1220. 1998. Washington, DC, USA, American Water Works Association and the Water Environment Federation. Method 2130 B. (Turbidity-Nephelometric Method).

Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., and Prévost, M. (1999) Examining the use of aerobic spore-forming bacteria to assess the efficiency of chlorination. *Water Research* **33** (13), 2941-2948.

Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., Prévost, M., and Duchesne, D. (1997) A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* **43** 976-980.

Barbeau, B., Prévost, M., Allard, D., and Coallier, J. Evaluation of the flooding impact on microbial intrusion in a distribution system. 1999. Chicago, Illinois, USA, American Water Works Association - Annual Conference.

Besner, M.-C., Cartier, C., Morissette, C., Aubin, A., Payment, P., and Prévost, M. Water quality variations during repairs of pipe leaks. 2005. Québec City, Québec, Canada, American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

Besner, M.-C., Cartier, C., Morissette, C., Karney, B., Payment, P., and Prévost, M. Do routine distribution system operations have an impact on water quality? 2004. San Antonio, Texas, USA, American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

Besner, M.-C., Gauthier, V., Morissette, C., and Prévost, M. Identification of the main causes of total coliforms in a distribution system. 2002. Seattle, Washington, USA, American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

- Besner, M.-C., Gauthier, V., Servais, P., and Camper, A. (2002b) Explaining the occurrence of coliforms in distribution systems. *Journal of American Water Works Association* **94** (8), 95-109.
- Blackburn, B.G., Craun, G.F., Yoder, J.S., Hill, V., Calderon, R.L., Chen, N., Lee, S.H., Levy, D.A., and Beach, M.J. (2004) Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water--United States, 2001-2002. *MMWR Surveill Summ* **53** (8), 23-45.
- Bonde, G. (1966) Bacteriological methods for estimation of water pollution. *Health Laboratory Science* **3** 124-128.
- Boulos, P.F., Karney, B.W., Wood, D.J., and Lingireddy, S. (2005) Hydraulic transient guidelines for protecting water distribution systems. *Journal of American Water Works Association* **97** (5), 111-124.
- Brown, R. A. and Cornwell, D. A. Utilizing spore removal to monitor plant performance for Cryptosporidium removal. 2005. San Francisco, California, USA, American Water Works Association - Annual Conference.
- Cartier, C., Besner, M.-C., Barbeau, B., and Prévost, M. Improving the detection of ASFB in distribution systems. *Water Supply: Research and Technology – AQUA*. Submitted.
- Chauret, C., Armstrong, N., Fisher, J., Sharma, R., Springthorpe, S., and Sattar, S. (1995) Correlating Cryptosporidium and Giardia with microbial indicators. *Journal of American Water Works Association* **87** (11), 76-84.
- Craun, G.F., Berger, P.S., and Calderon, R. (1997) Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks. *Journal of American Water Works Association* **89** (3), 96-104.

- Craun, G.F. and Calderon, R.L. (2001) Waterborne disease outbreaks caused by distribution system deficiencies. *Journal of American Water Works Association* **93** (9), 64-75.
- Deshayes, F., Schmitt, M., Ledrans, M., Grourier-Frery, C., and De Valk, H. (2001) Pollution du réseau d'eau potable à Strasbourg et survenue concomitante de gastro-entérites. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* **2** 1-8.
- Dizer, H. and Hagendorf, Ul. (1991) Microbial contamination as an indicator of sewer leakage. *Water Research* **25** (7), 791-796.
- Emerick, R.W., Loge, F.J., Thompson, D., and Darby, J.L. (1999) Factors influencing ultraviolet disinfection performance. Part II: Association of coliform bacteria with wastewater particles. *Water Environment Research* **71** (6), 1178-1187.
- Féliers, C., Batté, M., Servais, P., Gauthier, V., and Block, J.-C. Biofilm and microbial drinking water quality in full scale distribution systems. 2005. Québec City, Québec, Canada, American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.
- Gale, P., van Dijk, P.A.H., and Stanfield, G. (1997) Drinking water treatment increases micro-organism clustering; the implications for microbiological risk assessment. *Journal of Water Supply: Research and Technology* **46** (3), 117-126.
- Galofré, B., Israel, S., Dellunde, J., and Ribas, F. (2004) Aerobic bacterial spores as process indicators for protozoa cysts in water treatment plants. *Water Science and Technology* **50** (1), 165-172.
- Gauthier, V., Barbeau, B., Tremblay, G., Millette, R., and Bernier, A.-M. (2003) Impact of raw water turbidity fluctuations on drinking water quality in a distribution system. *Journal of Environmental Engineering and Science* **2** 281-291.

Geldreich, E.E., Allen, M.J., and Taylor, R.H. (1978) Interferences to coliform detection in potable water supplies. In: pp. 13-20, C.W. Hendricks (ed.) United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA.

Geldreich, E.E., Fox, K.R., Goodrich, J.A., Rice, E.W., Clark, R.M., and Swerdlow, D.L. (1992) Searching for a water supply connection in the Cabool, Missouri disease outbreak of *Escherichia coli* O157:H7. *Water Research* **26** (8), 1127-1137.

Gibbs, S.G., Meckes, M.C., Green, C.F., and Scarpino, P.V. (2004) Evaluation of the ability of chlorine to inactivate selected organisms from the biofilm of a drinking water distribution system simulator following a long-term wastewater cross-connection. *Journal of Environmental Engineering and Science* **3** 97-105.

Gibbs, S.G., Meckes, M.C., and Scarpino, P.V. (2003) The effect of long-term wastewater cross-connection on the biofilm of a simulated water distribution system. *Journal of Environmental Engineering and Science* **2** 85-98.

Gouvernement du Québec. Règlement sur la qualité de l'eau potable (dernière version disponible). 2005. Québec, Canada, Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs du Québec.

Gullick, R.W., LeChevallier, M.W., Case, J., Wood, D.J., Funk, J.E., and Friedman, M.J. (2005) Application of pressure monitoring and modelling to detect and minimize low pressure events in distribution systems. *Water Supply: Research and Technology - AQUA* **54** (2), 65-81.

Herson, D.S., Marshall, D.R., Baker, K.H., and Victoreen, H.T. (1991) Association of microorganisms with surfaces in distribution systems. *Journal of American Water Works Association* **83** (7), 103-106.

Herson, D. S. and Victoreen, H. T. Hindrance of coliform recovery by turbidity and non-coliforms. 1980. Cincinnati, Ohio, United States Environmental Protection Agency. Municipal Environmental Research Laboratory. Office of Research and Development.

Huertas, A., Barbeau, B., Desjardins, C., Galarza, A., Figueroa, M.A., and Toranzos, G.A. (2003) Evaluation of *Bacillus subtilis* and coliphage MS2 as indicators of advanced water treatment efficiency. *Water Science and Technology* **47** (3), 255-259.

Hunter, P.R., Chalmers, R.M., Hughes, S., and Syed, Q. (2005) Self-reported diarrhea in a control group: a strong association with reporting of low-pressure events in tap water. *Clinical Infectious Diseases* **40** (4), e32-e34.

Karim, M.R., Abbaszadegan, M., and LeChevallier, M. (2003) Potential for pathogen intrusion during pressure transients. *Journal of American Water Works Association* **95** (5), 134-146.

Kirmeyer, G., Friedman, M., Clement, J., Sandvig, A., Noran, P. F., Martel, K. D., Smith, D., LeChevallier, M., Volk, C., Antoun, E., Hildebrand, D., Dyksen, J., and Cushing, R. Guidance manual for maintaining distribution system water quality. 2000. Denver, Colorado, USA, American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association.

Lahti, K. and Hiisvirta, L. (1995) Causes of waterborne outbreaks in community water systems in Finland: 1980-1992. *Water Science and Technology* **31** (5-6), 33-36.

LeChevallier, M.W., Gullick, R.W., Karim, M.R., Friedman, M., and Funk, J.E. (2003) The potential for health risks from intrusion of contaminants into the distribution system from pressure transients. *Journal of Water and Health* **1** (1), 3-14.

LeChevallier, M.W., Lowry, C.D., and Lee, R.G. (1990) Disinfecting biofilms in a model distribution system. *Journal of American Water Works Association* **82** (7), 87-99.

LeChevallier, M.W., Lowry, C.D., Lee, R.G., and Gibbon, D.L. (1993) Examining the relationship between iron corrosion and the disinfection of biofilm bacteria. *Journal of American Water Works Association* **85** (7), 111-123.

Mazoua, S. and Chauveheid, E. (2005) Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. *Water Research* **39** (20), 5186-5198.

Medema, G. J., Shaw, S., Waite, M., Snozzi, M., Morreau, A., and Grabow, W. Catchment characterisation and source water quality (Chapter 4). Assessing microbial safety of drinking water. Improving approaches and methods. 2003. London, World Health Organization and the Organisation for Economic Co-operation and Development by IWA Publishing.

Morin, P., Gauthier, V., Saby, S., and Block, J.-C. Bacterial resistance to chlorine through attachment to particles and pipes surfaces in drinking water distribution systems. 1997. Warwick, United Kingdom, Conference of the Royal Society of Chemistry.

National Research Council of the National Academies. Indicators for waterborne pathogens. 2004. Washington, DC, USA, The National Academies Press.

Nieminski, E.C., Bellamy, W.D., and Moss, L.R. (2000) Using surrogates to improve plant performance. *Journal of American Water Works Association* **92** (3), 67-78.

Oliver, E. D. and Harbour, J. D. Speciation of coliforms isolated from sediments in brown water released during a flushing program undertaken by the Seattle water department. 1995. New Orleans, Louisiana, USA, American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

Payment, P. (1999) Poor efficacy of residual chlorine disinfectant in drinking water to inactivate waterborne pathogens in distribution systems. *Canadian Journal of Microbiology* **45** (8), 709-715.

Payment, P., Siemiatycki, J., Richardson, L., Renaud, G., Franco, E., and Prévost, M. (1997) A prospective epidemiological study of gastrointestinal health effects due to the consumption of drinking water. *International Journal of Environmental Health Research* **7** (1), 5-31.

Prévost, M., Laurent, P., Servais, P., and Joret, J.-C. Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution. 2005. Denver, Colorado, USA, American Water Works Association.

Rice, E.W., Fox, K.R., Miltner, R.J., Lytle, D.A., and Johnson, C.H. (1996) Evaluating plant performance with endospores. *Journal of American Water Works Association* **88** (9), 122-130.

Ridgway, H.F. and Olson, B.H. (1982) Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology* **44** 972-987.

Rompré, A., Prévost, M., Coallier, J., and Servais, P. (1998) Impact of reducing biodegradable organic matter on fixed and suspended biomass in distribution systems (Chapter 4). In: pp. 57-120, American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association, Denver, Colorado, USA.

Semenza, J.C., Roberts, L., Henderson, A., Bogan, J., and Rubin, C.H. (1998) Water distribution system and diarrheal disease transmission: a case study in Uzbekistan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **59** (6), 941-946.

van der Kooij, D., van Lieverloo, J.H.M., Schellart, J., and Hiemstra, P. (1999) Maintaining quality without a disinfectant residual. *Journal of American Water Works Association* **91** (1), 55-64.

Zacheus, O.M., Lehtola, M.J., Korhonen, L.K., and Martikainen, P.J. (2001) Soft deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. *Water Research* **35** (7), 1757-1765.

Chapitre 5: Étude des paramètres de rinçages lors de réparations de conduites

Le prochain chapitre présente une approche permettant une validation du potentiel de contamination par une intrusion des échantillons d'eau ayant été identifiés comme ayant une concentration en spores de BSA significativement importante au chapitre précédent. L'ordre de grandeur des concentrations de spores de BSA dans l'eau de tranchée et dans le sol est établi. Lors d'intrusion de sol, les spores introduites sont soumises à un effet de dilution avec l'eau du réseau de distribution diminuant les concentrations de spores de BSA retrouvées par la suite aux différents points d'échantillonnages (robinet ou BF). Cette approche est fondée sur l'analyse du trajet de l'eau par un modèle hydraulique. Lechevallier *et al.* (2003) a émis certaines réserves concernant l'utilisation de microorganismes comme indicateur d'intrusion dû à la complexité de la mesure comparativement à d'autres paramètres qui peuvent être utilisés « online » et à la nature passagère de la contamination (écoulement piston). Il est donc très important d'augmenter significativement la fréquence d'échantillonnage au moment du passage d'une contamination éventuelle. La modélisation effectuée tient en compte deux facteurs principaux: le degré de remplissage de la conduite avant l'ouverture des vannes et le débit de vidange de la borne-fontaine. L'approche choisie est également utilisée pour valider si les différents critères d'un bon rinçage de conduite sont respectés.

5.1 Introduction

5.1.1 Mise en contexte

Parmi les causes potentielles de contamination, les opérations de routine et de maintenance sont des interventions pouvant poser un risque élevé de contamination de l'eau potable (Kirmeyer G.J., Friedman et al. 2001). De plus, le vieillissement des infrastructures enfouies compromet leur intégrité augmentant le risque de contamination durant la distribution. Le déficit des infrastructures d'eau potable atteint 11 milliards de dollars aux États-Unis pour les 20 prochaines années (American Society of Civil Engineers (ASCE) 2005). Compte tenu de la désuétude des réseaux, les réparations de conduites deviendront de plus en plus fréquentes dans la plupart des villes nord-américaines. Cette augmentation de la fréquence des interventions sur le réseau multipliera les opportunités de contamination du système et les risques y étant associés. Les procédures utilisées par les exploitants pour rétablir la qualité de l'eau après une réparation varient énormément d'une municipalité à l'autre. Dans certains cas, les techniques de nettoyage du réseau suite à une réparation sont minimales alors que d'autres appliquent des procédures coûteuses qui obligent une interruption significative de service. Un nettoyage et une désinfection inadéquats du réseau suite à des réparations ont été reliés à des épidémies de source hydrique (Geldreich, Fox et al. 1992, Deshayes, Schmitt et al. 2001). Selon Geldreich *et al.* (1992), le cas étudié aurait pu être évité si une désinfection avait été effectuée suite à la réparation.

5.1.2 Procédure standard de remise en service

La norme C651 de l'AWWA (American Water Works Association (AWWA) and American National Standards Institute (ANSI) 2005) précise que toutes les conduites qui sont mises hors service pour l'inspection, la réparation ou toutes autres activités qui risquent d'entraîner une contamination de l'eau doivent être désinfectées avant d'être remises en service. Plusieurs études sur le sujet tendent à prouver l'utilité de cette norme (Haas, Chitluru et al. 1998, Pierson, Martel et al. 2001, Kirmeyer G.J., Friedman et al. 2001, American Water Works Association and Economic and Engineering Services, Inc. 2002). Ainsi, suite à une réparation de conduites, il est conseillé d'effectuer un premier rinçage de la conduite en maintenant une vitesse d'écoulement dans la conduite entre 1,5 et 3 m/s pendant le temps nécessaire pour rincer correctement la conduite (Pierson, Martel et al. 2001, Ainsworth et Holt 2004). Le rinçage est suivi d'une désinfection suivant la norme C651 de l'AWWA (American Water Works Association (AWWA) and American National Standards Institute (ANSI) 2005). Trois méthodes de chloration sont permises :

- La méthode par pastille correspond à une dose approximative de 25 mg/L pendant 24 heures.
- La méthode par alimentation continue avec une solution de chlore nécessite une concentration résiduelle supérieure à 10 mg/L après 24h.
- La méthode par injection ponctuelle correspond à une dose minimale de 50 mg/L pendant 3 heures d'exposition concentration en chlore de 10 mg/L de résiduel après 24 heures de temps d'exposition.

La chloration est suivie d'un second rinçage afin d'extraire l'eau chlorée des conduites. Plusieurs critères peuvent être utilisés pour permettre la remise en service d'une conduite suite à une réparation : la turbidité, la concentration en chlore, la concentration en bactéries coliformes,... (Pierson, Martel et al. 2001, Deshayes, Schmitt et al. 2001). Lors d'une réparation de fuite sans rupture de conduite, il est rare d'effectuer des tests microbiologiques et les critères de remise en service utilisés se limitent à ceux relatifs à un simple rinçage de conduite soit l'obtention d'une

diminution de turbidité ou la restauration du résiduel de désinfectant à la borne-fontaine. Les résultats présentés par Besner *et al.* (2004;2005) démontrent le faible risque de contamination associée aux travaux de réparations planifiés.

5.1.3 Critères d'une vidange efficace

L'obtention d'une vitesse de rinçage suffisante est un élément clef pour garantir l'efficacité du rinçage lorsque celle-ci est utilisée comme moyen de nettoyage (rinçage orienté et rinçage classique) (Pierson, Martel *et al.* 2001, Friedman, Hill *et al.* 2002, Ellison, Duranceau *et al.* 2003, Walski, Chase *et al.* 2003). Ainsi, les vitesses minimales à atteindre varient selon l'auteur : 0,5 m/s (Friedman, Hill *et al.* 2002); 0,6 m/s (Walski, Chase *et al.* 2003); 0,7 m/s (Ellison, Duranceau *et al.* 2003). Par contre, la vitesse visée pour garantir un rinçage efficace est de 1,5 m/s (Slaats, Rosenthal *et al.* 2003, Pierson, Martel *et al.* 2001). Dans le cas d'une réparation de conduite, le critère essentiel est de s'assurer que la totalité de l'eau du tronçon isolé et potentiellement contaminé est expulsée du réseau (Ainsworth et Holt 2004). En effet, étant donné que les particules ne voyagent pas toutes à la même vitesse, il est prescrit de vidanger au moins trois fois, sinon quatre fois le volume d'eau contenu dans le tronçon isolé (Friedman, Hill *et al.* 2002), Slaats, Rosenthal *et al.* 2003). Lorsque toutes les vannes n'ont pas été ouvertes, une portion de la zone potentiellement contaminée peut ne pas être correctement vidangée. Il ne suffit donc pas de vidanger un volume d'eau équivalent au tronçon de conduite mais de s'assurer que la totalité de la zone isolée a été rincée correctement quatre fois. Cette précaution est particulièrement importante lorsque la conduite s'est vidée entraînant une possibilité de contamination du tronçon isolé en entier.

5.1.4 Objectifs

À partir de différents principes hydrauliques, un outil a été développé pour prédire le temps et la durée de passage de l'eau potentiellement contaminée lors d'une réparation de conduite. Cet outil permet surtout d'estimer le degré du mélange dans la conduite et de prédire les concentrations de contaminant dans l'eau vidangée pour une contamination survenant au point de la réparation. La première partie de ce chapitre montre l'application de cet outil pour examiner si l'eau prélevée lors de vidanges faites après certaines réparations de conduites ayant un potentiel d'intrusion pose réellement un risque de contamination selon la modélisation hydraulique. Les concentrations de spores de BSA retrouvées sont comparées à celles prédites par le modèle dans le cas d'une intrusion.

Le deuxième objectif des travaux présentés dans ce chapitre est d'étudier si les critères de vidange sont respectés pour les rinçages effectués dans le cadre des mêmes réparations. Une attention toute particulière est portée aux critères de durée de rinçage. Cette étude a été faite en partie en utilisant le modèle développé. Néanmoins, afin d'examiner les conditions extrêmes, les rinçages seront tous traités comme un cas de contamination critique. La contamination est diluée dans l'ensemble du tronçon isolé, et toutes les conduites doivent être rincées correctement.

5.2 Matériel et méthode

Lors d'une réparation de routine, le tronçon de conduite où est situé la fuite est isolé ou partiellement isolé par la fermeture de vannes. La pression excédentaire est ensuite relâchée en vidangeant une borne-fontaine située sur le tronçon afin d'effectuer les travaux de réparation. Si les vannes sont fermées de manière étanche, la conduite peut se vider complètement. À partir de ce moment, la pression dans la conduite diminue à des niveaux plus compatibles avec une intrusion par l'orifice créé par la fuite ou le bris.

5.2.1 Modélisation : Estimation des mélanges et des temps de séjour dans le tronçon isolé

5.2.1.1 Estimation du volume d'intrusion

Kirmeyer *et al.* (2001) proposent une formule pour estimer le volume d'eau introduite lorsque la charge d'eau appliquée est supérieure à l'extérieure qu'à l'intérieur de la conduite en connaissant les dimensions de l'orifice d'intrusion (Kirmeyer G.J., Friedman *et al.* 2001). Ce phénomène pourrait se produire avant la réparation de la conduite, si la borne-fontaine utilisée pour la vidange initiale, effectuée pour relâcher la pression, est située à un niveau inférieur au niveau d'eau dans le sol autour de la conduite. Il est difficile de mesurer de manière exacte les variations de pression sur le lieu même de la réparation dans la conduite et dans le sol. Aussi, la formule a été développée pour un orifice circulaire, de manière générale, les fuites sont circonférentielles. Pour procéder sans ces valeurs expérimentales, des simulations ont été effectuées en fixant le volume d'intrusion à 20 L. Cette valeur équivaut à une intrusion se produisant pendant 30 sec dans un orifice de 2 cm de diamètre et sous une pression de 60 cm d'eau. Néanmoins, le cas le plus probable est vraisemblablement un mélange par diffusion entre l'eau contaminée de la tranchée et l'eau de la conduite. En effet, après un certain temps, la pression dans la conduite peut s'équilibrer avec la

pression extérieure et la conduite peut baigner dans de l'eau souillée selon la topographie du site. Pour une conduite de 150 mm, le volume de 20 L correspond, pour une conduite remplie à 75%, à une section de conduite contaminée de 1.5 m, ce qui nécessite un volume d'eau dans la tranchée d'environ 200 L.

Une fois l'eau contaminée introduite, le modèle évalue le comportement de l'eau contaminée par rapport au reste de l'eau présente dans le tronçon isolé lors de l'ouverture des vannes suivant la réparation. Cette évaluation des mélanges nécessite l'estimation de deux phénomènes : le mélange survenant lors de l'effet de jet créé par l'ouverture d'une vanne située à proximité et celui provenant de l'écoulement de l'eau dans la conduite.

5.2.1.2 Modélisation du mélange

Selon le degré de remplissage de la conduite, trois principaux cas sont possibles. Ces trois cas sont associés à des temps de rétention hydrauliques variés et des degrés de dilution différents. Les caractéristiques de ces trois cas sont présentées à la figure 5.1 et les diagrammes des écoulements montrés à la figure 5.2. L'explication des différents phénomènes est présentée par la suite.

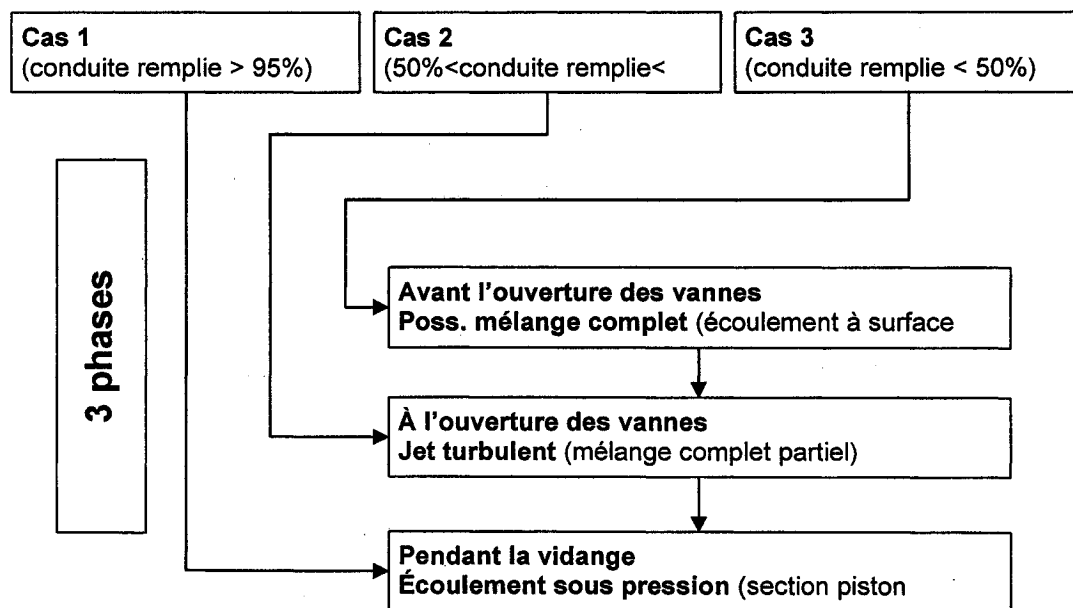


Figure 5.1: Résumé des trois cas de mélange

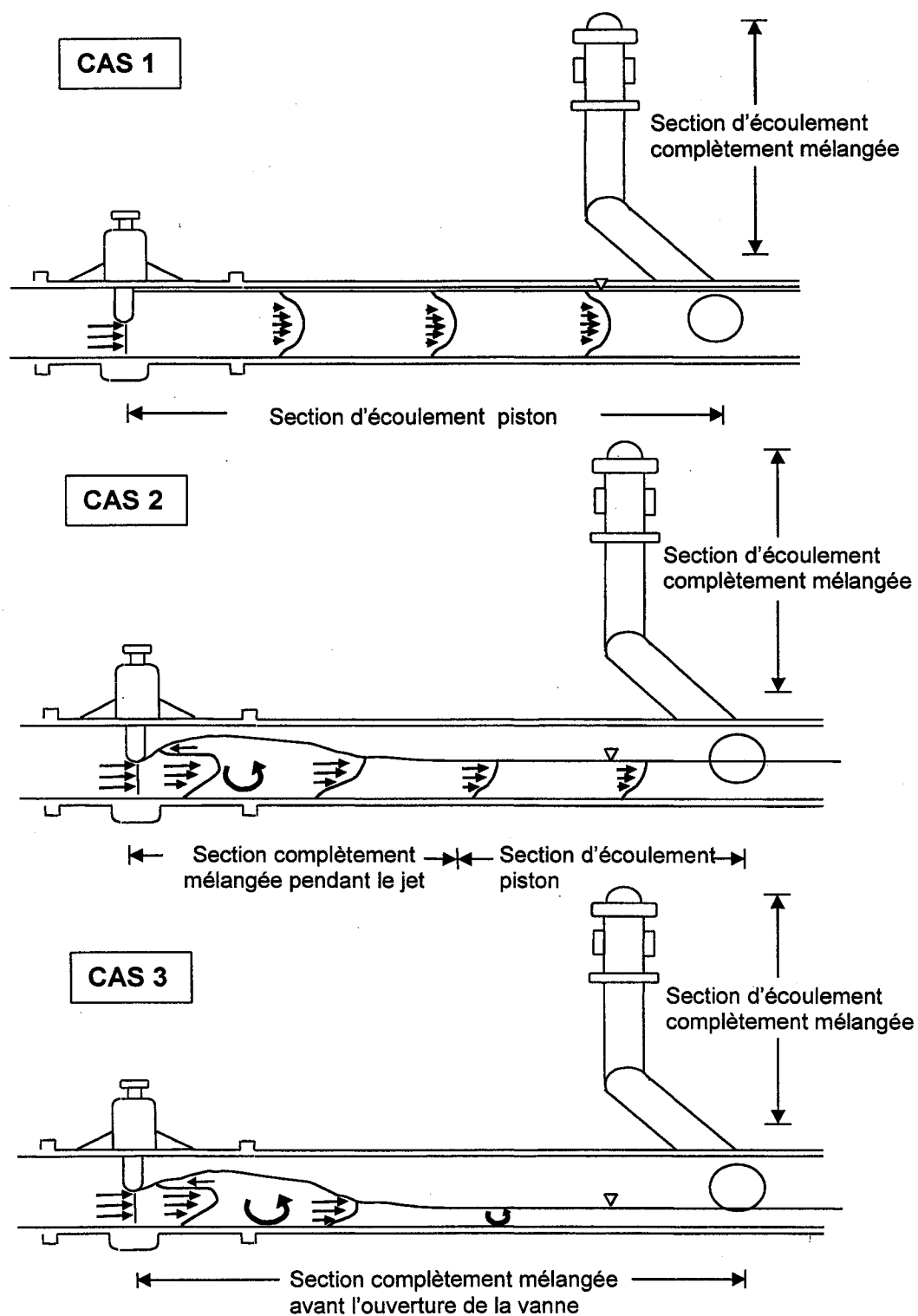


Figure 5.2: Représentation schématique des trois cas de mélange

Le mélange par jet turbulent provient d'un mélange entre l'eau sortant d'un orifice et l'eau présente initialement dans le milieu. Cette situation est considérée quand la conduite est remplie à moins de 95% de sa capacité (CAS 2 ou 3). Lorsque la conduite est remplie à plus de 95% (CAS 1), on peut considérer qu'aucun jet n'est possible étant donné que l'écoulement se fait uniquement sous pression. La théorie du jet turbulent a été développée pour un jet entrant dans un réservoir de dimensions infinies par un orifice situé sous le niveau d'eau du réservoir (Wiegel. Robert L. 1964, Chadwick, Morfett et al. 2004). La situation lors d'une réparation en réseau est différente, le diamètre de l'orifice est similaire à celui du réservoir et la ligne d'eau est située à la même hauteur que le jet (tout dépendamment de la configuration exacte de la vanne). Par hypothèse, on considère que ces différences hydrauliques n'influenceront pas de manière importante les résultats obtenus. On considère que l'eau de l'ensemble de la section d'écoulement soumise au jet est immédiatement complètement mélangée.

Immédiatement à la sortie de l'orifice, le profil de vitesse initiale du jet est uniforme. Par la suite, il peut y avoir une section avec des courants de retour mais le profil prend rapidement une forme de cloche. Il peut alors être représenté par une portion de Gaussienne. Par la suite, le profil de vitesse du jet s'aplatit peu à peu pour atteindre une valeur nulle (Wiegel. Robert L. 1964). Dès que la vitesse maximale du jet (à la surface de l'eau) diminue jusqu'à produire un écoulement laminaire, le jet est considéré comme étant négligeable et n'entraînant plus de mélange. À ce moment, la composante de vitesse de l'eau dans la conduite correspond uniquement au débit divisé par l'aire d'écoulement et le mélange se fait comme si la conduite était complètement remplie. Il suffit donc de calculer la distance à partir de laquelle le jet n'a plus d'impact sur le mélange de l'eau. Si la zone de contamination est située à une distance inférieure de la vanne, elle est soumise à un mélange complet, sinon seul le transport par écoulement laminaire entraîne un mélange.

La distance maximale d'influence de l'effet de jet est obtenue à partir de l'équation suivante tirée de Wiegel (1964):

$$x = \frac{u_0}{2C_2} \frac{D_0}{u} \exp \left[-\frac{1}{C_2^2} \frac{r^2}{x^2} \right] \quad (5.1)$$

où

u_0 : vitesse initiale du jet (m/s)

u : vitesse laminaire maximale dans les conditions données (Reynolds=2000) (m/s)

D_0 : diamètre de l'orifice (m)

r : coordonnée radiale (pour la vitesse maximale au centre $r=0$) (m)

C_2 : coefficient (pour une densité d'eau introduite par l'orifice similaire à la densité de l'eau dans la portion de tronçon isolé $C_2=0,078$)

5.2.2 Mélange pendant l'écoulement de l'eau dans la conduite

Dès que la conduite est remplie à plus de 50% de sa capacité, la seule source additionnelle de mélange provient de l'écoulement sous pression se produisant dans la conduite lorsqu'elle est remplie à plus de 95%. Le comportement de l'écoulement est alors considéré de la même manière qu'un écoulement sous pression. Dans ce cas, on peut considérer l'écoulement dans les conduites est de type piston avec un nombre D/ud_t de 0,03, amenant un coefficient de dispersion D d'environ 0,05 correspondant à un mélange par faible dispersion (Tchobanoglous, Burton et al. 2003, Levenspiel 1999). Aussi, le passage de l'eau à l'intérieur de la conduite de la borne-fontaine et à l'intérieur même de la borne-fontaine force un écoulement complètement mélangé.

Les valeurs obtenues pour le facteur D en fonction de la vitesse moyenne d'écoulement (u) et du diamètre de la conduite (d_t) permettent par la suite d'estimer les concentrations de l'effluent de la BF en fonction du temps pour la portion d'écoulement piston. Dans le cas d'une pointe de contamination ponctuelle (slug) ayant une durée très courte (1s), la relation suivante est utilisée :

$$\frac{C}{C_0} = \sqrt{\frac{u^3}{4\pi DL}} \exp\left[-\frac{(L-ut)^2}{4DL/u}\right] \quad (5.2)$$

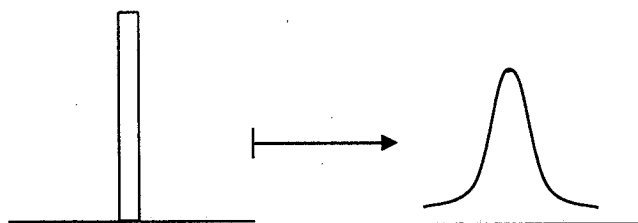
Pour la section complètement mélangée (conduite de borne-fontaine et borne-fontaine, la concentration résiduelle est estimée en fonction de la formule tirée de Levenspiel (Levenspiel 1999):

$$\frac{C}{C_0} = \frac{L}{u} \exp\left[-\frac{tu}{L}\right] \quad (5.3)$$

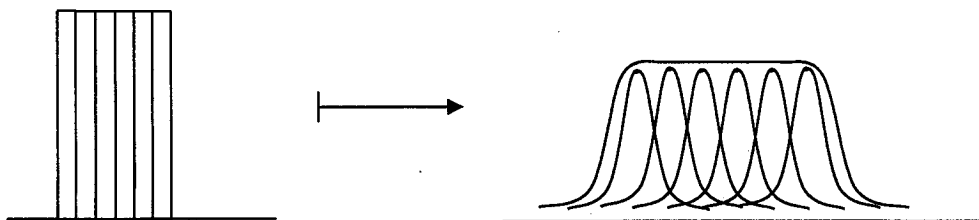
où

- t : Temps suivant l'ouverture de la première vanne (s)
- D : Coefficient de dispersion
- L : Longueur de la conduite (m)
- C : Concentration au temps t (Nb/L)
- C_0 : Concentration initiale (Nb/L)

Lorsque la contamination n'est pas ponctuelle et de courte durée (<1 s), il faut considérer le volume total de contamination comme la somme d'une série de pointes de courte durée (<1 s). Ce principe est appelé intégration par convolution et la méthode utilisée est présentée par Levenspiel (1999). Un schéma permettant d'expliquer ce principe est également présenté à la figure 5.3 pour un écoulement piston.



Une pointe de contamination de durée d'une seconde est transformée en cloche lors du passage dans le réseau de conduite



Le passage d'un contaminant sur une durée non-négligeable peut être assimilé comme une série de pointes de durée infiniment courte qui peuvent être traitée individuellement et dont les transformations sont superposées par convolution.

Figure 5.3: Explication du principe de mélange et de convolution

Lorsque le niveau d'eau dans la conduite est inférieur à 50% de la section de la conduite (CAS 3), ces approximations ne sont plus nécessaires étant donné qu'un mélange complet se produit dans la conduite en entier même avant l'ouverture de la vanne par écoulement en surface libre gravitaire et par diffusion. La dilution est donc maximale.

5.2.3 Validation de la mise en suspension des spores

Une étude a été effectuée pour déterminer les vitesses minimales requises pour mettre en suspension diverses particules pouvant être trouvées dans les conduites et qui devraient être expulsées lors des rinçages (Friedman, Hill et al. 2002). À l'aide de simulation et d'études pilotes, ces auteurs ont déterminé qu'une vitesse de 0,5 m/s était suffisante pour extraire l'ensemble des particules potentiellement présentes. Les résultats présentés au Chapitre 3 suggèrent que les spores vivant dans le sol n'étaient pas ou peu agrégées aux particules. Donc, la mise en suspension des spores ne serait pas fonction des autres particules qui sont traitées par Friedman *et al.* (2002) (Friedman, Hill et al. 2002). Les spores de BSA sont des organismes de forme ellipsoïdale ayant des dimensions d'approximativement 0,5 x 1,0 x 2,0 µm. avec un diamètre moyen d'environ 1,2 µm (Rice, Fox et al. 1996) et une masse volumique d'environ 1300 kg/m³ (Dean et Douthit 1974). À partir de ces caractéristiques, il est possible d'estimer la vitesse minimale de l'eau dans la conduite pour permettre la fluidisation des spores (vitesse minimale de fluidisation V_{mf}) (Chhabra, 1993).

$$Ga_{mf} = 150 \left(\frac{1 - \varepsilon_{mf}}{\varepsilon_{mf}} \right) Re_{mf} + 1,75 \frac{Re_{mf}}{\varepsilon_{mf}^3} \quad (5.4)$$

$$Ga_{mf} = \left(\frac{gd}{V_{mf}^2} \right) \left(\frac{\rho_p - \rho}{\rho} \right) Re_{mf} \quad (5.5)$$

$$Re_{mf} = \left(\frac{\rho V_{mf} d}{\eta} \right) \quad (5.6)$$

Avec :

Ga_{mf} : Nombre de Galileo minimal requis pour la fluidisation

Re_{mf} : Nombre de Reynolds minimal pour la fluidisation

d : diamètre des particules (m)

ε : indice de vides entre les particules

η : viscosité dynamique (Pa s)

ρ : masse volumique (kg/m^3)

Le principe consiste à trouver la vitesse requise pour la suspension des spores (V_{mf}) qui permet de solutionner le système obtenu avec les équations (1) et (2) à partir d'un indice des vides donné. L'indice des vides correspond au pourcentage du volume qui est occupé par l'eau suite à la remise en suspension. La situation critique correspond à une valeur d'indice des vides le plus près de 1 possible. Pour une valeur de ϵ de 0,9999999, la vitesse minimale pour permettre la fluidisation est de $2,3 \times 10^{-6}$ m/s. Pour un ϵ de 0,99, la vitesse minimale requise pour la fluidisation est de $1,2 \times 10^{-6}$ m/s. Il est suggéré que la véritable valeur de ϵ se situe à l'intérieure de cet intervalle et donc que la vitesse requise est comprise entre les deux vitesses calculées. Il est donc estimé que, pour des vitesses supérieures à cette dernière, les spores présentes dans l'eau se comportent comme un contaminant mélangé dans l'eau. Les vitesses mesurées pendant les rinçages de conduites sont toutes supérieures à 0,1m/s. donc une éventuelle intrusion de spores de BSA serait clairement fluidisée.

5.2.4 Étude de cas terrain

Des réparations de conduites mineures sont investiguées (Besner, Cartier et al. 2005). De ces réparations, quatre présentent un intérêt particulier par rapport aux paramètres importants à considérer lors des vidanges (vitesse développée et durée de rinçages) et ont été utilisées pour cette analyse. Les réparations 1 à 3 proviennent du réseau A et la réparation 4 du réseau B. Le débit de vidange est mesuré avec un manomètre avec les paramètres déterminés par Carrière (2002). La formule utilisée pour transformer la pression dynamique mesurée en débit est dérivée de la loi de Bernouilli. Cette expression est la suivante :

$$Q = Ak\sqrt{2gH} \quad (5.7)$$

Où

A= aire de l'orifice. Dans le cas des bornes-fontaines étudiées, le diamètre de l'orifice est de 2.5 po et donc l'aire $A = 0,00317 \text{ m}^2$

k = coefficient de perte de charge lié à l'orifice de sortie (pour une borne-fontaine standard équipé d'un coude d'orientation du jet standard $k=0,9$)

G = accélération gravitationnelle ($9,8 \text{ m}^2/\text{s}$)

H = pression statique mesurée (m)

Un des réseaux étudiés (Réseau A) est modélisé avec le logiciel EPANET (EPANET 2.0, U. S. Environmental Protection Agency, Edison, NJ). Les débits observés ont été validés en modélisant la borne-fontaine comme un réservoir relié au nœud par 310 mètres de conduites de 150 mm (305 mètres correspondant aux pertes de charge dans la borne-fontaine et 5 mètres utilisés représentant la conduite de la borne-fontaine (Walski, Chase et al. 2003). La modélisation avec EPANET a permis d'estimer les vitesses dans les conduites environnantes correspondant aux débits de vidanges modélisés et mesurés avec le manomètre. Dans la section résultat, le temps $T(0)$ est considéré comme le moment où la première vanne est ouverte permettant de débiter le remplissage de la conduite et le rinçage avant la vidange de la borne-fontaine.

5.3 Résultats

Dans le cadre de cette étude, quatre réparations de conduites ont été analysées. Les plans des sections de conduites isolées lors de ces réparations sont présentés à la figure 5.4. Les trois réparations de conduites effectuées pour le réseau de distribution RA (REP1, REP2 et REP3) ont été traitées par le modèle de mélange hydraulique. Selon l'examen visuel, les conduites sont demeurées pleines ou presque durant la durée de la réparation (CAS 1). Néanmoins, les trois cas sont considérés dans l'étude. Des concentrations particulièrement élevées en spores de BSA (voir Chapitre 4) ont été observées durant deux de ces réparations (REP1 et REP2). Ces résultats présentent un risque potentiel d'intrusion. L'objectif de la première partie de l'étude est de corroborer les hausses en concentration de spores avec les résultats obtenus sur le terrain. La seconde partie de l'étude consiste à évaluer si les rinçages de conduites avait été effectuée adéquatement aussi bien d'un point de vue de la durée que des vitesses développées et de la turbidité finale.

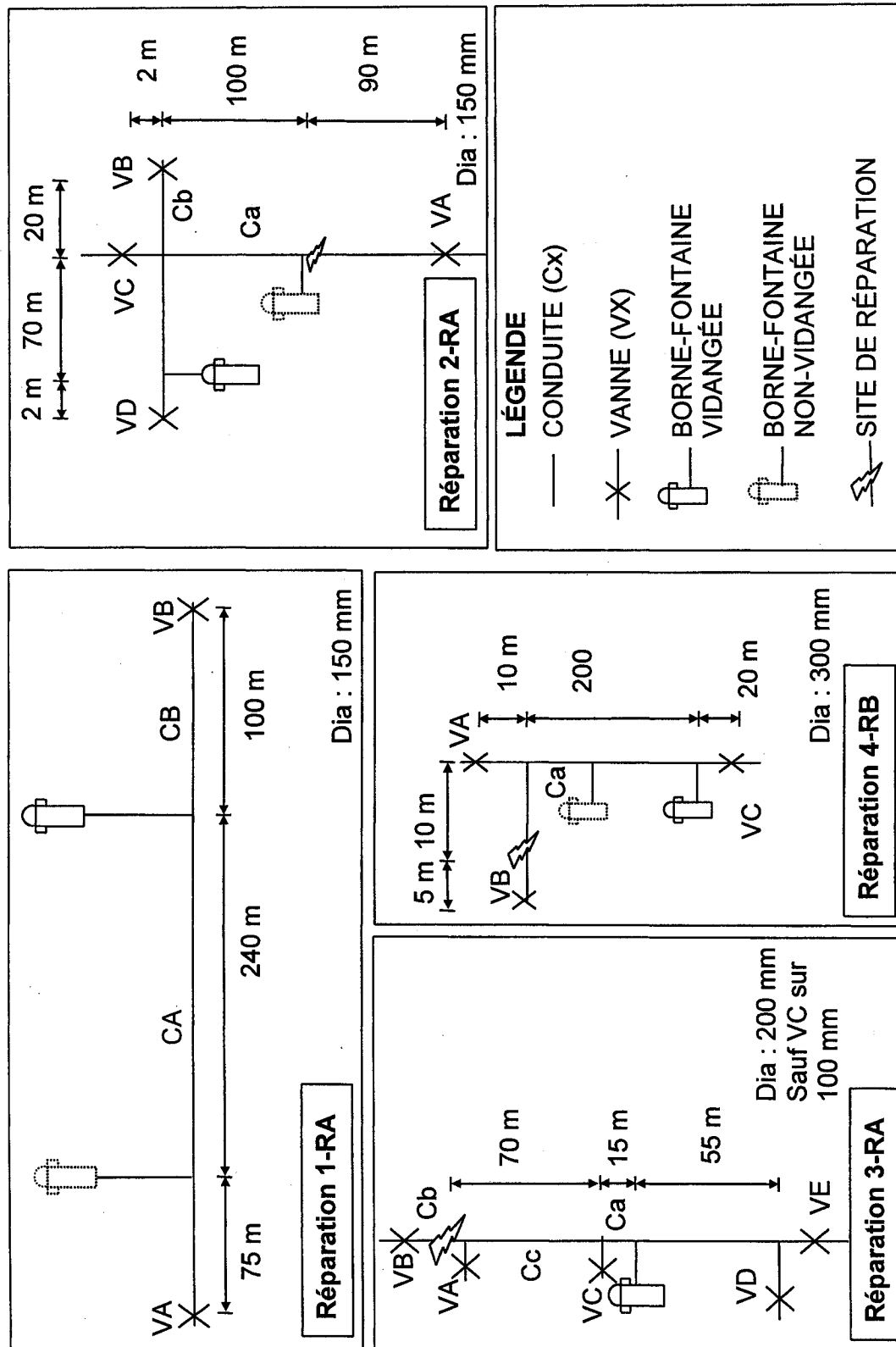


Figure 5.4: Schémas des sections de réseaux d'étude des rîncages étudiés (pas à l'échelle)

5.3.1 Utilisation du modèle hydraulique de mélange pour l'analyse des concentrations de spores

Les concentrations maximales en spores de BSA retrouvées dans les eaux de tranchées sont de l'ordre de 10^5 UFC/100 mL (Karim, Abbaszadegan et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2005). La détection d'un événement 10000 X moins important (10 UFC/100 mL) permettrait tout de même d'obtenir une concentration plus importante que dans les eaux de vidanges étudiées dans le chapitre 4. Le rapport minimal entre la concentration de spores de BSA estimée selon le modèle et la concentration introduite dans le système est (C/C_0) est fixé à une valeur minimale de 10^{-4} pour être considérée. La période de temps pour laquelle le modèle prédit un rapport de concentration plus important est alors considérée. Le tableau 5.1 dresse un portrait global des résultats des simulations effectuées à partir de cette concentration d'intrusion fictive.

Tableau 5.1: Caractéristiques hydrauliques des mélanges selon la modélisation

		CAS 1	CAS 2	CAS 3
REP 1	Temps (min-max) (min)	1,5-2,6	0,7-4,8	1,3-20,7
	C/C_0 max	$4,5 \times 10^{-2}$	$3,8 \times 10^{-3}$	5×10^{-4}
REP 2	Temps (min-max) (min)	1,7-3,2	2,2-6,0	1,4-110
	C/C_0 max	$5,0 \times 10^{-2}$	$6,0 \times 10^{-3}$	$4,0 \times 10^{-3}$
REP 3	Temps (min-max) (min)	10,5-13,3	-	1,0-29,5
	C/C_0 max	$1,1 \times 10^{-2}$	-	$3,8 \times 10^{-3}$

- Non applicable : la vanne à proximité de la zone potentielle d'intrusion n'a pas été ouverte en premier, il ne devrait donc pas y avoir de jet

Les concentrations de spores de BSA qui ont été retrouvées dans les différents échantillons étudiés sont présentées au tableau 5.2. Ces concentrations varient peu pour les échantillons d'eau de tranchées ($4,0$ à $4,1 \times 10^3$ UFC/100 mL) et sont

inférieures aux valeurs maximales retrouvées dans les eaux de tranchée (10^6 UFC/100 mL).

Tableau 5.2: Concentrations de spores de BSA observées pendant les réparations

	Concentration (UFC/100 ml)
REP1- Eau de tranchée (C_0)	4.0×10^3
REP1-i Eau de vidange (C)	313
REP1-ii Eau de vidange (C)	233
REP1-iv Eau de vidange (C)*	25
REP2- Eau de tranchée (C_0)	4.1×10^3
REP2-i Eau de vidange (C)	24

* Cet échantillon n'a pas été prélevé à la borne-fontaine

Les tableaux 5.3 et 5.4 permettent d'effectuer une comparaison entre les valeurs prévues par le modèle hydraulique pour une contamination éventuelle et les données observées pour les mêmes paramètres. L'intervalle de temps avant le passage d'une contamination éventuelle à la borne-fontaine est le paramètre le plus important ayant été étudié. Ainsi, en supposant un mélange par le jet turbulent (CAS-2) pour la réparation 1, le temps de passage de l'échantillon REP1-ii est contenu dans l'intervalle significatif (en considérant la conduite remplie à 50%). Celui de l'échantillon REP1-i n'est pas contenu à l'intérieur de cet intervalle tout en y étant très près. Les valeurs observées pour la concentration de spores de BSA dans l'eau de tranchée sont beaucoup moins importantes que celles utilisés lors de la modélisation (10^5 UFC/100 mL). Néanmoins, étant donné l'hétérogénéité de la concentration en spores de BSA dans des échantillons de suspension de sol (voir Chapitre 3), il est possible qu'une telle concentration ait réellement été introduite. Par ailleurs, la concentration de spores de BSA mesurée dans une propriété située à proximité de la zone de réparation (REP1-iv) ne peut pas entièrement être expliquée par le CAS 2. En effet, cette propriété était située entre la vanne ouverte et le site de la réparation, une portion de

conduite qui devrait être touché par la contamination uniquement dans les CAS 2 ou 3 lors du jet turbulent. La concentration mesurée est inférieure à celle obtenue pour le CAS 3. Néanmoins, les temps de prises d'échantillon ne peuvent être considérés étant donné que l'eau circule dans l'entrée de service de la propriété d'une longueur inconnue et que le débit d'échantillonnage à ce point n'est pas stable.

Tableau 5.3: Paramètres calculés pour une contamination prévue et observations effectuées pour la réparation 1

	VALEURS MODÉLISÉES			VALEURS OBSERVÉES		
	CAS 1	CAS 2	CAS3	REP1-i	REP1-ii	REP1-iv
Temps (min-max) (min)	1,5-2,6	0,7-4,8	1,3-20,7	0.5	4.5	-
C/C ₀ max	4,5x10 ⁻²	3,8x10 ⁻³	2,6x10 ⁻³	3,1x10 ⁻³	2,3x10 ⁻³	2,5x10 ⁻⁴

Pour la réparation 2, la concentration observée est à l'intérieur de l'intervalle prédit pour le CAS 3. Par contre, comme il est montrée à la figure 5.7, seule la vanne A (VA) est ouverte après 7,5 minutes. Or, selon le modèle, le tronçon Ca est vidangé une fois en 6,7 minutes dans les pires conditions. Il ne devrait donc pas y avoir d'eau contaminée après 7.5 minutes. En supposant uniquement un remplissage et un écoulement piston, la conduite est complètement vidée en 5 minutes. Il est donc possible qu'une portion de l'eau contaminée soit demeurée plus longtemps dans la conduite aux différentes intersections dû à des effets de turbulences qui n'ont pas été pris en compte lors de la modélisation. La portion d'écoulement complètement mélangée a été ajoutée pour simuler ces cas, par contre, cette partie de la modélisation ne semble pas adaptée à la réalité.

Tableau 5.4: Paramètres calculés pour une contamination prévue et observations effectuées pour la réparation 2

	VALEURS MODÉLISÉES			VALEURS OBSERVÉES
	CAS 1	CAS 2	CAS3	
Temps (min-max) (min)	1,7-3.2	2,2-6.0	1,4-110	7.5
C/C ₀ max	5,0x10 ⁻²	6,0x10 ⁻³	4,0x10 ⁻³	2,4x10 ⁻⁴

Les figures 5.5. et 5.6 présentent une représentation schématisée des différents mélanges modélisés pour le rinçage de conduites suivant la réparation 1 et la réparation 2 respectivement. Les deux événements de forte concentration en spores de BSA échantillonnés pour cette réparation sont également présentés. Pour les caractéristiques de la conduite et du rinçage, il faut se référer aux figures 5.4 et 5.7.

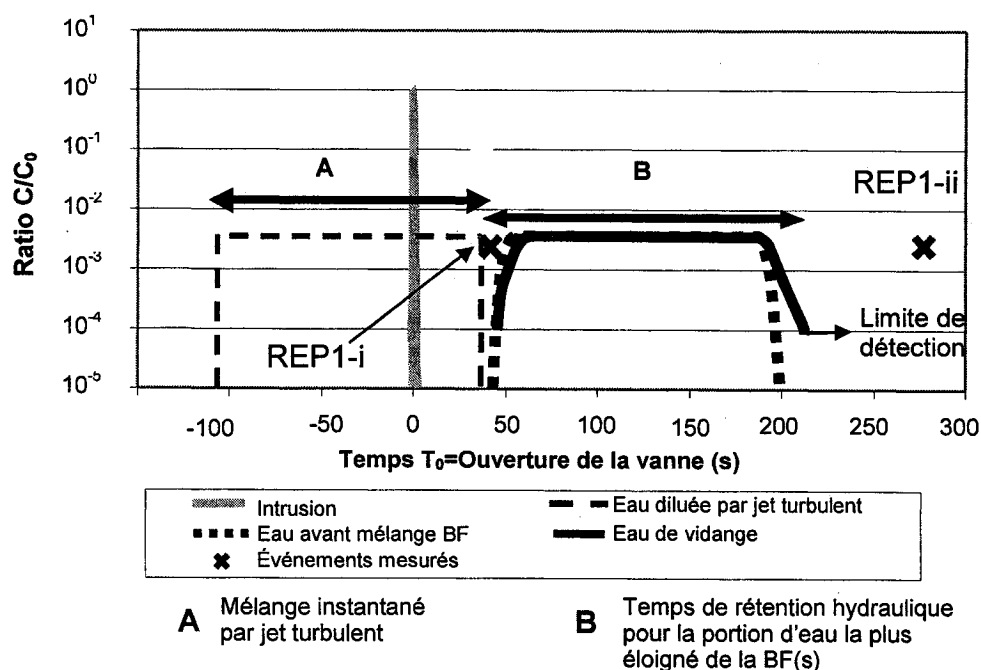


Figure 5.5: Ratio des concentrations C/C_0 en fonction du temps de passage dans la conduite vidangée pour la réparation 1 et une conduite remplie à 95% soumise à un jet turbulent

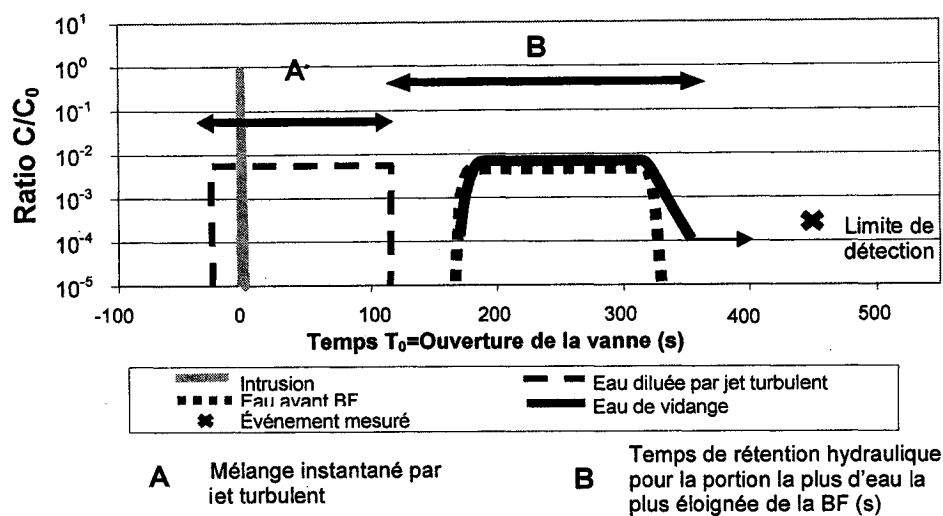


Figure 5.6: Ratio des concentrations C/C_0 en fonction du temps de passage dans la conduite vidangée pour la réparation 2 et une conduite remplie à 50% soumise à un jet turbulent

De manière générale, plusieurs sources d'erreur ont pu biaiser les résultats. En effet, la mesure du débit a été faite à partir d'un coefficient de perte de charge qui n'était pas nécessairement représentatifs de toutes les situations observées. En effet, certaines vidanges ont été effectuées avec un coude d'orientation du jet qui n'était pas standard. Or, les mesures de pression n'ont jamais été validées par des mesures piézométriques dans le jet de la borne-fontaine. Tel que mentionné précédemment, la concentration de spores de BSA de l'eau introduite est inconnue. Finalement, le modèle développée implique plusieurs hypothèses arbitraires qui ne sont peut-être pas représentatives de la réalité comme le démontre les résultats observés. Tout cela pourrait expliquer la différence de temps de rétention hydraulique entre la modélisation et les événements de fortes concentrations de spores de BSA ayant été mesurées. Incidemment, cela démontre que les événements mesurés peuvent être liés jusqu'à un certain point à une intrusion s'étant produite lors de la réparation.

5.3.2 Utilisation du modèle de mélange pour l'analyse des durées des rinçages étudiés

L'analyse théorique du comportement de l'eau lors des opérations de mise en service de conduite a permis de mettre en évidence les types de mélange pouvant se produire dans la conduite selon le niveau d'eau dans la conduite. Dans le cas où il est impossible de conserver la pression dans la conduite, l'ensemble du tronçon isolé peut être contaminé. Le volume d'eau vidangée et les vitesses développées dans les conduites et la turbidité de l'eau vidangée ont été analysés afin de déterminer l'efficacité des rinçages de conduites effectués.

L'examen de la figure 5.7 montre qu'une augmentation du débit de vidange entraîne pratiquement dans tous les cas, une augmentation de la turbidité dans l'eau vidangée. Cette augmentation du débit est souvent due à l'ouverture de vanne.

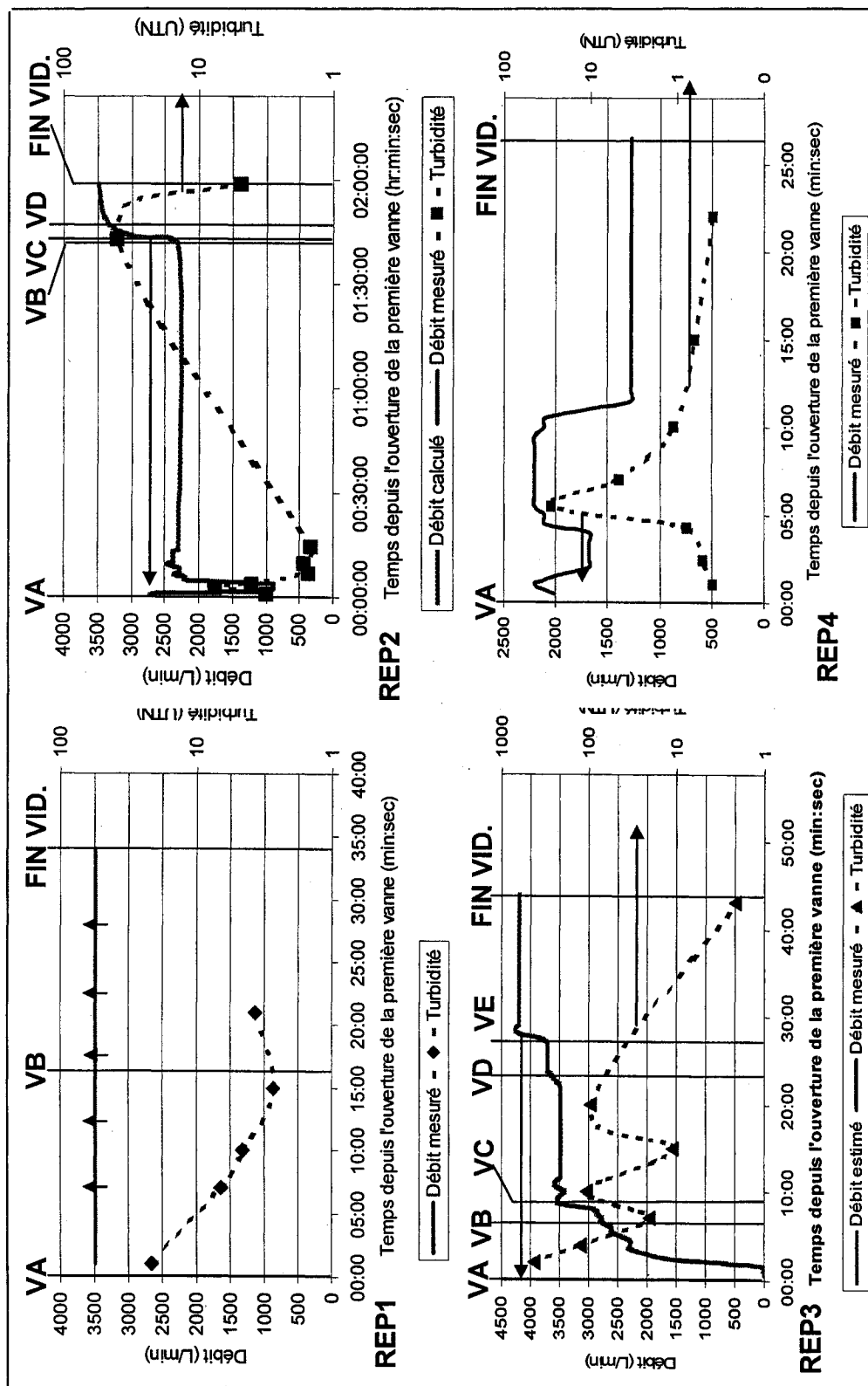


Figure 5.7: Débit de vidange, turbidité et manipulations effectuées lors des rinçages de conduites. Réseau A : REP1-2-3; Réseau B : REP 4

Les résultats présentés au tableau 5.5 montrent que les vidanges faites au réseau A ont été effectuées suivant les critères de durée de vidange (volume d'eau : 4 X le tronçon vidangé) et de vitesse minimale développée ($V_{min} > 0.6 \text{ m/s}$) (Friedman, Hill et al. 2002). Par contre, le rinçage de conduite effectué pour la réparation effectuée au réseau B était de durée insuffisante et les vitesses développées n'étaient pas assez importantes.

Tableau 5.5: Caractéristiques des vidanges effectuées pour une réparation

Réparation	Nombre de vannes manipulées	Temps max pour vidanger une conduite 4 X (section)	Délai après la dernière vidange 4 X (min) avant la fermeture de la BF	Turbidité finale (UTN)	Vitesse max. développée (L/min) (section)	Vitesse min. développée (L/min) (section)
RA-REP1	2	9.5 (CB)	8.5	<3.7	3.3 (CA)	0.7 (CB)
RA-REP2	4	13 (CA)	13.4	4.8	2.9 (CA)	0.8 (CV)
RA-REP3	5	10 (CA)	13	2.1	2.7 (CA-section entre CC et BF)	0.8 (CB-tronçon de l'intrusion)
RB-REP4	3*	30.2 (CA)	déficit	0.4	0.3 (CA)	0.2 (CA)

* Seul une vanne a été ouverte sur 3 et ce n'est pas celle qui permettait de vidanger le tronçon isolé lors de la réparation

5.4 Discussion

5.4.1 Utilisation du modèle hydraulique pour valider l'intrusion de spores

Les temps de passage des événements ayant un potentiel de contamination sont légèrement différents de ceux qui ont été modélisés. En effet, il est possible que le transport de contaminant lors des rinçages de conduites ne soit pas modélisé correctement. La modélisation effectuée tient compte d'un mélange par écoulement piston créé par le passage dans une conduite présentant un faible degré de dispersion. Par contre, il ne tient directement pas du tout en compte les tubercules et aspérité qui sont sûrement présentes à l'intérieur des conduites. Ces tubercules entraînent des variations majeures dans l'écoulement lorsqu'il est modélisé par CFD (Friedman, Hill et al. 2002). Il est aussi possible que la portion d'eau subisse un mélange plus important entraînant une concentration maximale moins grande que prévue et un temps de rétention hydraulique plus long à l'intérieur de la conduite. C'est principalement ce qui a été observé pour les échantillons REP1-ii et REP2-i si on compare les résultats obtenus avec ceux modéliser pour le CAS-1 ou le CAS-2.

Les concentrations de spores de BSA ayant été mesurées dans les deux tranchées sont moins importantes que celles utilisées lors du calcul. Au Chapitre 3, il est démontré que la distribution des mesures de spores faites pour des échantillons de sol présentait extrêmement de variabilité. Il n'est donc pas exclu que l'eau introduite présentait une concentration plus élevée en spores de BSA (i.e. 10^5 UFC/100 mL). La modélisation était prévue pour des concentrations en spores de BSA de 10^5 UFC/100 mL dans l'eau introduite et un niveau minimal de détection de 100 UFC/100 mL pour déterminer l'intervalle de contamination. Avec cette concentration, les concentrations de spores de BSA retrouvées dans l'eau vidangée entrent dans les gammes prédites. Pour une concentration d'intrusion plus faible, les concentrations mesurées sont trop importantes pour être expliquées par le CAS-2 selon le modèle. Dans ce cas, un apport

de la concentration de spores de BSA provenant des dépôts meubles et du biofilm présents dans le réseau pourrait expliquer cette situation (voir Chapitre 4). De manière générale, il ressort que la comparaison entre les concentrations retrouvées dans l'eau distribuée, dans l'eau de tranchée et les concentrations de spores de BSA ayant été modélisées n'est pas appropriée car la distribution des spores de BSA dans l'eau est trop hétérogène. L'étude des temps de séjour est beaucoup plus révélatrice sur la provenance des spores de BSA ayant été retrouvées en forte concentration.

Pour les trois cas étudiés, les résultats obtenus sur le terrain sont mieux représentés par le CAS 2 décrit par un mélange un jet turbulent. Or, pour les deux réparations, un examen visuel de la fuite suggérait que la conduite avait été laissée sous pression pendant la durée de la réparation. Pour les deux réparations, la différence d'élévation entre les points étudiés est négligeable (max 20 cm selon les données fournies par Ville de Laval), le degré de remplissage de la conduite au point de fuite devait donc être représentatif de celui sur l'ensemble du tronçon isolé. Les résultats suggèrent donc de réévaluer le modèle développé et d'estimer qu'un mélange par jet turbulent est développé même lorsque la conduite semble pleine. Cela peut être due au fait qu'elle ne soit pas complètement pleine due à la topographie.

5.4.2 Utilisation du modèle hydraulique pour valider les durées des vidanges étudiées

Pour le réseau A, les vitesses maximales développées sont plus importantes que celles recommandées par Friedman et al. (2002) (2,7-3,0 vs 1,6) (Friedman, Hill et al. 2002). Les vitesses de l'eau vidangée dans la conduite de la borne-fontaine sont parfois encore plus importantes (>3 m/s). Ces vitesses élevées en situation de rinçage traditionnel expliqueraient les valeurs importantes de turbidité retrouvées même après des périodes de temps assez longues. L'utilisation de vitesses de vidange élevées est requise pour assurer un rinçage adéquat de chaque tronçon. Les vitesses minimales développées sont seulement légèrement inférieures à celle suggérées par Friedman *et al.* (2002) (0,6 m/s). L'utilisation de vitesses de rinçage plus importantes risque d'entraîner une remise en suspension des dépôts de corrosion et des sédiments présents dans les conduites situées à l'extérieur du tronçon isolé (Pierson, Martel et al. 2001). La remise en suspension de ces dépôts pourrait entraîner une décoloration de l'eau amenant des plaintes de citoyens (Slaats, Rosenthal et al. 2003) et un risque de contamination de l'eau. Une manière d'atteindre les vitesses minimales de vidange pour un nettoyage adéquat des conduites sans causer une décoloration de l'eau à l'extérieur du périmètre serait d'effectuer une vidange unidirectionnelle de chaque conduite isolée pendant la réparation avec des vitesses d'environ 1.6 m/s. Par la suite, tout en conservant une vitesse de vidange similaire, l'ensemble du réseau pourrait être remis en service. Cette démarche nécessiterait plus de temps pour les ouvriers municipaux, mais elle permettrait d'effectuer un nettoyage optimal du système. Des tests devraient néanmoins être effectués pour valider l'efficacité d'une telle démarche.

L'opération faite sur le réseau et nommé REP 4 ne constituait pas une réparation au sens propre mais plutôt une opération de déviation de conduite nécessaire pour la mise en place de nouveaux équipements souterrains. Cette réparation effectuée au réseau B enfreint plusieurs bonnes pratiques :

- Il semble que la vanne ou la borne-fontaine vidangée n'était pas être ouverte à pleine capacité car le débit développé est très faible (max=1400 L/min) et inadéquat pour un tel diamètre (300mm). La vitesse de rinçage est à peine assez grande pour remettre en suspension des particules de sable (Slaats, Rosenthal et al. 2003) donc trop faible pour permettre d'extraire des particules contaminées contenues dans les tubercules de la paroi (Friedman, Hill et al. 2002).
- L'ouverture d'une seule vanne sur trois laissant deux tronçons de conduite contenant de l'eau potentiellement souillée est une erreur beaucoup plus grave. En plus, un de ces tronçons contient la zone de conduite ayant été réparée, donc à plus haut risque de contenir de l'eau contaminée.
- Enfin, étant donnée les faibles vitesses développées, le rinçage de conduite n'a pas été assez effectué sur une période de temps assez longue pour rincer correctement quatre fois la section qui a été nettoyée.
- Cette opération a nécessité la fermeture complète des vannes et le remplacement d'une section de conduites d'environ 10 m. Selon la norme de l'AWWA, il est clair qu'une telle pratique nécessite une chloration. Or, en comparaison, la procédure suivie pour effectuer le nettoyage de la conduite est nulle.

5.5 Conclusion

Lors d'une réparation de conduite il est conseillé de conserver une pression à l'intérieur de la conduite. Cette procédure permet de limiter l'occurrence de contamination. Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude permettent de valider cette affirmation. En effet, grâce à un modèle hydraulique, il est démontré que les échantillons d'eau prélevés lors des réparations de conduites ayant une concentration importante en spores de BSA peuvent provenir d'une intrusion qui se serait produite pendant la réparation de conduite. En effet, ils présentent des concentrations de spores de BSA et des temps de rétention hydraulique comparable aux modélisations effectuées. L'examen de l'efficacité des rinçages de conduites montre des résultats clairs. Pour les réparations étudiées au réseau A, les vitesses de vidange étaient adéquates et les volumes vidangés (toujours 4 X) garantissaient également la restauration de la qualité de l'eau à l'intérieur du tronçon de la réparation. Pour la réparation faite au réseau B, l'ensemble des critères de bonnes pratiques étaient enfreints. La démarche suivie a permis de démontrer la difficulté d'atteindre des vitesses suffisantes sur des conduites qui ne sont pas adjacentes à la borne-fontaine vidangée. Pour atteindre une vitesse de rinçage de suffisante dans tous les tronçons, la vitesse de l'eau vidangée doit être extrêmement importante entraînant une forte hausse de turbidité. Le modèle de mélange et certaines méthodes de mesure pourraient être améliorés. Néanmoins, la démarche suivie pourrait présenter un certain intérêt pour de futurs travaux pour améliorer les procédures de rinçage suivant les réparations de conduites.

Chapitre 6: Discussion générale

6.1 Amélioration de la détection des spores de bactéries aérobies dans les réseaux de distribution

Les essais effectués au Chapitre 3 ont permis d'évaluer la récupération des spores de BSA dans les trois conditions environnementales étudiées : des eaux distribuées, des eaux prélevées à une borne-fontaine lors de rinçage de conduite et des échantillons de suspension de sol. Les tests évaluant l'impact du gâteau sont effectués sur l'eau de réseau et de l'eau provenant de rinçage de conduite (résultats non présentés) et les tests de dispersion sont effectués sur les échantillons de sol ayant le plus de risque de contenir des agrégats (rinçage de conduite et suspension de sol).

- La récupération des spores de *Bacillus subtilis* est significativement moins grande ($p < 0,05$) lorsque les spores sont incorporées à de l'eau distribuée stérile comparativement aux témoins composés uniquement de spores mis en suspension dans une solution physiologique.

Cette baisse pourrait être attribuable à l'utilisation d'un volume d'eau trop important. Néanmoins, la récupération maximale obtenue est de 78% pour un volume filtré d'un litre correspond à un taux de récupération acceptable selon Hijnen *et al.* (2000). La présence d'un plateau de récupération située entre 60% et 73% indépendamment du volume pour un des deux essais filtré suggère que cet effet n'est donc pas attribuable directement au volume filtré mais tout simplement à l'utilisation de spores incorporées dans une eau naturelle. Cette hypothèse reste à vérifier ultérieurement. La récupération des microorganismes, comme les coliformes, est souvent inférieure à 50% en eau naturelle (LeChevallier, Evans et al. 1981, Herson et Victoreen 1980), il n'est donc pas surprenant d'obtenir ce genre de résultats pour des spores avec des volumes supérieurs à 100 mL.

- La présence de cuivre peut empêcher la croissance des BSA végétatives suite à leur germination.

La présence de cuivre biodisponible dans le milieu de culture entraîne une baisse de la récupération des spores de BSA en fonction de l'augmentation de la concentration en cuivre, comme pour d'autres microorganismes comme les bactéries sulfato-réductrices (Utgikar, Tabak et al. 2003); les *Bacillus thuringiensis* (Hassen, Saidi et al. 1998); les *Aeromonas* spp. et les coliformes totaux et BHA (Versteegh, Havelaar et al. 1989). Par contre, les concentrations en cuivres particulières ayant été mesurées dans les échantillons d'eau étudiées sont beaucoup plus faibles et ne peuvent expliquer seules la baisse de récupération de spores de BSA observées.

- Lors de mesure de spores de BSA par filtration membranaire, il est essentiel de tenir compte de la charge en particules de l'eau (turbidité ou MES) car la formation d'un gâteau entraîne une baisse de la récupération des spores de BSA.

Lors d'un essai effectué avec de l'eau ayant un contenu plus chargé en particules, la récupération des spores de BSA diminue de manière significative ($p < 0.05$) en fonction du volume filtré. Lors du même essai, la récupération est également significativement moins importante lorsque les spores de *B. subtilis* sont situées à la surface du gâteau ou sous le gâteau créé par le contenu particulaire de l'eau. La diminution de la récupération des spores de BSA lorsque qu'elles sont situées sous le gâteau peut être causée par un manque d'oxygène nécessaire à leur croissance sous forme végétative. La baisse observée pour la récupération des spores de BSA en surface du gâteau est attribuée à une diminution de l'accès au milieu nutritif (Geldreich, Allen et al. 1978, LeChevallier, Evans et al. 1981). Cette diminution importante de la croissance des microorganismes présents dans ces conditions extrêmes pourrait expliquer en partie la diminution de récupération systématique qui est observée lors de filtration membranaire d'eau naturelle de volume supérieur à 100 mL. Afin de limiter la présence de ces particules dans le gâteau, il est nécessaire de fixer le volume maximal qu'il est possible de filtrer. Il est impossible de déterminer précisément le volume

maximal qu'il est possible de filtrer sans diminuer la récupération des spores de BSA. Néanmoins, l'utilisation d'un volume maximal fixé en fonction de la turbidité à une valeur de 500/turbidité entraîne une récupération acceptable dans le cas étudié. Cette problématique entraîne une diminution dans la capacité d'obtenir des valeurs précises de concentrations sur des eaux peu chargées en spores de BSA en utilisant un nombre de boîtes de Pétri limité.

- Sans l'utilisation de dispersant, la mesure standard des spores de BSA par filtration membranaire correspond à une mesure d'agrégat de spores de BSA.

En effet, les concentrations en spores de BSA qui ont été mesurées lors de l'ajout de dispersant (Tween® 80) peuvent être jusqu'à 1000 X plus importantes pour une portion d'un échantillon ayant subi une dispersion que pour une autre n'ayant pas subi de dispersion. Une concentration de Tween® 80 de 0,1% permet d'obtenir une augmentation significative de la récupération des spores de BSA. Lorsqu'elles sont utilisées seules, les méthodes d'homogénéisation testées ne permettent pas d'augmenter la récupération des spores de BSA. Par contre, en présence de Tween® 80, la méthode d'homogénéisation qui est la plus efficace est une triple inversion. Les résultats ne sont pas suffisants pour permettre une telle conclusion, mais il est possible que les autres méthodes d'homogénéisation (mélange avec des billes ou vortex) entraînent, en présence de surfactant, une inactivation d'une portion de l'échantillon. L'utilité d'une dispersion est primordiale lorsque l'objectif est de caractériser la population de spores de BSA dans des eaux provenant du réseau de distribution.

L'agrégation ou la colonisation observée peut aussi bien provenir des différents traitements en usines (Gale, van Dijk et al. 1997, Barbeau, Desjardins et al. 2005) ou d'une méthode de résistance due à un environnement hostile (Morin, Gauthier et al. 1997). Cette dernière hypothèse pourrait expliquer d'autres situations observées dans le cadre de la suite des travaux.

- Les résultats suggèrent que les spores de BSA sont peu agrégées dans le sol et qu'une simple mise en suspension permet la désorption des spores qui y sont présents sous formes agrégées.

En effet, pour le sol étudié, l'utilisation d'agent dispersant et de différentes méthodes d'homogénéisation n'a pas permis d'augmenter la récupération des spores de BSA qui y sont présentes. Ainsi, les méthodes de désorption des bactéries dans des échantillons de sol (Germida, 1993) ne sont pas requises pour la récupération des spores de BSA.

Éventuellement, il sera absolument nécessaire d'améliorer la méthode de mesure d'un point de vue de la dispersion requise et de standardiser une procédure pour le volume maximal qu'il est possible de filtrer sans diminuer de manière trop importante la récupération des spores de BSA. Une autre démarche pourrait être d'utiliser une méthode de mesure basée sur d'autres technologies disponibles : la cytométrie en phase solide (Chemscan®), l'analyse dynamique par image (Brightwell®) ou même la méthode des tubes multiples. Développer une méthode de mesure des spores de BSA par tubes multiples serait simple et peu coûteux. Par contre, cette méthode aurait le désavantage de ne pas être adaptée à des grands volumes d'eau et ne permettrait pas une détection rapide des spores de BSA comme les deux autres méthodes envisagées.

6.2 Évaluation des spores de bactéries sporulantes aérobies comme indicateur d'intrusion dans un réseau de distribution d'eau potable

Au Chapitre 4, nous avons mesuré les concentrations de spores dans le réseau de distribution et dans des échantillons provenant de rinçages de conduites. Ces mesures ont été effectuées sans ajout de dispersant. En effet, l'objectif n'est pas de caractériser parfaitement les concentrations observées dans le réseau mais bien de les comparer par la suite à celles d'échantillons provenant de réparations de conduites. Ces échantillons sont potentiellement contaminés par des particules de sol et donc susceptible de contenir des spores de BSA qui ne sont pas sous forme agrégée. Le volume d'eau utilisé est également limité en fonction des résultats obtenus au Chapitre 3.

- La concentration de spores de BSA dans les eaux distribuées ne varie pas entre les trois points du réseau de distribution étudié.

Cela ne signifie pas qu'aucune inactivation n'est causée par le désinfectant résiduel mais plutôt que si elle a lieu, le taux d'inactivation est égal au taux de recroissance en réseau. Cette recroissance est bien possible étant donné que des *Bacillus* à l'état végétatif ont été décelés dans le biofilm du même réseau (Rompré, Prévost et al. 1998), ces *Bacillus* sont tout à fait susceptibles de sporuler si les conditions environnementales ne sont pas propices à leur croissance (i.e. réseau de distribution). Une croissance de spores de BSA a été observée dans le biofilm d'un pilote soumis à une contamination d'eau usée (Gibbs, Meckes et al. 2003). Il est aussi possible que l'agrégation des spores de BSA leur permette de mieux résister au désinfectant résiduel (Morin, Gauthier et al. 1997) ou que les dépôts meubles empêchent l'accès au désinfectant (Gauthier, Gérard et al. 1999, LeChevallier, Lowry et al. 1993). Gibbs *et al.* (2004) ont observé une concentration de spores de BSA stable sur 72 heures, dans la phase liquide et dans le biofilm d'une conduite en fonte ductile dont la phase liquide contenait une concentration en chlore de 5 mg/L (Gibbs, Meckes et al. 2004). Cela correspond à un CT de 4300 et donc à une inactivation théorique d'environ 50

log pour les souches de BSA les plus résistantes étudiées. Cela suggère que les valeurs de CT observées dans le cadre de cette étude n'influencent pas la concentration en spores dans le biofilm ou dans l'eau distribuée lorsque ces spores sont agrégées ou en présence de dépôts de corrosion. Ainsi, selon cette étude, le taux de décrochage et le taux de croissance des spores dans le biofilm sont équivalents au taux d'accrochage du biofilm et au taux d'inactivation survenant principalement dans la phase liquide. C'est possiblement ce qui a été observé pour un réseau de distribution industriel dans le cadre du projet étudié.

- La distribution des spores de BSA dans le réseau étudié peut être représentée par une loi géométrique selon les résultats obtenus.

Cette observation ne correspond pas à celles établies dans la littérature soit que la distribution des microorganismes en générale suit une loi de Poisson (American Public Health Association (APHA), 1998) ou une distributions binomiales négatives lorsqu'il y a présence d'agrégats (Gale, van Dijk et al. 1997). À partir de cette distribution, la probabilité d'obtenir un compte qui excède 10 spores/100 mL en filtrant 2 L peut être établie comme inférieure à 10^{-9} . Une concentration de spores de BSA supérieure dans l'eau distribuée serait indicatrice d'une contamination.

- Même sans l'utilisation de dispersant, la concentration de spores de BSA dans les eaux de rinçage de conduite de routine peut être significativement plus élevée que les concentrations de spores de BSA mesurées dans l'eau distribuée.

Lorsqu'elles sont effectuées avec des vitesses suffisantes (>0.5 m/s), les rinçages permettent d'extraire la majorité des particules présentes dans le réseau de distribution (Friedman, Hill et al. 2002) et une portion du biofilm (Ellison, Duranceau et al. 2003). Ainsi, certaines particules susceptibles de contenir les spores de BSA qui se trouvent dans le réseau de distribution sont remises en suspension. Les résultats prouvent que la proportion de spores de BSA remise en suspension augmente significativement la concentration de spores contenues dans l'eau du réseau. Cette

constatation est corroborée par d'autres études faites pour une gamme de microorganismes différents y compris des coliformes (Oliver et Harbour 1995, Herson et Victoreen 1980). Certains microorganismes, dont les spores de BSA, sont donc présents en forte concentration dans les dépôts accumulés dans les conduites de distribution d'eau potable. La présence de coliformes dans les réseaux de distribution s'explique par la résistance au désinfectant (aggrégation, colonisation de particules), une recroissance et la possibilité qu'il y ait un apport lors d'événements de contamination (Besner, Gauthier et al. 2002a). Les mêmes facteurs peuvent, expliquer la présence des spores de BSA dans le réseau. Par contre, les spores de BSA sont beaucoup plus résistantes au désinfectant que les coliformes, ce qui entraîne une amplification de ces différents facteurs. De plus, les spores de BSA sont en état de dormance, leur demande en nutriments est donc réduite. Ainsi, dans le cas d'une contamination, les spores qui seraient introduites dans le réseau seraient en mesure de résister plus longtemps à l'environnement défavorable que des coliformes. Il est même possible que, dans certaines conditions, les spores germent et se multiplient dans le biofilm formé dans les conduites du réseau de distribution. Parmi ces conditions, l'absence de désinfectant résiduelle, une température élevée et la présence de nutriments devraient entraîner un environnement propice à la germination. Or, il est démontré que les dépôts meubles présents dans les conduites présentent une source importante de nutriments et une protection contre le désinfectant résiduel (Gauthier, Gérard et al. 1999, Morin, Gauthier et al. 1997). Ces différents constat ne sont pas uniquement applicables aux spores de BSA, d'autres microorganismes pourraient également colonisées les réseaux de distribution. Par contre, la proportion de *Bacillus* spp. sous forme végétative dans le biofilm du réseau de distribution en fait une des espèces les plus courantes ayant été observées par Rompré *et al.* (1998) soit environ 14% des bactéries présentes en moyenne (Rompré, Prévost et al. 1998). Cette proportion représente une concentration de *Bacillus* sous forme végétative dans le biofilm d'environ 2×10^5 UFC/cm². Par contre, cela ne fourni aucun indice sur la concentration de spores de BSA présentes dans ce même biofilm. Dans un réseau pilote soumis à une contamination d'eau usée, les concentrations en spores de BSA

dans le biofilm peuvent atteindre $2,5 \times 10^4$ UFC/cm² (Gibbs, Meckes et al. 2003), ce qui correspond, lors du décrochement de la totalité du biofilm présent dans une conduite de 150 mm, à une concentration supérieure à 2×10^8 UFC/100 mL dans la phase liquide. Avec une vitesse de 0.3 m/s, la concentration en spores de BSA dans la phase liquide atteignait $1,6 \times 10^4$ UFC/100 mL. Par contre, lors de l'arrêt de la contamination de l'eau usée, la présence de spores de BSA dans le biofilm et la phase liquide diminue rapidement sous le seuil de détection.

- Une différence significative a été obtenue entre quatre échantillons d'eau de vidanges faites pendant des réparations de conduites et les échantillons d'eau de vidange de routine (Mann-Whithney U-Test, 2 X : $p < 0,05$; 2 X : $p < 0,10$).

Trois de ces échantillons proviennent de la même réparation et un de ceux-ci contient également une forte concentration en indicateurs de contamination fécale. Étant donné que ce type de contamination est très rare dans l'eau distribuée, il est donc très probable qu'il y ait eu des particules de sol qui auraient été introduites pendant la réparation. La présence significative de spores de BSA sans contamination fécale démontre uniquement que les spores sont un meilleur indicateur d'intrusion de sol. Un de ces échantillons a été prélevés à une propriété située à proximité de la réparation ce qui suggère qu'une contamination fécale aurait également pu y être mesurée. Un quatrième échantillon présente un risque de contamination avec une différence significative des échantillons de vidange (Mann-Whithney U-Test, $p < 0,10$). Cet échantillon a été prélevé lors d'une autre réparation. Sur l'ensemble des cinq réparations étudiées, les procédures de rinçage de conduites suivies lors de deux des cinq autres réparations n'ont pas permis d'échantillonner adéquatement l'eau qui avait pu être contaminée pendant la réparation, ne permettant pas de statuer sur le potentiel d'intrusion de ces deux réparations. Sur les trois autres réparations, deux réparations présentent un potentiel d'intrusion.

6.3 Étude des paramètres de rinçages lors de réparations de conduites

Le Chapitre 5 comporte deux parties. Premièrement, il y a une modélisation du comportement d'une contamination pendant une vidange de conduite. Cette modélisation a permis de démontrer le lien qu'il y a entre le temps de passage prévue pour une contamination modélisée et les événements de fortes concentrations en spores de BSA mesurées pendant les réparations de conduites. Ensuite, le modèle est utilisé pour examiner si les critères de vidange sont respectés pour quatre études faites sur le terrain.

- Lors d'un rinçage de conduite, un jet turbulent est créé entraînant un mélange d'une grande portion de l'eau présente dans la conduite

Les modélisations effectuées ont permis d'expliquer en partie les quatre événements de forte concentration de spores de BSA qui ont été observées. Par contre, une modification a dû y être effectuée. En effet, un mélange par jet turbulent doit être tenu en compte même lorsque la conduite semble remplie complètement pour pouvoir expliquer les événements étudiés.

- Les rinçages de conduites effectués au Réseau A sont adéquats pour extraire la grande majorité des particules ayant pu être introduite dans le tronçon isolé pendant la réparation. Cette vérification est faite sur deux paramètres : 1) le volume d'eau vidangée, 2) l'importance des vitesses développées. Le rinçage de conduite effectué au Réseau B est inadéquat.

Le risque de contamination lié aux événements potentiels d'intrusion est temporaire étant donné que le tronçon a été correctement nettoyé avec des vitesses de rinçage suffisantes. Par contre, les analyses effectuées ont été faites dans le cadre de réparations planifiées. Le risque d'intrusion est particulièrement réduit comparativement aux réparations d'urgence principalement dû au fait qu'il est possible de conserver une pression dans la conduite et que le réseau n'est pas demeuré ouvert pendant une longue période de temps. Cette étude n'est donc pas représentative

des événements de contamination pouvant survenir lors de réparations d'urgence ou de bris nécessitant un arrêt prolongé de l'alimentation en eau.

6.4 Implications des résultats obtenus lors des trois études

- L'utilisation des spores comme indicateurs de gestion afin de mesurer une intrusion semble adéquate pour le réseau de distribution étudié

La résistance au désinfectant secondaire en réseau qui était un avantage des spores de BSA comme indicateur d'intrusion (survie pendant une période de temps assez longue pour pouvoir les mesurer) devient son principal défaut. En effet, la présence de spores de BSA en si grande concentration même après 20 heures de temps de rétention suggère qu'il y ait pu y avoir une colonisation du réseau par des bactéries végétatives qui auraient sporulé par la suite. La présence de spores de BSA a déjà été observée en réseau pilote dans la phase liquide et dans le biofilm en des concentrations suggérant une certaine colonisation même en présence de chlore (Gibbs, Meckes et al. 2003, Gibbs, Meckes et al. 2004). L'explication de cette résistance réside dans l'agrégation et la colonisation de particules. Lors de l'étude présentée au Chapitre 2, la présence de spores de BSA dans les échantillons provenant de rinçage de conduite varie entre 0 et 10 UFC/100 ml pour les 5 échantillons analysés. Par contre, l'hétérogénéité observée dans la distribution des spores de BSA pourrait entraîner la présence d'échantillons d'eau présentant des concentrations très importantes en spores de BSA et ayant des comptes statistiquement différents de celles qui sont observées pour des échantillons prélevés lors des rinçages de routines étudiées. Cette augmentation pourrait provenir d'agrégats fortement colonisés qui seraient défaits comme cela a été remarqué lors de l'utilisation du dispersant (voir Chapitre 3). Ces concentrations pourraient être aussi élevées que celles observées pour les échantillons prélevés pendant les réparations de conduites et présentant un risque d'intrusion (échantillons REP1-i; REP1-ii; REP1-iv et REP2-i). Le problème est qu'il est impossible de connaître la concentration de spores de BSA dans le biofilm des conduites qui ont potentiellement été contaminées pendant les réparations étudiées. Par contre, les faibles concentrations en spores de BSA des échantillons prélevés pendant les vidanges de borne-fontaine avant ou après les échantillons étudiés (Besner, Cartier et al. 2005) permettent d'estimer qu'il n'est

pas question d'une contamination généralisée du biofilm. De plus, les résultats du Chapitre 5 suggèrent que les temps de prélèvements des échantillons et les concentrations mesurées sont réalistes d'un point de vue hydraulique.

Compte tenu que les spores de BSA sont très résistantes au milieu étudié et donc potentiellement présentes en fortes concentrations, il est possible que ce ne soient pas les organismes les plus adéquats pour l'étude effectuée. Des microorganismes plus sélectifs dans la nature de leur habitat pourraient être plus appropriés. Or, les autres organismes susceptibles de servir d'indicateur d'intrusion (coliformes totaux et actinomycètes) ont déjà été observés dans les réseaux de distribution colonisant des particules (Oliver et Harbour 1995, Herson et Victoreen 1980, Zacheus, Lehtola et al. 2001, Ridgway et Olson 1982)). Cela suggère que le même genre de lacunes (augmentation significative lors de vidange) pourrait être observé lors de l'utilisation de ces autres microorganismes comme indicateur. Une analyse semblable à celle réalisée dans le cadre du Chapitre 3 en utilisant des coliformes totaux pourrait entraîner le même genre de résultats que ceux observés. En fait, l'augmentation devrait être plus élevée pour les coliformes que pour les spores puisqu'ils sont beaucoup plus sensibles au désinfectant et très peu susceptible de demeurer sous forme libre dans la phase aqueuse. L'étude effectuée suggère que la méthode de mesures des spores de BSA par filtration membranaire est moins affectée par la présence d'un gâteau sur le filtre que celle utilisée pour mesurer les coliformes (voir Chapitre 3). Une mesure précise et fiable du nombre de coliformes dans l'eau provenant de vidange de borne-fontaine lors de rinçage semble donc autant, sinon plus, difficile à obtenir que pour les spores. Enfin, les coliformes totaux ne sont pas présents en forte concentration dans le sol. Le pourcentage d'échantillon positif est d'environ 50% (Karim, Abbaszadegan et al. 2003, Besner, Cartier et al. 2005). Les résultats suggèrent donc que l'utilisation des coliformes comme indicateur d'intrusion est donc inappropriée, tel qu'identifié initialement.

Les actinomycètes sont présents dans tous les échantillons de sol analysé (résultats non présentés). Leur présence n'a été détectée dans aucun échantillon d'eau de vidange de routine et dans l'échantillon REP1-i potentiellement contaminé par une intrusion de sol. Par contre, ces résultats ne sont que préliminaires, le volume total d'eau analysé est très faible (< 100 ml). Une méthode de récupération des actinomycètes par concentration de volume plus important (avec concentration sur membrane et élution) semble être envisageable afin d'améliorer les capacités d'indicateur de ce microorganisme. Par contre, les désavantages liés à ce microorganisme demeurent : 1) Les actinomycètes sont également résistantes au chlore, l'inactivation par le chlore résiduel devrait être limitée entraînant une possibilité de recroissance (Ridgway et Olson 1982); 2) une longue période d'incubation entraînant l'impossibilité de répondre en temps réel; 3) des coûts en matériel beaucoup plus important pour effectuer une analyse; 4) La nécessité d'avoir un personnel spécifiquement qualifié (surtout si une concentration sur membrane est retenue). En tenant compte des manipulations requises, il ne semble pas possible que les actinomycètes deviennent un indicateur couramment utilisé pour des analyses d'eau effectuées par des municipalités.

L'usage de paramètres microbiologiques comme indicateur de contamination dans les réseaux de distributions pour des événements transitoires semble possible (malgré les réserves émises par LeChevallier *et al.* (2003). L'utilisation des spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol pourra donc éventuellement permettre de cerner certaines pratiques effectuées lors de réparations de conduites entraînant un risque de contamination.

Pour le réseau étudié, l'utilisation des spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol semble être une approche adéquate. Pour ce réseau, il est donc possible d'utiliser les spores de BSA comme un outil de gestion permettant de définir certaines pratiques inadéquates lors de travaux sur des réseaux de distribution d'eau potable. À partir de

ce genre d'étude terrain, il serait éventuellement possible d'établir des critères de bonnes pratiques qui proviennent de mesures réelles plutôt que d'estimation ou d'étude en laboratoire. Il serait également possible d'effectuer des analyses de risques associés aux moins bonnes pratiques de réparations qui sont effectuées couramment. Ainsi les résultats préliminaires obtenus lors des réparations de conduites suggèrent que l'eau contaminée par une intrusion de sol peut être introduite dans l'entrée de service des propriétés si une demande en eau est effectuée. Hors, certains résultats laissent croire que de l'eau de rinçage pouvait être introduite dans les entrées de services sans qu'il y ait de demande en eau (Cartier, Besner et al. 2005). Il est donc possible qu'il y ait, pendant les réparations de conduites, une contamination des entrées de services par des intrusions de sol pouvant contenir différents agents pathogènes (chimique ou microbiologique). Suite à ce projet, il est suggéré d'ajouter aux différents protocoles de réparations en vigueur une consigne de vidanger les entrées de services des propriétés en laissant couler l'eau au moins 10 minutes avant la consommation. Néanmoins, d'autres études plus spécifiques sur le sujet pourraient statuer de manière plus précise cette situation.

Par contre, les valeurs obtenues pour les concentrations en spores de BSA pour l'eau traitées peuvent être beaucoup plus importantes dans d'autres réseaux selon la littérature; 1-20 UFC/100 mL (Brown et Cornwell 2005); 0.5-500 UFC/100 mL (Gale, van Dijk et al. 1997); 0.5-50 UFC/100 mL (Nieminski, Bellamy et al. 2000). Selon les résultats obtenus, la concentration en spores de BSA dans un réseau de distribution n'est pas influencée par les concentrations en chlore résiduel utilisé. Cette situation ne devrait pas être différente dans un autre réseau. Ainsi, dans le cas d'une concentration initiale de spores de BSA plus importante à l'eau traitée, il est raisonnable de penser que la concentration dans l'eau distribuée devrait demeurer stable et que la concentration de spores de BSA dans l'eau de rinçage de conduite de routine devrait également être relativement plus élevée. Dans certains cas, il serait alors impossible d'utiliser ce microorganisme dû à des concentrations trop importantes dans l'eau distribuée.

Chapitre 7: Conclusion générale et recommandation

La méthode de mesure traditionnelle par filtration membranaire n'est pas appropriée pour déterminer de manière exacte la concentration de spores de BSA en réseau de distribution. Plusieurs modifications doivent y être effectuées, entre autre l'utilisation d'un agent dispersant et une limitation du volume maximal filtré. Il est également possible que certaines espèces de spores de BSA ne croissent pas à la température d'incubation prescrite de 35°C. Tout dépendamment de la méthode développée, l'utilisation d'autres méthodes telles que la cytométrie en phase solide (Chemscan®) ou l'analyse dynamique par image (Brightwell®) pourrait amener à avoir une meilleure estimation de la concentration en spores de BSA présentent dans l'eau. Ces différents outils permettraient également de mesurer la concentration en spores de BSA agrégées. L'utilisation de méthodes de détections avec ce type d'équipement pour des événements de contamination de réseau de distribution est également privilégiée par LeChevallier *et al.* (2003) car elles permettent de faire des mesures en temps réel.

Il a été choisi de ne pas utiliser de dispersant lors de l'étude de la concentration en spores de BSA dans le réseau de distribution car cela diminuait la limite de détection d'un événement d'intrusion, la récupération des spores de BSA dans le sol n'étant pas augmentée par les méthodes de dispersion utilisée. L'utilisation d'une méthode de dispersion aurait néanmoins permis d'obtenir des résultats plus représentatifs de la réalité. Or, ces résultats n'auraient sûrement pas permis de différencier statistiquement la concentration en spores de BSA dans l'eau de rinçage de conduite de routine des rinçages effectués suite aux réparations. En ce sens, il est possible que l'utilisation des spores de BSA mesurées suite à une dispersion comme indicateur d'intrusion ne soit pas adéquate pour le réseau de distribution étudiée. L'utilisation de cet indicateur de gestion pour des réseaux de distribution ayant une plus forte charge en spores de BSA dans l'eau traitée serait alors impossible. Il est également envisageable que l'utilisation d'éventuelles méthodes de comptes directes (cytométrie, analyse

dynamique par image) se bute aux mêmes problèmes dus à la détection de spores agrégées.

La méthode qui a été développée dans le cadre de ce projet n'est donc pas systématique, par contre, elle est adéquate dans le cas étudié. En effet, les événements de fortes concentrations ayant été détectés sont tous liés à un risque d'intrusion préalable. Les spores de BSA peuvent donc, pour le réseau de distribution étudié, être utilisées comme indicateur d'intrusion de sol pendant les réparations de conduites.

Une étude pilote tel que celle effectuée par Boyd *et al.* (2004a; 2004b) pourrait être effectuée en utilisant les spores de BSA comme indicateur d'intrusion de sol lors de pression transitoire. Cette étude pourrait être effectuée avec une conduite fissurée placée dans un sol composé de remblai typique compacté représentatif de la réalité. En somme, il apparaît évident que cette approche innovatrice permettra éventuellement de mieux comprendre la contamination microbiologique des réseaux de distribution lors des opérations de routine. De manière générale, lorsqu'il est question de problématiques difficiles à cerner de manière globale et nécessitant la mesure de plusieurs paramètres, ce genre d'approche « terrain » devrait être utilisée le plus souvent possible afin de mieux visualiser les conséquences entraînées par la problématique observée, sans nécessairement comprendre tous les phénomènes mis en jeu.

Bibliographie

ABOYTES, R., DI GIOVANNI, G.D., ABRAMS, F.A., RHEINECKER, C., MCELROY, W., SHAW, N. et al. 2004. Detection of infectious *Cryptosporidium* in filtered drinking water. *Journal of American Water Works Association*. 96 : 9. 88-98.

AINSWORTH, R., HOLT, D. 2004. *Safe piped water. Managing microbial water quality in piped distribution systems*. World Health Organisation (WHO) and International Water Association (IWA). 87-99 p.

American Public Health Association (APHA). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. Anon. 1220. Washington, DC, USA : American Water Works Association and the Water Environment Federation.

American Society of Civil Engineers (ASCE). 2005. 4 p.

American Water Works Association and Economic and Engineering Services, Inc. 2002. United States Environmental Protection Agency . 13 p.

American Water Works Association (AWWA) and American National Standards Institute (ANSI). 2005. Denver, Colorado, USA: 23 p. 2P-5C-43651-09/05-CM.

BARBEAU, B., BOULOS, L., DESJARDINS, R., COALLIER, J., PRÉVOST, M. 1999. Examining the use of aerobic spore-forming bacteria to assess the efficiency of chlorination. *Water Research*. 33 : 13. 2941-2948.

BARBEAU, B., BOULOS, L., DESJARDINS, R., COALLIER, J., PRÉVOST, M., DUCHESNE, D. 1997. A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 43 : 976-980.

BARBEAU, B., DESJARDINS, R., MYSORE, C., PRÉVOST, M. 2005. Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters. *Water Research*. 39 : 10. 2024-2033.

BARBEAU, B., PAYMENT, P., COALLIER, J., CLÉMENT, B., PRÉVOST, M. 2000. Evaluating the risk of infection from the presence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in drinking water. *Quantitative Microbiology*. 2 : 1. 37-54.

BARBEAU, B., PRÉVOST, M., ALLARD, D., COALLIER, J. 1999. "Evaluation of the flooding impact on microbial intrusion in a distribution system". Chicago, Illinois, USA : American Water Works Association - Annual Conference.

BESNER, M.-C., CARTIER, C., MORISSETTE, C., AUBIN, A., PAYMENT, P., PRÉVOST, M. 2005. "Water quality variations during repairs of pipe leaks". Québec City, Québec, Canada : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

BESNER, M.-C., CARTIER, C., MORISSETTE, C., KARNEY, B., PAYMENT, P., PRÉVOST, M. 2004. "Do routine distribution system operations have an impact on water quality?". San Antonio, Texas, USA : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

BESNER, M.-C., GAUTHIER, V., MORISSETTE, C., PRÉVOST, M. 2002a. "Identification of the main causes of total coliforms in a distribution system". Seattle, Washington, USA : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

BESNER, M.-C., GAUTHIER, V., SERVAIS, P., CAMPER, A. 2002b. Explaining the occurrence of coliforms in distribution systems. *Journal of American Water Works Association*. 94 : 8. 95-109.

BLACKBURN, B.G., CRAUN, G.F., YODER, J.S., HILL, V., CALDERON, R.L., CHEN, N. et al. 2004. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water--United States, 2001-2002. *MMWR Surveill Summ.* 53 : 8. 23-45.

BONDE, G. 1966. Bacteriological methods for estimation of water pollution. *Health Laboratory Science.* 3 : 124-128.

BORST, M., SELVAKUMAR, A. 2003. Particle-associated microorganisms in stormwater runoff. *Water Research.* 37 : 1. 215-223.

BOULOS, P.F., KARNEY, B.W., WOOD, D.J., LINGIREDDY, S. 2005. Hydraulic transient guidelines for protecting water distribution systems. *Journal of American Water Works Association.* 97 : 5. 111-124.

BOYD, G.R., WANG, H., BRITTON, M.D., HOWIE, D.C., WOOD, D.J., FUNK, J.E. et al. 2004a. Intrusion within a simulated water distribution system due to hydraulic transients. I: description of test rig and chemical tracer method. *Journal of Environmental Engineering.* 130 : 7. 774-777.

BOYD, G.R., WANG, H., BRITTON, M.D., HOWIE, D.C., WOOD, D.J., FUNK, J.E. et al. 2004b. Intrusion within a simulated water distribution system due to hydraulic transients. II: volumetric method and comparison of results. *Journal of Environmental Engineering.* 130 : 7. 778-783.

BRAR, S.K., VERMA, M., BARNABE, S., TYAGI, R.D., VALERO, J.R., SURAMPALLI, R. 2005. Impact of Tween 80 during *Bacillus thuringiensis* fermentation of wastewater sludges. *Process Biochemistry.* 40 : 8. 2695-2705..

BROWN, R.A., CORNWELL, D.A. 2005. "Utilizing spore removal to monitor plant performance for *Cryptosporidium* removal". San Francisco, California, USA : American Water Works Association - Annual Conference.

CAMPER, A.K., LECHEVALLIER, M.W., BROADAWAY, S.C., MCFETERS, G.A. 1985. Evaluation of procedures to desorb bacteria from granular activated carbon. *Journal of Microbiological Methods*. 3 : 3-4. 187-198.

CAREY, C.M., LEE, H., TREVORS, J.T. 2004. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*. 38 : 4. 818-862.

CARRIÈRE, A. 2002. *Mesure de l'accumulation des dépôts dans les conduites d'eau potable et évaluation de la méthode de rinçage unidirectionnel pour les évacuer*. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique - Génies Civil, Géologique et des Mines.

CARTIER, C., BESNER, M.-C., MORISSETTE, C., PRÉVOST, M. 2005. "Étude des possibilités d'intrusion dans les réseaux de distribution d'eau potable lors des réparations de conduites". Sherbrooke : 17^e Atelier sur L'Eau Potable- Réseau Environnement.

Cartier, C., Besner, M.-C., Barbeau, B., and Prévost, M. Improving the detection of ASFB in distribution systems. *Water Supply: Research and Technology – AQUA*. Submitted.

CHADWICK, A., MORFETT, J., BORTHWICK, M. 2004. Hydraulics in civil and environmental engineering. Anon. London and New York : Spon Press, Tayllor & Francis Group. 644.

CHAURET, C., ARMSTRONG, N., FISHER, J., SHARMA, R., SPRINGTHORPE, S., SATTAR, S. 1995. Correlating *Cryptosporidium* and *Giardia* with microbial indicators. *Journal of American Water Works Association*. 87 : 11. 76-84.

CHHABRA, R.P. 1993. Bubbles, drops, and particles in non-newtonian fluids. Anon. Boca, Randon, Florida, USA : CRC Press, Inc. 471.

CRAUN, G.F., BERGER, P.S., CALDERON, R. 1997 . Coliform bacteria and waterborne disease outbreaks. *Journal of American Water Works Association*. 89 : 3. 96-104.

CRAUN, G.F., CALDERON, R.L. 2001. Waterborne disease outbreaks caused by distribution system deficiencies. *Journal of American Water Works Association*. 93 : 9. 64-75.

CRITCHLEY, M.M., CROMAR, N.J., MCCLURE, N., FALLOWFIELD, H.J. 2002. Biofilms in copper plumbing systems: Sensitivity to copper and chlorine and implications for corrosion. *Water Science and Technology: Water Supply*. 2 : 4. 81-87.

DEAN, D.H., DOUTHIT, H.A. 1974. Buoyant density heterogeneity in spores of *Bacillus subtilis*: biochemical and physiological basis. *Journal of Bacteriology*. 117 : 2. 601-610.

DEMAIN, A.L., SOLOMON, N.A. 1985. Biology of industrial microorganisms. Anon. Stoneham, MA, USA : Benjamin-Cummings Publishing Company. 573.

DESHAYES, F., SCHMITT, M., LEDRANS, M., GROURRIER-FRERY, C., DE VALK, H. 2001. Pollution du réseau d'eau potable à Strasbourg et survenue concomitante de gastro-entérites. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire* . 2 : 1-8.

DIZER, H., HAGENDORF, U. 1991. Microbial contamination as an indicator of sewer leakage. *Water Research*. 25 : 7. 791-796.

ELLISON, D., DURANCEAU, S.J., ANCEL, S., DEAGLE, G., MCCOY, R. 2003. Denver, Colorado, USA: American Water Works Association Research Foundation. 142 p.

EMERICK, R.W., LOGE, F.J., THOMPSON, D., DARBY, J.L. 1999. Factors influencing ultraviolet disinfection performance. Part II: Association of coliform bacteria with wastewater particles. *Water Environment Research*. 71 : 6. 1178-1187.

FÉLIERS, C., BATTÉ, M., SERVAIS, P., GAUTHIER, V., BLOCK, J.-C. 2005. "Biofilm and microbial drinking water quality in full scale distribution systems". Québec City, Québec, Canada : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

FRANCIS, C.A., LOCKLEY, A.C., SARTORY, D.P., WATKINS, J. 2001. A simple modified membrane filtration medium for the enumeration of aerobic spore-bearing bacilli in water. *Water Research*. 35 : 15. 3758-3761.

FRIEDMAN, M., HILL, A., SMITH, S., TA, T., HINEDI, Z. 2002. "Establishing site-specific flushing velocities". Seattle, Washington, USA : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference .

FROBISHER, M. 1968. Fundamentals of Microbiology. An introduction to the microorganisms with special reference to the procaryons (8th Edition). Anon. 629. Philadelphia, USA : W. B. Saunders Company.

GALE, P., VAN DIJK, P.A.H., STANFIELD, G. 1997. Drinking water treatment increases micro-organism clustering; the implications for microbiological risk assessment. *Journal of Water Supply: Research and Technology*. 46 : 3. 117-126.

GALOFRÉ, B., ISRAEL, S., DELLUNDE, J., RIBAS, F. 2004. Aerobic bacterial spores as process indicators for protozoa cysts in water treatment plants. *Water Science and Technology*. 50 : 1. 165-172.

GAUTHIER, V., BARBEAU, B., TREMBLAY, G., MILLETTE, R., BERNIER, A.-M. 2003. Impact of raw water turbidity fluctuations on drinking water quality in a distribution system. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 2 : 281-291.

GAUTHIER, V., BESNER, M.-C., BARBEAU, B., TRÉPANIÉ, M., MILLETTE, R., PRÉVOST, M. 2001. "Tracking the source for microbial contamination in distribution system using an integrated approach". Nashville, Tennessee, USA : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

GAUTHIER, V., GÉRARD, B., PORTAL, J.-M., BLOCK, J.-C., GATEL, D. 1999. Organic matter as loose deposits in a drinking water distribution system. *Water Research*. 33 : 4. 1014-1026.

GELDREICH, E.E., ALLEN, M.J., TAYLOR, R.H. 1978. Interferences to coliform detection in potable water supplies. *Evaluation of the microbiology standards for drinking water*. Anonyme. Washington, DC, USA : C.W. Hendricks (ed.) United States Environmental Protection Agency. P. 13-20.

GELDREICH, E.E., FOX, K.R., GOODRICH, J.A., RICE, E.W., CLARK, R.M., SWERDLOW, D.L. 1992. Searching for a water supply connection in the Cabool, Missouri disease outbreak of *Escherichia coli* O157:H7. *Water Research*. 26 : 8. 1127-1137.

GERMIDA, J.J. 1993. Cultural Methods for soil microorganisms (Chapter 27). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Anonyme M.R. Carter, Ed. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. P. 263-272.

GIBBS, S.G., MECKES, M.C., GREEN, C.F., SCARPINO, P.V. 2004. Evaluation of the ability of chlorine to inactivate selected organisms from the biofilm of a drinking water distribution system simulator following a long-term wastewater cross-connection. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 3 : 97-105.

GIBBS, S.G., MECKES, M.C., SCARPINO, P.V. 2003. The effect of long-term wastewater cross-connection on the biofilm of a simulated water distribution system. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 2 : 85-98.

GOMEZ-LOPEZ, A., ABERKANE, A., PETRIKKOU, E., MELLADO, E., RODRIGUEZ-TUDELA, J.L., CUENCA-ESTRELLA, M. 2005. Analysis of the influence of Tween concentration, inoculum size, assay medium, and reading time on susceptibility testing of *Aspergillus* spp. *Journal of Clinical Microbiology*. 43 : 3. 1251-1255.

Gouvernement du Québec. 2005. Québec, Canada: Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs du Québec. 27 p.

GULLICK, R.W., LECHEVALLIER, M.W., CASE, J., WOOD, D.J., FUNK, J.E., FRIEDMAN, M.J. 2005. Application of pressure monitoring and modelling to detect and minimize low pressure events in distribution systems. *Water Supply: Research and Technology - AQUA*. 54 : 2. 65-81.

GULLICK, R.W., LECHEVALLIER, M.W., SVINDLAND, R.C., FRIEDMAN, M.J. 2004. Occurrence of transient low and negative pressures in distribution systems. *Journal of American Water Works Association*. 96 : 11 . 52-66.

HAAS, C.N., CHITLURU, R.B.G.M., PIPES, W.O., BURLINGAME, G.A. 1998. Denver, Colorado: American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association. 158 p. 90750.

HARRIS, J.O. 1960. Bacterial activity at bottom of back-filled pipe line ditches. *Corrosion*. 16 : 3. 131-136.

HASSEN, A., SAIDI, N., CHERIF, M., BOUDABOUS, A. 1998. Resistance of environmental bacteria to heavy metals. *Bioresource Technology*. 64 : 1. 7-15.

HERSON, D.S., MARSHALL, D.R., BAKER, K.H., VICTOREEN, H.T. 1991. Association of microorganisms with surfaces in distribution systems. *Journal of American Water Works Association*. 83 : 7. 103-106.

HERSON, D.S., VICTOREEN, H.T. 1980. *Hindrance of coliform recovery by turbidity and non-coliforms*. Cincinnati, Ohio: United States Environmental Protection Agency. Municipal Environmental Research Laboratory. Office of Research and Development. 38-63 p.

- HIJNEN, W.A.M., VAN VEENENDAAL, D.A., VAN DER SPELD, W.M.H., VISSER, A., HOOGENBOEZEM, W., VAN DER KOOIJ, D. 2000. Enumeration of faecal indicator bacteria in large water volumes using on site membrane filtration to assess water treatment efficiency. *Water Research*. 34 : 5. 1659-1665.
- HUERTAS, A., BARBEAU, B., DESJARDINS, C., GALARZA, A., FIGUEROA, M.A., TORANZOS, G.A. 2003. Evaluation of *Bacillus subtilis* and coliphage MS2 as indicators of advanced water treatment efficiency. *Water Science and Technology*. 47 : 3. 255-259.
- HUNTER, P.R., CHALMERS, R.M., HUGHES, S., SYED, Q. 2005. Self-reported diarrhea in a control group: a strong association with reporting of low-pressure events in tap water. *Clinical Infectious Diseases*. 40 : 4. e32-e34.
- KARIM, M.R., ABBASZADEGAN, M., LECHEVALLIER, M. 2003. Potential for pathogen intrusion during pressure transients. *Journal of American Water Works Association*. 95 : 5. 134-146.
- KARNEY, B.W., MCINNIS, D. 1990. Transient analysis of water distribution systems. *Journal of American Water Works Association*. 82 : 7. 62-70.
- KIRMEYER, G., FRIEDMAN, M., CLEMENT, J., SANDVIG, A., NORAN, P.F., MARTEL, K.D. et al. 2000. Denver, Colorado, USA: American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association. 325 p. 90798.
- KIRMEYER G.J., FRIEDMAN, M., MARTEL, K., HOWIE, D., LECHEVALLIER, M.W., ABBASZADEGAN, M. et al. 2001. *Pathogen intrusion into the distribution system*. Denver, Colorado, USA: American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association. 254 p. 3P-.25C-90835-7/20-CM.

KRAMER, M.H., HERWALDT, B.L., CRAUN, G.F., CALDERON, R.L., JURANEK, D.D. 1996. Waterborne disease: 1993 and 1994. *Journal of American Water Works Association*. 88 : 3. 66-80.

LAHTI, K., HIISVIRTA, L. 1995. Causes of waterborne outbreaks in community water systems in Finland: 1980-1992. *Water Science and Technology*. 31 : 5-6. 33-36.

LECHEVALLIER, M.W. 1990. Coliform regrowth in drinking water: a review. *Journal of American Water Works Association*. 82 : 11 . 74-86.

LECHEVALLIER, M.W. 1999. The case for maintaining a disinfectant residual. *Journal of American Water Works Association*. 91 : 1. 86-94.

LECHEVALLIER M.W., DI GIOVANNI, G.D., CLANCY, J.L., BUKHARI, Z., BUKHARI, S., ROSEN, J.S. et al. 2003. Comparison of method 1623 and cell culture-PCR for detection of *Cryptosporidium* spp. in source waters. *Applied and Environmental Microbiology*. 69 : 2. 971-979.

LECHEVALLIER, M.W., EVANS, T.M., SEIDLER, R.J. 1981. Effect of turbidity on chlorination efficiency and bacterial persistence in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*. 42 : 1. 159-167.

LECHEVALLIER, M.W., GULLICK, R.W., KARIM, M.R., FRIEDMAN, M., FUNK, J.E. 2003. The potential for health risks from intrusion of contaminants into the distribution system from pressure transients. *Journal of Water and Health*. 1 : 1. 3-14.

LECHEVALLIER, M.W., LOWRY, C.D., LEE, R.G. 1990. Disinfecting biofilms in a model distribution system. *Journal of American Water Works Association*. 82 : 7. 87-99.

LECHEVALLIER, M.W., LOWRY, C.D., LEE, R.G., GIBBON, D.L. 1993. Examining the relationship between iron corrosion and the disinfection of biofilm bacteria. *Journal of American Water Works Association*. 85 : 7. 111-123.

LECHEVALLIER, M.W., WELCH, N.J., SMITH, D.B. 1996. Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*. 62 : 7. 2201-2211.

LEVENSPIEL, O. 1999. Chemical reaction engineering. Anon. New York, Toronto : John Wiley Inc. 668.

MADGE, B.A. 2002. *Evaluation of wastewater solids and their relevance in ultraviolet disinfection*. 220 p. Doctor of Philosophy, University of New York at Buffalo.

MAZOUA, S., CHAUVEHEID, E. 2005. Aerobic spore-forming bacteria for assessing quality of drinking water produced from surface water. *Water Research*. 39 : 20. 5186-5198.

MEDEMA, G.J., SHAW, S., WAITE, M., SNOZZI, M., MORREAU, A., GRABOW, W. 2003. *Assessing microbial safety of drinking water. Improving approaches and methods*. London: World Health Organization and the Organisation for Economic Co-operation and Development by IWA Publishing. 111-158 p. ISBN: 92-4-154630-1.

MORIN, P., GAUTHIER, V., SABY, S., BLOCK, J.-C. 1997. "Bacterial resistance to chlorine through attachment to particles and pipes surfaces in drinking water distribution systems". Warwick, United Kingdom : Conference of the Royal Society of Chemistry.

National Research Council of the National Academies. 2004. Indicators for waterborne pathogens. Anon. Washington, DC, USA : The National Academies Press. 315.

NIEMINSKI, E.C., BELLAMY, W.D. 2000. Denver, Colorado, USA: American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association. 282 p. 90811.

- NIEMINSKI, E.C., BELLAMY, W.D., MOSS, L.R. 2000. Using surrogates to improve plant performance. *Journal of American Water Works Association*. 92 : 3. 67-78.
- OLIVER, E.D., HARBOUR, J.D. 1995. "Speciation of coliforms isolated from sediments in brown water released during a flushing program undertaken by the Seattle water department". New Orleans, Louisiana, USA : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.
- ORMECI, B., LINDEN, K.G. 2005. Comparison of physical and chemical methods for extraction of coliform from wastewater particles and flocs. *Environmental Engineering and Science*. 22 : 4. 459-471.
- PAYMENT, P. 1997. Epidemiology of endemic gastrointestinal and respiratory diseases: incidence, fraction attributable to tap water and costs to society. *Water Science and Technology*. 35 : 11-12. 7-10.
- PAYMENT, P. 1998. Distribution system impacts on microbial diseases. *Water Supply*. 16 : 3-4. 113-119.
- PAYMENT, P. 1999. Poor efficacy of residual chlorine disinfectant in drinking water to inactivate waterborne pathogens in distribution systems. *Canadian Journal of Microbiology*. 45 : 8. 709-715.
- PAYMENT, P., SIEMIATYCKI, J., RICHARDSON, L., RENAUD, G., FRANCO, E., PRÉVOST, M. 1997. A prospective epidemiological study of gastrointestinal health effects due to the consumption of drinking water. *International Journal of Environmental Health Research*. 7 : 1. 5-31.
- PIERSON, G., MARTEL, K., HILL, A., BURLINGAME, G., GODFREE, A. 2001. Denver, Colorado, USA: American Water Works Association Research Foundation. 308 p.

PRÉVOST, M., LAURENT, P., SERVAIS, P., JORET, J.-C. 2005. Biodegradable organic matter in drinking water treatment and distribution. Anon. Denver, Colorado, USA : American Water Works Association. 300.

RICE, E.W., COVERT, T.C., WILD, D.K., BERMAN, D., JOHNSON, S.A., JOHNSON, C.H. 1993. Comparative resistance of escherichia coli and enterococci to chlorination. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 28 : 1. 89-97.

RICE, E.W., FOX, K.R., MILTNER, R.J., LYTLE, D.A., JOHNSON, C.H. 1996. Evaluating plant performance with endospores. *Journal of American Water Works Association*. 88 : 9. 122-130.

RIDGWAY, H.F., OLSON, B.H. 1982. Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology*. 44 : 972-987.

ROGERS, J., DOWSETT, A.B., DENNIS, P.J., LEE, J.V., KEEVIL, C.W. 1994. Influence of temperature and plumbing materials selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in model potable water systems contaminating complex microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology*. 60 : 6. 1585-1592.

ROMPRÉ, A., PRÉVOST, M., COALLIER, J., SERVAIS, P. 1998. Impact of reducing biodegradable organic matter on fixed and suspended biomass in distribution systems (Chapter 4). Anonyme. Denver, Colorado, USA : American Water Works Association Research Foundation and American Water Works Association. P. 57-120.

Santé Canada. 1996. Ottawa, Ontario, Canada : Centre d'édition du gouvernement du Canada. Approvisionnement et services Canada. 102 p. ISBN-H48-10-1996E.

- SEMENZA, J.C., ROBERTS, L., HENDERSON, A., BOGAN, J., RUBIN, C.H. 1998. Water distribution system and diarrheal disease transmission: a case study in Uzbekistan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 59 : 6. 941-946.
- SLAATS, L.P.M., ROSENTHAL, W.G., SIEGERS, M., VAN DEN BOOMEN, M., BUEKEN, R.H.S., VREEBURG, J.H.G. 2003. Denver, Colorado, USA: American Water Works Research Foundation and Kiwa Water Research. 100 p. 90996.
- TCHOBANOGLIOUS, G., BURTON, F.L., STENSEL, H.D. 2003. Wastewater Engineering . Anon. New York, USA : Metcalf and Eddy, Inc., McGraw Hill. 1819.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1990. Total coliform rule and surface water treatment rules. Anon. Washington, DC, USA : Government Printing Office.
- UTGIKAR, V.P., TABAK, H.H., HAINES, J.R., GOVIND, R. 2003. Quantification of toxic and inhibitory impact of copper and zinc on mixed cultures of sulfate-reducing bacteria. *Biotechnology and Bioengineering*. 82 : 3. 306-312.
- VAN DER KOOIJ, D., VAN LIEVERLOO, J.H.M., SCHELLART, J., HIEMSTRA, P. 1999. Maintaining quality without a disinfectant residual. *Journal of American Water Works Association*. 91 : 1. 55-64.
- VERSTEEGH, J.F., HAVELAAR, A.H., HOEKSTRA, A.C., VISSER, A. 1989. Complexing of copper in drinking water samples to enhance recovery of *Aeromonas* and other bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*. 67 : 5. 561-566.
- WALSKI, T.M., CHASE, D.V., SAVIC, D.A., GRAYMAN, W., BECKWIGH, S., KOELLE, E. 2003. Advanced water distribution modeling and management . Anon. Waterbury, CT, USA : Haestad Methods Inc. 751.
- WIEGEL. ROBERT L. 1964. Oceanographical Engineering. Anon. *Mixing process*. 424-441. Englewood Cliffs, N.J. Prentice-Hall, Inc. 532.

WILLIAMS, M.M., DONLAN, R.M. 2005. "Mycobacterium fortuitum biofilm formation on water distribution pipe materials". Québec City, Québec, Canada : American Water Works Association - Water Quality Technology Conference.

World Health Organization (WHO). 2004. Guidelines for drinking water quality, 3rd edition (Volume 1). Recommendations. Anon. Geneva, Switzerland : 540.

ZACHEUS, O.M., LEHTOLA, M.J., KORHONEN, L.K., MARTIKAINEN, P.J. 2001. Soft deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. *Water Research*. 35 : 7. 1757-1765.