POLYPUBLIE

Suivi en quasi-temps réel de la bactérie E. coli dans les eaux récréatives par l'application d'une nouvelle technologie basée sur l'activité enzymatique

Zeinab Khanafer

Document en libre accès dans PolyPublie
Open Access document in PolyPublie

Date	2021
Type	Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis Mémoire de maîtrise/Master's thesis
URL de PolyPublie **PolyPublie URL**	https://publications.polymtl.ca/9193/
Conditions d'utilisation **Terms of use**	© Tous droits réservés / All rights reserved
Référence **Citation**	Khanafer, Z. (2021). Suivi en quasi-temps réel de la bactérie E. coli dans les eaux récréatives par l'application d'une nouvelle technologie basée sur l'activité enzymatique [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal]. PolyPublie. https://publications.polymtl.ca/9193/

Détails de la thèse
Thesis details

Directeurs de recherche **Advisors**	Sarah Dorner
Programme **Program**	Génie civil

Ce fichier a été téléchargé à partir de PolyPublie, le dépôt institutionnel de Polytechnique Montréal
This file has been downloaded from PolyPublie, the institutional repository of Polytechnique Montréal
https://publications.polymtl.ca

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Suivi en quasi-temps réel de la bactérie E. coli dans les eaux récréatives par l'application d'une nouvelle technologie basée sur l'activité enzymatique

ZEINAB KHANAFER

Département de génie civil, géologique et des mines

Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

Génie civil

Septembre 2021

© Zeinab Khanafer, 2021

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Suivi en quasi-temps réel de la bactérie E. coli dans les eaux récréatives par l'application d'une nouvelle technologie basée sur l'activité enzymatique

Présenté par **Zeinab KHANAFER**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise es sciences appliquées*

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

Françoise BICHAI, présidente
Sarah DORNER, membre et directrice de recherche
Alain CHARRON, membre

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier ma directrice de recherche Sarah Dorner de m'avoir permis de travailler au cœur de son équipe et de m'avoir fait confiance ainsi que Jean-Baptiste Burnet qui m'a soutenu et qui a été d'une grande aide tout au long de ma maîtrise. Un grand merci revient spécialement à Louison Boucher qui a été de la plus précieuse aide à la fois sur le terrain et en laboratoire.

Je remercie également Laura Razafinjanahary et Adèle Lunati pour leur aide administratif et leur temps pour répondre à toutes mes questions. Je remercie aussi grandement l'équipe technique, Yves, Tetiana, Julie, Mireille et Jacinthe pour leurs précieux conseils et leur agréable présence en laboratoire.

Je remercie grandement ma famille : mes parents, May et Nabil, de m'avoir encouragé tout au long de mon processus ainsi que mes frères et sœurs pour leur présence autour de moi.

Je remercie enfin mon mari, que je peux aussi appeler mon coéquipier, Mohamed, qui m'a toujours poussé à me surpasser et à ne pas baisser les bras et qui m'a été d'un énorme soutient à la fois du côté académique qu'émotionnel.

RÉSUMÉ

Au Québec, comme dans la plupart des régions du monde, *Escherichia coli*, une bactérie d'origine fécale, est suivie pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Étant absente dans l'environnement naturel, sa présence est indicatrice d'une contamination. La technique traditionnelle pour connaître sa concentration dans l'eau est le dénombrement sur un milieu de culture exprimé en UFC/100 ml (Unité Formant Colonie). Malgré sa capacité à donner de bons résultats, l'étape d'incubation nécessaire à cette technique requiert entre 18 et 24 heures ce qui peut être fortement limitant pour la gestion de certains milieux comme les plages. En effet, des réponses rapides sont nécessaires afin d'assurer des prises de décisions efficaces pour protéger la santé et la sécurité du public. Afin de remédier aux limites de la méthode standard, des technologies, comme le Coliminder® (VWM Solutions, Autriche), basées sur l'activité enzymatique de la bactérie *E. coli*, ont été développées. Il s'agit d'une technologie autonome qui détecte la fluorescence de l'enzyme β-glucuronidase, propre à la bactérie *E. coli*, permettant de faire son suivi en quasi-temps réel (aux 30 minutes).

L'été 2019 est marqué par l'ouverture d'une nouvelle plage urbaine à Montréal. L'arrondissement a promis que cette dernière ouvrira en juin, au grand plaisir de la population montréalaise qui attend ce projet depuis deux ans. Cette nouvelle plage urbaine est la première en eau vive dans la ville. Selon la Direction Régionale de Santé Publique de Montréal, la qualité de l'eau est convenable à la baignade en temps sec. Toutefois, cette dernière est compromise en temps de pluie, lorsque les concentrations de bactéries *E. coli* augmentent dans l'eau.

L'objectif principal de ce projet de maîtrise est de comparer les résultats de la méthode standard (fournis par la Ville) à ceux de la méthode enzymatique dans le cadre du suivi de la qualité de l'eau à la nouvelle plage urbaine de Montréal. Avec un délai de traitement beaucoup plus rapide, le Coliminder® permet de détecter la présence d'*E. coli* plus vite et de potentiellement suggérer une méthode de gestion de la plage plus efficace que celle qui peut être procurée par la méthode standard. Il sera ensuite question de faire le suivi des virus et protozoaires afin de comprendre leur devenir dans l'eau et de vérifier si l'activité enzymatique peut être un indicateur potentiel des agents pathogènes. Ce faisant, le projet tente d'émettre des suggestions concernant la méthode de gestion de la plage, qui est actuellement basée sur les règlements du programme Environnement-Plage (MELCC, 2020). Les périodes de fermeture et d'ouverture de la plage dépendent principalement de l'intensité de la pluie ainsi que des débordements d'ouvrages de surverses. Ainsi,

l'analyse des pluies a également été réalisée afin d'identifier les caractéristiques les plus influentes qui contribuent à la dégradation de la qualité de l'eau.

Une importante campagne d'échantillonnage a été réalisée en continu pour *E. coli* et l'activité enzymatique et de manière hebdomadaire pour les virus et les protozoaires. Lors d'évènements perturbateurs (pluie, surverses, etc.), la fréquence d'échantillonnage devenait plus importante pour toutes les variables à l'étude afin de dresser un profil représentatif de la dynamique étudiée. Au total, 4 évènements de pluie ont pu être analysés pour procéder à la comparaison des méthodes standard et enzymatique et 2 d'entre eux ont permis d'étudier le devenir des agents pathogènes. Les résultats pour tous les événements ont démontré que les règlements du programme Environnement-Plage sont très conservateurs. En effet, les concentrations d'*E. coli* et de l'activité enzymatique n'ont jamais dépassé leur seuil acceptable pour la baignade dans certains cas où la plage avait procédé à sa fermeture. Sinon, les valeurs retournent sous le seuil avant la date d'ouverture de la plage. D'ailleurs, la variation générale des concentrations d'*E. coli* et celle de l'activité enzymatique sont fortement similaires. Le suivi des virus et des protozoaires a permis de constater que leur présence concorde avec celle des pics de l'activité enzymatique. Cependant, bien qu'ils n'aient pas été assez échantillonnés, le suivi des agents pathogènes a démontré qu'ils représentent la plus grande limite face à l'ouverture précoce de la plage puisque ces derniers ont persisté dans l'eau plus longtemps que la bactérie *E. coli*, et même de l'enzyme GLUC. Enfin, après avoir comparé les coefficients de variation des différentes caractéristiques des 4 évènements qui ont causé la fermeture de la plage, il a été possible de suggérer que la durée totale de débordement (en minutes) est la variable ayant le plus de poids dans ce qui rend un évènement plus important que l'autre en termes d'impact sur la qualité de l'eau.

ABSTRACT

In Quebec, as in most regions of the world, *Escherichia coli*, a bacterium of faecal origin, is monitored for the evaluation of water quality. Being absent in the natural environment, its presence is indicative of contamination. The traditional technique for determining its concentration in water is the standard plate count method expressed in CFU/100 ml (Colony Forming Unit). Despite its ability to give good results, the incubation step necessary for this technique requires between 18 and 24 hours, which can be severely limiting for the management of certain environments such as beaches. Indeed, rapid responses are needed to ensure effective decision-making to protect public health and safety. To overcome the limitations of the standard method, technologies such as the Coliminder® (VWM Solutions, Austria), based on the enzymatic activity of *E. coli*, have been developed. The Coliminder® is the central aspect of this research: an autonomous technology that detects the fluorescence of the β-glucuronidase enzyme, specific to *E. coli*, allowing its monitoring in near real-time monitoring (every 30 minutes).

Summer 2019 is marked by the opening of a new urban beach in Montreal. The borough had promised that it will open in June, much to the delight of Montrealers who have been waiting for this project for two years. This new urban beach is the first of its kind in the city. According to the *Direction Régionale de Santé Publique de Montréal*, the quality of the water is suitable for swimming in dry weather. However, the latter is compromised in rainy weather when *E. coli* levels increase in the water.

The main objective of this project is to compare the results of the standard method (provided by the city) with those of the enzymatic method as part of monitoring water quality at the new urban beach in Montreal. With much faster processing times, the Coliminder® can detect the presence of *E. coli* faster and potentially suggest a more efficient beach management method than that which can be provided by the standard method. It will then be about monitoring viruses and protozoa to understand their fate in water and to verify whether enzymatic activity can be a potential indicator of pathogens. In doing so, the project attempts to make suggestions regarding the beach management method, which is currently based on the regulations of the program *Environnement-Plage* (MELCC, 2020). The closing and opening times of the beach depend mainly on the intensity of the rain as well as the overflow of overflow structures. Thus, the rainfall analysis was also carried out to identify the most influential characteristics that contribute to the degradation of water quality.

A large sampling campaign was carried out continuously for *E. coli* and enzyme activity and weekly for viruses and protozoa. During disruptive events (rain, overflows, etc.), the sampling frequency became greater for all the variables under study to draw up a profile representative of the dynamics studied. In total, 4 rain events were analyzed to compare the standard and enzymatic methods and 2 of them made it possible to study the fate of pathogens. The results for all the events showed that the rules of the *Environment-Plage* program are very conservative. Indeed, the concentrations of *E. coli* and enzymatic activity never exceeded their acceptable threshold for swimming in some cases where the beach had closed. Otherwise, the values would return below the threshold before the opening date of the beach. Moreover, the general variation in the concentrations of *E. coli* and enzyme activity are strongly similar. Monitoring of viruses and protozoa has shown that their presence is consistent with that of peaks in enzyme activity. However, although they have not been sufficiently sampled, the monitoring of pathogens has shown that they represent the greatest limitation for early opening of the beach since they have persisted in the water longer than *E. coli*, and even the GLUC enzyme. Finally, after comparing the coefficients of variation of the different characteristics of the 4, it was possible to suggest that the total overflow time (min) is the variable with the most weight in what makes one event more important than the other in terms of impact on water quality.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS III

RÉSUMÉ IV

ABSTRACT VI

TABLE DES MATIÈRES VIII

LISTE DES TABLEAUX X

LISTE DES FIGURES XII

CHAPITRE 1 INTRODUCTION 1

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE 4

2.1 La qualité des eaux de surface au Québec 4

2.1.1 La contamination fécale des eaux de surface 5

2.2 La bactérie Escherichia Coli 6

2.2.1 E. coli comme indicateur de contamination fécale 7

2.3 Les eaux récréatives : risque et gestion 9

2.3.1 Normes pour les eaux récréatives au Québec 11

2.4 Virus 12

2.5 Protozoaires 14

2.6 Lien entre la présence d'E. coli et de protozoaires/virus 15

2.7 Les méthodes de détection 17

2.7.1 E. coli 17

2.7.2 Virus 22

2.7.3 Protozoaires 24

2.8 Le programme Environnement-Plage 27

2.9 Étude antérieure 30

CHAPITRE 3 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE 33
CHAPITRE 4 MÉTHODOLOGIE 35
4.1 Site d'étude 35
4.1.1 Enjeux du site d'étude 36
4.2 Échantillonnage 39
4.2.1 Suivi de l'enzyme β-D-glucuronidase 40
4.2.2 Dénombrement par culture 43
4.2.3 Suivi des protozoaires et des virus 43
4.3 Analyses 45
CHAPITRE 5 RÉSULTATS 46
5.1 Portrait météorologique 46
5.2 Qualité microbiologique E. coli et GLUC pour toute la période d'échantillonnage 50
5.3 Comparaison de la méthode standard et enzymatique 56
5.3.1 Épisodes de fermeture de la plage 56
5.4 Protozoaires et virus 67
CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE 78
6.1 Nature des évènements pluvieux 78
6.2 Scénarios de gestion de la plage 81
6.3 Comparaison des scénarios 86
CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS 91
RÉFÉRENCES 94

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2-1 : Classification générale de la qualité des eaux récréatives (MELCC, 2021) 11

Tableau 2-2 : Méthodes de culture normalisée pour la détection d'E. coli 19

Tableau 2-3 : Classification de la qualité microbiologique des eaux de baignade (tiré du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC) 27

Tableau 2-4. Fréquence minimale d'échantillonnage annuel selon la catégorie de plages (tiré du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC) 28

Tableau 2-5. Nombre de stations d'échantillonnage et d'échantillons composites selon la longueur de la plage (m) (tiré du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC) 29

Tableau 2-6. Réalisation de l'échantillon composite selon le type de plage 30

Tableau 4-1. Cote des échantillons prélevés aux station BLAP-4.25 et BLAP-4.24* en 2018 39

Tableau 5-1. Règles de fermeture de la plage (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019) 47

Tableau 5-2. Statistiques descriptives des débordements de toute la période à l'étude (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019) 48

Tableau 5-3 : Les évènements pluvieux ayant entraîné des débordements lors de la période à l'étude (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019) 48

Tableau 5-4 : Périodes de fermeture de la plage (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019) 50

Tableau 5-5 : Statistiques descriptives des concentrations d'*E. coli* selon le temps (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019) 51

Tableau 5-6 : Résultats des concentrations d'*E. coli* supérieures au seuil en période sèche et les valeurs de l'activité GLUC associées 52

Tableau 5-7. Échantillonnage des protozoaires....68

Tableau 5-8 : Résultats de l'activité GLUC et des concentrations de *Giardia* et *Cryptosporidium* 71

Tableau 5-9 : Résultats de l'activité GLUC et des concentrations de tous les virus à l'étude....73

Tableau 6-1 : Coefficient de variation de chaque variable des différents évènements....81

Tableau 6-2 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 1....82

Tableau 6-3 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 2....83

Tableau 6-4 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 3....84

Tableau 6-5 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 4....85

Tableau 6-6 : Comparaison des différents scénarios....86

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 : Objectifs esthétiques et recommandations établies au Canada pour la qualité des eaux récréatives.....10

Figure 2.4 : Plan d'échantillonnage pour une plage linéaire avec une profondeur > à 1,2 m 29

Figure 2.4 : Plan d'échantillonnage pour une plage linéaire avec une profondeur < à 1,2 m. 29

Figure 2.4 : Plan d'échantillonnage pour une plage circulaire 29

Figure 4.1 : À gauche, une vue aérienne de la localisation de la plage de Verdun (Google Maps) et à droite une vue aérienne rapprochée de la plage de Verdun avec l'emplacement de la prise d'eau (GBi Experts-conseils) 36

Figure 4.2 : Ouvrages de surverse situés en amont de la plage de Verdun (Fleury et al., 2018) ..37

Figure 4.3 : Installation du Coliminder® 40

Figure 4.4 : Principe de fonctionnement du Coliminder (à gauche) et de la méthode standard de culture (à droite) (Source: VWM Solutions, 2020).....41

Figure 4.5 : Schéma du ColiMinder® (Source: Cazals, 2019) 42

Figure 4.6 : Matériel pour l'échantillonnage des protozoaires et des virus. À gauche : Prototype pour la filtration des protozoaires. À droite: Prototype pour la filtration des virus 44

Figure 5.1 : Graphique représentant l'évolution temporelle de la qualité microbiologique de l'eau, débordement d'eaux usées et hauteur de pluie entre le 17 juin et le 6 septembre 2019 (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019). 54

Figure 5.2 : Variation de l'activité GLUC détectée par le Colimindер pour toute la période d'échantillonnage (29 juin au 21 août) 55

Figure 5.3 : Activité GLUC et E. coli lors de la période de fermeture de la plage allant du 28 juin au 2 juillet.....57

Figure 5.4 : Figure représentant l'épisode de fermeture de la plage entre le 25 juin et le 2 juillet (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019). 58

Figure 5.5 : Activité GLUC et E. coli lors de la période de fermeture de la plage allant du 5 au 7 juillet.....59

Figure 5.6 : Figure représentant l'épisode de fermeture de la plage entre le 5 et le 7 juillet (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019). 60

Figure 5.7 : Variation de l'activité GLUC, d'E. coli bijournalier et d'E. coli à haute fréquence pour l'épisode du 11 au 14 juillet.....61

Figure 5.8 : Figure représentant l'épisode de fermeture de la plage entre le 11 et le 14 juillet (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019). 62

Figure 5.9 : Variation de l'activité GLUC et d'E. coli entre le 12 et le 14 juillet.....63

Figure 5.10 : Variation de l'activité GLUC et d'*E. coli* échantillonnée à haute fréquence pour l'épisode du 8 au 12 août 65

Figure 5.11 : Variation des concentrations de *Cryptosporidium* et de *Giardia* et de l'activité GLUC pour toute la période d'échantillonnage. 70

Figure 5.12 : Variation des concentrations de tous les virus à l'étude et de l'activité GLUC pour toute la période d'échantillonnage. 76

Figure 6.1 : Comparaison des évènements de pluie ayant causé la fermeture de la plage selon la durée de pluie (h), la hauteur d'eau cumulée (mm), le nb de débordements et la durée totale de débordement (min) 79

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

Le système d'eaux usées que nous connaissons aujourd'hui dans la Ville de Montréal n'a pas toujours existé. En effet, avant 1984, notre eau était tout simplement rejetée dans l'environnement, principalement dans la rivière des Prairies ou le fleuve Saint-Laurent, sans subir de traitement, ce qui détériore grandement la condition des cours d'eau, en plus de représenter un risque important pour la santé humaine (Ville de Montréal, s.d.). C'est à partir des années 1970 que Montréal met en place un plan d'action pour permettre à la ville de protéger ses eaux de la pollution et un programme d'assainissement des eaux. Les trois piliers de ce programme sont : la construction d'un réseau d'intercepteurs et de stations d'épuration, la réduction de la pollution à la source et le suivi de l'état des cours d'eau (Ville de Montréal, s.d.). À ce moment, Montréal était en pleine croissance urbaine par l'augmentation du nombre de ses habitants, ses commerces et ses industries. La demande en eau potable devenait donc plus importante, ce qui nécessitait la construction d'une usine d'épuration des eaux usées; que nous connaissons aujourd'hui sous le nom de la station Jean-R. Marcotte. Cette dernière accueille près de 100 milliards de litres d'eau par année pour être traitée avant d'être rejetée dans le fleuve.

Le réseau d'eau usée de Montréal est de deux types ; il est soit unitaire ou séparatif. Le réseau unitaire, qui représente le 2/3 du territoire, est composé d'une conduite qui reçoit à la fois les eaux sanitaires (domestiques, industrielles, commerciales) et pluviales. Le réseau séparatif, quant à lui, à deux conduites ce qui permet de séparer les eaux pluviales des eaux sanitaires. Dès lors, avec un réseau majoritairement unitaire, les épisodes de surverses en temps de pluie se font assez fréquents en raison de la capacité limitée des conduites à supporter des grands volumes d'eau. De ce fait, selon l'importance des précipitations et l'ampleur des débordements, la qualité de l'eau du milieu récepteur peut être fortement dégradée par les eaux usées.

Les eaux usées et l'épandage sont grandement responsables de la détérioration de la qualité de l'eau. En effet, les humains et les animaux génèrent un important apport en matière fécale quotidiennement, qu'il est possible de retrouver dans les cours d'eau lors des débordements d'égouts, des rejets d'eaux usées non traitées et de l'épandage des fumiers et des lisiers (MELCC, 2021). En conséquence, nous assistons souvent à des épisodes de contamination de l'eau qui nuisent à différents secteurs d'activité.

Au Québec, comme dans la plupart des régions du monde, *Escherichia coli*, une bactérie d'origine fécale ou animale, est suivie pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Étant absente dans l'environnement naturel, sa présence est indicatrice d'une contamination. La technique traditionnelle pour connaître sa concentration dans l'eau est le dénombrement sur un milieu de culture exprimé en UFC/100 ml (Unité Formant Colonie). Malgré ses bons résultats et sa facilité d'accès et d'utilisation, l'étape d'incubation, nécessaire à cette technique, requiert entre 18 et 24 heures ce qui peut être fortement limitant pour la gestion de certains milieux comme les plages. En effet, des réponses rapides sont nécessaires afin d'assurer des prises de décisions efficaces pour protéger la santé et la sécurité du public ; sachant que la qualité microbiologique de l'eau peut fortement varier sur une courte période (Enns et al., 2012). C'est ainsi que de nouvelles méthodes ont été développées dans le but de réduire les temps d'analyse comme celle basée sur l'activité enzymatiques.

Ainsi, l'objectif de ma recherche est d'évaluer l'efficacité d'un suivi en continu de la bactérie *E. coli* par la méthode β-glucuronidase (GLUC). Ce projet prend place au sein de la première plage urbaine à Montréal. Le Coliminder® est au cœur de la recherche : il s'agit d'une technologie autonome qui détecte la fluorescence de l'enzyme β-glucuronidase, propre à la bactérie *E. coli*, permettant de faire son suivi en quasi-temps réel (aux 30 minutes). Cette technologie permettra, durant toute la saison de baignade (entre juin et août) de faire le suivi de la qualité de l'eau en continu parallèlement aux analyses de la ville qui utilisent la méthode par culture.

Selon les réglementations actuelles, la plage ferme selon la quantité de pluie, sa durée et le volume des débordements lorsqu'ils ont lieu. Toutefois, il arrive souvent que la qualité de l'eau redevienne acceptable plus tôt que le jour de réouverture de la plage et que l'eau soit de mauvaise qualité plus tôt que le jour de fermeture. Cette réalité est principalement dû au déphasage qui existe entre le moment de l'échantillonnage de la ville et celui de la réception des résultats de la méthode par culture. Un suivi en continu permettra donc d'offrir une gestion de la plage plus efficace en proposant des jours de fermeture et d'ouverture correspondants aux moments où la qualité de l'eau est réellement au-dessus ou sous le seuil à respecter. Au Québec, le seuil de concentration d'*E. coli* dans les eaux récréatives est de 200 UFC/100 ml (classe « polluée ») (MELCC, 2020).

La recherche tentera aussi de faire une collecte d'échantillons de virus et de protozoaires afin de comprendre davantage leur lien avec la présence d'*E. coli* et de GLUC et ce, pour avancer des

hypothèses à ce sujet qui est encore peu étudié dans la littérature. Les virus et les protozoaires sont plus difficiles à échantillonner et à analyser que la bactérie *E. coli* puisque leurs analyses sont plus dispendieuses et complexes, ce qui peut être très limitant lorsqu'il est question d'effectuer des suivis en continu. Ainsi, être capable de faire des liens entre ces derniers pourra permettre à *E. coli* d'être un indicateur encore plus important pour la qualité de l'eau.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Avoir une eau exempte d'agents pathogènes est nécessaire pour assurer la santé publique et environnementale. Les pathogènes entériques, c'est-à-dire les microorganismes qui provoquent des maladies intestinales (virus, protozoaires, bactéries), sont les plus abondants parmi les agents pathogènes disséminés dans les sources d'eau, ce qui nécessite un suivi important de la pollution fécale (Rompré et al., 2002).

2.1 La qualité des eaux de surface au Québec

Depuis les années 1998, une amélioration notable de la qualité de l'eau a pu être observée au Québec, en laissant toutefois encore place à du progrès (MDDEP, 2012). En effet, on assistait à cette époque à une augmentation de la contamination bactériologique de l'eau liée aux rejets de la ville de Montréal. Depuis, la mise en place des stations d'épuration ainsi que la diminution du débit du fleuve, et donc de l'érosion, ont contribué à améliorer la qualité de l'eau du fleuve (Hébert et Belley, 2005). La surveillance de l'eau a été principalement réalisée mensuellement via le Réseau-Rivières qui englobe près de 182 stations d'échantillonnage dans une soixantaine de bassins versants.

En effet, les stations d'échantillonnage où l'eau était classée bonne ou satisfaisante est passée de 52% à 64% et celles où l'eau était de mauvaise ou très mauvaise qualité a diminué de 29% à 20%. Le changement le plus important qui a été noté concerne la concentration en phosphore, qui est responsable de l'eutrophisation. Malgré le fait que dans les dernières années 30% des stations avaient des concentrations en phosphore supérieures au critère de qualité, ces dernières ont chuté jusqu'à 50%, et ce, pour près de 60% des stations d'échantillonnage. Le critère de qualité dans le cas du phosphore est de 0,03 mg/l, qui est la limite pour éviter le phénomène d'eutrophisation (MDDEP, 2012). Il n'est cependant pas possible de se réjouir de tels changements concernant les autres paramètres de qualité comme les coliformes fécaux, les nitrites et nitrates, l'azote ammoniacal, la chlorophylle a et les matières en suspension. Ceci peut être observable au Fleuve Saint-Laurent, où la qualité générale de l'eau a peu changé entre 1998 et 2008 (MDDEP, 2012). Celle-ci était classée bonne ou satisfaisante à 73% des stations d'échantillonnage, mauvaise ou très mauvaise à 17% d'entre elles et douteuse à 10% des stations. Les concentrations en coliformes fécaux peuvent d'ailleurs y être préoccupantes. En effet, ces dernières dépassent le critère de qualité

d'eau de baignade pour 50% des stations d'échantillonnage. Il est à noter que les rivières les plus dégradées de cette étude se trouvaient dans le sud-ouest du Québec et dans les basses terres du Saint-Laurent et du lac Saint-Jean.

Si nous regardons plus en détails la situation des coliformes fécaux, on affirme qu'entre 2006 et 2008, l'eau était acceptable plus de 50% du temps, et ce, à la plupart des stations d'échantillonnage, pour la baignade. Toutefois, tel qu'indiqué précédemment, il n'y a pas eu d'amélioration notable pour ce paramètre, comme c'était le cas pour le phosphore. En prenant comme références la limite de concentration acceptable pour la baignade au Québec dans les eaux douces établit par le MDDEP, soit 200 coliformes fécaux/100 ml, il a été noté que la baignade aurait été sécuritaire au moins 50% du temps pour 64% des stations. Plus précisément, le critère est dépassé en moyenne à 55% du temps en milieu urbain, 51% du temps en milieu agricole et 6% du temps en milieu faiblement influencé par les activités humaines. De plus, à 29% des stations, les activités nautiques (ex : kayak, canot) auraient été permises au moins 50% du temps, prenant comme référence la limite de 1000 coliformes fécaux/100 ml selon les critères du MDDEP. D'ailleurs, à près de 6% des stations, les concentrations dépassent les limites pour toutes activités récréatives, et ce, pour au moins 50% du temps (>1000 coliformes fécaux/100ml). L'amélioration de la qualité microbiologique à 13 % certaines stations peuvent s'expliquer par la mise en service des stations d'épuration des eaux usées et leur meilleur contrôle dans les résidences isolées ainsi que par le retrait des animaux des cours d'eau.

2.1.1 La contamination fécale des eaux de surface

La contamination fécale, d'origine humaine et animale, a plusieurs sources potentielles. Les cas les plus facilement traçables proviennent des sources ponctuelles telles que les effluents des stations d'épuration des eaux usées ou industrielles, des systèmes de refoulement des eaux de pluie et des sites d'enfouissement des déchets (Santo Domingo et Ashbolt, 2008). Dans ces circonstances, la localisation de la source et la durée de l'événement sont souvent bien connues. Toutefois, dans les situations où la source est diffuse, il est plus difficile de localiser son origine comme c'est le cas pour les fuites des systèmes septiques, les canalisations d'égouts, le lessivage d'engrais et les excréments d'animaux (Santo Domingo et Ashbolt, 2008). Connaître les sources potentielles qui risquent de contaminer les eaux est un aspect important pour limiter leur impact et réussir à mettre en place des mesures pour assurer une bonne qualité de l'eau et une bonne gestion des lieux.

Il est à noter que plusieurs éclosions de maladie liées à une contamination de l'eau, que ce soit par des bactéries, virus ou protozoaires ont eu lieu à la suite de périodes de fortes pluies ce qui suggèrent un lien entre l'hydrologie des bassins versants et les épidémies de maladies d'origine hydriques (Hunter, 2002). D'ailleurs, une étude a démontré que les eaux de ruissellement des quartiers résidentiels peuvent être autant contaminées par les coliformes fécaux et les pathogènes que les eaux d'égout diluées (Qureshi et Dutka, 1979).

2.2 **La bactérie Escherichia Coli**

La plupart des coliformes, dont le plus abondant est *E. coli*, se trouvent naturellement dans la flore intestinale des humains et des animaux à sang chaud et c'est ce qui explique leur présence dans les déchets fécaux. Lorsque les coliformes sont détectés à des concentrations supérieures aux bactéries pathogènes, ils sont utilisés pour indiquer la présence potentielle d'entéro-pathogène. L'utilisation du groupe des coliformes, surtout *E. coli*, comme indicateur de qualité microbiologique de l'eau date de son premier isolement des matières fécales à la fin du 19^{ième} siècle. La bactérie *E. coli* de la famille des *Enterobacteriaceae* est une bactérie facultative à Gram négatif, anaérobie, en forme de bâtonnet, de 2 à 6 µm de long et de 1,1 à 1,5 µm de large. Elle produit de l'acide à partir de glucose, elle est catalase positive, oxydase négative et mésophile (Madigan et al., 2015)

On reconnaît en 1982, à la suite de plusieurs épidémies aux États-Unis, la bactérie *E. coli*, plus spécifiquement et principalement la souche O157:H7, comme un agent pathogène. Les infections par *E. coli* ne sont pas très graves pour la majorité de la population. Elles se manifestent par des crampes abdominales, de la diarrhée et des vomissements. Toutefois, pour une certaine partie de la population, surtout les personnes vulnérables, cette infection peut requérir des soins intensifs et causer la mort dans de très rares cas (Todd C.D. et Baker, 2018).

Certains épisodes d'épidémie liée à la bactérie *E. coli* O157 :H7 peuvent être notés au Canada. D'abord, en 1980, 14 enfants de la ville de Toronto ont été touchés par le syndrome hémolytique et urémique (SHU) qui peut gravement attaquer les reins à la suite d'une infection par la bactérie. Il s'agissait du premier cas d'infection en Amérique du Nord. En 1982, 31 résidents d'un foyer de soins infirmiers à Ottawa ont subi un autre épisode d'infection et 143 ont été infectés en 1999 en Colombie-Britannique. Une des plus grandes épidémies du pays date de 2000 à Walkerton en Ontario quand plus de 2300 personnes ont été infectées, dont 7 sont décédées, conséquence de la

contamination de l'eau potable. À ce jour, à la suite des mesures prises et aux connaissances accrues dans le domaine de la gestion de l'eau, les cas d'infection par *E. coli* au Canada ne dépassent pas 500 cas par an (Todd C.D. et Baker, 2018).

2.2.1 E. coli comme indicateur de contamination fécale

Trouver un indicateur de la qualité microbiologique de l'eau est essentiel sachant que l'eau potable n'est toujours pas accessible à près de 1.1 milliards de personnes dans le monde et qu'il y a approximativement 400 enfants de moins de 5 ans qui meurent toutes les heures de maladie d'origine hydrique (Odonkor et Ampofo, 2013). Sachant que des centaines de microorganismes pathogènes sont présents dans l'eau, trouver des indicateurs de qualité de l'eau ainsi que des méthodes fiables et efficaces de suivi est essentiel afin de protéger les consommateurs et ainsi assurer une meilleure santé publique.

Certains critères sont à la base de la recherche pour un indicateur de contamination fécale efficace (Elliot et Colwell, 1985). D'abord, celui-ci se doit d'être présent dans le tractus intestinal des humains et des animaux à sang chaud. Il doit être simplement et sécuritairement quantifiable et son coût se doit d'être abordable. Il doit également avoir une importante sensibilité de détection ainsi qu'une concentration dans les fèces, une persistance dans l'environnement et une résistance à la désinfection supérieure à celle des microorganismes pathogènes, et ce, pour entre autres éviter les faux résultats négatifs. De plus, il doit être absent des eaux non contaminées, être associés exclusivement à la présence de matières fécales d'origine animale et humaine et être incapable de se développer dans le milieu aquatique afin d'éviter les faux positifs. Enfin, la densité de l'indicateur dans l'eau devrait présenter une corrélation directe avec le taux de contamination fécale. Autrement dit, un lien direct doit être présent entre la présence de cet indicateur et le taux de maladies hydriques. Aucun microorganisme réussi à respecter l'entièreté de ces critères. Toutefois, la bactérie *E. coli* a se trouve à être le meilleur indicateur de contamination en matières fécales, respectant en grande partie les critères souhaités.

Les coliformes totaux (CT) sont utilisés comme indicateurs de qualité de l'eau depuis la fin du 19^{ième} siècle (Groupe scientifique sur l'eau, 2003). Toutefois, ces derniers se sont révélés ne pas être assez efficaces en raison de leur trop grande abondance dans l'environnement qui empêche d'associer leur présence à une contamination fécale (Tallon et al., 2005).

Escherichia coli est une bactérie faisant partie du groupe des coliformes fécaux (CF), un sous-groupe des coliformes totaux (CT) (INSPQ, 2003). Elle est l'espèce la plus souvent associée aux CF, représentant 80-90% des CF détectés (Benajiba et al., 2013). Sa température optimale de croissance est entre 35 et 37 degrés Celsius et est aussi en mesure de croître à des températures allant jusqu'à 44.5 degrés, ce qui la place dans la catégorie des coliformes thermotolérants. Toutefois, contrairement à d'autres bactéries thermotolérantes qui peuvent provenir de l'environnement ou des industries, la présence de cette bactérie dans l'eau est très spécifique à une contamination par les matières fécales plus ou moins récentes (INSPQ, 2003; CEAEQ, 2013). De plus, la présence *d'E. coli* pourrait également signifier la présence potentielle de microorganismes pathogènes comme d'autres bactéries, des virus ou des parasites (CEAEQ, 2013). Cette bactérie possède également les enzymes β-galactosidase et β-glucuronidase, qui lui sont propres.

Deux facteurs principaux ont permis de faire de la bactérie *E. coli* un important indicateur de la qualité de l'eau : d'abord, la découverte que certains coliformes fécaux sont d'origine fécale et ensuite l'avancement de ses méthodes de détection (Odonkor et Ampofo, 2013). Ainsi, à ce jour, *E. coli* offre la meilleure indication bactérienne de la contamination fécale, et ce, par sa prévalence dans les matières fécales humaines et animales par rapport à d'autres coliformes thermotolérants, la prévalence des coliformes fécaux dans les milieux tempérés par rapport à la rare présence d'*E. coli* et la disponibilité de méthodes de détection abordables, rapides, sensibles, spécifiques et faciles à mettre en pratique (Odonkor et Ampofo, 2013). *E. coli* est aussi sélectionnée comme étant un indicateur de contamination fécale plus spécifique que les coliformes fécaux, car leur test général détecte également les bactéries coliformes non fécales thermotolérantes (Odonkor et Ampofo, 2013).

E. coli est une bactérie présente en grand nombre dans le tractus intestinal et dans les excréments des humains et des animaux à sang chaud et sa quantification dans les eaux récréatives est très facile et rapide (Santé Canada, 2012). Plusieurs études ont d'ailleurs prouvé le lien entre la concentration d'*E. coli* dans les eaux douces et le risque de maladies gastro-intestinales chez les baigneurs (Wade et al, 2003). Une étude a aussi démontré la corrélation linéaire directe entre le taux saisonnier de troubles gastro-intestinaux liés à la baignade et la densité d'*E. coli* et d'entérocoques (Dufour, 1984).

2.3 Les eaux récréatives : risque et gestion

Les eaux récréatives sont soit des étendues d'eau douce, salée ou estuarienne naturelles comme un lac, une rivière ou un fleuve, soit des étendues d'eau construites comme un lac artificiel, utilisées pour le loisir (Santé Canada, 2012). Le principal risque lié à la santé de ce type de milieux est l'infection causée par les microorganismes pathogènes.

La qualité des eaux récréatives est principalement à risque d'être dégradée à la suite de rejets d'eaux usées contaminées qui proviennent par exemple de surverses, du ruissellement pluvial ou encore de déjections animales (Brodeur et Price, 2018). Ces eaux usées contiennent des microorganismes pathogènes tels que les bactéries *E. coli*. Ces bactéries, lorsqu'ingérées par les humains, peuvent provoquer certains problèmes de santé qui varient selon l'âge et les conditions d'une personne, dont le plus commun est la gastroentérite. Par exemple, les enfants de moins de 2 ans, les personnes âgées, les personnes atteintes d'une maladie chronique ou celles avec un faible système immunitaire sont particulièrement sensibles aux germes pathogènes et peuvent donc être plus sévèrement affectées par ces dernières (ANSES, 2012).

Les eaux récréatives sont principalement gérées par les provinces et les territoires. Comme c'est le cas pour l'eau potable, l'approche des barrières multiples est la meilleure stratégie de protection de la santé publique. Elle assure une gestion préventive des eaux et est basée sur l'identification et la maîtrise des dangers liés à la qualité de l'eau et ses risques (Santé Canada, 2012). Cette procédure permet de définir les mesures à mettre en vigueur pour réduire les risques de contamination que ce soit par des mesures concrètes (nettoyage, entretien des plages) ou par des outils ayant pour but d'améliorer l'efficacité du programme de gestion des eaux récréatives (surveillance, recommandations, normes). Plutôt que de mettre tout l'effort sur une barrière, elle vise à mettre en place des barrières à plusieurs niveaux de la gestion : protection des sources, surveillance, communication, maîtrise du danger. Selon l'OMS (2003), la mise en place des barrières se fait selon quatre aspects : la surveillance de la conformité, la communication et la sensibilisation public, les conseils de santé publique et les mesures de lutte contre les dangers.

La mise en place de valeurs de recommandations pour divers paramètres de la qualité de l'eau est très importante pour le suivi de qualité des eaux. Les tableaux suivants, tirés du document

Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada (Santé Canada, 2012), listent quelques-unes des recommandations établies.

Objectifs esthétiques		
Paramètre	Considérations	Objectif esthétique
Turbidité	Doit être propice à la plupart des usages récréatifs	50 uTN
Limpidité	L'eau doit être suffisamment limpide pour que les usagers puissent estimer la profondeur et apercevoir les dangers sous l'eau	Disque de Secchi visible à une profondeur de 1,2 m
Couleur	Ne doit pas être intense au point de réduire la visibilité dans les eaux de baignade	Aucune valeur numérique recommandée
Huiles et graisses	Ne doivent pas être présentes en concentrations telles qu'elles forment un film visible ou des reflets, colorent la surface ou dégagent une odeur, et forment des dépôts sur les rives ou le fond qui sont visibles ou décelables à l'odeur	Aucune valeur numérique recommandée
Déchets	Les eaux doivent être exemptes de débris flottants et de matières en suspension qui forment des dépôts indésirables	Aucune valeur numérique recommandée

Recommandations		
Paramètre	Considérations	Recommandation
Escherichia coli (Activités récréatives de contact primaire)*	Moyenne géométrique (d'au moins 5 échantillons) Concentration maximale dans un seul échantillon	≤ 200 *E. coli*/100 mL ≤ 400 *E. coli* /100 mL
Entérocoques (Activités récréatives de contact primaire)*	Moyenne géométrique (d'au moins 5 échantillons) Concentration maximale dans un seul échantillon	≤ 35 entérocoques/100 mL ≤ 70 entérocoques/100 mL
Microorganismes pathogènes (bactéries, virus, protozoaires)	Analyse requise uniquement lorsque les données épidémiologiques ou autres le justifient	Aucune valeur numérique recommandée
Cyanobactéries Cyanotoxines	Nombre total de cyanobactéries Nombre total de microcystines	≤ 100 000 cellules/mL ≤ 20 µg/L
Autres dangers biologiques (p.ex. : des schistosomes pouvant entraîner une dermatite du baigneur ou des plantes vasculaires aquatiques et des algues)	Les activités récréatives ne devraient pas être pratiquées dans des eaux où les autorités responsables estiment que la présence d'organismes représente un risque pour la santé et la sécurité des usagers	Aucune valeur numérique recommandée
pH	Pour les eaux utilisées pour des activités récréatives de contact primaire	5,0 à 9,0
Température	Ne doit pas entraîner une hausse ou une baisse sensible de la température corporelle des baigneurs	Aucune valeur numérique recommandée
Dangers chimiques	Les risques associés aux dangers chimiques dépendent des conditions propres au secteur considéré et devront être évalués au cas par cas	Aucune valeur numérique recommandée

Figure 2.1 : Objectifs esthétiques et recommandations établies au Canada pour la qualité des eaux récréatives

Le terme activité de contact primaire signifie une activité durant laquelle le visage est fréquemment immergé ou éclaboussé et qu'il y a donc un fort risque d'ingestion d'eau (baignade, surf, etc.). Les activités de contact secondaire quant à elles n'exposent que les membres et où l'ingestion de l'eau est inhabituelle (aviron, voile, etc.).

Les eaux récréatives sont à risque de contamination par les matières fécales de sources variées.

Selon Santé Canada, la bactérie *E. coli* est le meilleur indicateur de contamination fécale dans le cas des eaux douces récréatives. Les valeurs recommandées sont basées sur l'analyse des données épidémiologiques qui relient leurs concentrations à l'incidence des maladies gastro-intestinales associées à la baignade chez les utilisateurs et sur l'évaluation des risques sanitaires chez les participants (Santé Canada, 2012). Il est aussi conseillé que les zones récréatives de contact primaire très fréquentées fassent au minimum un contrôle hebdomadaire. Ces derniers se doivent d'être encore plus nombreux dans le cas des plages ayant un important volume d'utilisateurs simultanément.

2.3.1 Normes pour les eaux récréatives au Québec

Tel que mentionnée précédemment, les eaux de surface sont constamment à risque d'être dégradées par diverses sources. Des normes de qualité des eaux récréatives sont donc nécessaires pour assurer la protection des usagers. Le Ministère se base sur la teneur en coliformes fécaux afin d'établir une classification qui sert à évaluer la qualité de l'eau. Cette classification varie selon le type de programme suivi : le programme Environnement-plage ou celui de Réseau-rivières. Dans notre cas, le site d'étude suivait le programme Environnement-plage, dont les critères détaillés sont se trouvent à la section 2.8. La classification générale de la qualité de l'eau pour les usages récréatifs est présentée dans le tableau suivant (MELCC, 2021) :

Tableau 2-1 : Classification générale de la qualité des eaux récréatives (MELCC, 2021)

Qualité de l'eau	Coliformes fécaux / 100 ml	Explication
Excellente	0-20	Tous les usages récréatifs sont permis
Bonne	21-100	Tous les usages récréatifs sont permis
Médiocre	101-200	Tous les usages récréatifs sont permis

Tableau 2-1 : Classification générale de la qualité des eaux récréatives (MELCC, 2021) (suite)

Mauvaise	>200	Baignade et autres contacts directs avec l'eau compromis
Très mauvais	>1000	Tous les usages récréatifs compromis

2.4 **Virus**

Les virus pathogènes qui mettent à risque la qualité des eaux récréatives et la santé des usagers sont les virus entériques. Les virus entériques regroupent près de 140 types et se multiplient dans le tractus intestinal des êtres humains et des animaux (Santé Canada, 2004). Ces derniers sont dans l'incapacité de se multiplier dans l'environnement, mais réussissent à y survivre plus longtemps que les bactéries intestinales (Santé Canada, 2004). La présence d'*E. coli* est importante comme indication potentielle de la présence de virus entériques. Toutefois, sachant que ces derniers sont plus résistants, l'absence d'*E. coli* n'assure pas l'absence de virus entériques. Dans les eaux récréatives, ces virus se transmettent généralement par voie fécale-orale et certains peuvent aussi se transmettre de différentes manières comme par contact avec la muqueuse de l'œil (Santé Canada, 2012). Malgré leur dépendance à leur hôte pour se multiplier, les virus une fois dans l'environnement peuvent survivre plusieurs mois dans l'eau douce ; surtout dans des milieux à basse température et où il est possible de trouver des sédiments sur lesquels ils peuvent s'adsorber (Santé Canada, 2004).

Les virus entériques ont un nombre limité d'hôtes. Ce faisant, ceux qui affectent les animaux n'affectent généralement pas les humains et vice-versa. Parmi les virus entériques les plus couramment associés aux maladies hydriques, nous retrouvons les norovirus, les rotavirus, les astrovirus et les entérovirus (Santé Canada, 2004).

Les norovirus sont des petits virus ronds et structurés (CDC, 2003). Ce sont des virus nus à ARN de petite taille, soit de 27 à 30 nm (Santé Canada, 2012). Ils regroupent une série de 4 petits virus à ARN pathogène (Santé Canada, 2004). Ils sont stables dans l'environnement et peuvent survivre à la chloration de l'eau, au gel et à des températures allant jusqu'à 60 degrés Celsius (Santé Canada, 2004). Les infections reliées au norovirus sont les causes premières d'éclosion de gastro-entérites

de toutes formes aux États-Unis et au Royaume-Uni (Percival et al., 2004). Une personne infectée par ce type de virus n'a rarement pas de symptômes. En effet, les diarrhées, les vomissements (surtout en jets) ainsi que les douleurs musculaires sont des effets qui lui sont reliés (Santé Canada, 2012).

Les rotavirus sont de gros virus nus à ARN de 60-80 nm (Santé Canada, 2012). Une étude portant sur des expériences dose-réponse émet l'hypothèse que ce type de virus est parmi les plus infectieux (Gerba et al., 1996). Tous les groupes d'âge sont à risque d'être infectés par ce virus, mais il représente aujourd'hui la première cause de la gastro-entérite chez les enfants, et ce, partout dans le monde (Santé Canada, 2012). Le symptôme le plus connu de son infection est la diarrhée (Santé Canada, 2012).

Les astrovirus sont de petits virus nus à ARN de 28-30 nm (Santé Canada, 2012). Ce virus peut infecter plusieurs hôtes dont les oiseaux, les mammifères, les humains et peut provoquer des maladies asymptomatiques et symptomatiques (Johnson et al., 2017). Les symptômes de son infection sont similaires à ceux du rotavirus, mais d'une intensité moindre (Santé Canada, 2012). Les astrovirus humains sont surtout associés à la diarrhée et aux maladies gastro-intestinales chez les personnes âgées ou immunodéprimées et sont la deuxième ou troisième cause de diarrhée chez les enfants (Méndez et Arias, 2013). Parmi les autres types de virus entériques liés aux maladies hydriques, ce type de virus est le moins connu (Percival et al., 2004). En effet, ils font partie des virus à ARN entériques les moins étudiés (Cortez et al., 2017).

Les entérovirus sont un grand groupe de virus à ARN monocaténaire sans enveloppe de 20 à 30 nm. Les entérovirus humains viennent de la famille des picornaviridés. Ces derniers sont très résistants aux agresseurs environnementaux et se trouvent à être stables en milieu acide, plus précisément à un pH allant jusqu'à 3 (Santé Canada, 2004). Ils sont aussi très tolérants que ce soit face au résidu de chlore dans l'eau et à la variation de température ou de salinité, ce qui contribue à leur longue survie dans l'environnement (Rajtar et al., 2008). Dans les eaux fortement contaminées, les concentrations en entérovirus cultivables peuvent atteindre jusqu'à 1-10/100 L à 1-200/100 L (Lipp et al., 2001).

Les virus entériques sont abondants dans les matières fécales humaines et animales infectées; on y trouve plus précisément plus d'un milliard de virus par gramme (Santé Canada, 2004). L'évacuation des eaux usées est une des principales causes de l'intrusion des virus dans les eaux

récréatives comme lors des déversements d'eau municipale ou les trop-pleins d'égouts unitaires (Santé Canada, 2012). Les fosses septiques, les collecteurs d'eaux pluviales ainsi que les déversoirs sont d'autres sources possibles de virus. Les usagers des eaux récréatives peuvent eux-mêmes être une source de contamination par leur selle. Les déchets d'animaux sont quant à eux moins probables de causer une transmission de virus à l'humain (Percival et al, 2004).

La présence de virus dans l'eau dépend entre autres de la dominance de maladies dans la population en question. Ce faisant, la composition virale dans les eaux usées varie fortement dans le temps (Lipp et al., 2001). Des études ont démontré que les concentrations de virus cultivables dans les eaux usées non traitées peuvent atteindre jusqu'à 10 000 unités infectieuses par litre (Payment et al., 2001).

2.5 **Protozoaires**

Comme les virus, les protozoaires les plus préoccupants dans les eaux récréatives sont des espèces entériques, surtout *Giardia* et *Cryptosporidium*, mais aussi des espèces libres qui sont à caractère pathogène et qui se trouvent aussi naturellement dans ces eaux comme les *Naegleria* et les *Acanthamoeba* (Santé Canada, 2012). Les protozoaires entériques sont des parasites qui infectent l'intestin des humains et d'autres mammifères et dépendent de leur hôte pour se développer. L'infection se manifeste normalement par des maladies gastro-intestinales comme les diarrhées. La présence des protozoaires entériques dans les eaux récréatives est reliée au contact des excréments humains ou d'animaux à l'eau et ils se transmettent aux utilisateurs par ingestion accidentelle d'eau contaminée (Santé Canada, 2012).

Les *Giardia* sont de petits protozoaires flagellés parasites (Santé Canada, 2012). L'espèce *G. duodenalis* est la seule qui peut infecter les humains et a comme source importante les excréments des humains et des animaux. Toutefois, il est conseillé de considérer tous les kystes de *Giardia* présents dans l'eau comme risque pour les humains sachant que la pathogénicité de certaines souches n'est pas encore bien connue à ce jour. Une infection liée au *Giardia* peut grandement varier; elle peut être sans symptôme ou grave au point d'avoir besoin d'une hospitalisation. Les symptômes les plus communs sont les nausées, la fatigue, les frissons, la fièvre et la diarrhée (Santé Canada, 2012). *Giardia* est un protozoaire fortement suivi dans l'eau sachant qu'un seul kyste suffit pour provoquer une infection (ceci peut varier d'une personne à l'autre). Toutefois, selon une étude

qui montrait qu'une moyenne de 19 kystes est suffisante pour infecter 50% d'un groupe de personnes exposées par voie orale, il est considéré que la dose infectante débute à 10 kystes. (Santé Canada, 1997). Une autre publication confirme ces chiffres suggèrent que 10 à 25 kystes suffisent pour causer une infection (INESSS, 2013). La concentration habituelle de *Giardia* dans les usées est entre 5000-50000 kystes/L et se trouve entre <1 et 100 kystes/L dans les eaux de surface (Pond et al., 2004).

Les *Cryptosporidium* sont des petits parasites immobiles dont les sources principales sont les humains et les bovins (Santé Canada, 2012). Deux génotypes sont principalement connus pour être responsables des maladies chez l'humain, soit le *C. hominis* et *C. parvum*. Les personnes infectées par ces protozoaires peuvent être asymptomatiques ou sentir de forts symptômes comme la diarrhée, des nausées, des vomissements, de la perte de poids, de la fièvre ou encore des douleurs abdominales (Santé Canada, 2012). Théoriquement, un seul organisme suffit pour provoquer une infection. Il est considéré qu'une faible quantité d'oocystes, soit moins que 100, sont suffisants pour provoquer une maladie (D. Pearson, R., 2020). Toutefois, il n'y a pas d'accord sur la dose infectieuse minimale et chaque étude présente sa propre conclusion : dose minimale de 10 oocystes (Percival et al., 2000), 30 (Sterling et Marshall, 1999) ou encore 100 (Meinhardt et al., 1996). En analyse de risques microbiologiques, on parle maintenant de dose-réponse et le concept de dose infectieuse minimale est démodé. Les concentrations dans les eaux usées non traitées sont généralement entre 1000 – 10 0000 oocystes/L et entre <1 – 5000 oocystes/100 L dans les eaux de surface (Guy et al., 2003).

2.6 Lien entre la présence d'E. coli et de protozoaires/virus

Dans le passé, des études portants sur les bactéries du groupe des coliformes telles que les coliformes totaux, thermotolérants et *E. coli*) ainsi que sur les entérocoques ont été réalisées afin de détecter la contamination en matières fécales dans les eaux récréatives, mais aussi pour vérifier la présence d'organismes pathogènes (Santé Canada, 2012).

Détecter directement les microorganismes pathogènes dans les eaux récréatives est un grand défi pour être recommandé dans un programme de suivi de la qualité des eaux. En effet, le dépistage de toutes les formes de microorganismes pathogènes est très coûteux, leurs analyses exigent un temps assez important ainsi que des équipements et des équipes très spécialisés. De plus, il est très

laborieux d'isoler et de dénombrer ces organismes ; certains sont encore impossibles à détecter. En effet, ces derniers sont souvent présents en petits nombres et sont répartis inégalement dans les eaux, même en cas d'éclosion de maladies (Santé Canada, 2012). C'est pourquoi, le suivi de la qualité de l'eau est porté à être réalisé en se basant sur des bactéries fécales indicatrices non pathogènes.

La présence d'*E. coli* dans l'eau n'indique pas nécessairement la présence de microorganismes pathogènes (et vice versa). Elle est cependant un signe important qu'il y a probablement d'autres bactéries et virus d'origine fécale tels que la *Salmonella* ou le virus de l'hépatite A (Odonkor et Ampofo, 2013). Toutefois, les études montrent à ce jour qu'il y a une faible corrélation entre la présence d'*E. coli* et celle des virus et protozoaires entériques pathogènes dans les eaux de surface (Dorner et al., 2007 et Wu et al., 2011). En effet, même si la présence d'*E. coli* indique inévitablement une contamination fécale et donc la possibilité d'avoir des bactéries, des virus et des protozoaires, leur présence est reliée à d'autres facteurs tels que la source de contamination.

D'autres études ont aussi démontré une absence de corrélation entre la concentration de bactéries fécales indicatrices et la présence de virus entériques dans les eaux récréatives (Jiang et Chu, 2004 et Wetz et al., 2004). En effet, lors de ces expériences, des virus pathogènes ont été détectés alors que les concentrations de bactéries indicatrices étaient acceptables selon les normes établies et il y a eu une difficulté à prouver l'existence de virus dans l'eau lorsque les concentrations des bactéries indicatrices étaient élevées. Plusieurs raisons peuvent expliquer ce type de résultat. Tout d'abord, les bactéries fécales sont directement présentes dans les selles humaines à des concentrations relativement constantes alors que l'excrétion des virus dans les déchets humains est saisonnière et intermittente (Santé Canada, 2012). De plus, tel que mentionné précédemment, les virus sont plus résistants dans l'eau et tolèrent davantage les divers stress environnementaux qui peuvent surgir.

Dans le cas des protozoaires entériques *Giardia* et *Cryptosporidium*, plusieurs études ont démontré que la bactérie *E. coli* est considérée être encore moins indicatrice de leur présence ou de leur absence dans l'eau (Dorner et al., 2007 et Sunderland et al., 2007). Plusieurs réalités mettent en défi le fait de trouver une corrélation entre les protozoaires entériques et la bactérie *E. coli*. D'abord, la bactérie *E. coli* est présente directement dans les matières fécales des humains et des animaux alors que la source est un facteur important pour justifier la présence de *Cryptosporidium* et *Giardia*. De plus, leur émission peut être intermittente et saisonnière. Comme c'est le cas pour les

virus entériques, les kystes de *Giardia* et les oocystes de *Cryptosporidium* sont plus résistants dans l'environnement et tolèrent davantage des stress variés auxquels ils peuvent être subis (Santé Canada, 2012).

Ainsi, la question du lien entre la présence d'*E. coli* et des virus/ protozoaires reste encore à étudier afin de trouver un moyen efficace et fiable de faire un meilleur suivi des virus et des protozoaires dans l'eau.

2.7 Les méthodes de détection

2.7.1 E. coli

2.7.1.1 Méthodes conventionnelles

Les méthodes microbiologiques utilisées pour la détection d'*E. coli*, classées comme conventionnelles, ont été introduites au 19^{ième} siècle et ont été approuvées par l'Agence Américaine de protection de l'Environnement (Nurliyana, M.R et al., 2018). Il s'agit principalement de la méthode de fermentation à tubes multiples (FTM), la méthode de dénombrement sur plaque et la technique de filtration sur membrane (FM).

La technique de fermentation à tubes multiples (FTM) est réalisée par dilution et procède au dénombrement des bactéries selon le nombre de plus probable (NPP) (Bambang, A.G et al., 2004). Elle permet alors d'avoir une énumération semi-quantitative des coliformes (Rompré et al., 2002). La méthode FTM implique consiste à inoculer pendant 48 heures à 35 degrés Celsius une série de tubes avec des dilutions décimales correspondantes à l'échantillon d'eau (Rompré et al., 2002). Pour donner suite à cela, une production de gaz, d'acide ou une croissance importante sont des signes de réactions positives présumées. Dans ces cas, un test de confirmation positif doit être réalisé. Il est possible d'utiliser comme milieu présomptifs des bouillons à base de lactose ou de lauryl-tryptose. Toutefois, des interférences peuvent avoir lieu lorsqu'il y a un nombre important de bactéries non-coliformes dans le milieu à base de lactose (Edberg et al., 1990). Enfin, les résultats de cette méthode sont exprimés en se basant sur le NPP d'organismes présents. Ce dernier représente une estimation statistique de la densité moyenne de coliformes dans l'échantillon en question. La méthode FTM est généralement moins utilisée que la FM en raison de ses limites, mais reste toutefois utile lorsqu'il est question de procéder à des comparaisons ou pour traiter des

eaux turbides ou colorées. Par limites, on parle entre autres du temps nécessaire à l'incubation, au nombre de tubes nécessaires pour avoir des résultats précis et la nécessité d'avoir une étape de confirmation. Elle est toutefois facile à exercer, requiert des instruments abordables et peut être réalisée par un technicien de base.

La filtration sur membrane quant à elle consiste à filtrer l'échantillon d'eau sur une membrane stérile de 0.45 μm afin de retenir les bactéries. Celle-ci est ensuite incubée sur un milieu sélectif pour ensuite énumérer les colonies et offre donc un résultat quantitatif. Le milieu choisi varie d'un pays à l'autre; en Amérique du Nord, on utilise principalement le milieu de type m-Endo où les coliformes totaux se manifestent par une couleur rouge-métallique (dans un milieu m-Endo avec lactose) après une incubation de 24 h à 35 degrés Celsius (APHA et al, 1998). À noter que cette méthode a également ses limites et défis et c'est pourquoi une étape de confirmation, qui peut prendre jusqu'à 24 h, est conseillée (APHA et al., 1998). Entre autres, des colonies atypiques peuvent se former dans le milieu. Ces dernières n'ont normalement pas de reflet, mais il arrive qu'elles en aient (apparaît donc comme des coliformes) ou que des colonies classées atypiques soient en réalité des coliformes. D'autres problèmes peuvent aussi survenir comme son incapacité à détecter les coliformes stressés ou abimés et le fait qu'un trop grand nombre de bactéries hétérotrophes peut diminuer la récupération des coliformes (Burlingame et al., 1984). Cette méthode reste toutefois très intéressante en raison de sa capacité à analyser de plus grands volumes d'eau (et donc faire plus d'analyse par jour) et sa simplicité.

L'enzyme β-D-glucuronidase, propre à la grande majorité des isolats d'*E. coli* qui sera discuté dans la prochaine section, est au cœur de sa détection. En effet, plusieurs études ont démontré que le gène uidA qui code pour cette enzyme est présent dans plus de 97% des isolats d'*E. coli* (Maheux et al., 2009). Cependant, la plupart des isolats ne présentent aucune activité enzymatique (Maheux et al., 2011). Ce faisant, les méthodes de détection se basent aussi sur les caractéristiques biochimiques de la bactérie. On utilise alors des additifs de milieux de croissance et des températures d'incubation pour inhiber la croissance des microorganismes de fonds (Santé Canada, 2020). Les résultats de la méthode de culture peuvent être présentés de deux manières: présence-absence (P-A) ou numération de bactéries (C). Lorsqu'il s'agit de résultats de type présence-absence, l'information obtenue ne révèle pas la concentration en bactéries, mais est suffisante pour prendre des décisions lorsque la simple présence d'*E. coli* est importante à savoir.

Plusieurs facteurs peuvent influencer les résultats obtenus par les méthodes de culture, plus spécifiquement leur capacité à détecter la bactérie *E. coli*. D'abord, la composition du milieu (Maheux et al., 2017), la concentration des organismes (Zhang et al., 2015), l'état physiologique des organismes (Zhang et al., 2015), les caractéristiques de la qualité de l'eau (Olstadt et al., 2007) ainsi que la variabilité naturelle du pourcentage de souches qui ne présentent pas d'activité enzymatique β-D-glucuronidase dans la population source (Maheux et al., 2008). D'autres aspects limitent les méthodes par culture comme le temps nécessaire pour l'obtention des résultats, le manque d'universalité du signal de l'enzyme β-D-glucuronidase ainsi que leur incapacité à détecter les organismes viables mais non cultivable (Santé Canada, 2020).

Les méthodes de culture normalisée pour la détection d'*E. coli*, tirées du site de Santé Canada, sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 2-2 : Méthodes de culture normalisée pour la détection d'E. coli

Méthode	**Milieu de croissance**	**Format des résultats**	**Coliformes totaux détectés**	**Délais d'exécution**
Filtration sur membrane				
SM 9222 J U.S. EPA - S/O	Bouillon m-ColiBlue24®	P-A, C	O	24 h
SM 9222 K U.S. EPA 1604	Bouillon ou gélose MI	P-A, C	O	24 h
ISO 9308-1:201 U.S. EPA - S/O	Gélose CF Chromocult®	P-A, C	O	21 -24 h
Substrat enzymatique				
SM 9223 B ISO 9308-2: 2012 ISO 9308-3: 1998 U.S. EPA - S/O	Milieu Colilert® Milieu Colilert-18® Milieu Colisure®	P-A, C	O	18 – 24 h

Tableau 2-4 : Méthodes de culture normalisée pour la détection d'E. coli (suite)

U.S. EPA - S/O	Milieu E*colite®	P-A	O	28 – 48 h
U.S. EPA - S/O	Bouillon Readycult® Coliformes 100	P-A	O	24 h
U.S. EPA - S/O	Milieu Modified Colitag™	P-A	O	16-22 h
U.S. EPA - S/O	Milieu Tecta™ EC/TC	P-A	O	18 h

Au Québec, la détection de la bactérie *E. coli* est principalement basée sur l'utilisation des substrats enzymatiques spécifiques à des enzymes uniquement présentes chez *E. coli* ou les coliformes totaux (Groupe scientifique sur l'eau, 2017). C'est grâce à l'apparition d'une lumière ultraviolette (UV) ou d'une certaine couleur qu'il est possible de détecter les bactéries, et ce, par la méthode présence-absence (P-A) ou par dénombrement par membrane filtrante.

La méthode présence-absence requiert un échantillon d'eau de 100 ml qui est mélangé dans un milieu de culture comme le Colilert et est incubé pour 24 h à 35 degrés Celsius. Ce milieu contient du MUG (4-méthyl-umbélliféryl-ß-D-glucoronide) qui est utilisé par l'enzyme ß-D-glucuronidase d'*E. coli*, lorsqu'elle est présente, et de l'ONPG (ortho-nitrophényl-ß-D-galactopyranodise) qui est utilisé par l'enzyme ß-D-glucuronidase des coliformes totaux lorsque ces derniers sont présents. La présence d'*E. coli* se manifeste par une fluorescence de couleur bleue lorsqu'elle est éclairée par un rayonnement UV. Afin d'avoir des résultats plus spécifiques, des inhibiteurs sont présents dans le milieu de culture afin d'empêcher d'autres bactéries l'utilisation de l'ONPG ou du MUG (CEAEQa, 2015).

La méthode par filtration membranaire requiert habituellement un volume d'eau de 100 ml qui est filtré sur une membrane filtrante et déposé par exemple sur une gélose MI ou un autre milieu de culture gélosée qui sera incubé pendant 24 h à 35 degrés Celsius. Cette méthode permet quant à elle de détecter en même temps les coliformes totaux ainsi que les *E. coli*, et ce, sur la même gélose (CEAEQb, 2015). Les coliformes totaux apparaissent sous la lumière UV et les bactéries *E. coli* en lumière visible, et ce, sous la forme de colonies bleues. Certains préfèrent cependant utiliser deux

milieux de culture pour identifier séparément les coliformes totaux et la bactérie *E. coli*. Dans ce cas, on utilise un milieu m-Endo pour les coliformes totaux où les colonies apparaissent en vert-métallique et un milieu MFC-BCIG pour E. coli où ses colonies apparaissent en bleu. Les températures d'incubation varient alors; l'incubation pour les coliformes totaux se fait à 35 degrés Celsius pendant 24 h et à 44.5 degrés Celsius pendant 24 h dans le cas d'*E. coli*.

2.7.1.2 Méthodes enzymatiques

L'énumération de la bactérie *E. coli* par l'activité enzymatique, qui est très sensible et rapide, est une alternative très intéressante aux méthodes par culture. Les réactions enzymatiques peuvent être propres à un groupe, une espèce ou un genre et permettent alors d'identifier ce qui est recherché contrairement à la culture qui est généralement basée sur des réactions métaboliques qui ne sont pas nécessairement spécifiques (Rompré et al., 2002).

Dans le cas d'*E. coli*, les travaux de Kilian et Bulow (1976) eont démontré que l'enzyme ß-D-glucuronidase lui est spécifique après avoir fait des tests sur plusieurs entérobactéries. Plusieurs travaux ont ensuite prouvé l'utilité de l'activité glucuronidasique pour détecter *E. coli* à la fois dans l'eau et dans la nourriture (Kilian et Bulow, 1976). Cette enzyme catalyse l'hydrolyse des composés ß-D-glucopyranosiduroniques en leurs correspondants aglycones et en acide D-glucuronique (Rompré et al., 2002).

Pour capter cette activité, on utilise normalement des substrats chromogéniques, qui produisent une coloration, ou fluorogéniques, qui produisent une fluorescence, et ce, lorsqu'ils sont coupés par une enzyme spécifique. Pour la bactérie *E. coli*, plusieurs expériences ont été réalisées en utilisant des substrats chromogéniques ou fluorogéniques différents. Pour le substrat chromogénique, on parle souvent du 4-méthylumbelliferyl- ß-D-glucuronide (MUGlu) et du 4-méthylumbelliferyl- ß-D-galactopyranoside (MUGal) pour le cas du substrat fluorogéniques.

2.7.1.3 Méthodes moléculaires

Les méthodes à base moléculaire qui servent à détecter les microorganismes dans l'eau sont principalement décrites par la détection par réaction en chaîne polymérase (PCR) (Krapf et al., 2016). Un des plus grands défis de la méthode PCR est la sensibilité requise pour détecter les organismes ciblés, et ce, à de très faibles concentrations. Toutefois, selon plusieurs études, la sensibilité minimale pour laquelle la PCR est en mesure de procéder à la détection est supérieure à

la limite requise pour détecter la bactérie *E. coli* par 100 ml (Krapf et al., 2016). Des travaux supplémentaires doivent être réalisés pour trouver des méthodes moléculaires fiables, précises, faciles et abordables et pour optimiser leur sensibilité (Santé Canada, 2020).

2.7.1.4 Méthodes de surveillance en continu

Une des principales limites dans les méthodes de détection de la bactérie *E. coli* est le temps nécessaire pour l'obtention des résultats. Cette réalité empêche entre autres de procéder à des suivis en continu de la qualité de l'eau. De ce fait, c'est le besoin d'une surveillance plus rapide et donc plus fréquente d'*E. coli*, principalement dans l'eau potable, qui a amené les chercheurs à se pencher sur cette problématique (Santé Canada, 2020). La détection en temps réel (ou quasi-temps réel) d'*E. coli* peut être réalisée par des capteurs basés sur des mesures d'impédance électrique (Kim et al., 2015), d'immunofluorescence (Golberg et al., 2014) ou encore de paramètres de la qualité de l'eau isolés ou en combinaison (conductivité, pH, turbidité, absorbance UV etc.) (Ikonen et al., 2017). Malgré l'avancement de ces méthodes, plusieurs défis y sont associés comme la complexité des équipements qui ne sont d'ailleurs pas facilement abordables et le besoin d'experts pour leur application ainsi que l'interprétation des données.

2.7.2 Virus

La détection des virus entériques est essentielle pour la santé publique. Toutefois, elle est généralement très coûteuse, nécessite un personnel qualifié et du matériel spécialisé. Ce faisant, même s'il existe des méthodes normalisées, il devient difficile de faire des analyses en continu des virus dans l'eau. Les méthodes connues sont présentées ci-dessus, après la partie qui traite de l'étape de concentration des échantillons.

Avant d'être envoyés au laboratoire d'analyse, les échantillons d'eau doivent subir une filtration. Ces échantillons, normalement prélevés près de la source en profondeur pour être représentatifs, sont filtrés sur le terrain. Le volume d'eau nécessaire aux analyses dépend du terrain à l'étude; si une faible densité de virus est prévue, plus le volume doit être important et vice-versa. Les échantillons doivent ensuite être préservés à une basse température et être prêts à l'analyse dans les 24 heures suivantes idéalement. Les filtrations par adsorption et par exclusion sont les deux méthodes de filtration traditionnelle pour connaître la concentration initiale de virus dans l'eau.

La filtration par adsorption est basée sur le fait qu'à un pH ambiant, les virus sont chargés négativement. Cette caractéristique permet de les capturer en utilisant un support filtrant électropositif. Le taux de récupération de cette méthode de filtration varie selon le type de filtre utilisé; ce dernier se situe entre 0,016 % et 182%. La méthode de filtration par exclusion est considérée plus simple, car elle n'est pas affectée par le pH et ne nécessite pas d'étape d'élution (Olszewski et al., 2005). Le filtre utilisé est composé de pores normalement très petits ce qui augmente les risques d'encrassement. Cette méthode est d'ailleurs en amélioration afin d'être en mesure de détecter non seulement les virus, mais aussi les bactéries et les protozoaires (Kahler et al., 2015). Le taux de récupération de la filtration par exclusion varie selon le système utilisé (Olszewski et al., 2005). Pour donner suite à cette étape de concentration, il est recommandé de procéder à une seconde concentration pour avoir un échantillon entre 1 et 2 ml; ceci permet alors d'avoir un concentré suffisant pour la détection des virus. La concentration secondaire peut se faire de manière variée en utilisant par exemple la floculation organique, la précipitation par polyéthylèneglucol et l'ultracentrifugation. Après avoir procédé à la concentration des échantillons, les deux méthodes utilisées pour la détection des virus sont la culture cellulaire et les méthodes moléculaires. Il est d'ailleurs possible de procéder en faisant la combinaison des deux.

La culture cellulaire a été pendant longtemps la méthode la plus utilisée pour détecter les virus infectieux. Toutefois, certains aspects peuvent être limitants pour cette méthode. D'abord, certains virus ne peuvent pas se reproduire en culture cellulaire. D'autres ne produisent pas d'effet cytopathogénique suffisant pour détecter l'infectiosité. La culture peut aussi sous-estimer la concentration virale de l'échantillon. De plus, la procédure peut nécessiter jusqu'à plusieurs semaines, même si certains virus se développent très rapidement (quelques jours). À ce jour, il n'y a pas de lignée cellulaire en mesure d'effectuer des cultures de tous les virus entériques.

La PCR est à la base de la méthode moléculaire. Cette dernière consiste à libérer l'ADN ou l'ARN des virus en provoquant leur lyse. Les régions qui servent à coder un signal sont ensuite amplifiées en insérant des amorces capables de les identifier. Un signal positif peut être identifié de plusieurs manières comme l'électrophorèse en gel d'agarose et l'examen visuel à la lumière ultraviolette.

La PCR est beaucoup plus rapide que la culture cellulaire, on parle de quelques heures contrairement à quelques jours. Elle est aussi beaucoup plus spécifique. La majorité des virus entériques importants peuvent être détectés par PCR et il existe aussi la PCR multiplex qui peut détecter plusieurs virus simultanément (Lee et al. 2008). La PCR ne permet toutefois pas de tenir compte de la viabilité et l'infectiosité des virus ce qui doit être considéré lors de l'interprétation des résultats.

Il existe aussi des variantes de la PCR, comme la qPCR, nommée PCR quantitative ou PCR en temps réel qui permet de détecter les pathogènes. Cette dernière utilise des sondes oligonucléotidiques et des colorants qui développent une fluorescence qui est mesurée en temps réel quand ils sont attachés à un acide nucléique de virus. Cette méthode a plusieurs avantages comparés à la PCR classique tels qu'un moindre risque de contamination, sa capacité à différencier les types de virus et de détecter plusieurs types de microorganismes en parallèle ainsi que la possibilité de quantifier les virus grâce à une courbe standard (Smith et Osborn, 2009). Plus récemment, le ddPCR (droplet digital PCR) est utilisé et peut être plus sensible dans certaines circonstances (Jahne et al., 2020).

Il est également possible d'utiliser des méthodes qui intègrent à la fois la culture cellulaire et la méthode moléculaire. En effet, ceci permet de réduire le temps d'expérience, de détecter les virus qui n'ont pas d'effet cytapathogénique clair et même de détecter les virus infectieux. La méthode utilisée dépend de plusieurs facteurs; entre autres le type de virus à l'observation. En effet, certains ne peuvent pas être cultivés ce qui empêche d'utiliser la méthode par culture cellulaire.

2.7.3 Protozoaires

De nombreuses méthodes existent pour l'analyse des protozoaires entériques *Giardia* et *Cryptospridium*. La plus commune est la méthode 1623/1623.1 de l'U.S. EPA qui permet de détecter ces 2 organismes, sans toutefois communiquer des informations sur leur viabilité ou leur infectiosité (Santé Canada, 2020). Des publications ont déjà été faites sur d'autres méthodes normalisées, mais la majorité d'entre elles ont un taux de récupération moindre et un taux de variation plus important que la méthode 1623 (Quintero-Betancourt et al., 2002). La détection des protozoaires se fait habituellement en 4 étapes, et ce, pour la majorité des méthodes ; le prélèvement des échantillons, la filtration de l'échantillon et l'élution, la concentration et la séparation de

l'échantillon et l'identification des kystes et des oocystes. Ces dernières seront expliquées ci-dessous.

1. Prélèvement des échantillons

Une collecte d'échantillons bien déterminée est très importante afin de s'assurer d'avoir des résultats concrets et représentatifs du site. Ce faisant, les objectifs d'étude et la communication avec le laboratoire d'analyse sont des points essentiels avant de procéder au prélèvement. Les échantillons peuvent être prélevés en vrac ou être filtrés sur le terrain, et ce, à des volumes prédéterminés selon des études préliminaires concernant les concentrations potentielles en protozoaires selon le site d'étude. Normalement, il est question de volumes qui varient entre 10 et 1000 L ; plus la concentration des organismes dans l'eau est considérée dense, moins le volume doit être important. Les échantillons doivent être gardés à une certaine température à une durée maximum déterminée selon la méthode utilisée.

2. Filtration de l'échantillon et élution

Même durant une période de contamination de l'eau, les concentrations de protozoaires pathogènes sont généralement faibles dans les eaux au Canada. Ce faisant, on procède à une étape de filtration afin d'obtenir une eau avec un pourcentage d'organismes suffisant pour la détection. Plusieurs filtres peuvent être utilisés et, selon plusieurs études, le choix a une incidence sur les taux de récupération (Ferguson et al., 2004). Le choix du filtre est d'abord déterminé selon le volume d'eau à filtrer et d'autres facteurs tels que la vitesse de filtration et la compatibilité avec la méthode choisie. Ainsi, l'eau échantillonnée passe à travers ce filtre pour retenir les kystes, les oocystes et les diverses particules étrangères présentes pour ensuite y ajouter des solutions d'élution afin de les libérer.

3. Concentration et réparation de l'échantillon

Cette étape de l'analyse se fait généralement par la centrifugation associée à la séparation immunomagnétique (SIM) dont l'objectif est de séparer les kystes et les oocystes des autres contaminants. La méthode SIM est la seule méthode de séparation qui fait partie de la méthode EPA 1623/1623.1 Celle-ci consiste d'abord à centrifuger l'échantillon filtré afin de le concentrer ; l'éluat devient alors un culot. Ce dernier est ensuite mis en suspension avec une solution tampon pour produire un concentré auquel y seront ajoutés des anticorps monoclonaux anti-Cryptosporidium et anti-Giardia liés à des billes immunomagnétiques.

Ces billes se lient dès lors de manière sélective aux kystes et aux oocystes. Un champ magnétique est ensuite appliqué afin de séparer les particules étrangères des entités billes-kystes et billes-oocystes. À ce stade, les particules étrangères sont retirées et les kystes et les oocystes sont séparés des billes qui leur étaient attachées ; suivant cette procédure, on obtient finalement une solution concentrée en kystes et oocystes.

Certains facteurs peuvent affecter les résultats obtenus de la SIM. Par exemple, la turbidité de l'eau a un effet important sur le taux de récupération ; 90% pour une eau faiblement turbide et entre 55,0 et 83,1 % pour les oocystes et 89,6% pour les kystes d'une eau turbide (McCuin et al., 2001). Un pH très différent de 7 affecte également le taux de récupération (Kuhn et al., 2002).

4. Identification des kystes et des oocystes

Après avoir obtenu un résultat de suspension concentrée en kystes et oocystes, la méthode la plus utilisée pour procéder à leur détection est l'épreuve d'immunofluorescence (IFA). Celle-ci consiste à colorer les échantillons et à faire un examen en utilisant un microscope à immunofluorescence directe qui est en mesure de localiser les corps fluorescents (potentiellement les kystes et oocystes). Pour colorer les échantillons, la suspension en kystes et oocystes est d'abord transférée à une lame. Cette dernière « *est ensuite incubée en présence d'anticorps marqués par fluorescence et dirigés contre des antigènes spécifiques présents à la surface des kystes et oocystes* » (Santé Canada, 2020). Toutefois, il est nécessaire de procéder à une seconde coloration (DAPI) et un autre examen microscopique afin de confirmer le résultat obtenu. En effet, la présence d'algues naturellement fluorescentes qui ressemblent en taille et en couleur aux kystes et oocystes exige cette étape supplémentaire. La DAPI permet de faire la différenciation en mettant en évidence les noyaux des kystes et des oocystes. La méthode IFA a aussi ses propres défis ; elle est très sensible, requiert un matériel spécialisé et nécessite une forte expertise technique pour son application. D'autres méthodes ne faisant pas partie des méthodes normalisées sont de plus en plus utilisées comme la cyrtométrie en flux et les méthodes moléculaires.

2.8 Le programme Environnement-Plage

En 1980, le ministère a eu la responsabilité du programme de surveillance de la qualité microbiologique des eaux de baignade. D'abord, en 1987, le programme était appliqué de manière homogène dans l'ensemble des régions administratives. Deux ans plus tard, ce dernier est uniquement appliqué aux plages publiques qui répondent aux critères de sécurité de la Régie du bâtiment du Québec (RBQ). En 2014, *E. coli* remplace les coliformes fécaux en tant qu'indicateur de la qualité microbiologique des eaux douces et la méthode d'échantillonnage devient sous la forme d'échantillon composite.

Le programme Environnement-Plage du MELCC (ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques) s'applique aux plages publiques, reconnues comme étant sécuritaires (surveillées et délimitées par des bouées). Le Ministère offre un service d'analyse des eaux de baignade en coopération avec les responsables de la plage en question en rendant disponible un personnel qualifié chargé de la collecte des échantillons ainsi qu'une liste de laboratoires qualifiés pour effectuer les analyses à des coûts abordables (payés par l'exploitant du programme). Selon les résultats obtenus, une cote est attribuée pour qualifier la qualité microbiologique des eaux de baignade. Le tableau 2-5 décrit la classification de la qualité microbiologique du programme.

Tableau 2-3 : Classification de la qualité microbiologique des eaux de baignade (tiré du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC)

Classification et qualité des eaux de baignade		**Moyenne arithmétique en UFC/100 ml**	
		Plages en milieu d'eau douce	**Plage en milieu marin**
Cote	**Qualité**	***Escherichia coli***	**Entérocoques**
A	Excellente	≤ 20	≤ 5
B	Bonne	21 à 100	6 à 20
C	Passable	101 à 200	21 à 35
D	Polluée	≥ 201	≥ 36

Ce programme permet d'informer le public de la qualité des eaux microbiologiques des plages participantes. Dès qu'une plage obtient la cote D, elle se doit d'être interdite d'accès jusqu'à ce que les résultats deviennent satisfaisants (C minimum).

L'échantillonnage se déroule habituellement entre la mi-juin et la fin août. La fréquence d'échantillonnage varie selon la médiane des résultats d'analyse de la dernière année. Le tableau suivant présente les différents cas :

Tableau 2-4. Fréquence minimale d'échantillonnage annuel selon la catégorie de plages (tiré du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC)

Catégorie de plages	**Fréquence minimale d'échantillonnage annuel**
Classe A	2 fois
Classe B	3 fois
Classe C, D et nouvelle plage	5 fois

Certains aspects de l'échantillonnage varient selon les caractéristiques de la plage. D'abord, la longueur de la plage détermine le nombre de stations d'échantillonnage qui s'y trouveront ainsi que le nombre d'échantillons composites à produire. La distance entre deux stations est calculée en divisant la longueur de la plage par le nombre de stations. Pour éviter qu'un échantillon soit pris à l'extérieur de la zone de baignade, ces derniers sont prélevés à 7,5 m des bouées. Le tableau suivant présente les différents cas.

Tableau 2-5. Nombre de stations d'échantillonnage et d'échantillons composites selon la longueur de la plage (m) (tiré du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC)

Longueur de la plage (m)	**Nombre de stations d'échantillonnage**	**Nombre d'échantillons composites**
0 -100	6	2
101 – 200	8	2
201 – 400	12	4
401 et plus	16	4

De plus, trois niveaux d'échantillonnage sont possibles selon la profondeur : niveau A à 0,3 m, niveau B à 0,7 m et niveau C à 1,2 m. Le niveau est défini selon la forme de la plage, soit linéaire ou circulaire, ainsi que de la profondeur de l'aire de baignade. Les figures suivantes, tirées du guide d'application du Programme Environnement-Plage du MELCC, décrivent les différents cas.

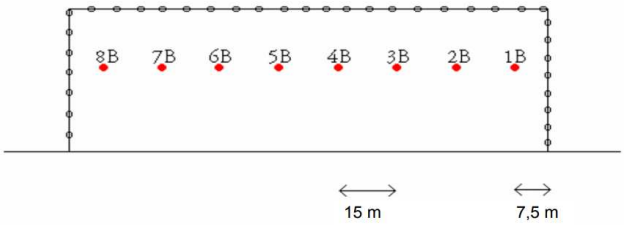

Figure 2.4 : Plan d'échantillonnage pour une plage linéaire avec une profondeur < à 1,2 m.

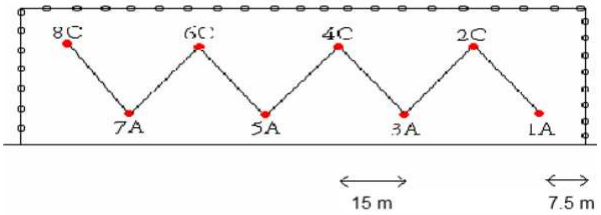

Figure 2.4 : Plan d'échantillonnage pour une plage linéaire avec une profondeur > à 1,2 m

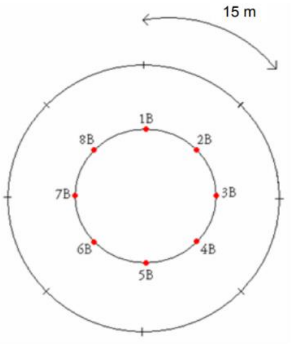

Figure 2.4 : Plan d'échantillonnage pour une plage

L'échantillonnage se fait en prélevant 50 ml d'eau dans une bouteille stérilisée selon le plan d'échantillonnage approprié. Comme il est indiqué dans le tableau 2-8, des échantillons composites doivent être préparés. Un échantillon composite est composé du mélange de 3 à 4 échantillons prélevés à chacun des niveaux d'échantillonnage. Ces mélanges sont ensuite réalisés dans des bouteilles de 250 ml (l'échantillon devrait ainsi être entre 150 à 200 ml). La réalisation des échantillons composites dépend aussi du type de plage. Le tableau suivant décrit les différents cas.

Tableau 2-6. Réalisation de l'échantillon composite selon le type de plage

Type de plage	**Réalisation de l'échantillon composite**
Plage linéaire, profondeur > 1,2 m	L'échantillon composite doit être produit en tenant compte les niveaux d'échantillonnage et en suivant l'ordre des stations.
Plage linéaire, profondeur < 1,2 m ou une plage circulaire	L'échantillon composite doit être produit en suivant l'ordre des stations d'échantillonnage.

Dans le cas de l'étude actuelle, des sauveteurs ont été formés afin de procéder à la collecte d'échantillonnage pour toute la durée du programme. Le programme Environnement-Plage a été utilisé pour les seuils de concentration pour qualifier la qualité de l'eau ainsi que pour la méthode d'échantillonnage d'*E. coli*.

2.9 **Étude antérieure**

Une recherche a été menée dans la période allant du 18 juin 2016 au 6 septembre 2016 sur plusieurs sites (en territoires québécois et néo-zélandais), entre autres sur le même site d'étude que celui où est situé notre projet, soit dans la région du Québec en bord du fleuve Saint-Laurent. (Cazals, M., 2019). En fait, cette étude a été réalisée un an avant l'ouverture de la plage urbaine à l'étude dans ce mémoire. Son objectif principal était de comparer les résultats de différentes méthodes de suivi de la bactérie *E. coli*, soit la méthode enzymatique automatisée (Coliminder®) et certaines méthodes de cultures standards (Coliminder®, Colilert, TECTATM B16, et filtration sur membranes). De manière plus spécifique, l'étude visait à : comparer la répétabilité des méthodes ColiMinder®, Colilert, TECTATM B16, et filtration sur membranes, étudier l'impact du signal

mesuré en phase soluble sur le signal enzymatique total, et sur les relations entre GLUC et *E. coli*, comparer les corrélations entre GLUC et *E. coli* sur les différents sites à l'étude, ainsi qu'entre les ratios GLUC/*E. coli* avec les concentrations en *E. coli* mesurées par culture, comparer les décisions de gestion de plage des méthodes standards et du ColiMinder® par définition de seuils limites pour des eaux récréatives et, enfin, observer les évolutions temporelles des quantités d'enzymes et de bactéries lors d'un événement de pluie avec surverse.

Ces travaux ont démontré que la détection automatisée réalisée par le ColiMinder® est fortement prometteuse. En effet, elle a permis d'effectuer un suivi en quasi en temps réel de la qualité bactériologique et ainsi de suivre toute la dynamique de la contamination fécale, et ce, de manière à améliorer la gestion de la plage à l'étude. En effet, le suivi en continu est entre autres beaucoup plus en mesure de détecter des pics de contamination que les méthodes traditionnelles qui ont une fréquence d'échantillonnage moindre. De plus, parmi toutes les méthodes comparées, la détection par le ColiMinder® est celle qui a présenté le plus faible coefficient de variation. Les analyses ont de plus permis de démontrer que la détection enzymatique a les pourcentages de faux-négatifs les plus faibles, et ce, pour tous les cas étudiés.

Concernant la corrélation entre le signal enzymatique et les résultats des méthodes par culture, il a été possible de démontrer que cette dernière n'est pas parfaite. En fait, basées sur des cibles distinctes, un écart des résultats est grandement possible; les technologies enzymatiques peuvent détecter les bactéries *E. coli* métaboliquement actives et les enzymes β-D-glucuronidase libres alors que les méthodes par culture sont limitées aux cellules cultivables. De plus, l'accord entre les résultats de l'activité GLUC d'un jour i et ceux des méthodes par culture du jour i-1 a majoritairement été dû à la chance alors que, lorsque les échantillons sont prélevés au même moment, cet accord ne peut plus être uniquement justifié par le hasard. Améliorer la cohérence entre les stratégies de suivi de la qualité microbiologique de l'eau, entre autres en harmonisant les plans d'échantillonnage, permettrait probablement d'observer une meilleure corrélation entre les méthodes. Il a toutefois été possible de proposer selon les résultats obtenus un équivalent de seuil maximal acceptable pour la baignade selon la méthode enzymatique. Au site québécois 2 (qui représente la localisation de la plage à l'étude), le seuil maximal acceptable pour l'activité GLUC est de 3,4 mUFM/100 ml.

Certaines observations ont aussi pu être faites en observant les résultats. D'abord, plus le niveau de contamination est important, moins la variabilité des mesures sera importante pour toutes les

méthodes. Ensuite, pour la technologie enzymatique, le signal causé par des enzymes libres a peu d'effet sur la corrélation entre les différentes méthodes et ce dernier varie de manière importante selon le type de contamination.

Enfin, cette étude a soulevé le manque d'information dans la littérature scientifique concernant certains aspects de la méthode enzymatique qui permettraient d'améliorer notre compréhension et ainsi maximiser son bénéfice potentiel. Par exemple, sachant que l'enzyme GLUC est plus persistante dans l'environnement que la bactérie *E. coli*, il serait intéressant d'observer sa corrélation avec les agents pathogènes comme les virus et les protozoaires pour mieux comprendre leur devenir dans l'eau; chose qui est plutôt méconnue. Une autre suggestion proposée par l'auteure est d'approfondir les recherches sur le métabolisme lié à la production de l'enzyme β-D-glucuronidase par les bactéries *E. coli* et les facteurs environnementaux possibles de l'influencer. Enfin, l'impact d'inhibiteurs éventuels des enzymes β-D-glucuronidase provenant de sources variées pourrait également être étudié.

CHAPITRE 3 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE

Pour donner suite aux résultats de l'étude réalisée en 2018 à la nouvelle plage urbaine de Montréal également visée par la recherche actuelle, des objectifs ont été déterminés dans le but de vérifier certaines conclusions et pousser la recherche sur des aspects qui sont encore méconnus. L'objectif principal de ce projet est d'effectuer une comparaison entre deux méthodes de suivi de la qualité microbiologique de l'eau par la bactérie *E. coli* : la méthode enzymatique automatisée grâce au ColiMinder® et la méthode standard de culture bactérienne. Des objectifs plus spécifiques y découlent et peuvent être définis comme suit :

1. Comparer les résultats de qualité de l'eau des méthodes standard et enzymatique pour l'entièreté de la saison de baignade ;
2. Comparer les décisions de gestion de plage (ouverture/fermeture) qui aurait été proposé selon les différentes variables de référence : concentrations d'*E. coli*, activité enzymatique, virus et protozoaires, et ce, en parallèle à celles de la ville ;
3. Comparer les caractéristiques des différents évènements ayant mené à la fermeture de la plage ;
4. Évaluer les tendances entre GLUC, virus et protozoaires pour comprendre le devenir des agents pathogènes, et ce, pendant l'entièreté de la saison de baignade et de manière plus fréquente lors des évènements de pluie avec surverse ;
5. Émettre des recommandations au règlement de fermeture de la plage selon les résultats obtenus et les caractéristiques des pluies les plus influentes.

Cette recherche est intéressante, car elle permet tout d'abord d'établir une comparaison avec les résultats obtenus en 2018, et ce, afin de confirmer ou infirmer certaines conclusions, sachant que la méthode enzymatique automatisée (le ColiMinder®) est encore peu étudiée dans la littérature. De plus, tel que suggéré dans l'étude antérieure, l'analyse des agents pathogènes (virus et protozoaires) est réalisée dans le but de mieux comprendre leur devenir dans l'environnement et leur corrélation avec le signal enzymatique GLUC. La pertinence de ce projet est surtout dans le fait qu'il est déployé lors de l'ouverture de la plage ce qui permet d'observer la méthode de gestion de la plage urbaine de manière concrète et donc de faire une comparaison plus intéressante entre la méthode enzymatique automatisée et celle de culture bactérienne.

Il est possible d'établir certaines hypothèses de recherche :

Hypothèse 1 : Une corrélation existe entre les valeurs GLUC et *E. coli*, et ce, surtout lors des évènements de pluie et avec des écarts plus importants entre les résultats en temps sec.

Réfutabilité : Une faible corrélation existe entre les valeurs GLUC et *E. coli* que ce soit en temps de pluie ou en temps sec.

Hypothèse 2 : Le suivi du niveau de qualité de l'eau basé sur l'activité enzymatique (ColiMinder®) suggère des journées d'ouverture et de fermeture de la plage différentes de celles qui ont été prises par la ville. Autrement dit, les périodes de fermeture de la plage seraient d'une plus courte durée.

Réfutabilité : Le suivi de la qualité de l'eau basé sur l'activité enzymatique ne permet pas nécessairement de réduire les périodes de fermeture de la plage.

Hypothèse 3 : Le suivi du signal enzymatique permet de comprendre le devenir des virus et des protozoaires sachant que l'enzyme GLUC est plus persistante dans l'eau que *E. coli*.

Réfutabilité : Le suivi du signal enzymatique n'est pas suffisant pour comprendre le devenir des pathogènes si ces derniers sont encore présents dans l'eau lorsque les données GLUC respectent le seuil.

CHAPITRE 4 MÉTHODOLOGIE

Le projet est divisé en plusieurs étapes. D'abord, le Colminder® est installé sur le site d'étude afin de procéder au suivi en continu de l'activité β-D-glucosidase. Des visites hebdomadaires sont réalisées pour les filtrations de protozoaires et de virus. Parallèlement à cela, la ville suit une procédure d'échantillonnage bijournalière pour le dénombrement de la bactérie *E. coli* dans un milieu de culture, et ce, dans le cadre du programme environnement-plage qui a précédemment été présenté. À cela, s'ajoute un échantillonnage plus fréquent lors des évènements de pluie importants (> 5mm) quand les conditions le permettent. Les résultats obtenus permettront d'une part de comparer la technologie basée sur l'activité enzymatique et celle basée sur la culture ainsi que d'observer la tendance des protozoaires, des virus et de la bactérie *E. coli* dans les eaux récréatives. Enfin, une meilleure compréhension de la méthode β-D-glucosidase pourra être acquise. La description du site d'étude et le détail des procédures sont présentés dans le chapitre suivant.

4.1 Site d'étude

La plage urbaine à l'étude est située au bord du fleuve Saint-Laurent, tout proche de l'île des Sœurs au sud-est de la ville de Montréal (voir figure 4.1). Le terrain en question a antérieurement été utilisé comme site d'enfouissement ce qui a complexifié les travaux nécessaires requis pour faire un tel projet. Ces travaux incluent entre autres l'excavation et le nivellement des sols (décontamination) (GBi Experts-Conseils inc., 2020). De plus, un aménagement permettant d'avoir un courant d'eau convenable à la baignade a été étudié et des évaluations ont été réalisées afin de connaître les risques liés aux sols et à la qualité bactériologique des eaux en rive sur la santé : en plus de la sécurité des lieux (Brodeur et Price, 2018). La Ville avait comme objectif de rendre la plage accessible au public en 2018, mais son ouverture a pu être possible seulement en 2019, lors de notre étude.

La campagne d'échantillonnage s'est déroulée du 28 juin au 22 août 2019. Le Colminder® était installé dans une cabane derrière la zone de sable et les échantillons d'eau étaient prélevés par une prise d'eau (pompe submersible) située dans le fleuve à près de 12 mètres de la rive. Celle-ci était d'ailleurs au nord de la section réservée à la baignade afin de pouvoir potentiellement détecter l'impact des usagers sur la qualité de l'eau. Le reste du matériel nécessaire pour la collecte des échantillons était également gardé dans la cabane afin d'être facilement accessible.

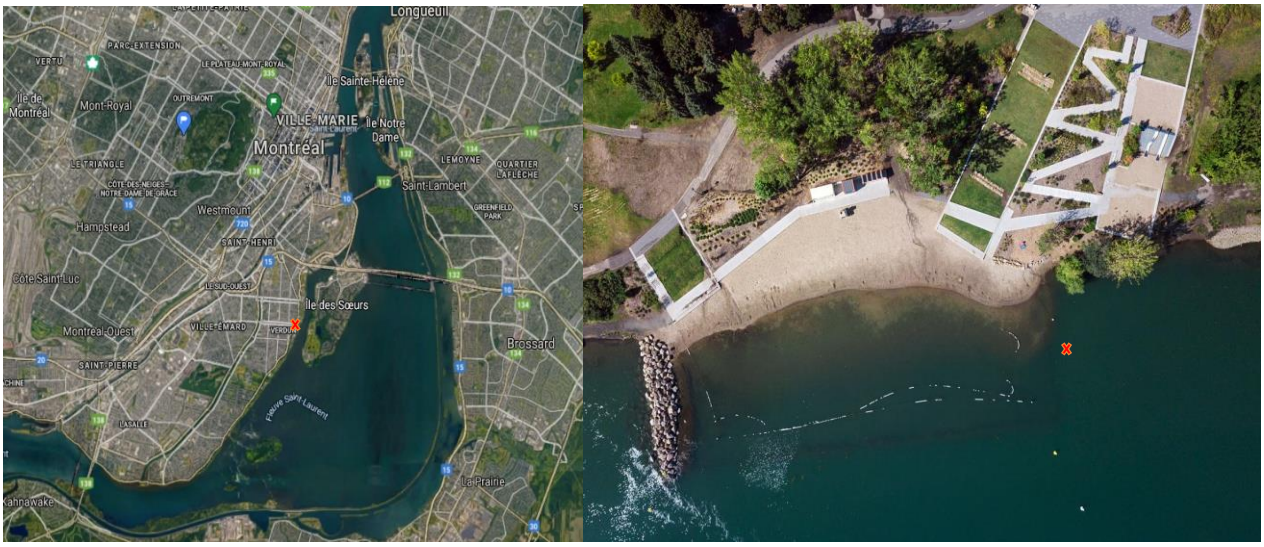

Figure 4.1 : À gauche, une vue aérienne de la localisation de la plage de Verdun (Google Maps) et à droite une vue aérienne rapprochée de la plage de Verdun avec l'emplacement de la prise d'eau (GBi Experts-conseils)

4.1.1 Enjeux du site d'étude

Étant à proximité de zones habitées, le fleuve Saint-Laurent a souvent connu des cas de mauvaise qualité de l'eau, plus spécifiquement dans les basses-terres du Saint-Laurent jusqu'à la région de Québec ainsi qu'en aval de Montréal. Le Fleuve Saint-Laurent est d'une importance capitale pour le Québec, représentant son plus important cours d'eau. En plus d'y abriter un grand nombre d'espèces aquatiques, il est la source d'approvisionnement en eau potable et le cœur d'activités économiques. Il est aussi lieu pour des activités touristiques et récréatives. Toutefois, plusieurs ouvrages de surverses longent le Fleuve Saint-Laurent. En 2017, Brouillette en comptait 12 à moins de 10 km environ en amont de la plage, mais il est suggéré que seulement 4 d'entre eux peuvent avoir un impact important sur la qualité de son eau en cas de débordement : 1re avenue, Stephens (régulateur), Alepin, station de pompage Moffat et trop-pleins Beatty, Richard, Sénécal et Stephens (Fleury et Charron, 2017). En effet, ces derniers sont des ouvrages ayant des superficies tributaires plus grandes et contribuent ainsi davantage aux rejets d'eaux usées. La carte suivante (figure 4.2) montre la localisation des 12 ouvrages situés en amont de la plage de Verdun.

Figure 4.2 : Ouvrages de surverse situés en amont de la plage de Verdun (Fleury et al., 2018)

Il est possible d'avoir un profil de la qualité de l'eau du fleuve en se basant sur le rapport du portrait de la qualité des eaux de surface au Québec 1998-2008 (MDDEP, 2012). Il est important de noter que durant cette période, les bassins de rétention qui limitent les débordements d'égout n'étaient pas encore complètement fonctionnels. En 2008, il y avait 30 stations d'échantillonnage, mises en place en 1990 par le réseau de suivi de la qualité de l'eau du Fleuve Saint-Laurent, qui longeaient le fleuve, entre le lac Saint-François et l'île d'Orléans. Ces dernières évaluent 6 paramètres : le phosphore total, les coliformes fécaux, les matières en suspension, l'azote ammoniacal, les nitrites et nitrates et la chlorophylle A. Les conclusions ont révélé que la qualité du fleuve était bonne ou satisfaisante à 73% de ses stations, douteuse à 17% d'entre elles et très mauvaise à 10%. Les endroits les plus touchés par une moindre qualité se trouvent entre Varennes et Sorel, et ce, principalement en raison de la contamination bactériologique qui provient de la région de Montréal.

La qualité de l'eau n'a pas grandement évolué au sein de cette décennie allant de 1998 à 2008. Toutefois, il est important dans le cadre de notre étude, de porter une attention particulière à la situation des coliformes fécaux dans le fleuve. Au cours de cette décennie, 13% des stations ont eu une tendance de concentrations à la hausse alors que 87% n'ont pas connu de tendance particulière. Voici le portrait global pour ce paramètre en faisant référence aux critères pour les activités récréatives; soit une limite de 200 coliformes fécaux/100 ml pour la baignade et de 1000 pour les activités nautiques.

Tout d'abord, entre 2006-2008, 50% des stations (15) avaient une qualité d'eau acceptable pour la baignade pour au moins 50% du temps. Ensuite, 37% d'entre elles (11) avaient une qualité acceptable uniquement pour les activités nautiques (entre 201 et 1000 coliformes fécaux/100 ml) pour au moins 50% du temps. Enfin, 13% des stations (4) étaient contaminées de manière importante. Les débordements d'égout après un temps de pluie ainsi que la non-désinfection des eaux usées traitées en provenance des stations d'épuration de Montréal, Longueuil et Repentigny résultent en une contamination bactériologique. Les concentrations peuvent donc atteindre des médianes qui varient entre 4000 et 5850 coliformes fécaux/100 ml. Une problématique similaire est observable à l'île d'Orléans où les concentrations médianes variaient entre 210 et 300 coliformes fécaux/100 ml.

D'autres études ont également été réalisées afin de comprendre davantage la qualité bactériologique de l'eau dans le Fleuve, et plus précisément à l'emplacement de la plage de Verdun (Brodeur et Price 2018; Fleury et Charron, 2017). En effet, des données ont été recueillies entre 2013 et 2017 par les stations d'échantillonnage QUALO du Réseau de surveillance du milieu aquatique (RSMA) de la Ville de Montréal qui étudie la qualité de l'eau des rives de l'Île de Montréal hebdomadairement. De plus, des données ont été disponibles en 2017 et 2018 par la Direction de l'Épuration des Eaux Usées (DEEU), qui elle prend en considération la durée des débordements des ouvrages de surverse.

À l'emplacement où se trouve aujourd'hui la plage de Verdun, le RSMA avait mis en place une station d'échantillonnage nommée BLAP-4.25 en rive et la DEEU également, mais à 12 mètres du large, nommée BLAP-4.25*. En se référant à la classification du programme Environnement-Plage, les données recueillies en 2018 à ces deux stations sont présentées dans le tableau ci-dessous.

À noter que 13 échantillons ont été recueillis à la station BLAP-4.25 et 189 à la station BLAP 4.25*.

Tableau 4-1. Cote des échantillons prélevés aux station BLAP-4.25 et BLAP-4.24* en 2018

Station	**Cote A (Excellente ≤ 20)**	**Cote B (Bonne 21 à 100)**	**Cote C (Passable 101 à 200)**	**Cote D (Polluée (≥ 201)**
BLAP-4.25	1/13	9/13	0/13	3/13
BLAP 4.25*	85/189	90/189	6/189	8/189

En se basant sur ces résultats, le seuil limite de concentration d'*E. coli* (200 UFC/100 ml) pour les eaux récréatives a été dépassé 3 fois à la station BLAP-4.25, dont une fois en temps sec, et 8 fois à la station BLAP-4.25*, tous les jours suivants des débordements d'ouvrages de surverse, en temps de fortes pluies (≥10 mm), à l'exception de 3 échantillons où les pluies étaient plus faibles.

Ainsi, le site à l'étude est à risque de contamination, surtout en temps de pluie. Le suivi de la qualité microbiologique de l'eau est alors essentiel pour la santé des usagers et pour assurer une bonne gestion des activités. L'ajout de données pour les virus et les protozoaires permettra notamment de comprendre si une note passable en termes d'*E. coli* indique nécessairement une bonne qualité de l'eau.

4.2 **Échantillonnage**

Tel que mentionné précédemment, la période d'échantillonnage s'est déroulée entre la fin juin et fin août afin de combler la majorité de la période de baignade. La fréquence d'échantillonnage variait selon la présence ou non d'une pluie importante, qui risque de causer un ou plusieurs débordements d'ouvrages de surverse et donc une dégradation potentielle de la qualité de l'eau.

4.2.1 Suivi de l'enzyme β-D-glucuronidase

Le suivi de l'enzyme β-D-glucuronidase est réalisé par la méthode enzymatique automatisée au cœur de ce projet : le ColiMinder®. Ce dernier effectuait un suivi en continu de la bactérie *E. coli* en prenant une mesure à chaque 2 heures en temps sec et à chaque heure en temps de pluie afin de pouvoir détecter les pics de concentration et avoir une meilleure sensibilité dans les résultats face aux variations. La figure ci-dessous représente l'installation du matériel dans la cabane située derrière la zone de sable de la plage et qui est liée à la pompe.

Figure 4.3 : Installation du Colimindер®

Le ColiMinder® est une technologie rapide qui mesure directement l'activité de l'enzyme beta-D-glucuronidase (GLUC) des organismes ciblés (*E. coli*, entérocoques, activité totale). Cette activité enzymatique en provenance du métabolisme des cellules est définie comme l'indication la plus fondamentale d'un organisme viable (VWM Solutions, 2020). En effet, le métabolisme reflète l'énergie que la cellule prend de son environnement. Puisqu'il existe des enzymes spécifiques à certains organismes (ou groupe d'organisme), il est possible d'utiliser cette donnée afin d'identifier des organismes spécifiques. La mesure obtenue est l'activité enzymatique par volume d'une enzyme spécifique et est exprimée en mMFU/100 ml (Unités Fishman Modifiées / 100 ml). Il est ainsi possible de trouver des limites de contamination en se basant sur l'activité enzymatique, et ce, pour toutes sortes d'applications.

Le ColiMinder® requiert un délai de 15 minutes pour obtenir une mesure et 30 minutes si le temps de nettoyage entre chaque mesure est pris en considération. Il est capable de fournir des réponses quantitatives (exprimées en mMFU/100 ml), en ligne (permettant d'être notifié en cas d'alerte) et de manière automatique (prise d'échantillon, mesure, nettoyage et étalonnage). Le Colimínder® détient 2 lignes d'échantillonnage en standard et 10 en option et est capable d'effectuer de manière autonome 54 cycles de mesures par jour. La figure suivante permet de comprendre en générale le fonctionnement de cette technologie, en parallèle à la méthode classique de dénombrement par culture.

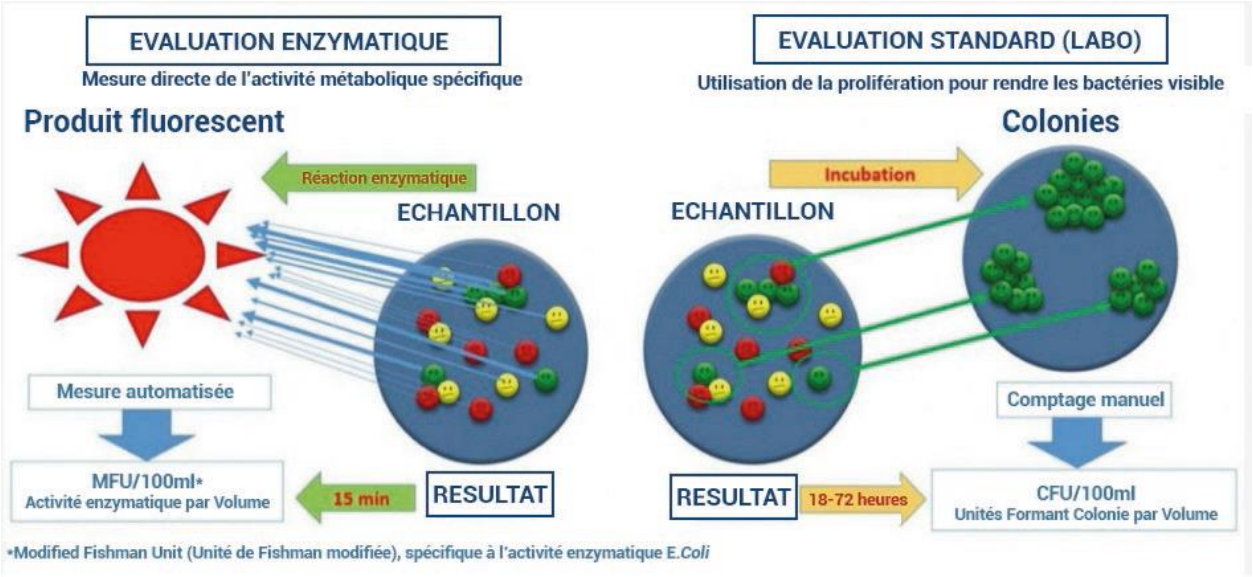

Figure 4.4 : Principe de fonctionnement du Colimínder (à gauche) et de la méthode standard de culture (à droite) (Source: VWM Solutions, 2020)

Ainsi, comme l'indique la figure précédente, le principe de la méthode enzymatique est de détecter une enzyme spécifique à l'organisme ciblé. Plus spécifiquement, c'est la fluorescence du produit de réaction enzymatique émise par le 4-méthylumbelliférone qui est détectée. Le 4-méthylumbelliférone représente le substrat spécifique à l'enzyme d'*E. coli* qui signale sa présence en créant une fluorescence lorsqu'elle catalyse le clivage du substrat en question (Fiksdal et Tryland, 2008). Le signal émis est mesuré en volts par seconde pour être ensuite transformé en Modified Fishman Units par 100 ml (MFU/100ml) (Fondation Rivières, 2021). Le tout se produit dans la chambre de mesure où se dirige l'échantillon prélevé. Il est mélangé à un tampon défini et une solution de substrat fluorogène. Ce mélange est préchauffé à la température souhaitée et la mesure débute lorsque cette dernière est atteinte; pour la détection d'*E. coli*, où l'enzyme β-D

glucuronidase est recherchée, cette température est de 44,0 ± 0,1 ° C. (George et al., 2000). Un algorithme corrige les données (brevet: PCT / AT2014 / 050036) pour obtenir des lectures de fluorescence précises indépendantes à la turbidité (Stadler et al., 2016). Les échantillons mesurés par le ColiMinder® n'ont pas besoin de prétraitement. Le processus requiert les éléments suivants : le réactif A et le réactif B (pour la mesure) ainsi que la solution de rinçage et l'eau milliQ (pour procéder au nettoyage entre chaque mesure). Le ColiMinder® est capable de prendre jusqu'à 1000 mesures sans intervention (ajout de réactif) (Subsea Tech, 2021). Le schéma suivant représente ces différentes entités en plus du branchement permettant son fonctionnement.

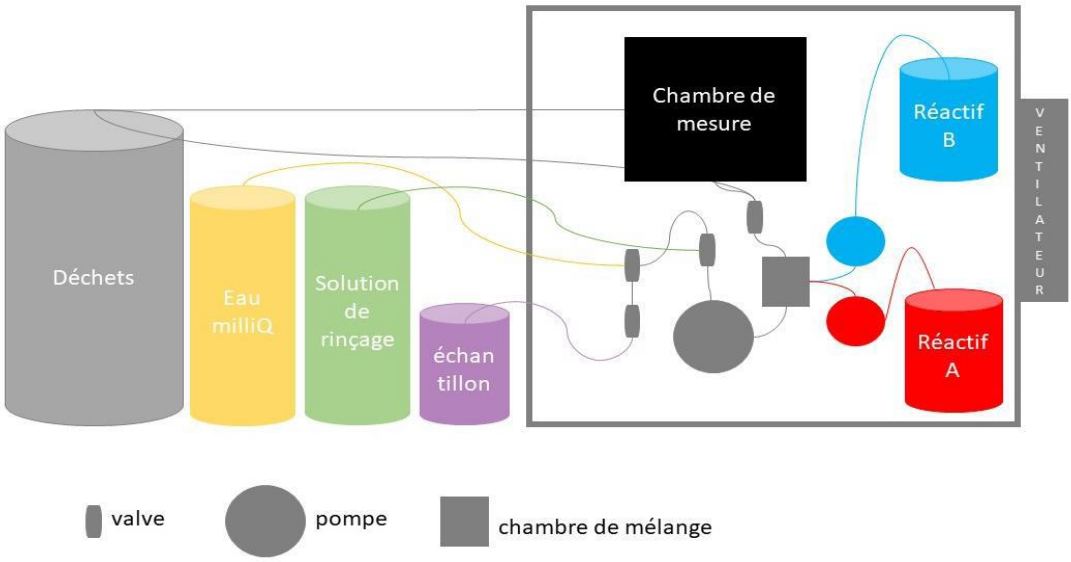

Figure 4.5 : Schéma du ColiMinder® (Source: Cazals, 2019)

Malgré leur fort potentiel, il est suggéré de procéder à des méthodes comme la culture bactérienne en parallèle à la méthode enzymatique. En effet, des interférences peuvent exister par la présence d'inhibiteurs ou la mesure de faux-positifs liés à certaines bactéries dans certaines configurations (Henry et al., 2013). Enfin, la question principale de ce projet est de comprendre comment une technologie comme le ColiMinder® peut être bénéfique pour le suivi et la gestion des activités récréatives comme une plage. En effet, une bonne compréhension existe concernant les surverses et la manière dont ces dernières affectent les activités récréatives. Toutefois, une curiosité se présente pour comprendre si un suivi en quasi temps-réel de la qualité de l'eau peut contribuer à une gestion plus efficace. Par exemple, sera-t-il possible de proposer des journées d'ouverture et

de fermeture de la plage différentes de celles recommandées sur la base de la méthode de détection standard (par culture) réalisée par la ville ?

4.2.2 Dénombrement par culture

Le suivi d'*E. coli* a été réalisé par la ville en considérant les seuils et la méthode d'échantillonnage du programme Environnement-Plage. Les sauveteurs procédaient à l'échantillonnage qui se faisait une fois le matin à 10h30 (échantillon 1) et une seconde fois en fin d'après-midi à 18h (échantillon 2). À chacune de ces heures, un échantillon était prélevé à une profondeur de 0,3 m et l'autre à 1,2 m. Ces derniers, qui représentent les échantillons bijournaliers, étaient enfin envoyés en laboratoire pour procéder aux mesures d'*E. coli*, qui nécessitent entre 24 à 48 heures.

Dans le but d'avoir une comparaison plus précise des résultats obtenus par culture (UFC/100 ml) et ceux obtenus par la méthode enzymatique (mMFU/100 ml), il a été demandé aux sauveteurs de prendre une mesure quotidienne de l'échantillon 2 en utilisant une des entrées du ColiMinder®. Ainsi, il sera possible d'avoir des résultats comparatifs des deux méthodes pour le même échantillon (même condition).

Lors d'un événement de pluie, la Ville procède à un échantillonnage automatique à haute-fréquence grâce au ISCO (modèle 2800 auto-réfrigéré) installé dans la cabane. Lorsque son système est déclenché, celui-ci prélève un échantillon à chaque heure dans le but de détecter le plus fiablement les variabilités et les pics de concentrations.

De nombreuses études ont démontré que les enzymes persistent plus longtemps dans l'environnement que les bactéries *E. coli* cultivables (Burnet et al., 2019). De ce fait, le Colimindер® est plus sensible aux anciennes contaminations, car il est en mesure de détecter les *E. coli* cultivables et non cultivables. Cette réalité est responsable de la diminution de la corrélation des résultats entre *E. coli* et activité GLUC dans le cas d'une ancienne contamination; où la mesure de l'activité GLUC peut être élevée face à une faible mesure en dénombrement de bactéries. Il sera possible de voir si un tel scénario se présentera au courant de la période de baignade.

4.2.3 Suivi des protozoaires et des virus

L'échantillonnage des protozoaires et virus, étant plus coûteux en termes de matériel (filtres) et d'analyses, se faisait à une fréquence hebdomadaire. En période de pluie, des échantillons étaient

prélevés idéalement durant toute la durée de l'évènement afin de détecter les variations et les pics de concentrations. Le suivi de l'activité enzymatique permettait d'observer les tendances et donc de savoir quand les concentrations chutent afin de déterminer la fin de l'échantillonnage.

La filtration des virus nécessite un volume approximatif de 500 L, à un débit de 10 L/min, et prend près d'une heure à être réalisé. Les virus analysés sont : Noro G1 et G2, Rotavirus, Sapovirus, Astrovirus, Entérovirus, Adg, JCV et ReoV. Pour les protozoaires, un volume moyen de 50 L doit être filtré à un débit de 2L/min pour une durée de 30 minutes dans une cartouche ayant des pores de 1 µm. Les protozoaires analysés sont *Cryptosporidium* et *Giardia*. Les débits étaient vérifiés en utilisant un cylindre gradué avant de commencer les filtrations et pouvaient être ajustés durant le processus lorsqu'un changement était observé (diminution ou augmentation).

Figure 4.6 : Matériel pour l'échantillonnage des protozoaires et des virus. À gauche : Prototype pour la filtration des protozoaires. À droite: Prototype pour la filtration des virus

Après chaque collecte, les échantillons sont envoyés à des laboratoires respectifs pour leur analyse. Les protozoaires sont envoyés à Québec au CEAEQ où la quantification des kystes de *Giardia* et des oocystes de *Cryptosporidium* est réalisée par immunofluorescence selon la méthode USEPA 1623. Cette méthode est la plus utilisée pour la recherche des parasites par l'*Environmental Protection Agency* des États-Unis (INSPQ, 2003) et est décrite en détails dans la section 2.7.3. Pour les virus, les échantillons sont envoyés à Edmonton, à *University of Alberta Hospital* afin de mesurer les virus suivants en nombre de copies par litre : Noro G1 et G2, Rotavirus, Sapovirus, Astrovirus, Enterovirus, Adg, JCV et ReoV.

Cette étape permettra de comprendre davantage le devenir des pathogènes dans l'eau, surtout après des épisodes de débordement d'ouvrages de surverse, ainsi qu'observer si un lien peut être fait

entre les résultats obtenus et les concentrations d'*E. coli* (activité enzymatique et culture). D'ailleurs, étant un risque pour les usagers, le suivi des pathogènes tels que les protozoaires et les virus dans les eaux récréatives est pertinent sachant, comme discuté dans le premier chapitre, que leur corrélation avec *E. coli* ou même l'activité GLUC, qui est plus persistante, n'est pas assurée.

4.3 **Analyses**

Après avoir obtenu toutes les données du ColiMinder® pour l'activité enzymatique d'*E. coli*, les données de la ville pour la culture d'*E. coli* ainsi que les résultats des virus et des protozoaires des différents laboratoires, le tout a été traité sur le logiciel Excel. La ville a également fourni plusieurs graphiques et tableaux réalisés dans le cadre de leur rapport.

Pour commencer, les deux méthodes ont été analysées séparément afin d'avoir une description générale de leurs résultats. Pour ce faire, des fonctions de base ont été appliqué pour connaître le maximum et le minimum, les moyennes (arithmétiques et géométriques), la médiane ainsi que le pourcentage d'échantillons sous le seuil limite (cote D), et ce, en séparant les échantillons selon s'ils ont été obtenus en temps sec, en faible pluie ou en forte pluie. Séparer les échantillons selon ces 3 scénarios est important afin d'être en mesure de comparer des événements de même nature et donc être plus précis. Les résultats ont aussi été représentés par des graphiques afin d'observer les tendances des suivis temporels propres à chaque méthode.

Les données ont ensuite été comparées en créant des graphiques jumelant les deux méthodes et en calculant leur coefficient de corrélation avec l'outil graphique d'Excel. Ceci est réalisé pour toute la période de baignade pour obtenir une idée générale, mais aussi de manière séparée pour les événements de pluie ayant causé un ou des débordements d'ouvrage de surverse et une fermeture de la plage. Ceci permettra de comparer les décisions qui ont été prises (ouverture-fermeture de la plage) avec celles qui auraient pu être suggérées si les décisions étaient basées sur le ColiMinder® (méthode enzymatique).

Enfin, les résultats des protozoaires et des virus sont inclus dans les graphiques afin de comparer leurs tendances avec celles de l'activité enzymatique et de la culture d'*E. coli*. Ceci permettra en premier lieu d'observer si un lien existe entre l'indicateur de qualité de l'eau *E. coli* et les pathogènes ainsi que de savoir si la qualité de l'eau est entièrement sécuritaire (absence ou présence de pathogène) les journées d'ouverture de la plage.

CHAPITRE 5 RÉSULTATS

Ce chapitre présente les résultats qu'il a été possible de recueillir lors de la période d'échantillonnage entre juin et août 2019 à la nouvelle plage urbaine de Montréal. Il regroupe à la fois les données de l'activité enzymatique d'*E. coli* émises par le Coliminder®, les résultats des analyses de virus et de protozoaires des laboratoires respectifs ainsi que les résultats de la culture d'*E. coli* par la Ville de Montréal (Service de l'eau, Direction de l'épuration des eaux usées).

Pour commencer, les résultats de la Ville sont présentés séparément de ceux du Coliminder® afin d'avoir un portrait global de chacune de ces méthodes. Par la suite, ils sont jumelés afin de comparer la méthode enzymatique à la méthode standard de dénombrement de bactéries sur un milieu de culture. Les résultats obtenus lors des périodes de fermeture de la plage (évènements de pluie) par les différentes méthodes sont ensuite mis en évidence afin de détecter si les moments de dépassement du seuil ou du retour à la normal (sous le seuil) se rejoignent. Enfin, les résultats des virus et des protozoaires sont intégrés afin d'observer leur tendance en parallèle aux méthodes enzymatique et standard; le but étant de vérifier s'il est possible de détecter une certaine corrélation entre les agents pathogènes à l'étude et GLUC/*E. coli*.

5.1 Portrait météorologique

La Ville de Montréal a fourni l'annexe de son rapport Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019 (Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019). Ce dernier rassemble les résultats de la qualité microbiologique des eaux lors de la période de baignade en 2019, entre le 17 juin et le 6 septembre, selon les critères de la qualité des eaux de baignade au Québec (en faisant certains rappels des résultats obtenus en 2017 et 2018). En plus de présenter les données bactériologiques journalières, ce rapport fournit le sommaire des données de pluviométrie (période, durée (h), hauteur d'eau cumulée (mm), intensité (mm/h)) et des débordements (période, nombre de sites débordés, durée).

Basée sur les diverses informations qui y sont incluses, certaines observations sont à noter. D'abord, 16 évènements pluvieux ont entraîné des débordements entre le 17 juin et le 6 septembre et la majorité ont été assez importants pour causer la fermeture de la plage. Le tableau suivant présente les règles en place pour procéder à la fermeture de la plage principalement basées sur des

mesures réalisées en temps réel des conditions de pluie et d'activation des sites de débordement situés en amont de la plage et à proximité.

Tableau 5-1. Règles de fermeture de la plage (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019)

Règle	**Définition**	**Règle de fermeture**
1	Forte pluie (≥ 5 mm en 3 heures).	Fermeture pendant 12 à 24 heures à partir de la fin de la pluie.
2	Débordement de plus de 10 min. aux ouvrages Lyette, Highlands, Sénécal ou Moffat.	Plage fermée pendant 24 à 48 heures à partir de la fin du débordement.
3	Débordement des ouvrages Orchard, Richard ou Beatty.	Plage fermée pendant 24 à 48 heures à partir de la fin du débordement.
4	Débordement des ouvrages Canal de Aqueduc, Alepin, reg. Stephens, dér. Stephens ou 1re Avenue.	Plage fermée pendant 48 à 72 heures à partir de la fin du débordement.

Le tableau ci-dessous présente quant à lui les statistiques descriptives liées à la hauteur d'eau cumulée (mm), du nombre de sites débordés et la durée des débordements (min) entre le 17 juin et le 6 septembre afin d'avoir une idée globale des pluies qui ont eu lieu.

Tableau 5-2. Statistiques descriptives des débordements de toute la période à l'étude (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019)

Statistique descriptive (entièreté de la période)	**Hauteur d'eau cumulée (mm)**	**Nombre de débordement**	**Durée du débordement (min)**
Moyenne arithmétique	2.8	0.6	34
Minimum	0	0	0
Maximum	40.8	8	580

Les évènements pluvieux (16) ayant entraîné des débordements au cours de cette période sont présentés ci-dessus avec certaines de leurs caractéristiques.

Tableau 5-3 : Les évènements pluvieux ayant entraîné des débordements lors de la période à l'étude (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019)

Date	**Durée pluie (h)**	**Hauteur d'eau cumulée (mm)**	**Intensité maximum en 5 minutes (mm/h)**	**Nombre totale de débordement**	**Durée totale de débordement (min)**
2019-06-20	5:25	8	12	1	50
2019-06-25	7:00	16	21	2	195
2019-06-28	0:00	0	3	1	30
2019-06-29	2:10	8	15	2	35
2019-06-30	4:35	8	33	2	85
2019-07-05	7:20	8	30	4	100

Tableau 5-3 : Les évènements pluvieux ayant entraîné des débordements lors de la période à l'étude (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019) (suite)

2019-07-11	13:45	28	51	7	580
2019-08-05	-	0	0	1	5
2019-08-08	4:15	38	63	8	540
2019-08-09	8:00	12	54	8	285
2019-08-12	10:25	1	6	1	5
2019-08-21	5:10	9	24	1	25
2019-08-28	8:50	16	12	1	70
2019-08-30	1:10	5	12	2	55
2019-09-02	22:35	41	21	6	545
2019-09-04	7:55	14	24	4	200
Maximum	***-***	***41***	***63***	***8***	***580***
Minimum	***-***	***0***	***0***	***1***	***5***
Moyenne	***-***	***13***	***24***	***3***	***175***
Médiane	***-***	***9***	***21***	***2***	***78***

Parmi ces 16 évènements, il est possible d'identifier 8 épisodes qui ont entraîné le dépassement du critère de baignade, présentés au tableau 5-4. Les dates associées à ces épisodes sont les périodes de référence utilisées dans ce projet pour procéder à la comparaison du suivi de la qualité de l'eau basé sur la méthode standard et la méthode enzymatique.

Tableau 5-4 : Périodes de fermeture de la plage (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019)

Épisode	**Fermeture officielle**	**Ouverture officielle**	**Règles de fermeture considérées**
20 au 23 juin	20 juin ~ 12 :00	23 juin ~ 11 :00	1 et 3
25 juin au 2 juillet	25 juin ~ 11 :00	2 juillet ~ 11 :00	1 et 4 le 25 juin, 2 le 28 juin, 2 et 3 le 29 juin, 1,2 et 3 le 30 juin
5 au 7 juillet	5 juillet ~ 10 :00	7 juillet ~ 11 :00	2 et 3
11 au 14 juillet	11 juillet ~ 11 :00	14 juillet ~ 11 :00	1,2,3 et 4
8 au 12 août	8 août ~ 5 :00	12 août ~ 11 :00	1.2,3 et 4
21 au 23 août	21 août ~ 11 :00	23 août ~ 11 :00	1 et 2
28 août au 1ier septembre	28 août ~ 13 :00	1ier septembre ~ 11 :00	1 et 2 le 28 août et 1,2 et 3 le 30 août
2 au 6 septembre	2 septembre ~ 4 :00	6 septembre ~ 11 :00	1,2,3 et 4

5.2 Qualité microbiologique E. coli et GLUC pour toute la période d'échantillonnage

Basé sur les résultats de la méthode par culture fournis par la Ville, le résumé des concentrations d'*E. coli* selon les valeurs maximales des échantillons bijournaliers sont présentées dans le tableau suivant. On constate que le temps était sec pour la majorité de la période d'échantillonnage.

Tableau 5-5 : Statistiques descriptives des concentrations d'*E. coli* selon le temps (Source : Site VERDUN – Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019)

Période	**Temps**	**Nombre d'échantillon**	**Concentration *E. coli* (UFC/100 ml)**			
			Moyenne	**Médiane**	**Minimum**	**Maximum**
Temps sec		96	175	74	10	3400
Temps de pluis (3 – 10 mm)		8	284	255	18	900
Temps de pluie (≥ 10 mm)	0 – 24 h	11	1796	600	35	6500
	24 – 48 h	5	546	200	32	1400

Malgré les rares pluies, certaines valeurs de concentration d'*E. coli* étaient largement au-dessus de la limite acceptable de 200 UFC/100 ml en période sèche. Ainsi, des résultats dépassant le critère pour la baignade ont été retrouvés à des moments où la plage était ouverte au public. Ces derniers sont présentés dans le tableau suivant, en plus des valeurs GLUC disponibles associés. De plus, ces cas sont facilement repérables sur la figure 5.1 où il est possible de détecter les points d'*E. coli* au-dessus du seuil limite/hors des périodes de fermeture de la plage (encerclés en pointillés mauves). On y note principalement la valeur de 3400 UFC/100 ml, qui représente la concentration maximale en temps sec, échantillonnée le 1er août à 10h30 et celle de 530 UFC/100 ml échantillonnée le 7 juillet à 18:00.

Tableau 5-6 : Résultats des concentrations d'*E. coli* supérieures au seuil en période sèche et les valeurs de l'activité GLUC associées

Date et heure	**E. coli max bijournalier (UFC/100 ml)**	**Activité GLUC (mMFU/100 ml)**
7 juillet 18 :00	530	2.31
14 juillet 18 :00	450	1.02
16 juillet 10 :30	290	-
28 juillet 18 :00	741	1.2
1ier août 10 :30	3400	0.36
5 août 10:30	230	-
7 août 18 :00	470	-
12 août 18 :00	440	-
17 août 18 :00	260	0.9
20 août 18 :00	570	-
25 août 18 :00	220	-
26 août 10 :30	380	-
1ier septembre 18 :00	1300	-

Sachant que le seuil de qualité de l'eau pour la baignade de 200 UFC/100 ml est équivalent à 3.4 mMFU/100 ml, il est possible de noter que la méthode standard par culture et la méthode enzymatique sont fortement en désaccord pour ces 5 journées de la période d'échantillonnage. En effet, La méthode standard indique que le seuil est franchi à des moments où la méthode

enzymatique respecte son seuil. Puisque cette réalité est observable en analysant la tendance générale des *E. coli* et de GLUC en temps sec, il sera important de comparer les résultats des deux méthodes lors des épisodes qui ont causé la fermeture de la plage afin de savoir si elles sont généralement en accord ou pas sur le type de décision à prendre en temps de pluie.

Pour continuer, la figure 5.1, provenant du rapport de la Ville, résume la tendance des *E. coli* pour la saison de baignade en parallèle à l'intensité de pluie et les périodes de fermeture de plage. Il est possible de faire certaines observations :

1- Les périodes de fermeture de la plage sont directement associées aux périodes de pluie. Lorsque l'intensité de pluie augmente, des débordements d'ouvrage de surverse surviennent ce qui résulte en une période de fermeture de la plage.

2- Les périodes de fermeture de la plage ne concordent pas directement avec les périodes où les concentrations d'*E. coli* sont supérieures au seuil limite (représenté en pointillé rouge dans la figure). En effet, les concentrations étaient inférieures au seuil limite pour les périodes de fermeture qui ont eu lieu entre le 20 et le 23 juin et du 25 au 2 juillet.

3- Tel que mentionné plus tôt, il est possible de noter des périodes où les concentrations d'*E. coli* sont supérieures au seuil limite, et ce, en temps sec, à des moments où la plage est ouverte.

4- Deux évènements de pluie ont été beaucoup plus importants que les autres, soit celui qui est survenu le 11 juillet et le 8 août. En effet, on note des concentrations d'*E. coli* largement supérieures au reste de la saison.

Considérant cela, il sera important de procéder à des comparaisons entre les méthodes de suivi étudiée dans le projet principalement lors des cas suivants : périodes de fermeture de la plage quand les concentrations d'*E. coli* sont inférieures au seuil limite et l'événement de pluie marqués par des concentrations d'*E. coli* fortement élevées par rapport au reste de la période d'échantillonnage.

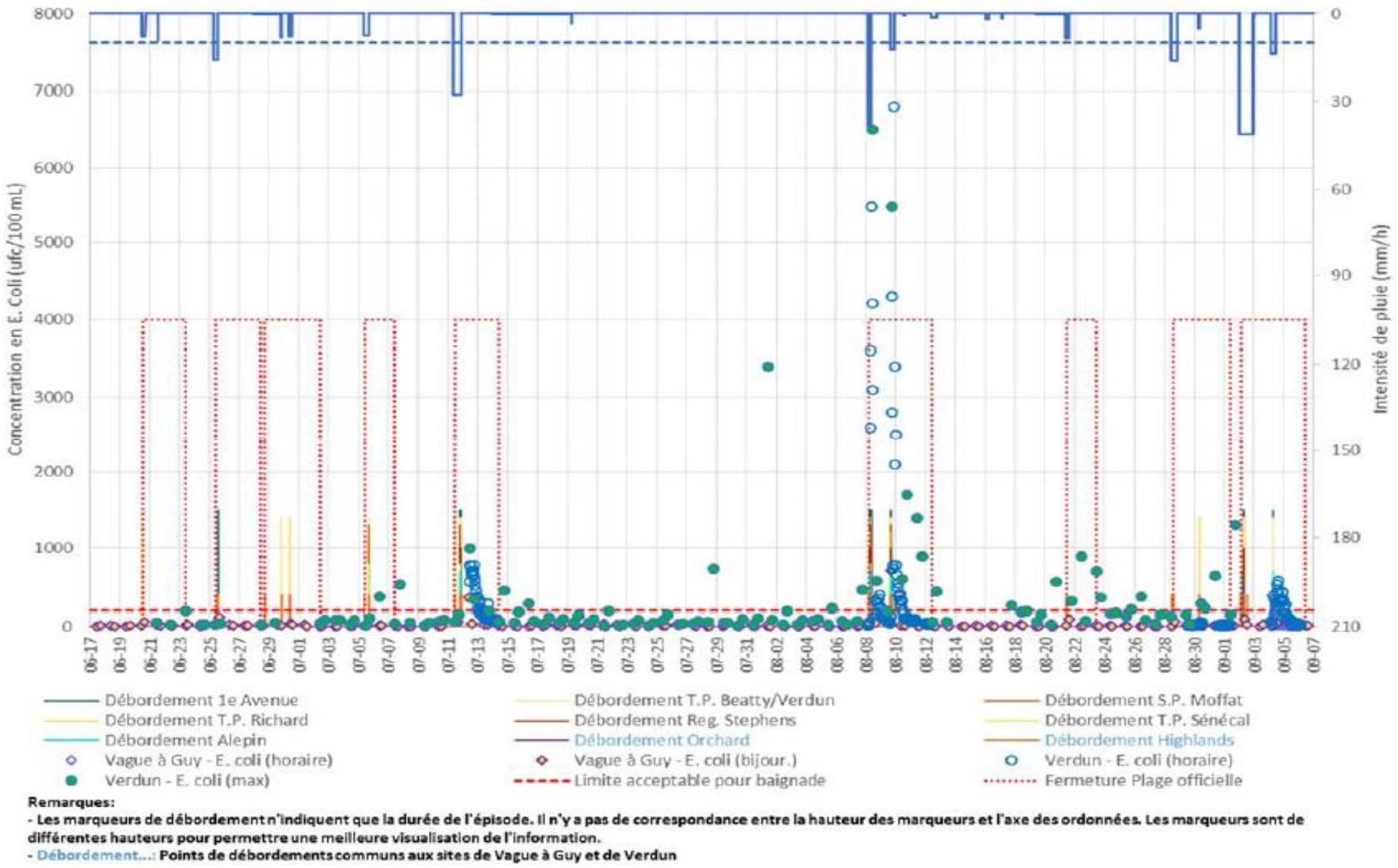

Figure 5.1 : Graphique représentant l'évolution temporelle de la qualité microbiologique de l'eau, débordement d'eaux usées et hauteur de pluie entre le 17 juin et le 6 septembre 2019 (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019).

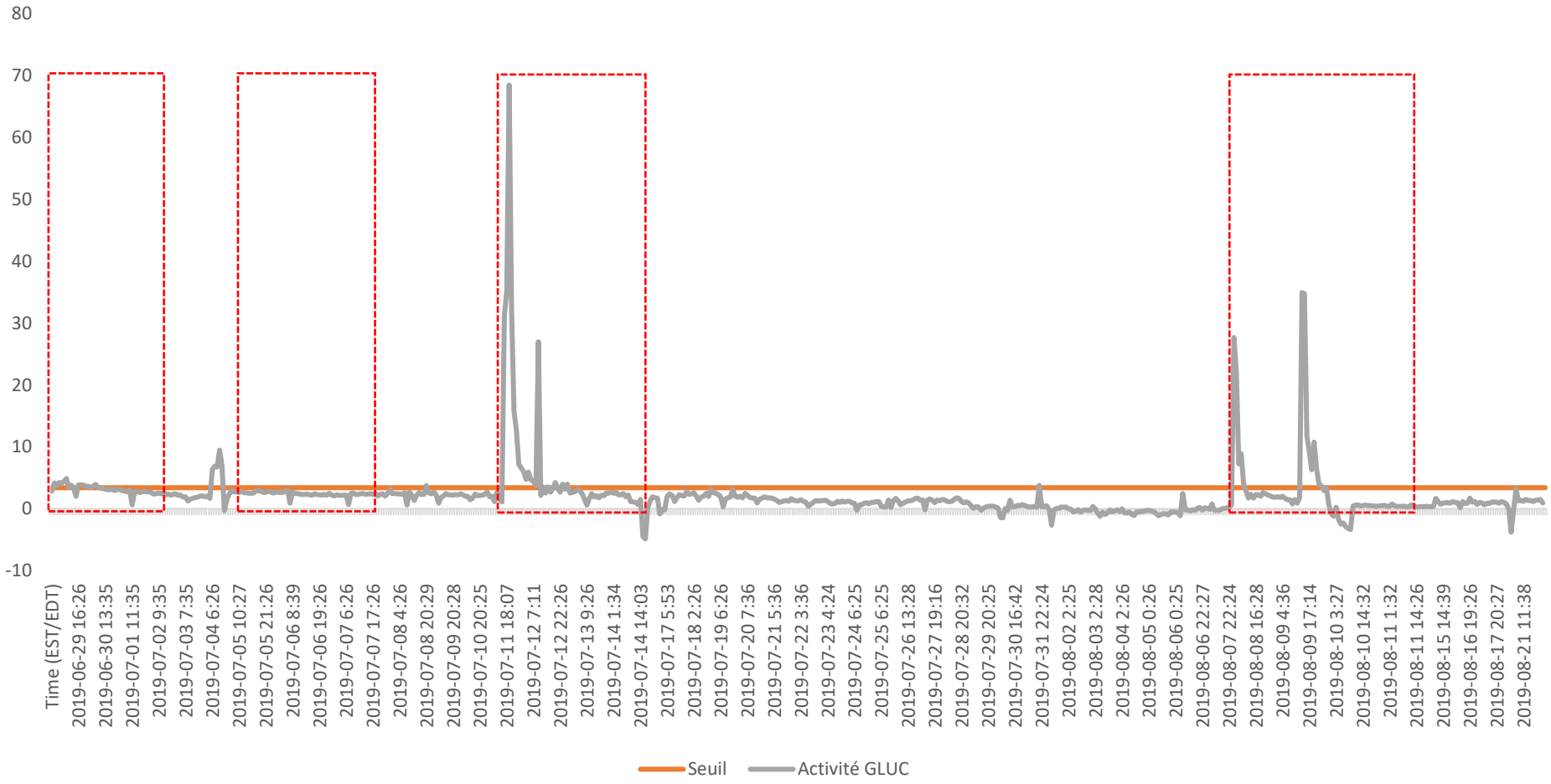

Figure 5.2 : Variation de l'activité GLUC détectée par le Colimínder pour toute la période d'échantillonnage (29 juin au 21 août)

La figure 5.2 illustre quant à elle la tendance générale de l'activité enzymatique pour toute la période d'échantillonnage en plus des périodes de fermeture de la plage (représentées en pointillés rouges). L'activité enzymatique a été échantillonnée pour une période plus courte que *E. coli*, soit entre le 29 juin et le 21 août. Il est possible de faire deux observations :

1. Même lorsque l'activité GLUC dépasse son seuil limite, cette dernière retourne à un niveau acceptable beaucoup plus tôt que le moment d'ouverture de la plage, et ce, pour toutes les périodes de fermeture de la plage.
2. L'activité GLUC dépasse clairement son seuil limite une seule fois en temps sec, lors d'une période où la plage est ouverte, et ce, entre le 4 et le 5 juillet.

Considérant cela, il est important de vérifier : les tendances des virus et des protozoaires lors des périodes de fermeture de la plage lorsque l'activité enzymatique retourne sous le seuil limite et le temps nécessaire après le dépassement du seuil pour les concentrations d'*E. coli* de redevenir acceptable en parallèle à l'activité GLUC. Étant donné que la période d'échantillonnage par le Colimínder® a été plus courte, la période de référence pour procéder à la comparaison des méthodes est entre le 29 juin et le 21 août dans laquelle s'est déroulée 4 des épisodes présentés dans le tableau 5-4.

5.3 Comparaison de la méthode standard et enzymatique

5.3.1 Épisodes de fermeture de la plage

Sachant que les périodes d'échantillonnage n'ont pas été les mêmes pour le suivi de la qualité de l'eau par la méthode standard (17 juin au 6 septembre 2019) et la méthode enzymatique (28 juin au 22 août 2019), il est possible de retrouver 4 épisodes de fermeture de la plage communes. Ces dernières sont celles du 25 juin au 2 juillet, 5 au 7 juillet. 11 au 14 juillet et 8 au 12 août. Le matériel disponible pour procéder à l'étude de ces différents épisodes sont les données du Colimínder®, les valeurs d'*E. coli* bijournalières prises par la Ville ainsi que les valeurs prises à haute fréquence par la Ville grâce au ISCO lors des évènements de pluie. Étant donné que plusieurs données n'ont pas été fournies concernant les valeurs d'*E. coli*, certaines figures du rapport de la Ville de Montréal ont été directement intégrées afin de combler l'information manquante.

5.3.1.1 Épisode du 25 juin au 2 juillet

La première période à l'étude de fermeture officielle de la plage se déroule entre le 25 juin à 11 :00 et le 2 juillet à 11 :00. Durant cette dernière, toutes les règles de fermeture ont été considérées, et ce, à des moments différents. Pour cette période, peu de données sur les valeurs d'*E. coli* ont été disponibles. En effet, pour les mesures bijournalières, uniquement 3 moments ont pu être recensés soit le 29 juin à 10 :26 et le 2 juillet à 9 :35 et 17 :35. Puisque l'échantillonnage bijournalier consiste à prendre deux échantillons (0.3 m et 1.2 m de profondeur) pour chaque mesure, les valeurs d'*E. coli* indiquées dans la figure 5.3 représentent les moyennes de résultats obtenus. Enfin, aucune valeur n'a été prise avec l'ISCO à ce moment-là. Afin de remédier au manque d'information sur les résultats d'*E. coli* pour cette période, la figure 5.4 a été intégrée dans le but de comprendre la tendance complète de ces valeurs pour l'entièreté de la période de fermeture de la plage. Pour l'activité GLUC, les données disponibles débutent uniquement le 28 juin ce qui explique l'absence de la période entre le 25 et le 27 juin.

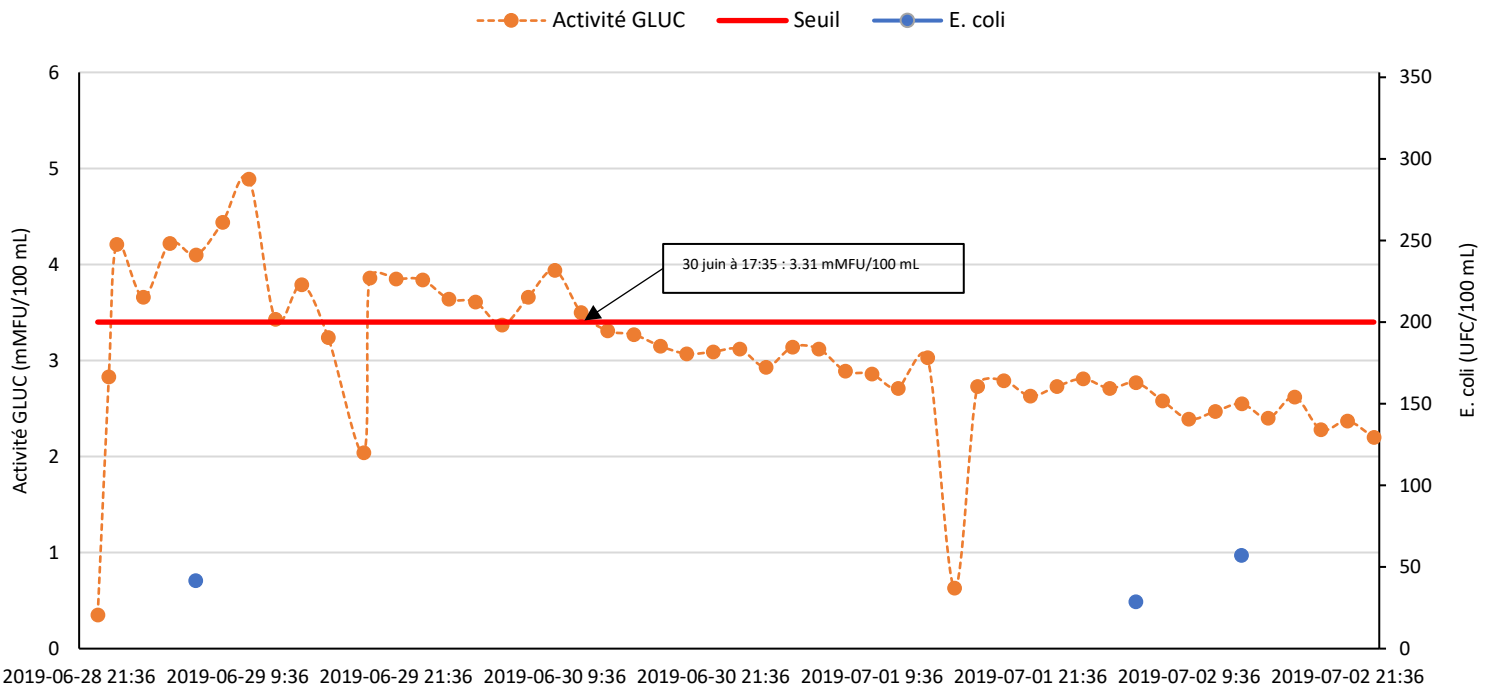

Figure 5.3 : Activité GLUC et E. coli lors de la période de fermeture de la plage allant du 28 juin au 2 juillet

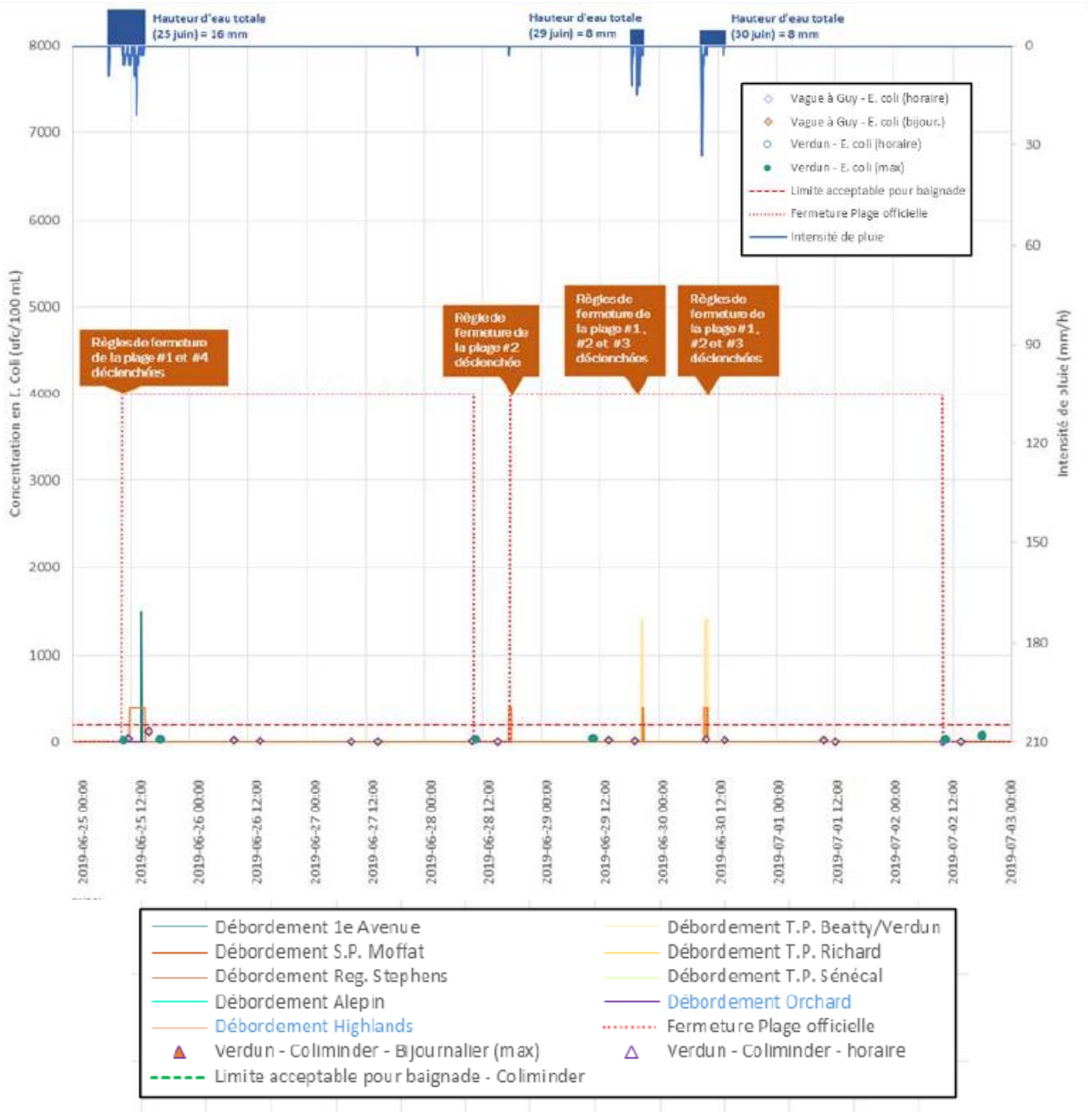

Figure 5.4 : Figure représentant l'épisode de fermeture de la plage entre le 25 juin et le 2 juillet (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019).

Il est d'abord possible de constater que pour toute la période de fermeture de la plage, les valeurs d'*E. coli* se trouvent sous le seuil acceptable pour les activités récréatives (200 UFC/100 ml). En effet, la figure 5.4 démontre que tous les résultats d'*E. coli* de cette période, que ce soient les échantillons horaires, bijournaliers ou les maximums, respectent les conditions nécessaires pour garder la plage ouverte. Toutefois, la figure 5.3 indique que l'activité enzymatique dépasse bel et bien le seuil limite de 3.4 mMFU/100 ml le 29 juin et ne retourne pas sous le seuil avant le 30 juin

à 13 :35 avec une première valeur acceptable de 3.31 mMFU/100 ml. Ces observations indiquent un désaccord entre la méthode enzymatique et standard, du moins entre le 29 et le 30 juin.

5.3.1.2 Épisode du 5 au 7 juillet

La seconde période à l'étude de fermeture de la plage est celle entre le 5 juillet à 10 :00 et le 7 juillet à 11 :00. Les règles de fermeture 2 et 3 ont été considérées lors de cette période. Les résultats d'*E. coli* disponibles sont ceux des échantillons bijournaliers qui datent du 5 juillet à 10 :30 et 18 :00, le 6 juillet à 10 :30 et le 7 juillet à 10 :30. Puisque l'échantillonnage bijournalier consiste à prendre deux échantillons (0.3 m et 1.2 m de profondeur) pour chaque mesure, les valeurs d'*E. coli* indiquées dans la figure 5.5 représentent les moyennes de résultats obtenus. Enfin, aucune valeur n'a été prise avec l'ISCO à ce moment-là. Afin de remédier au manque d'information sur les résultats d'*E. coli* pour cette période, la figure 5.6 a été intégrée dans le but de comprendre la tendance complète de ces valeurs pour l'entièreté de la période de fermeture de la plage. Pour l'activité GLUC, les données du Coliminder® sont disponibles pour tout l'épisode.

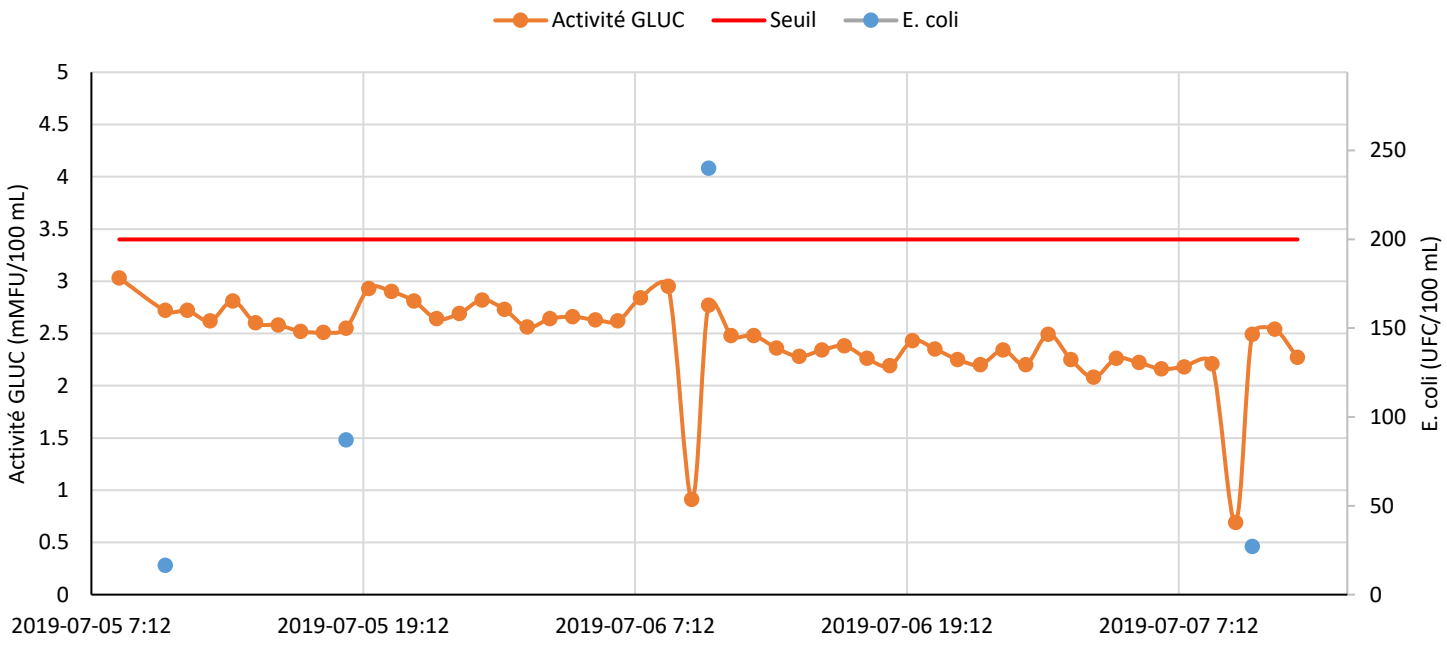

Figure 5.5 : Activité GLUC et E. coli lors de la période de fermeture de la plage allant du 5 au 7 juillet

La figure 5.5 indique que pour la totalité de la période de fermeture de la plage, l'activité GLUC se trouvait sous son seuil limite de 3.4 mMFU/100 ml. Le cas semble être similaire pour les valeurs d'*E. coli*, mais une seule valeur dépasse le seuil de 200 UFC/100 ml, soit celle du 6 juillet. Cette dernière est à la fois observable sur les figures 5.5 et 5.6.

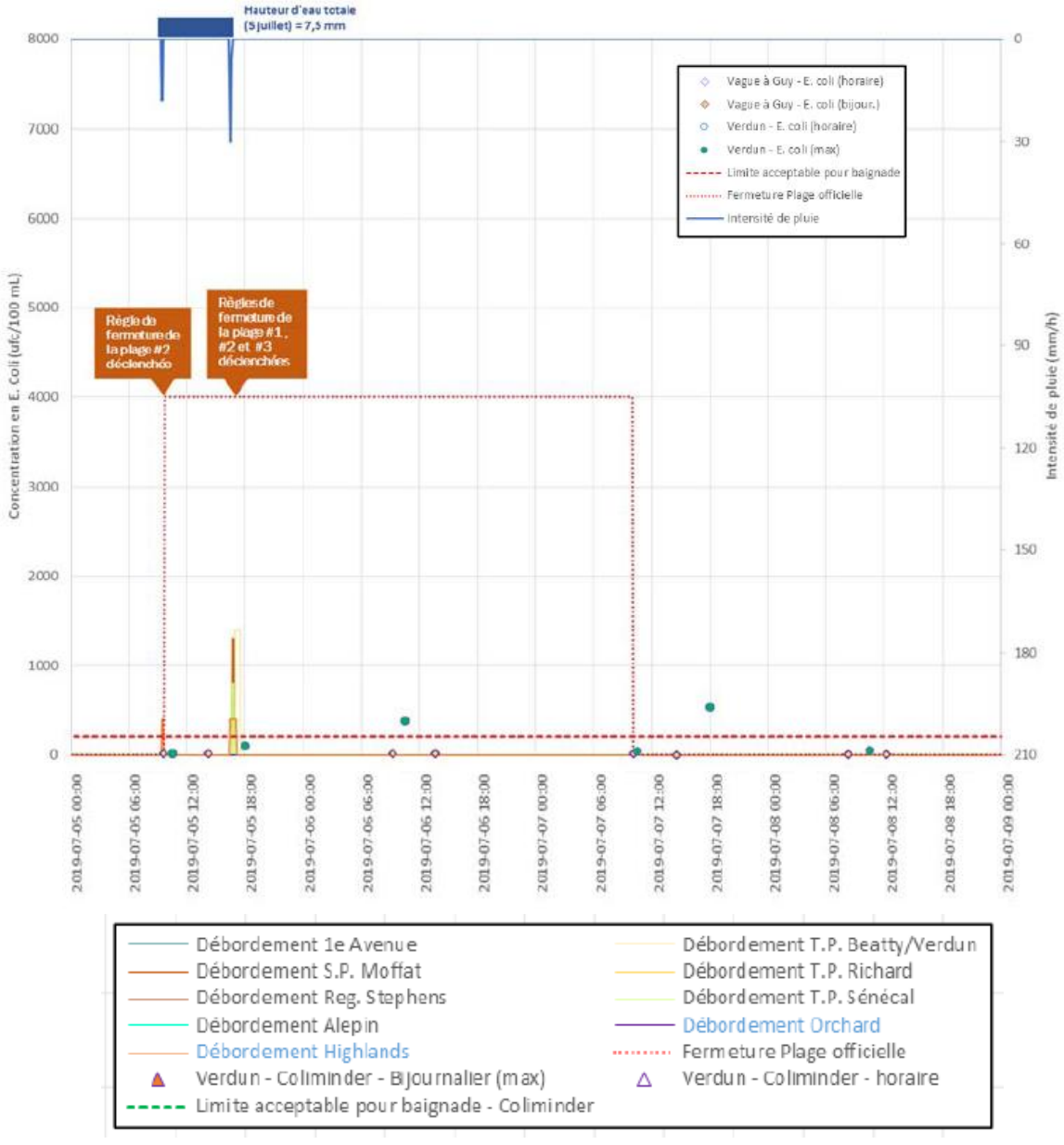

Figure 5.6 : Figure représentant l'épisode de fermeture de la plage entre le 5 et le 7 juillet (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019).

5.3.1.3 Épisode du 11 au 14 juillet

La troisième période à l'étude de la fermeture de la plage est celle entre le 11 juillet à 11 :00 et le 14 juillet à 11 :00. Toutes les règles de fermeture ont été considérées pour cet évènement. Les résultats d'*E. coli* disponibles sont d'abord ceux des échantillons bijournaliers qui datent du 11 juillet à 10 :30 et à 18 :00, le 12 juillet à 10 :30, le 13 juillet à 18 :00 et le 14 juillet à 10 :30 et 18 :00. Puisque l'échantillonnage bijournalier consiste à prendre deux échantillons (0.3 m et 1.2 m de profondeur) pour chaque mesure, les valeurs d'*E. coli* considérées représentent les moyennes de résultats obtenus. Ensuite, il a été possible d'avoir les résultats d'*E. coli* à haute-fréquence échantillonnées par la technologie ISCO, et ce, entre le 12 juillet à 11 :00 et le 14 juillet à 10 :00. Afin d'avoir une image globale de la variation d'*E. coli* pour la période, les résultats de la Ville sont aussi présentés. Pour l'activité GLUC, les données du Coliminder® sont disponibles pour tout l'épisode.

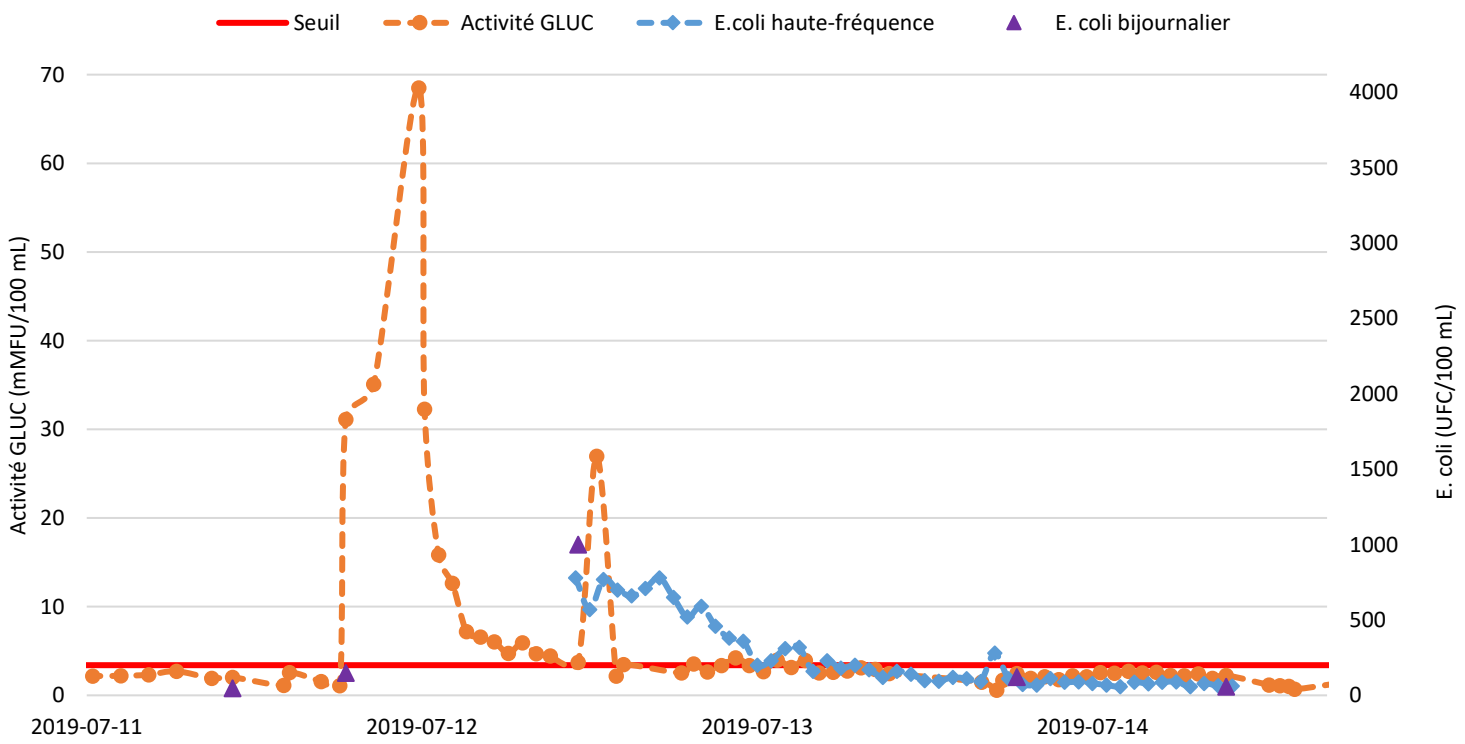

Figure 5.7 : Variation de l'activité GLUC, d'E. coli bijournalier et d'E. coli à haute fréquence pour l'épisode du 11 au 14 juillet

La figure 5.7 représente à la fois la variation de l'activité GLUC ainsi que celle des échantillons d'*E. coli* bijournaliers et à haute-fréquence. L'activité GLUC connaît lors de cet épisode deux pics. D'abord, le seuil de 3.4 mMFU/100 ml est excédé le 11 juillet après la mesure prise à 18 :07 de

1.11 mMFU/100 ml; soit la mesure de 18 :32 où la valeur se trouve alors à 31.12. Le pic est atteint la même journée, à 23 :45, avec une valeur de 68.51. À partir de ce point, l'activité GLUC chute rapidement pour atteindre 3.72 le 12 juillet à 11 :10, mais cette dernière croît de nouveau jusqu'à arriver à son deuxième pic de 26.98 le 12 juillet à 12 :31. Une première valeur sous le seuil est notée le 12 juillet à 13 :45 (2.16 mMFU/100 ml), mais l'activité enzymatique n'est pas officiellement complètement sous le seuil avant le 13 juillet à 4 :26 : quand la qualité de l'eau devient acceptable jusqu'à la fin de l'épisode. Dans le cas des résultats d'*E. coli*, il est tout d'abord possible de voir que les valeurs disponibles au moment du premier pic de l'activité GLUC sont absentes, et ce, à la fois dans les figures 5.7 et 5.8. Il est cependant possible de constater que les valeurs d'*E. coli* bijournalières du 11 et 12 juillet indiquent bel et bien une augmentation des concentrations dans le temps; il est donc probable que les valeurs qui auraient suivi allaient aussi former un pic.

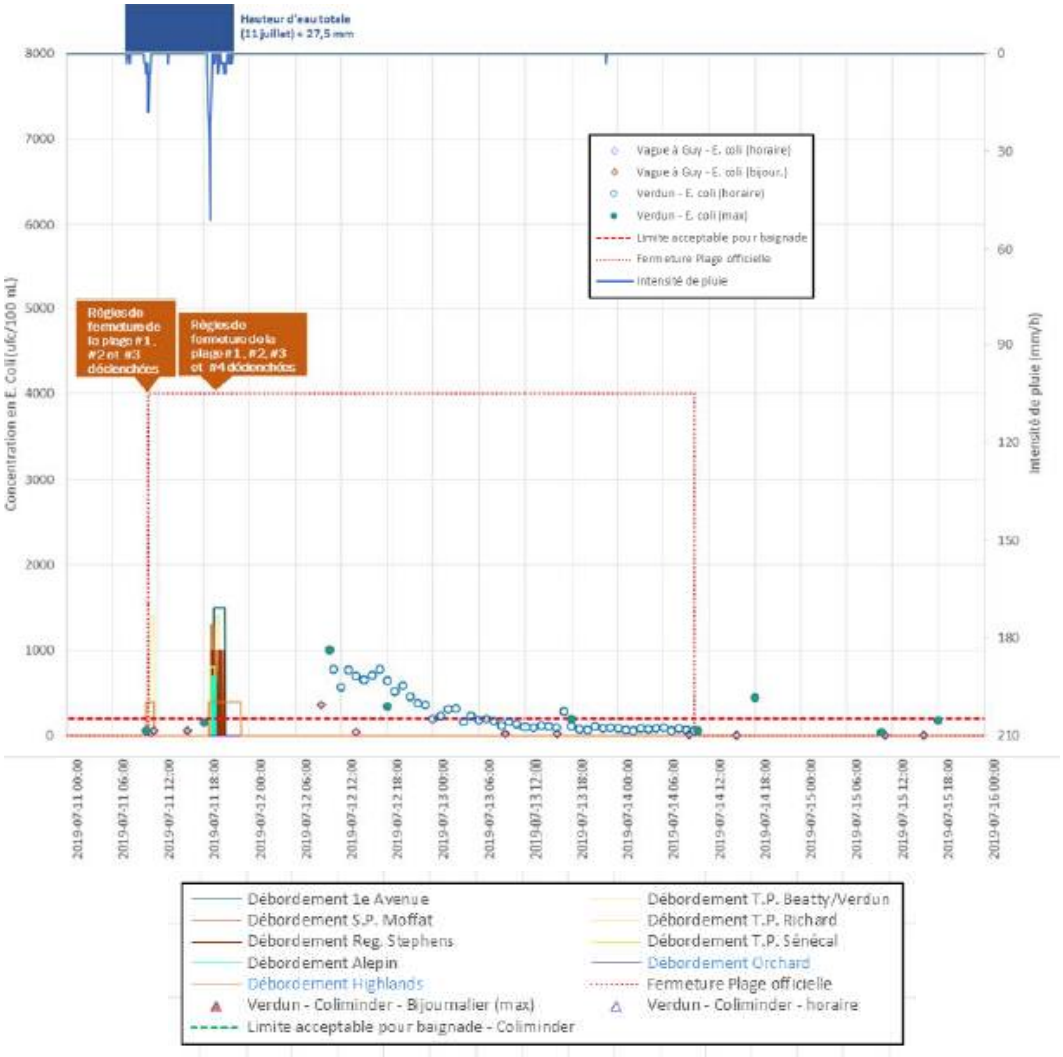

Figure 5.8 : Figure représentant l'épisode de fermeture de la plage entre le 11 et le 14 juillet (Source : Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées, 2019).

Le deuxième pic, bien qu'il soit moins important en termes de contamination, est toutefois très pertinent pour procéder à une comparaison des deux méthodes puisqu'il a été échantillonné grâce au ISCO. Ainsi, les résultats obtenus à haute-fréquence permettent de faire certaines observations.

D'abord, il est possible de constater un semblable de pic de concentration en accord avec celui de l'activité GLUC pour le 12 juillet. Cependant, après leurs valeurs maximales, les concentrations d'*E. coli* diminuent graduellement avant d'atteindre le seuil, alors que l'activité GLUC chute drastiquement. En effet, la première concentration d'*E. coli*, soit 780 UFC/100 ml, réussit à chuter à 160 UFC/100 ml en 17 heures, soit le 13 juillet à 4 :00. Cependant, les concentrations deviennent définitivement sous le seuil de 200 UFC/100 ml 4 heures plus tard, soit le 13 juillet à 8 :00. Pour l'activité GLUC, le pic de 26.98 mMFU/100 ml chute à 2.16 en seulement 1 heure. Toutefois, il n'est pas possible de procéder à l'ouverture de la plage après uniquement 1 heure de dépassement du seuil, même si la valeur est inférieure à 3.4 mMFU/100 ml. En effet, malgré la valeur obtenue sous le seuil après 1 heure d'échantillonnage, l'activité enzymatique continue légèrement à dépasser le seuil jusqu'à redevenir définitivement acceptable le 13 juillet à 16 :30.

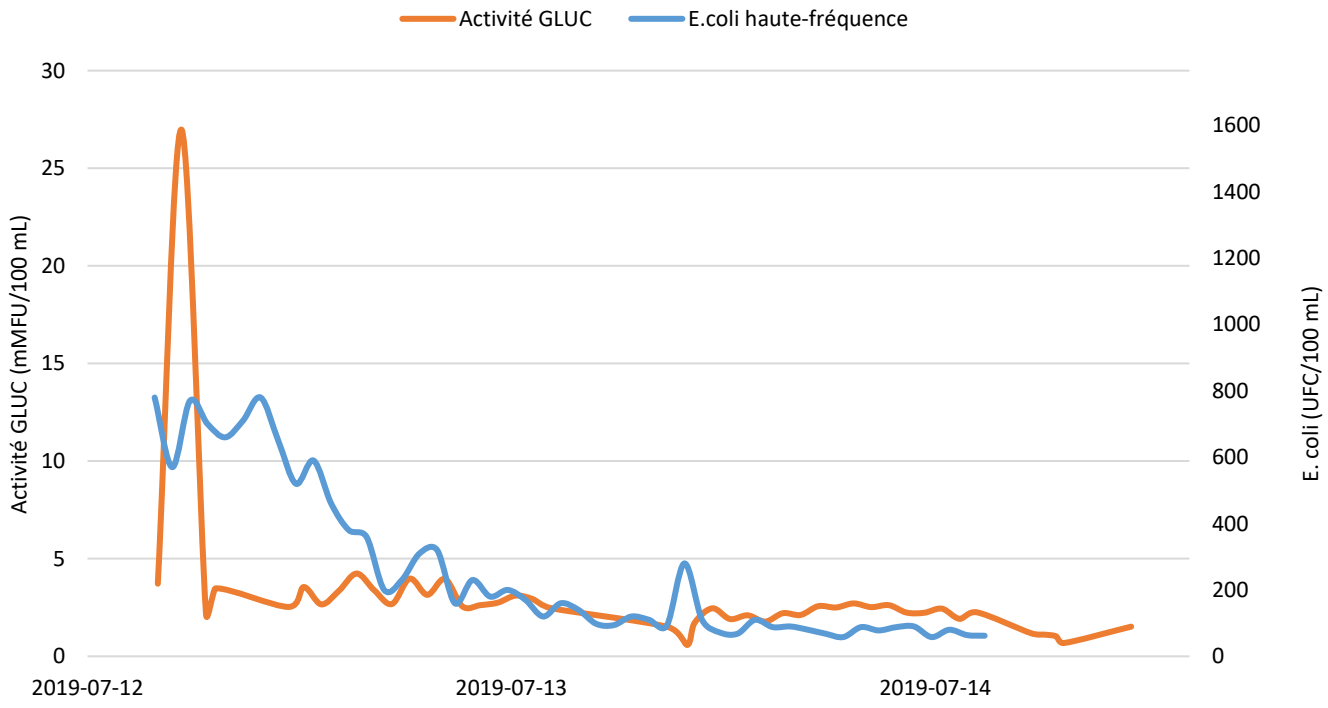

Figure 5.9 : Variation de l'activité GLUC et d'E. coli entre le 12 et le 14 juillet

5.3.1.4 Épisode du 8 au 12 août

La troisième période à l'étude de la fermeture de la plage est celle entre le 8 août à 5 :00 et le 12 août à 11 :00. Toutes les règles de fermeture ont été considérées pour cet évènement. Les résultats d'*E. coli* utilisées sont les données à haute-fréquence échantillonnées par la technologie ISCO, et ce, pour la quasi-totalité de la période de fermeture, soit entre le 8 août à 3 :00 et le 11 août à 9 :00. Ce faisant, puisque l'échantillonnage à haute-fréquence offre des résultats à un taux horaire, les résultats d'*E. coli* bijournaliers et la figure associée à cet épisode dans le rapport de la Ville ne sont pas pertinents à présenter dans ce cas. Pour l'activité GLUC, les données du Colimínder® sont disponibles pour tout l'épisode. L'échantillonnage du Colimínder® a été réalisé à chaque 2 heures sauf entre le 8 août à 11 :42 et le 11 août à 12 :59, où les mesures sont prises à un taux horaire.

La figure 5.10 représente la variation de l'activité GLUC et d'*E. coli* pour la totalité de la période de fermeture de la plage. Il est directement possible de noter qu'il y a principalement deux pics, le 8 et le 10 août. Les tendances générales des deux méthodes de suivi sont très correspondantes, mais avec des distinctions qu'il est essentiel de noter afin de procéder à une comparaison précise des décisions qui leur auraient été associées. Pour ce faire, les moments exacts de dépassement et de retour sous le seuil sont identifiés sur la figure 5.10 pour chacune des méthodes.

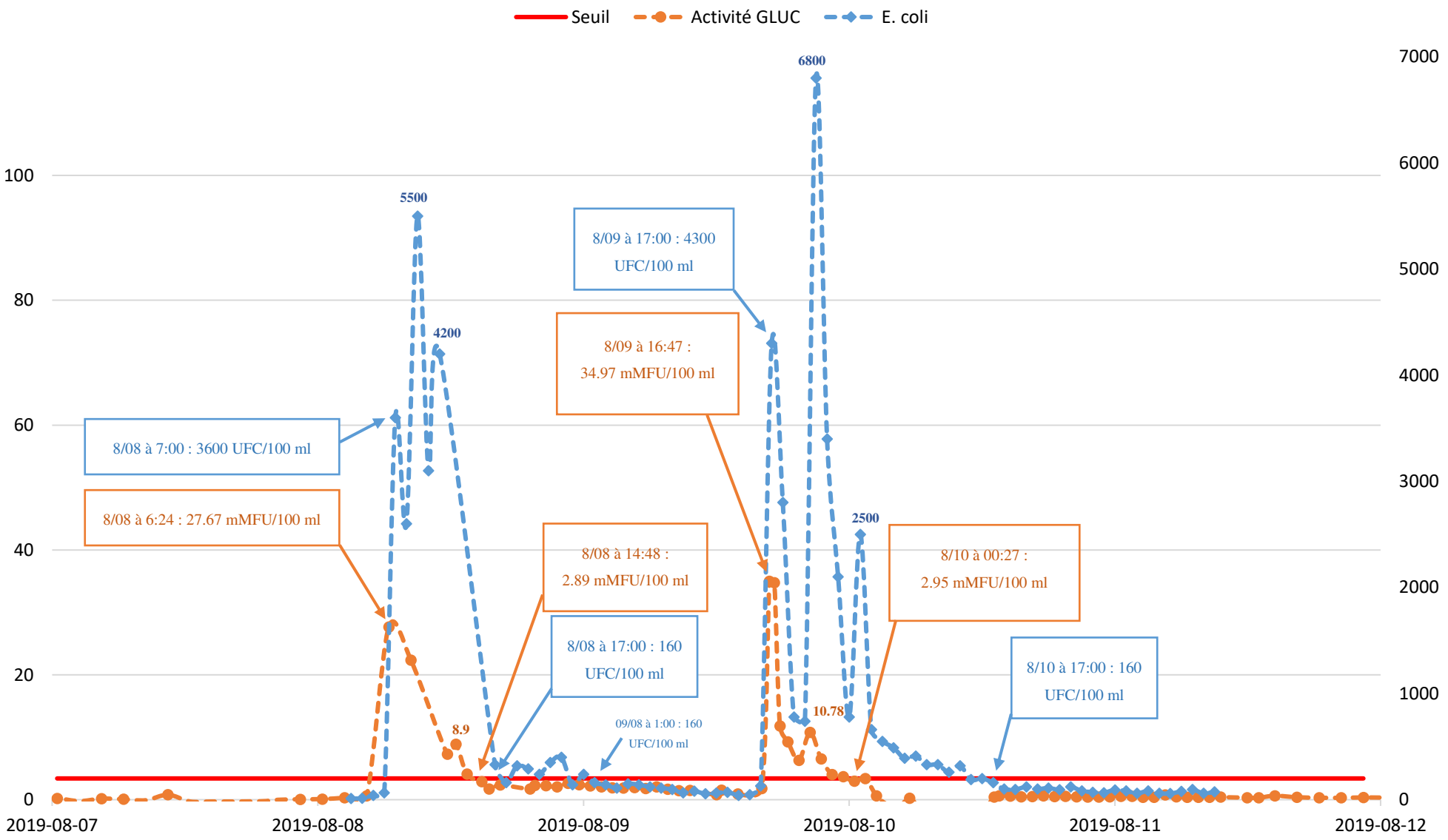

Figure 5.10 : Variation de l'activité GLUC et d'*E. coli* échantillonnée à haute fréquence pour l'épisode du 8 au 12 août

La figure 5.10 permet de faire plusieurs observations, énumérées ci-dessous :

- Le dépassement du seuil est d'abord observable par l'activité GLUC le 8 août à 6 :24, soit 1h24 après la fermeture de la plage. La première concentration d'*E. coli* mesurée à franchir le seuil est à 7 :00, soit seulement 36 minutes après la mesure du Colimínder® et environ 2 heures après la fermeture de la plage.
- Le dépassement du seuil ne se produit pas graduellement, mais rapidement, et ce, à la fois pour l'activité GLUC et *E. coli*. En effet, pour l'activité GLUC, il y a un intervalle de 2 heures entre la dernière mesure sous le seuil (0.61) et le premier pic de 27.67 mMFU/100 ml. Dans le cas du deuxième pic, il y a un intervalle de 42 minutes entre la dernière mesure sous le seuil (1.8) et la mesure de 34.97 mMFU/100 ml. Pour *E. coli*, 1 seule heure est écoulée entre la dernière valeur sous le seuil (64) et la mesure de 3600 UFC/100 ml. La même observation est notée pour le deuxième pic, soit 1 heure entre la valeur de 130 et 4300 UFC/100 ml. Ainsi, le dépassement du seuil se produit entre une mesure et une autre d'une manière drastique.
- Après avoir dépassé le seuil pour la première fois à 6 :24, l'activité GLUC connaît principalement une décroissance en continu jusqu'à atteindre des valeurs acceptables la même journée. Dans le cas d'*E. coli*, après avoir dépassé le seuil pour la première fois à 7 :00, ses concentrations subissent de fortes variations. Plus précisément, *E. coli* connaît 3 pics de concentrations avant de retourner sous le seuil, et ce, à la fois le 8 et le 9 août. Le 8 août, les concentrations passent de 64 à 3600 UFC/100 ml, mais ensuite de 2600 à 5500 et de 3100 à 4200. Il est toutefois possible de noter que l'activité GLUC a aussi eu un deuxième léger pic qui concorde avec le troisième pic d'*E. coli*. En effet, à 11 :30 environ, alors que les concentrations d'*E. coli* varient de 3100 à 4200 UFC/100 ml, l'activité GLUC passe de 7.29 à 8.9 mMFU/100ml. Le même scénario se produit en date du 9 août : *E. coli* subit 3 pics dont un d'entre eux concordent avec un léger deuxième pic de l'activité GLUC.
- Les valeurs maximales d'*E. coli* et de l'activité GLUC ne sont pas alignées. En fait, malgré le fait que le seuil est franchi pour les deux méthodes de suivi à des moments très rapprochés, les premiers résultats de l'activité GLUC après le dépassement du seuil le 8 et le 9 août représentent ses valeurs maximales, soit 27.67 et 34.97 mMFU/100 ml. Les plus hauts pics de concentration d'*E. coli* surviennent quant à eux au deuxième parmi les 3

observables le 8 et le 9 août. Ainsi, il y a un décalage de 2h36 entre la valeur maximale d'*E. coli* et de l'activité GLUC le 8 août et de 4h13 le 9 août.

- Le retour sous le seuil se produit d'une manière plus graduelle pour E. coli que l'activité GLUC. Dans le cas du premier pic, 8 heures s'écoulent entre la valeur de 27.67 et 2.89 mMFU/100 ml pour l'activité GLUC et 10 heures entre la valeur de 3600 et 160 UFC/100 ml pour *E. coli*. Toutefois, pour les concentrations d'*E. coli*, ce n'est que 18 heures plus tard qu'elles sont définitivement sous le seuil. Dans le cas du deuxième pic, 8 heures s'écoulent entre la valeur de 34.97 et 2.95 mMFU/100 ml pour l'activité GLUC et 24 heures entre la valeur de 4300 et 160 UFC/100 ml pour *E. coli*.
- Après les premiers pics du 8 août, il y a une période où les concentrations d'*E. coli* et les valeurs de l'activité GLUC sont acceptables pour la baignade. Pour l'activité GLUC, il s'agit de la période entre le 8 août à 17 :00 et le 9 août à 16 :47 qui représente environ 24 heures. Pour *E. coli*, il s'agit de la période entre le 9 août à 1 :00 et le 9 août à 17 :00 qui représente 16 heures.
- Après les deuxièmes pics du 9 août, il y a également une période où les concentrations d'*E. coli* et les valeurs de l'activité GLUC sont acceptables pour la baignade avant l'ouverture officielle de la plage qui est le 12 août à 11 :00. En effet, l'activité GLUC devient acceptable à partir du 10 août à 00 :27, soit près de 2 jours et demi avant l'ouverture. Pour *E. coli*, les concentrations deviennent sous le seuil limite le 10 à 17 :00, près de 1 jour et 18 heures avant l'ouverture. Il est possible de noter un décalage de 14h27 entre les deux méthodes de suivi.

5.4 **Protozoaires et virus**

Les filtrations de virus et de protozoaires ont eu lieu de manière hebdomadaire pour toute la saison de baignade. Lors d'un événement de pluie menant à la fermeture de la plage, la fréquence d'échantillonnage devient plus importante; soit le plus de filtration possible du moment que l'activité GLUC dépasse le seuil jusqu'à ce qu'elle redevienne acceptable. Les objectifs principaux de ce suivi sont de comprendre le devenir des pathogènes dans l'eau et surtout d'observer les tendances entre l'activité enzymatique et les pathogènes. Autrement dit, il est question de savoir si

une ouverture précoce de la plage, qui pourrait être suggérée en se basant sur les résultats du Colimínder®, est sécuritaire pour les usagers du point de vue des pathogènes.

Pour commencer, il a été possible de collecter 17 échantillons de protozoaires pour l'analyse de *Giardia* et *Cryptosporidium* entre le 3 juillet et le 27 août. En moyenne, 49.1 L ont été filtrés par échantillonnage durant une période de 52 minutes. Le tout est présenté dans le tableau suivant avec les périodes d'échantillonnage à haute-fréquence identifiées en bleu.

Tableau 5-7. Échantillonnage des protozoaires

Date de prélèvement	Temps de filtration (min)	Volume (L)	Date d'analyse
2019-07-03 12:00	N/A	19	2019-07-04
2019-07-08 11:54	60	47	2019-07-10
2019-07-11 15:54	51	50	2019-07-15
2019-07-12 10:30	65	52	2019-07-15
2019-07-13 15:30	40	50	2019-07-15
2019-07-14 12:40	50	60	2019-07-15
2019-07-16 14:20	68	51	2019-07-18
2019-07-30 15:34	51	50	2019-08-02
2019-08-06 11:27	53	53	2019-08-08
2019-08-08 11:23	44	59	2019-08-13
2019-08-09 11:15	47	52	2019-08-13
2019-08-09 16:15	N/A	50	2019-08-13
2019-08-10 11:15	38	50	2019-08-13

Tableau 5-7 : Échantillonnage des protozoaires (suite)

2019-08-11 11:38	42	50	2019-08-15
2019-08-12 11:30	40	50	2019-08-15
2019-08-20 10:36	N/A	42	2019-08-23
2019-08-27 11:30	87	50	2019-08-30

Les deux périodes d'échantillonnage à haute-fréquence sont du 11 au 16 juillet et du 8 au 12 août et représentent les périodes de fermeture de la plage du 11 au 14 juillet et du 8 au 12 août. La figure 5.11 présente les résultats d'analyse des protozoaires en parallèle à l'activité GLUC pour toute la période d'échantillonnage. Il est d'abord possible de constater une proche relation entre l'activité enzymatique et les concentrations de protozoaires. En effet, les valeurs les plus importantes correspondent aux pics de l'activité GLUC. Toutefois, des protozoaires sont détectés, *Giardia* principalement, à des moments où les données du Colimínder® sont sous le seuil limite. Il est ainsi important d'identifier ces périodes afin de savoir à quel moment il est suggéré de procéder à la réouverture de la plage considérant la variable protozoaire. Pour ce faire, le tableau 5-8 présente tous les résultats d'analyse obtenues en parallèle aux valeurs de l'activité GLUC au même moment. De plus, les résultats sont présentés en respectant un certain code de couleur ; les données en rouge sont celles obtenues lorsque le seuil de l'activité GLUC est dépassé et les résultats de protozoaire en mauve représentent les valeurs qui peuvent être infectieuses alors que l'activité GLUC se trouve sous le seuil. Les valeurs considérées pour établir les valeurs en mauve sont de 10 kystes pour *Giardia* et 30 oocystes pour *Cryptosporidium* (voir section 2).

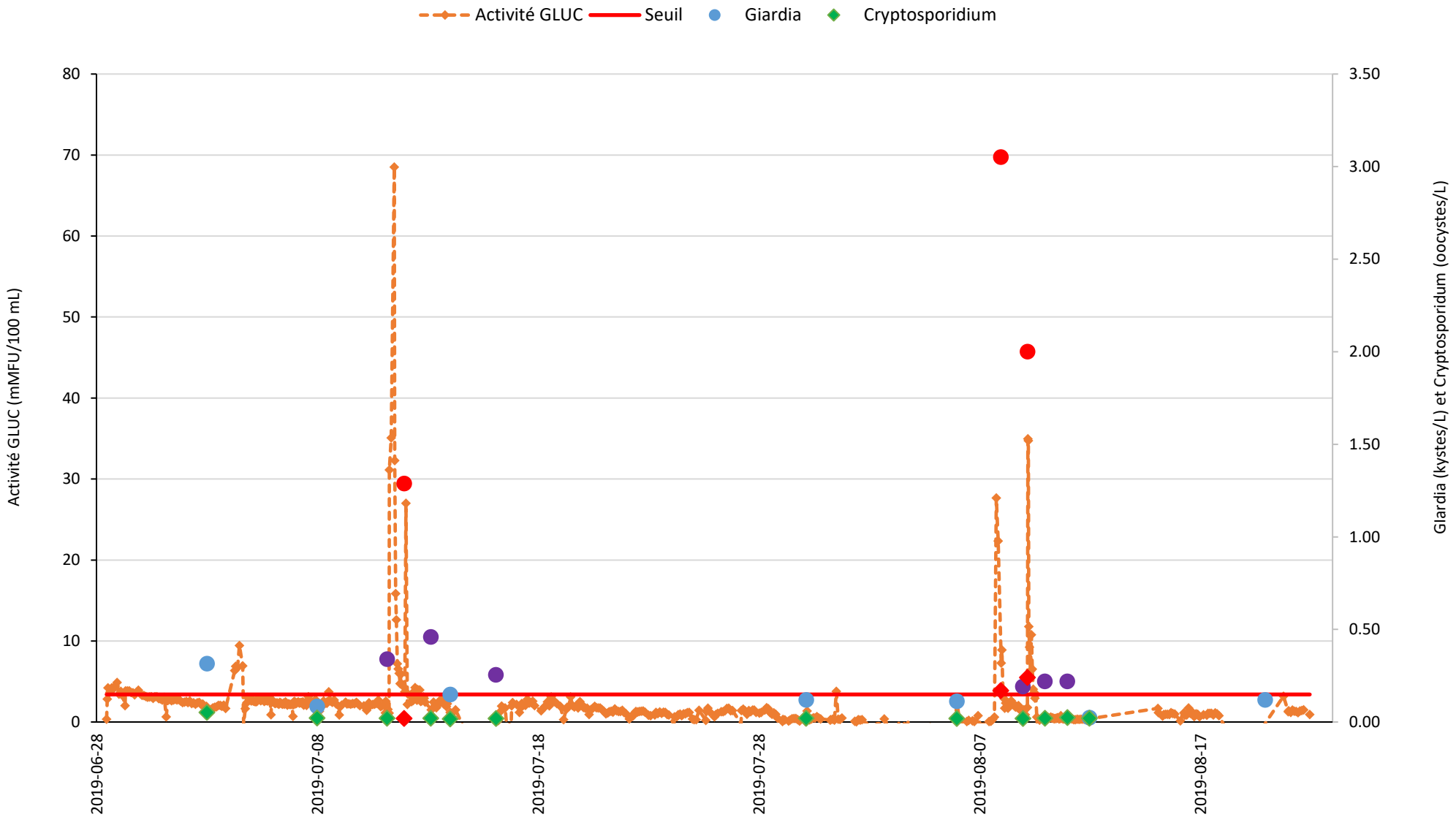

Figure 5.11 : Variation des concentrations de *Cryptosporidium* et de *Giardia* et de l'activité GLUC pour toute la période d'échantillonnage.

Tableau 5-8 : Résultats de l'activité GLUC et des concentrations de *Giardia* et *Cryptosporidium*

Date de prélèvement	**Activité GLUC (mMFU/100 ml)**	***Giardia* (kystes)**	***Cryptosporidium* (oocystes)**
2019-07-03 12:00	1.94	6	<1
2019-07-08 11:54	2.2	4	<1
2019-07-11 15:54	1.58	**17**	<1
2019-07-12 10:30	**3.72**	**67**	**<1**
2019-07-13 15:30	1.5	**23**	<1
2019-07-14 12:40	1.18	9	<1
2019-07-16 14:20	*-4.87*	**13**	<1
2019-07-30 15:34	0.04	6	<1
2019-08-06 11:27	2.44	6	<1
2019-08-08 11:23	**7.29**	**180**	**10**
2019-08-09 11:15	0.79	**10**	<1
2019-08-09 16:15	**34.97**	**100**	**12**
2019-08-10 11:15	*-3.34*	**11**	1
2019-08-11 11:38	0.31	N/A	N/A
2019-08-12 11:30	0.37	**11**	N/A
2019-08-20 10:36	*-0.29*	1	<1
2019-08-27 11:30	1.94	6	<1

Les résultats mettant en parallèle l'activité enzymatique, *Giardia* et *Cryptosporidium* permettent de faire les observations suivantes :

- Une importante concordance existe entre les protozoaires et l'activité GLUC. En effet, les valeurs maximales de *Giardia* concordent avec les pics de valeurs de l'activité GLUC, lors d'évènements de pluie et de fermeture de la plage. De plus, malgré les faibles concentrations de *Cryptosporidium* tout au long de la saison de baignade, il a été possible de recueillir deux échantillons qui démontrent une présence dans l'eau plus marquante, et ce, lors des pluies ayant mené à la fermeture de la plage le 8 août alors que les données de l'activité enzymatique étaient aussi bien supérieures au seuil.
- Les valeurs des concentrations de *Giardia* identifiées en mauve, soient celles qui représentent un risque d'infectiosité alors que l'activité GLUC se trouve sous le seuil, se situent toutes, à l'exception d'un échantillon (16 juillet), lors de périodes de fermeture de la plage. Ce faisant, ces résultats ont été obtenus aux alentours des périodes où l'activité GLUC se trouvait au-dessus du seuil.

Il a été possible de collecter 17 échantillons pour l'analyse des virus entre le 3 juillet et le 27 août. Toutefois, 11 des 17 échantillons envoyés ont présenté des résultats et seulement 2 virus par échantillon ont en moyenne pu être détectés sur les 9 à l'étude (Noro G1 et G2, Rotavirus, Sapovirus, Astrovirus, Entérovirus, Adg, JCV et ReoV). Les échantillons ayant eu les résultats les plus importants sont ceux du 8 et 9 août où 7 et 4 types de virus ont été détectés. Les virus les plus présents sont Adg, Noro G2 et Entérovirus alors que ReoV était complètement absent. En moyenne, 481.65 L ont été filtrés par échantillonnage. Le détail des résultats est présenté dans le tableau 5-10 avec les périodes d'échantillonnage à haute-fréquence identifiées en bleu. De plus, les résultats sont présentés en respectant un certain code de couleur ; les données en rouge sont celles obtenues lorsque le seuil de l'activité GLUC est dépassé et les résultats en mauve représentent ceux qui ont été obtenu alors que l'activité GLUC se trouvait sous le seuil. La figure 5.12 illustre quant à elle les résultats des différents virus à l'étude en parallèle à la tendance de l'activité GLUC pour toute la période d'échantillonnage

Tableau 5-9 : Résultats de l'activité GLUC et des concentrations de tous les virus à l'étude

Date	Activité GLUC (mMFU/100 ml)	Noro G1 (copies/L)	Noro G2 (copies/L)	Rotavirus (copies/L)	Sapovirus (copies/L)	Astrovirus (copies/L)	Entérovirus (copies/L)	Adg (copies/L)	JCV (copies/L)	ReoV (copies/L)
03/07 12:00	1.94	-	-	-	-	-	-	97	-	-
08/07 13:30	1.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11/07 16:30	1.58	-	-	-	-	-	49	-	-	-
12/07 11:15	3.72	108	-	-	-	-	59	489	-	-
13/07 16:10	1.5	40	-	-	-	-	-	-	-	-
14/07 12:00	1.18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16/07 15:00	*-4.87*	-	89	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 5-9 : Résultats de l'activité GLUC et des concentrations de tous les virus à l'étude (suite)

30/07 16 :16	*-0.27*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
06/08 12:00	2.44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08/08 12:00	7.29	181	568	-	718	110	725	1330	211	-
09/08 12:10	0.79	-	98	-	-	-	-	-	-	-
09/08 16:40	34.97	-	104	-	557	-	908	214	-	-
10/08 11 :50	*-3.34*	-	76	-	-	-	-	-	-	-
11/08 12 :10	0.31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12/08 12 :05	0.37	-	-	78	-	-	-	-	-	-
20/08 11 :06	*-0.29*	-	-	-	-	-	-	-	-	-

27/08 12 :00	-	-	-	-	-	-	-	408	-	-

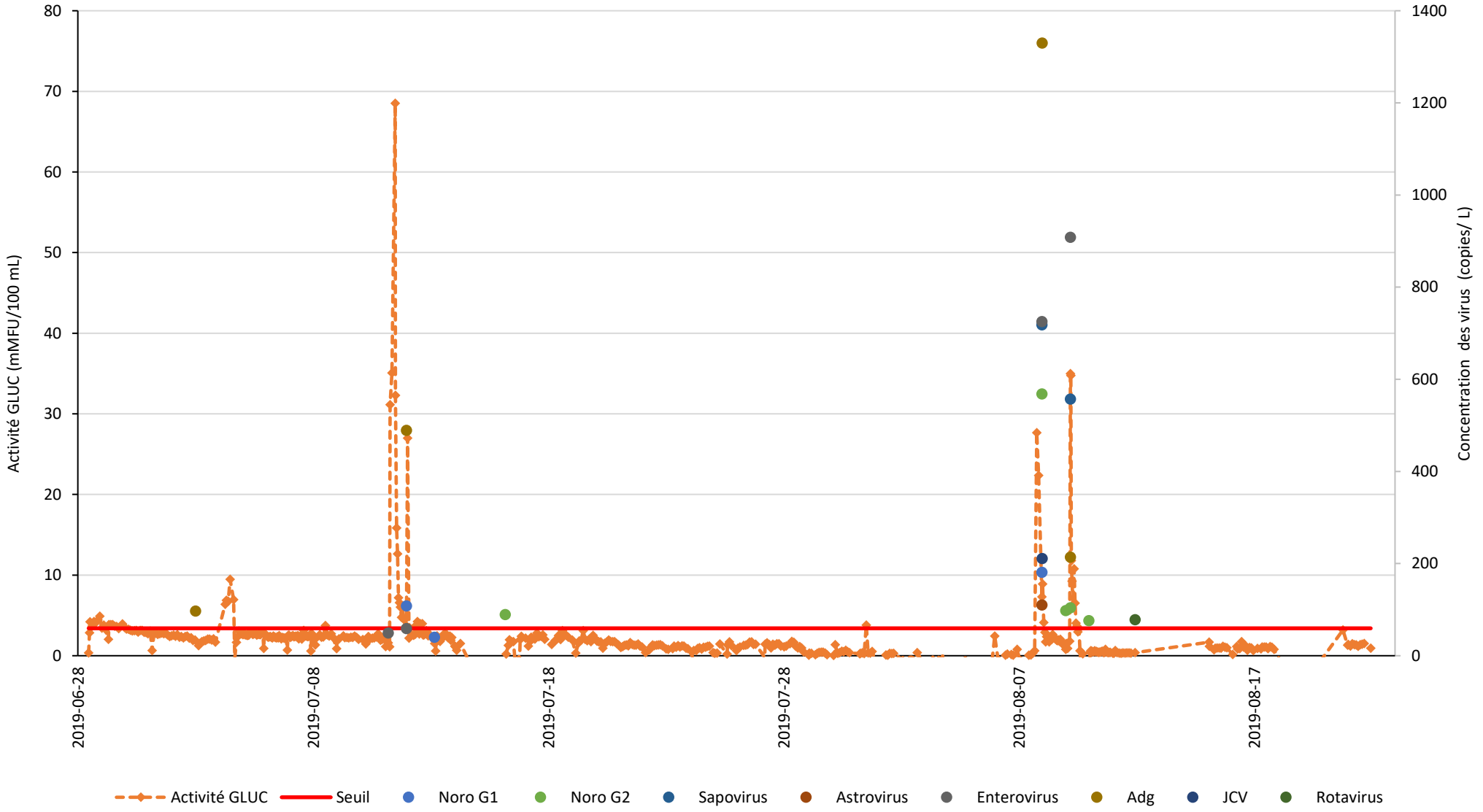

Figure 5.12 : Variation des concentrations de tous les virus à l'étude et de l'activité GLUC pour toute la période d'échantillonnage.

Les résultats mettant en parallèle l'activité enzymatique et les différents virus à l'étude permettent de faire les observations suivantes :

- Une relation importante existe entre les virus et l'activité enzymatique. En effet, en observant la figure 5.12, il est possible de conclure que les pics de l'activité enzymatique et leurs alentours sont associés à une présence de virus. Ceci est surtout notable lors de l'évènement du 8 août quand la plus grande variété et quantité de virus ont pu être détectés.
- Les deux événements démontrent que les virus sont encore présents dans l'eau après que l'activité GLUC ait retrouvé des valeurs acceptables. En effet, après l'événement du 11 juillet, l'activité enzymatique devient stable à la fin de la journée du 12 (avec quelques valeurs légèrement supérieures au seuil le 13) alors que les virus étaient encore présents dans l'eau le 16. Pour l'évènement du 8 août, les valeurs de l'activité enzymatique redeviennent sous le seuil le 10 alors que les virus sont encore présents jusqu'au 12.
- À l'extérieur des périodes où la plage était fermée et que l'activité enzymatique se trouvait sous le seuil, des virus ont pu être détecté à 2 dates : le 3 juillet et le 27 août.
- Les virus sont mesurés par PCR (Chaîne par Polymérase), donc leur potentiel d'infectiosité n'est pas connu.

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE

À la lumière des résultats présentés, deux étapes sont réalisées. En premier temps, la nature des 4 événements est décrite afin d'établir des liens entre le type de pluie (intensité, durée) sur les débordements qui peuvent en suivre ainsi que les réponses obtenues quant à la qualité de l'eau en termes d'*E. coli*, d'activité enzymatique, de virus et de protozoaires. Ensuite, il est question de comparer les scénarios qui seraient proposés comme périodes de fermeture et d'ouverture de la plage après chacun des événements selon les différentes méthodes de suivi (standard vs enzymatique) et les variables supplémentaires étudiées (virus et protozoaires), et ce, en parallèle au protocole de gestion utilisé actuellement. Il sera alors possible d'évaluer le degré d'accord entre les différentes méthodes de suivi de la qualité de l'eau, de comparer les tendances de toutes les variables à l'étude.

6.1 Nature des évènements pluvieux

Tel que présenté dans la section précédente, parmi les évènements qui ont eu lieu durant la saison de baignade, 4 ont pu être exploités à des fins d'analyse en raison des données insuffisantes. Ces évènements ont tous entraîné des débordements d'ouvrage de surverse et ont causé la fermeture de la plage. Toutefois, l'ampleur de l'impact sur la qualité de l'eau varie d'un événement à l'autre. Ce faisant, une comparaison des caractéristiques de chacun d'entre eux est réalisée dans cette section selon la durée de la pluie (h), la hauteur de l'eau cumulée (mm), l'intensité maximum en 5 minutes (mm/h), le nombre de débordement et la durée totale de débordement (min).

Les périodes de fermeture dont il est question sont celles du 25 juin au 2 juillet (événement 1), 5 au 7 juillet (évènement 2), 11 au 14 juillet (événement 3) et 8 au 12 août (évènement 4). Les données de pluie et de surverse recueillies au cours de ces dates ont été regroupées afin de faire le portrait de chacun des évènements. Un nombre de données varié est fourni pour chaque évènement. Dans le cas de l'évènement 1, les données du 25-28-29 et 30 sont disponibles, pour l'événement 2, seulement celles du 5 juillet, pour l'événement 3, seulement celles du 11 juillet, et enfin, les données du 8-9 et 12 sont disponibles pour l'événement 4. Dans le cas où les informations de plusieurs journées ont été fournies, la moyenne de chaque variable est utilisée afin de procéder à la comparaison.

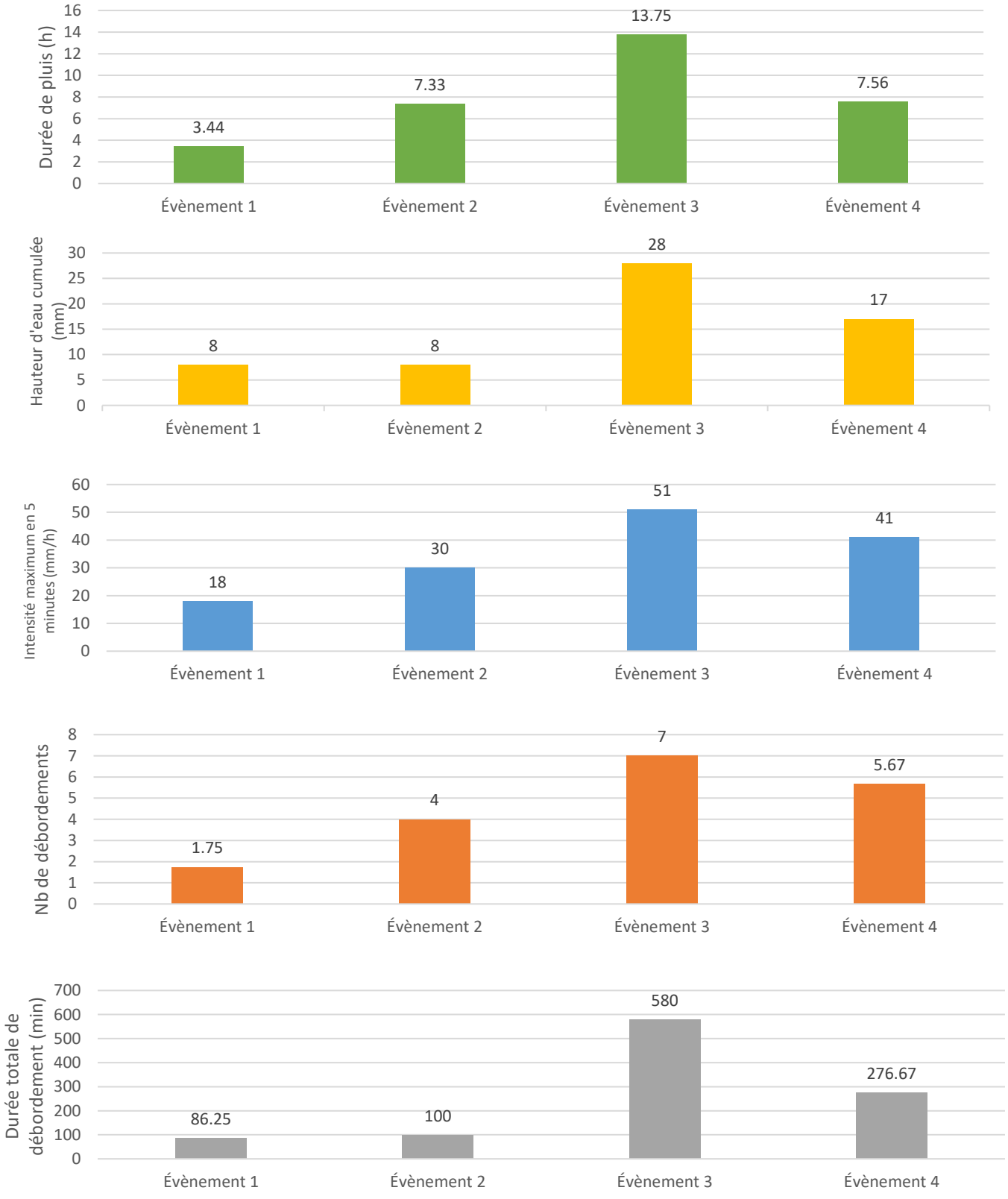

Figure 6.1 : Comparaison des évènements de pluie ayant causé la fermeture de la plage selon la durée de pluie (h), la hauteur d'eau cumulée (mm), le nb de débordements et la durée totale de débordement (min)

La figure 6.1 permet d'identifier les événements responsables des extrêmes pour toutes les variables. Basé sur les caractéristiques des évènements de pluie et de surverse disponibles, il est possible de faire certaines observations

- Les évènements peuvent être classés selon leur importance (ordre des valeurs pour toutes les données recueillies) de la manière suivante : 3, 4, 2 et 1. Ceci concorde en partie avec les données de qualité de l'eau présentées précédemment. Ces dernières démontrent que l'activité enzymatique ainsi que les concentrations d'*E. coli*, de virus et de protozoaires atteignent leurs pics à l'évènement 3, suivi de l'évènement 4. Les évènements 1 et 2 sont quant à eux plus ressemblants en termes de qualité d'eau. En effet, les concentrations d'*E. coli* n'ont jamais dépassé le seuil durant les deux évènements. Il en est de même pour l'activité enzymatique à l'exception d'une journée de l'évènement 1 où le seuil n'a pas été respecté. Les moyennes de l'activité enzymatique des évènements 1 et 2 restent rapprochées; 3.1 mMFU/100ml et 2.7 mMFU/100 ml respectivement. Ainsi, la qualité de l'eau est légèrement meilleure à l'évènement 2 malgré le fait que les informations recueillies concernant la hauteur d'eau cumulée et le nombre de débordements sont plus importantes que celles de l'évènement 1.
- Malgré le fait qu'il est visuellement possible de suggérer un ordre d'importance des événements, ces observations ne suffisent pas pour déterminer le poids de chaque variable sur ce qui différencie vraiment chacun des événements en termes de conséquences sur la qualité de l'eau. Ce faisant, le coefficient de variation (CV) a été calculé pour chaque variable, selon la formule présentée ci-dessus. Celui-ci représente le rapport entre l'écart-type et la moyenne, mesurant ainsi la variabilité relative (Data Science Team, 2020). Cette mesure est très pertinente dans des situations comme la nôtre où il est question de comparer les résultats de variables ayant des unités différentes.

$$CV = \frac{\text{É}cart - type}{moyenne} \times 100$$

Le coefficient de variation permet alors de classer les variables selon leur niveau de variabilité par rapport à la moyenne. Ce faisant, il est possible de suggérer un ordre d'importance aux variables pour justifier les différents effets de chacun des évènements sur la qualité de l'eau. Les résultats, présentés sur le tableau 6-1, démontrent que le poids des

variables dans la différentiation des évènements est classé de la manière suivante : la durée totale de débordement, la hauteur d'eau cumulée, la durée de la pluie, le nombre de débordements et l'intensité maximum en 5 minutes. En effet, le coefficient de 88% de la durée totale de débordement est le plus important et dépasse largement celui des autres. Il est suivi de celui de la hauteur d'eau cumulée qui est de 62%. Les autres variables ont des variabilités assez rapprochées, allant de 41 à 53%.

Tableau 6-1 : Coefficient de variation de chaque variable des différents évènements

	Durée pluie (h)	**Hauteur d'eau cumulée (mm)**	**Intensité maximum en 5 minutes (mm/h)**	**Nb de débordement**	**Durée totale de débordement (min)**
ÉV1	3.44	8.00	18.00	1.75	86.25
ÉV2	7.33	8.00	30.00	4.00	100.00
ÉV3	13.75	28.00	51.00	7.00	580.00
ÉV4	7.56	17.00	41.00	5.67	276.67
Écart-type	4.26	9.50	14.21	2.26	229.83
Moyenne	8.02	15.25	35.00	4.61	260.73
Coefficient de variation	**53**	**62**	**41**	**49**	**88**

6.2 Scénarios de gestion de la plage

Selon les données considérées, différents scénarios de fermeture et d'ouverture de la plage peuvent être proposés à la suite des évènements étudiés. Les prises de décision varient ainsi selon les variables observées. Ce faisant, pour donner suite aux résultats présentés au chapitre 5, un tableau par évènement a été réalisé afin de comparer les différentes méthodes et variables utilisées pour le suivi de la qualité de l'eau : méthode standard (concentration *E. coli*), méthode enzymatique (Coliminder®), virus et protozoaires. Ces derniers sont présentés en parallèle aux décisions qui ont été prises tout au long de l'été 2019, basées sur les règlements du programme Environnement-Plage. Pour chaque méthode ou variable de référence, la période de fermeture suggérée est présentée ainsi que les journées en désaccord avec le programme de suivi de la Ville.

Tableau 6-2 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 1

Programme Environnement-Plage **Évènement 1 : fermeture du 25 juin 11 :00 au 2 juillet 11 :00**		
Référence	**Période de fermeture suggérée**	**Période en désaccord avec le programme Environnement-Plage**
Méthode enzymatique	29 juin 00:26 au 30 juin 17 :35	25 juin 11 :00 au 29 juin 00 :26 et 30 juin 17 :35 au 2 juillet 11 :00
Méthode standard	Aucune	25 juin 11 :00 au 2 juillet 11 :00
Virus	N/D	N/D
Protozoaires	N/D	N/D

Lors du premier évènement, une période de fermeture de 7 jours a eu lieu. Pourtant, la qualité de l'eau n'a presque pas été touchée. En effet, les concentrations d'*E. coli* n'ont jamais atteint le seuil et l'activité enzymatique a dépassé son seuil pour une période inférieure à 48 heures. Ce faisant, il est possible de constater un grand écart entre les données de qualité de l'eau obtenues et la décision qui a été prise basée sur les règlements du programme Environnement-Plage. Ainsi, pour donner suite aux pluies du 25, 28, 29 et 30, la plage aurait pu rester ouverte selon les résultats de la méthode standard et, selon la méthode enzymatique, elle aurait pu rester ouverte sauf le 29 et 30 juin, soit 5 jours de fermeture en moins que la décision qui a été prise.

Tableau 6-3 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 2

Programme Environnement-Plage **Évènement 2 : fermeture du juillet 5 juillet 10 :00 au 7 juillet 11 :00**		
Référence	**Période de fermeture suggérée**	**Période en désaccord avec le programme Environnement-Plage**
Méthode enzymatique	Aucune	5 juillet 10 :00 au 7 juillet 11 :00
Méthode standard	Aucune	5 juillet 10 :00 au 7 juillet 11 :00
Virus	N/D	N/D
Protozoaires	N/D	N/D

Lors du deuxième évènement, une période de fermeture de 3 jours a eu lieu. Pourtant, la qualité de l'eau n'a pas été touchée. En effet, les concentrations d'*E. coli* et l'activité enzymatique n'ont jamais atteint leur seuil. Il est alors possible de constater un grand écart entre les données de qualité de l'eau obtenues et la décision qui a été prise basée sur les règlements du programme Environnement-Plage. Ainsi, pour donner suite à la pluie du 5 juillet, la plage aurait pu rester ouverte à la fois selon les résultats de la méthode standard et la méthode enzymatique.

Tableau 6-4 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 3

Programme Environnement-Plage **Évènement 3 : fermeture du 11 juillet 11 :00 au 14 juillet 11 :00**		
Référence	**Période de fermeture suggérée**	**Période en désaccord avec le programme Environnement-Plage**
Méthode enzymatique	11 juillet 18 :30 au 13 juillet 16 :30	11 juillet 11 :00 au 11 juillet 18 :30 et 13 juillet 16 :30 au 14 juillet 11 :00
Méthode standard	11 juillet 18 :30 au 13 juillet 8 :00	11 juillet 11 :00 au 11 juillet 18 :30 et 13 juillet 8 :00 au 14 juillet 11 :00
Virus	11 juillet 16 :00 au 16 juillet 15 :00	Aucune
Protozoaires	11 juillet 11 :00 au 16 juillet 14 :20	Aucune

Lors du troisième événement, une période de fermeture de 3 jours a eu lieu. Selon les méthodes standard et enzymatique, la plage aurait fermé pour une durée de 2 jours (avec quelques heures de différence entre les deux méthodes). Selon le programme Environnement-Plage, la plage a dû fermer le 11 juillet en matinée alors que les seuils des deux méthodes ont été dépassés en fin de journée. En ajoutant les variables virus et protozoaires au suivi de la qualité de l'eau, il est possible de constater que la plage aurait fermé non seulement durant toute la période durant laquelle la fermeture s'est véritablement déroulée, mais aussi 2 jours de plus soit jusqu'au 16 juillet en après-midi. Ainsi, pour donner suite à la pluie du 11 juillet, la plage aurait fermé 2 jours selon les méthodes standard et enzymatique, soit 1 jour de moins que la décision qui a été prise, et pendant

5 jours selon les résultats de virus et de protozoaires, soit 2 jours de plus que ce qui s'est véritablement produit.

Tableau 6-5 : Scénarios de gestion de la plage proposés selon la méthode/la variable de référence de l'évènement 4

Programme Environnement-Plage **Évènement 4 : fermeture du 8 août 5 :00 au 12 août 11 :00**		
Référence	**Période de fermeture suggérée**	**Période en désaccord avec le programme Environnement-Plage**
Méthode enzymatique	8 août à 6 :24 au 10 août 00 :27	10 août 00 :27 au 12 août 11 :00
Méthode standard	8 août à 7 :00 au 10 août 17 :00	10 août à 17 :00 au 12 août 11 :00
Virus	8 août 12 :00 au 12 août 12 :05	Aucune
Protozoaires	8 août 11 :23 au 12 août 11 :30	Aucune

Lors du quatrième événement, une période de fermeture de 4 jours a eu lieu. Selon les méthodes standard et enzymatique, la plage aurait fermé au même moment que ce que le programme Environnement-Plage a proposé, soit le 8 au matin (avec un léger décalage). La plage aurait cependant ouvert deux jours plus tôt; durant la nuit du 10 pour la méthode enzymatique et en soirée de la même journée pour la méthode standard. Quant à la décision qui aurait été prise basée sur les résultats des virus et des protozoaires, celle-ci est quasi-similaire à celle proposée par le programme, soit une période de fermeture de 4 jours. Ainsi, pour donner suite aux pluies du 8, 9 et 12 août, la plage aurait fermé pendant 2 jours selon la méthode enzymatique et 2 jours et demi selon la méthode standard, soit près de 2 jours en moins que ce qui s'est véritablement produit.

Enfin, le suivi des virus et des protozoaires suggère une période de fermeture homologue à celle du programme.

6.3 Comparaison des scénarios

Cette dernière section vise à établir une comparaison entre les suivis de la qualité de l'eau basés sur les différents types de variable à l'étude. Pour ce faire, les scénarios de fermeture et d'ouverture de la plage de chaque variable de référence (activité enzymatique, concentration d'*E. coli*, virus et protozoaires) sont présentés pour chacun des évènements.

Tableau 6-6 : Comparaison des différents scénarios

Référence	**Évènement**	**Jours d'ouverture / jours de fermeture**	**Jours de fermeture en plus**
Méthode enzymatique	1	5/7	0
	2	3/3	0
	3	1/3	0
	4	2/4	0
Méthode standard	1	7/7	0
	2	3/3	0
	3	1/3	0
	4	1.5/4	0
Virus	3	0/3	2
	4	0/4	0
Protozoaire	3	0/3	2

	4	0/4	0

Selon les résultats du tableau, il y aurait 62% de journées de fermeture en moins en basant le suivi de la qualité de l'eau sur la méthode enzymatique et 59% selon la méthode standard. De ce fait, il existe un grand potentiel de révision du protocole de gestion de la plage puisqu'un écart important se trouve entre les journées où la plage était fermée et celles où la qualité de l'eau était réellement inadéquate pour les usagers. Toutefois, il est possible de constater que cette réalité n'est pas de la même ampleur pour tous les évènements. Plus l'évènement est important (évènement 3), moins l'écart entre les décisions et les résultats de qualité de l'eau est frappant et vice-versa; moins l'événement est important (évènement 1 ou 2), plus l'écart l'est. Il est aussi à noter que le plus grand désaccord est le moment de réouverture de la plage. En effet, pour les événements 3 et 4, les deux méthodes ainsi que le protocole proposent la même journée de fermeture alors que les jours d'ouverture auraient différé. Pour continuer, en ajoutant les variables virus et protozoaires, la période de fermeture est allongée (de 2 jours) pour l'évènement le plus important, soit le troisième. Quant à l'évènement 4, les scénarios de gestion basés sur les résultats des virus et des protozoaires sont ceux qui concordent le plus avec le protocole du programme Environnement-Plage où toute la période de fermeture aurait été similaire.

À la lumière de ces observations, il est d'abord possible de dire que les décisions basées sur les résultats de la méthode standard proposent des périodes de fermeture de la plage grandement réduite à celle du programme Environnement-Plage alors qu'il est fondé sur cette méthode. En fait, le suivi de la qualité de l'eau basé sur les concentrations d'*E. coli* proposera toujours en pratique des périodes de fermeture plus longue en raison des analyses qui nécessitent entre 24 à 48 heures; ce qui peut créer un décalage important entre le moment où l'eau redevient acceptable pour la baignade et celui où la plage peut procéder à une réouverture. La méthode enzymatique devient alors une solution idéale pour pratiquement réduire les périodes de fermeture de la plage en raison de sa capacité à fournir les résultats en temps quasi-continu. Même si les résultats démontrent que la méthode standard propose moins de journées de fermeture que la méthode enzymatique, celle-ci ne pourra pratiquement pas permettre d'apporter des modifications à la méthode de gestion de la plage puisque le temps requis pour l'obtention des résultats restera toujours une limite. La méthode enzymatique pourra quant à elle réellement réduire les journées de fermeture. De plus, les

deux méthodes présentent des tendances ayant des comportements généralement similaires. Toutefois, ceci est surtout vrai en périodes de pluie où les décalages qui existent entre les scénarios proposés par les deux méthodes ne sont généralement que de quelques heures. En temps sec, la méthode standard et la méthode enzymatique étaient fortement en désaccord durant 5 journées de la période d'échantillonnage.

Ensuite, il est possible de constater que les variables virus et protozoaires dans l'analyse de la qualité de l'eau sont les plus limitantes pour la réouverture de la plage considérant que pour la majorité des cas, leurs résultats proposaient soit l'allongement de la période de fermeture, soit aucun jour de fermeture en moins. En observant les variations des virus et des protozoaires pour toute la période d'échantillonnage, il est possible de constater que la présence des pathogènes est grandement liée aux pics de l'activité enzymatique. Ainsi, lorsque l'activité enzymatique dépasse son seuil, il est fort probable que la qualité de l'eau soit également touchée par les virus et les protozoaires. Toutefois, selon les résultats des événements 3 et 4, les agents pathogènes sont plus persistants dans l'eau que l'enzyme GLUC. De ce fait, le suivi du signal enzymatique n'est pas suffisant pour comprendre le devenir des pathogènes à la suite d'un événement de pluie, car ces derniers sont encore présents dans l'eau lorsque les données GLUC respectent les critères de qualité à nouveau. Ainsi, selon les deux scénarios qu'il a été possible d'étudier dans le cadre de ce projet, même si l'enzyme persiste dans l'eau plus longtemps que la bactérie *E. coli* en soi, il n'est pas possible de l'utiliser comme indicateur de la présence des virus et des protozoaires à plus longue durée. Cependant, la culture cellulaire n'a pas été utilisée pour déterminer le potentiel d'infectiosité des virus et des parasites.

Enfin, considérant les périodes de fermeture proposées par le programme Environnement-Plage et les résultats obtenus, une révision des règlements peut être réalisée. En effet, ayant 2 des 4 évènements fortement en désaccord avec la fermeture de la plage (év. 1 et 2), il serait intéressant de considérer des critères de fermeture plus précis aux caractéristiques des eaux qui connaissent réellement une dégradation de leur qualité à la suite d'une pluie, et ce, afin de réduire le nombre de jours de plage fermée. En effet, les règles de fermeture actuelles imposent de rapidement fermer la plage après un événement, et ce, pendant de longues périodes. Selon le tableau des règlements présenté dans la section 5.1, il est possible de constater que les règles sont basées sur une intensité fixée à 5 mm/3 heures (règle 1), qui est considérée forte, une durée de débordement de 10 minutes

(règle 2) et le débordement de certains ouvrages (règles 3 et 4). Ces critères sont très conservateurs et les cas énumérés ci-dessus peuvent le démontrer.

D'abord, selon les graphiques de la figure 6.1, l'évènement 2 est caractérisé par une intensité maximale en 5 minutes de 30 mm/h et n'a pourtant pas dégradé la qualité de l'eau; les concentrations d'*E. coli* et l'activité enzymatique sont restées sous le seuil pour toute la période. L'évènement 1 ayant une plus faible intensité maximale en 5 minutes, 18 mm/h, a quant à lui provoquer un léger dépassement du seuil de l'activité enzymatique. Cependant, comme il a été possible de le constater par le calcul du coefficient de variation, il est possible de penser que cette variable n'est pas la plus importante pour comprendre l'effet d'un événement sur la qualité de l'eau. En effet, l'intensité maximale en 5 minutes est la variable avec le coefficient de variation le plus faible. Ainsi, même si un dépassement du seuil a lieu, l'intensité maximale en 5 minutes n'est pas la variable la plus intéressante pour le justifier. Même dans le cas contraire, la valeur de 18 mm/h est bien supérieure à 5 mm/3 heures; d'où l'aspect restreint de cette première règle.

La règle 2 est quant à elle très pertinente puisqu'elle se base sur la durée du débordement, qui est la variable ayant le coefficient de variation le plus important. Toutefois, elle impose une fermeture de la plage à la suite d'un débordement d'une durée maximale de 10 minutes, ce qui est encore une fois très limitant. En effet, lors du deuxième évènement, des débordements aux ouvrages considérées dans la règle 2 ont eu lieu pendant plus d'une heure (100 minutes), sans, encore une fois, provoquer un dépassement du seuil des concentrations d'*E. coli* et de l'activité enzymatique. Même pour l'évènement 1 où un léger dépassement du seuil de l'activité GLUC a eu lieu, la durée totale des débordements était de 86.25 minutes. La durée des débordements des événements 3 et 4 sont largement supérieures à celles des deux premiers ce qui permet de suggérer une plus grande flexibilité quant à la règle associée à cette variable.

Pour les règles 3 et 4, basées sur le débordement de certains ouvrages, leur implication dans la fermeture de la plupart des évènements empêche de faire une forte comparaison. Toutefois, il est possible de constater que l'événement qui a causé aucune dégradation à la qualité de l'eau, soit le deuxième, est le seul où la règle 4 n'a pas été considérée dans les règles de fermeture. Cela étant dit, les surverses en provenance des ouvrages du Canal de Aqueduc, Alepin, reg. Stephens, dér. Stephens et 1re Avenue semblent avoir un impact important sur la qualité de l'eau. D'ailleurs, cette règle pourrait entre autres justifier le dépassement du seuil de l'activité enzymatique lors du

premier événement, malgré les valeurs de durée de la pluie (h), d'intensité maximum en 5 minutes (mm/h), de nombre de débordement et de durée totale de débordement (min) qui sont inférieures à celles de l'évènement 2. Ainsi, les débordements aux ouvrages indiqués dans la règle 4 sont importants à considérer, étant d'ailleurs impliqués dans les scénarios des événements 3 et 4 où la qualité de l'eau a été le plus touchée.

Un autre aspect est enfin possible d'être considéré pour augmenter la précision des décisions liées à la gestion de la plage : l'influence de l'hydrodynamique du fleuve. En effet, en absence de ces informations, il est justifié de prendre des précautions supplémentaires dans les jours de fermeture de la plage à la suite d'un évènement telle que fait par la Ville.

CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Chaque ville a ses propres défis en matière de qualité de l'eau, et ce, selon plusieurs aspects comme sa source d'eau potable, son système d'assainissement et son système de distribution. À Montréal, le système de distribution est majoritairement unitaire, ce qui signifie que les eaux sanitaires et pluviales circulent dans le même réseau. De ce fait, les eaux débordent lors des pluies ou la fonte des neiges, et parfois de manière très importante, car le réseau atteint rapidement sa capacité maximale rejetant son excès d'eau dans l'environnement (principalement le Fleuve Saint-Laurent). En conséquence, nous assistons souvent à des épisodes de contamination de l'eau qui nuisent à différents secteurs d'activité. Les impacts d'un tel phénomène ont pu être étudiés au sein de ce projet dans le cadre de l'ouverture officielle de la nouvelle plage urbaine à Montréal.

Cette étude a d'abord démontré qu'une technologie automatisée comme le Coliminder®, basée sur la détection de l'enzyme β-D-glucuronidase, est d'une grande efficacité pour faire le suivi en quasi-temps réel de la qualité de l'eau. En effet, dans le contexte d'une plage urbaine, elle a permis de comprendre la dynamique de la contamination fécale comme jamais auparavant grâce à sa capacité à offrir des résultats aux 15 minutes. Même si les résultats de la méthode standard concordent avec ceux de la méthode enzymatique, son utilisation dans la gestion de milieux comme une plage n'est pas de la même efficacité quand il est question d'optimiser les jours d'ouverture de la plage. En effet, le délai de 24-48 h de la culture pour l'obtention des résultats est très limitant.

L'étude a pu démontrer que du point de vue de la bactérie *E. coli*, la qualité de l'eau à la suite d'un événement de pluie n'est pas toujours dégradée et, lorsqu'elle l'est, redevient acceptable pour les usagers bien avant la date d'ouverture de la plage. Selon les caractéristiques des évènements pluvieux ainsi que les débordements d'ouvrage de surverse qui peuvent en suivre, les effets sur la qualité microbiologique de l'eau varient. Ainsi, la comparaison des pluies ayant mené à la fermeture de la plage lors de la saison de baignade à l'étude selon les coefficients de variation de la durée de la pluie (h), la hauteur de l'eau cumulée (mm), l'intensité maximum en 5 minutes (mm/h), le nombre de débordement et la durée totale de débordement (min) a permis de réaliser que la durée totale de débordement a été la variable la plus importante pour expliquer la différence d'impacts d'un événement à l'autre.

Enfin, ce projet a tenté d'offrir une première piste pour comprendre le lien entre l'enzyme β-D-glucuronidase et les agents pathogènes (virus et protozoaires) puisque peu d'informations existent

à ce sujet. Selon l'hypothèse de base, la capacité de l'enzyme GLUC a persister dans l'environnement plus longtemps que la bactérie *E. coli* lui permettrait d'être un potentiel indicateur de la présence de pathogènes dans l'eau. En effet, sachant que le suivi des virus et des protozoaires dans l'eau implique d'importants défis liés entre autres aux analyses dispendieuses et que plusieurs études démontrent leur faible corrélation avec *E. coli*, l'étude d'un nouveau paramètre biochimique pour le suivi de la qualité de l'eau se fait encore plus important. En effet, trouver un indicateur de la qualité assez fort pour représenter à la fois la réalité des bactéries et des pathogènes représenterait une grande avancée dans le domaine de l'environnement. Cependant, les résultats obtenus dans le cadre de ce projet ont démontré que les virus et les protozoaires persistent dans l'eau plus longtemps que l'enzyme GLUC. Leur présence dans l'eau reste toutefois fortement reliée aux pics de l'activité enzymatique, et ce, tout au long de la période d'échantillonnage.

Dans le cadre de ce projet, 4 évènements ont pu être analysés en détail, ce qui laisse encore place à un large éventail de scénarios possibles à étudier pour mieux comprendre la dynamique *E. coli*/enzyme GLUC/agents pathogènes. Des données additionnelles pourraient améliorer les analyses : l'hydrodynamique du fleuve et des analyses de microorganismes pathogènes par culture cellulaire. De plus, une telle expérience implique des défis particuliers. D'abord, l'utilisation du Colminder® nécessite l'accès à un expert en cas de problème. À plusieurs reprises, l'équipe a dû faire appel à un spécialiste puisque des résultats anormaux, comme des valeurs négatives, étaient calculés. Ensuite, certaines complications ont été liées au lieu de l'étude. En effet, la prise d'eau n'a pas toujours été fonctionnelle ce qui a également contribué à l'obtention de résultats faussés. Enfin, un autre important défi a été les délais d'envoi des virus et des protozoaires aux laboratoires d'analyse respectifs qui a souvent eu comme conséquences d'invalider certains échantillons.

Avec un plus important nombre de données, il sera non seulement possible d'émettre des suggestions plus précises sur les règles de fermeture des plages, mais aussi de comprendre davantage les implications d'un suivi basé sur le signal enzymatique. En fait, tel qu'il est actuellement, les règlements de la ville sont très conservateurs comparativement aux résultats du Colminder®, mais le suivi des agents pathogènes a permis de constater que ces derniers empêcheraient une ouverture précoce de la plage même lorsque les valeurs GLUC respectent le seuil. De ce fait, reproduire cette expérience sur plusieurs années est fortement suggéré afin d'obtenir des résultats associés à différents scénarios de pluies. En effet, ceci permettrait d'avancer

considérablement notre compréhension du lien entre la nature des évènements, les débordements d'ouvrage de surverse et les conséquences sur la qualité de l'eau.

Sachant que Montréal propose d'autres projets de plages urbaines pour les années à venir (comme le bain portuaire au Vieux-Port), des méthodes de suivi efficaces de la qualité de l'eau se doivent d'être maîtrisées par la Ville afin de préserver la santé publique tout en jouissant de ces nouveaux espaces. D'ailleurs, cette recherche pourra tester le Coliminder® afin de repenser son utilité aux sites de baignades et d'activités récréatives, aux prises d'eau potable municipale et aux effluents des stations d'épuration des eaux usées.

RÉFÉRENCES

ANSES. (2012). *Évaluation des risques sanitaires liés aux piscines - Partie 1 : piscines réglementées*. Paris, France : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX2007sa0409Ra.pdf

APHA, AWWA, et AEF. (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20th edition). American Water Works Association.

Bambang, A G, Novel, D. et Kojong S. (2004). Analisis Cemaran Bakteri Coliform Dan Identifikasi *Escherichia coli* Pada Air Isi Ulang Dari Depot Di Kota Manado *PHARMACON J. Ilm. Farm. – UNSRAT Agustus, 3*(3). 2302–2493.

Benajiba, M. H., Saoud, Y., Lamribah, A., Ahrikat, M., Amajoud, N. et Ouled-Zian, O. (2013). Évaluation de la qualité microbienne des eaux de la nappe phréatique de Martil au Maroc. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, *26*(3), 223–233. https://doi.org/10.7202/1018787ar

Brodeur, J. et Price, K. (2018). *Avis final sur le projet d'aménagement d'une plage publique dans l'Arrondissement de Verdun, Montréal*. Centre intégré universitaire de santé et de services sociaux du Centre-Sud-de-l'Île-de-Montréal. https://santemontreal.qc.ca/fileadmin/fichiers/professionnels/DRSP/Directeur/Avis/2018/Avis-Final_plage_Verdun_15102018.pdf

Burlingame, G.A., McElhaney, J., Bennett, M. et Pipres, W.O. (1984). Bacterial interference with coliform colony sheen production on membrane filters. *Appl. Environ. Microbiol*. *47*(1), 56-60. doi: 10.1128/aem.47.1.56-60.1984.

Burnet, J. B., Sylvestre, É., Jalbert, J., Imbeault, S., Servais, P., Prévost, M., et Dorner, S. (2019). Tracking the contribution of multiple raw and treated wastewater discharges at an urban drinking water supply using near real-time monitoring of β-d-glucuronidase activity. *Water Research*, *164*, 114 869. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.

Cazals, M. (2019). *Application d'une nouvelle technologie de détection enzymatique pour le suivi en quasi-temps réel de la dynamique d'Escherichia coli dans des eaux récréatives* [mémoire de maîtrise]. Polytechnique Montréal.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2003). *Technical fact sheet about noroviruses*. CDC. http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/gastro/norovirus-factsheet.htm

CEAEQ (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec). Recherche et dénombrement d'Escherichia coli thermotolérants dans les échantillons solides ou semi-solides : méthode par filtration sur membrane utilisant le milieu de culture mFC-BCIG, MA. 705 – Ec-BCIG 1.0, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec, 2013, 17 p.

CEAEQ (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec). *Recherche des coliformes totaux et de Escherichia coli avec le milieu de culture Colilert® : méthode présence/absence*, MA. 700 – Ecct. 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 2015a, 9 p.

CEAEQ (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec), *Recherche et dénombrement simultanés des coliformes totaux et d'Escherichia coli dans l'eau potable avec le milieu de culture MI : méthode par filtration sur membrane*, MA. 700 – Ecctmi 1.0, Rév. 3, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2015b, 19 p.

Cortez V, Meliopoulos VA, Karlsson EA, Hargest V, Johnson C et Schultz-Cherry S. (2017). Astrovirus Biology and Pathogenesis. *Annu Rev Virol*, *4*(1), 327-348. doi: 10.1146/annurev-virology-101416-041742

Data Science Team. (2020). *Qu'est-ce que le coefficient de variation ?* Data Science. https://datascience.eu/fr/mathematiques-et-statistiques/quest-ce-que-le-coefficient-de-variation/

D. Pearson, R. (2020). *Cryptosporidiose*. Merckmanuals. https://www.merckmanuals.com/fr-ca/professional/maladies-infectieuses/protozoaires-intestinaux-et-microsporidies/cryptosporidiose

Dorner, S.M., Anderson, W.B., Gaulin, T., Candon, H.L., Slawson, R.M., Payment, P. et Huck, P.M. (2007). Pathogen and indicator variability in a heavily impacted watershed. J. *Water Health*, *5*(2), 241-257. https://doi.org/10.2166/wh.2007.010b

Dufour, A.P. (1984). Health Effects Criteria for Fresh Recreational Waters. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio. EPA 600/1-84/004

Edberg, S. C., Allen, M. J., Smith, D. B., & Kriz, N. J. (1990). Enumeration of total coliforms and Escherichia coli from source water by the defined substrate technology. *Applied and environmental microbiology, 56*(2), 366–369. https://doi.org/10.1128/aem.56.2.366-369.1990

Elliot, E.L. et Colwell, R.R. (1985). Indicator organisms for estuarine and marine waters. *FEMS Microbiol. Rev., 32* (2), 61-79. https://doi.org/10.1016/0378-1097(85)90057-6

Enns AA, Vogel LJ, Abdelzaher AM, Solo-Gabriele HM, Plano LR, Gidley ML, Phillips MC, Klaus JS, Piggot AM, Feng Z, Reniers AJ, Haus BK, Elmir SM, Zhang Y, Jimenez NH, Abdel-Mottaleb N, Schoor ME, Brown A, Khan SQ, Dameron AS, Salazar NC, et Fleming LE. (2012). Spatial and temporal variation in indicator microbe sampling is influential in beach management decisions. *Water Research. 1;46*(7), 2237-2246. doi: 10.1016/j.watres.2012.01.040. PMID: 22365370; PMCID: PMC3304019

Escherich T. (1884). The intestinal bacteria of the neonate and breast-fed infant. *Rev Infect Dis*. *10*(6):1220-5. doi: 10.1093/clinids/10.6.1220. PMID: 3060950.

Ferguson, C., Kaucner, C., Krogh, M., Deere, D. and Warnecke, M. (2004). Comparison of methods for the concentration of Cryptosporidium oocysts and Giardia cysts from raw waters. *Can. J. Microbiol., 50*(9):675–682. doi: 10.1139/w04-059.

Fiksdal, L., & Tryland, I. (2008). Application of rapid enzyme assay techniques for monitoring of microbial water quality. *Current Opinion in Biotechnology, 19*(3), 289-294. doi:10.1016/j.copbio.2008.03.004

Fleury, C. et Charron, A., (2017). Note technique. Qualité de l'eau à la future plage de Verdun, Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2017. Service de l'eau de la Direction de l'épuration des eaux usées à la Ville de Montréal. 20 pages.

Fleury, C., Dumas, F. et Charron, A., (2018). Note technique. Qualité de l'eau à la plage de Verdun au cours de l'été 2018. Programme de suivi de la qualité de l'eau à des sites d'intérêt récréotouristiques (projet # ET1806). 21 septembre 2018. 42 pages.

Fondation Rivières (2021). Projet pilote de suivi en temps réel de la qualité bactériologique de l'eau de la rivière L'Assomption – Ville de L'Assomption. Mars 2021.

GBI Experts-conseils Inc. (2020). *Plage urbaine de Verdun*. GBI. https://www.gbi.ca/fr/projets/plage-urbaine-de-verdun

George, I., Petit, M., et Servais, P. (2000). Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters. *Journal of Applied Microbiology*, *88*(3), 404-413. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00977.x

Gerba, C.P., Rose, J.B., Hass, C.N. et Crabtree, K.D. (1996). Waterborne rotavirus: a risk assessment. *Water Res., 30*(12), 2929-2940. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00187-X

Groupe scientifique sur l'eau. (2003). Coliformes totaux, Dans Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine, Institut national de santé publique du Québec, 4 p.

Groupe scientifique sur l'eau (2017). Coliformes totaux. Dans Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine. Institut national de santé publique du Québec.

Golberg A, Linshiz G, Kravets I, Stawski N, Hillson NJ, Yarmush ML, et al. (2014). Cloud-Enabled Microscopy and Droplet Microfluidic Platform for Specific Detection of Escherichia coli in Water. *PLoS ONE, 9*(1): e86341. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086341

Guy, R.A., Payment, P., Krull, U.J. et Horgen, P.A. (2003). Real-time PCR for quantification of Giardia and Cryptosporidium in environmental water samples and sewage. *Appl. Environ. Microbiol., 69*(9), 5178-5185. doi : 10.1128/AEM.69.9.5178-5185.2003

Hébert, S. et Belley, J. (2005). *Le Saint-Laurent – La qualité des eaux du fleuve 1990-2003.* Québec, ministère de l'Environnement, Direction du suivi de l'état de l'environnement, Envirodoq n ºENV/2005/0095, collection n ºQE/156, 25p. et 3 annexes

Henry, A., Monier, L., Scherpereel, G. et Charni Ben Tabassi, N. (2013). Intérêts et limites des analyses rapides enzymatiques sans culture- Comparaison avec d'autres méthodes pour le suivi de la qualité des eaux de baignade. *Techniques Sciences Méthodes*. *4*. 26-37.

Hunter, PR. (2002). Principles and components of surveillance systems. In Hunter PR, Ronchi E, & M. Waite (Eds.), *Drinking Water and Infectious Disease: Establishing the Links* (pp. 3-11). CRC Press, Bocata Raton.

INESSS (Institut national d'excellence en santé et en services sociaux). Évaluation de neuf analyses pour la mise à jour du Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale. Québec, Qc : INESSS; 2013. 170 p.

INSPQ (Institut national de santé publique du Québec). (2003). Coliformes fécaux. https://inspq.qc.ca/eau-potable/coliformes-fecaux

Ikonen, J., Pitkänen, T., Kosse, P., Ciszek, R., Kolehmainen, M. et Miettinen, I.T. (2017). On-line detection of Escherichia coli intrusion in a pilot-scale drinking water distribution system. *J. Environ. Manage., 1*(198), 384-392. doi: 10.1016/j.jenvman.2017.04.090

Jahne, M. A., Brinkman, N. E., Keely, S. P., Zimmerman, B. D., Wheaton, E. A., et Garland, J. L. (2020). Droplet digital PCR quantification of norovirus and adenovirus in decentralized wastewater and graywater collections: implications for onsite reuse. *Water Res. 169*(213). doi: 10.1016/j.watres.2019.115213

Jiang, S.C. et Chu, W. (2004). PCR detection of pathogenic viruses in southern California urban rivers. J. *Appl. Microbiol*., *97*(1), 17-28. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02269.x

Johnson C, Hargest V, Cortez V, Meliopoulos VA, Schultz-Cherry S. (2017). Astrovirus Pathogenesis. *Viruses*, *22;9*(1):22. doi: 10.3390/v9010022

Kahler, Amy M., Trisha B. Johnson, Donghyun Hahn, Jothikumar Narayanan, Gordana Derado, et Vincent R. Hill. (2015). Evaluation of an Ultrafiltration-Based Procedure for Simultaneous Recovery of Diverse Microbes. *Water (Basel), 7*(3), 1202-1216. https://doi.org/10.3390/w7031202

Kilian M et Bülow P. (1976). Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. I. Detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol Microbiol Scand B. 84B*(5), 245-251. doi: 10.1111/j.1699-0463.1976.tb01933.x

Kim, M., Jung, T., Kim, Y., Lee, C., Woo, K., Seol, J.H. and Yang, S. (2015). A microfluidic device for label-free detection of Escherichia coli in drinking water using positive dielectrophoretic focusing, capturing, and impedance measurement. *Biosens. Bioelectron*., 74: 1011-1015. doi: 10.1016/j.bios.2015.07.059

Krapf, T., Kuhn, R.M., Kauf, P., Corinne, H.G.-. and Fieseler, L. (2016). Quantitative real-time PCR does not reliably detect single fecal indicator bacteria in drinking water. *Water Supply, 16*(6): 1674-1682. https://doi.org/10.2166/ws.2016.052

Kuhn, R.C., Rock, C.M. et Oshima, K.H. (2002). Effects of pH and magnetic material on immunomagnetic separation of Cryptosporidium oocysts from concentrated water samples. *Appl. Environ. Microbiol., 68(*4), 2066–2070. doi: 10.1128/AEM.68.4.2066-2070.2002.

Lee, G., Lee, C., Park, C. et Jeong, S. (2008). Detection and molecular characterization of enteroviruses in Korean surface water by using integrated cell culture multiplex RT-PCR. *Biomed. Environ. Sci., 21(*5), 425–431. doi: 10.1016/S0895-3988(08)60064-1

Lipp, E.K., Kurz, R., Vincent, R., Rodriguez-Palacios, C., Farrah, S.R. et Rose, J.B. (2001). The effects of seasonal variability and weather on microbial fecal pollution and enteric pathogens in a subtropical estuary. *Estuaries*, *24*(2), 266-276. doi: 10.2307/1352950

Madigan T,m Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. et Stahl, D. (2015). *Brock Biology of Microorganisms.* (14ième éd.). Pearson.

Maheux, A.F., Huppé, V., Boissinot, M., Picard, F.J., Bissonnette, L., Bernier, J.-.T. et Bergeron, M.G. (2008). Analytical limits of four β-glucuronidase and β-galactosidase-based commercial culture methods used to detect Escherichia coli and total coliforms. J. *Microbiol. Methods, 75*(3), 506-514. doi: 10.1016/j.mimet.2008.08.001

Maheux, A.F., Picard, F.J., Boissinot, M., Bissonnette, L., Paradis, S. et Bergeron, M.G. (2009). Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of Escherichia coli/Shigella in water samples. *Water Res., 43*(12), 3019-3028. doi: 10.1016/j.watres.2009.04.017

Maheux, A.F., Bissonnette, L., Boissinot, M., Bernier, J.-.T., Huppé, V., Picard, F.J., Bérubé, E. et Bergeron, M.G. (2011). Rapid concentration and molecular enrichment approach for sensitive detection of Escherichia coli and Shigella species in potable water samples. *Appl. Environ. Microbiol., 77*(17), 6199-6207. doi: 10.1128/AEM.02337-10. Epub 2011 Jul 15

Maheux, A.F., Bouchard, S., Bérubé, E. et Bergeron, M.G. (2017). Comparison of MI, Chromocult® coliform, and Compass CC chromogenic culture-based methods to detect Escherichia coli and total coliforms in water using 16S rRNA sequencing for colony identification. *J. Water Health, 15*(3), 353-359. doi: 10.2166/wh.2017.174

McCuin, R.M., Bukhari, Z., Sobrinho, J. and Clancy, J.L. (2001). Recovery of Cryptosporidium oocysts and Giardia cysts from source water concentrates using immunomagnetic separation. *J. Microbiol. Methods, 45*(2), 69–76. https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00250-0

MDDEP, 2012. Portrait de la qualité des eaux de surface au Québec 1999 – 2008, Québec, Direction du suivi de l'état de l'environnement. ISBN 978-2-550-63649-6 (PDF), 97 p.

Méndez E. et Arias C. Astroviruses. In: Knipe D., Howley P., editors. Fields Virology. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia: 2013.

Meinhardt, P.L., D.P. Casemore et K. B. Miller. (1996). Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis and the role of waterborne transmission. *Epidemiologic Reviews*, *18*(2), 118-136. doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a017920

Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC). (2020). *Guide d'application du programme Environnement-Plage*. http://www.environnement.gouv.qc.ca/programmes/env-plage/Guide-application.pdf

Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC). (2021). *La qualité de l'eau et les usages récréatifs.* https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/recreative/causes.htm

Nurliyana, M.R, Sahdan, .Z., Wibowo, K.M., Muslihati, A., Saim, H., Ahamd, S.A., Sari, Y. et Mansor, Z. *(*2018). The detection method of Escherichia coli in water resources. *J. Phys.: Conf. Ser. 995*(1). doi : 10.1088/1742-6596/995/1/012065

Olszewski, J., Winona, L. et Oshima, K.H. (2005). Comparison of 2 ultrafiltration systems for the concentration of seeded viruses from environmental waters. *R. Can. microbiol., 51*(4) , 295–303. doi: 10.1139/w05-011

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2003). Guidelines for safe recreational water environments. Vol. 1. Coastal and fresh waters. Organisation mondiale de la santé, Genève, Suisse. http://whqlibdoc.who.int/publications/2003/9241545801.pdf

Odonkor, S. T., et Ampofo, J. K. (2013). Escherichia coli as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. *Microbiology Research, 4*(1), e2. https://doi.org/10.4081/mr.2013.e2

Olstadt, J., Schauer, J.J., Standridge, J. et Kluender, S. (2007). A comparison of ten USEPA approved total coliform/E. coli tests. *J. Water Health, 5*(2), 267-282. https://doi.org/10.2166/wh.2007.008b

Payment, P., Plate, R. et Cejka, P., (2001). Removal of indicator bacteria, human enteric viruses and Cryptosporidium oocysts at a large wastewater primary treatment facility. *Rev. Can. Microbiol., 47*(3), 188-193.

Percival, S.L., J.T. Walker et P.R. Hunter (2000). *Microbiological aspects of biofilms and drinking water* (1ière éd.). De CRC Press.

Percival, S.L., Chalmers, R.L., Embrey, M., Hunter, P.R., Sellwood, J. et Wyn-Jones, P. (2004). *Microbiology of waterborne diseases.* De Elsevier Academic Press.

Pond, K., Rueedi, J et Pedley, S. (2004*). Pathogens in drinking water sources*. www.microrisk.com/uploads/pathogens_in_drinking_water_sources.pdf

Quintero-Betancourt, W., Peele, E.R. et Rose, J.B. (2002). Cryptosporidium parvum and Cyclospora cayetanensis: a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites. J. *Microbiol. Methods, 49*(3), 209–224. doi: 10.1016/s0167-7012(02)00007-6

Qureshi, A.A. et B.J. Dutka. (1979). Storm runoff microbiology adds to concern. *Water Sewage Works, 126*, 86-88.

Rajtar B, Majek M, Polański Ł et Polz-Dacewicz M. (2008). Enteroviruses in water environment--a potential threat to public health. *Ann Agric Environ Med. 15*(2), 199-203

Rompré, A., Servais, P., Baudart, J., De-Roubin, M. et Laurent, P. (2002). Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches. *Journal of Microbiological Methods, 49*(1). 31-54. doi: 10.1016/s0167-7012(01)00351-7

Santé Canada. (1997). *Les protozoaires dans l'eau potable*. www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/catalogue/dpc_pubs/rqepdoc_appui/rqep.htm

Santé Canada. (2004). *Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Documentation à l'appui — Les virus entériques*. https://www.agrireseau.net/bovinsboucherie/documents/enteric-enterovirus-fra.pdf

Santé Canada. (2012*). Recommandations au sujet de la qualité des eaux utilisées à des fins récréatives au Canada, troisième édition.* https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthy-living-vie-saine/water-recreational-recreative-eau/alt/pdf/water-recreational-recreative-eau-fra.pdf

Santé Canada (2020). *Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Document technique - Escherichia coli.* https://publications.gc.ca/collections/collection_2014/sc-hc/H144-7-2013-fra.pdf

Santo-Domingo, J. W. et N. J. Ashbolt. (2008). Fecal Pollution Water. Dans *Encyclopedia of Earth*.

Service de l'eau et Direction de l'épuration des eaux usées. (2019). Site VERDUN - Suivi de la qualité de l'eau en rive à des sites d'intérêt récréotouristique en 2019.

Smith, C.J. et Osborn, A.M. (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol., 67*(1), 6–20. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00629.x

Stadler P, Blöschl G, Vogl W, Koschelnik J, Epp M, Lackner M, Oismüller M, Kumpan M, Nemeth L, Strauss P, Sommer R, Ryzinska-Paier G, Farnleitner AH et Zessner M. Real-time monitoring of

beta-d-glucuronidase activity in sediment laden streams: A comparison of prototypes. *Water Res.*, *15*(101), 252-261. doi: 10.1016/j.watres.2016.05.072.

Sterling, C.R. et Marshall, M.M. (1999). Cryptosporidium parvum. Dans American Water Works Association (éditeur), *Waterborne Pathogens*.

Subsea Tech. (2021). *Surveillance bactériologique des eaux en un clin d'œil*. Subsea Tech. https://www.subsea-tech.com/surveillance-bacteriologique-des-eaux-en-un-clin-doeil/?lang=fr

Sunderland, D., Graczyk, T.K., Tamang, L. et Breysse, P.N. (2007). Impact of bathers on levels of Cryptosporidium parvum oocysts and Giardia lamblia cysts in recreational beach waters. *Water Res., 41*(15)*,* 3483-3489. https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.009

Tallon, P., Magajna, B., Lofranco, C. et Tin Leung, K. (2005). Microbial Indicators of Faecal Contamination in Water: A Current Perspective. *Water, Air, and Soil Pollution, 166*, 139-166. https://doi.org/10.1007/s11270-005-7905-4

Todd C.d., Ewen et Baker, Natan. (2018). *Infections à E. coli au Canada*. L'encyclopédie Canadienne. https://www.thecanadianencyclopedia.ca/fr/article/hamburger-maladie-du

Ville de Montréal. (s.d.). *Réseaux d'égouts.* Ville de Montréal. https://ville.montreal.qc.ca/portal/page?_pageid=6497,54245574&_dad=portal&_schema=PORTAL

Wade, T.J., Pai, N., Eisenberg, J.N. et Colford, J.M., Jr. (2003). Do U.S. Environmental Protection Agency water quality guidelines for recreational waters prevent gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis. *Environ. Health Perspect., 111*(8), 1102-1109. doi: 10.1289/ehp.6241

VWM Solutions. (2020). *Colimínder measurement approach*. https://www.coliminder.com/technology/

Wetz, J.J., Lipp, E.K., Griffin, D.W., Lukasik, J., Wait, D., Sobsey, M.D., Scott, T.M. et Rose, J.B. (2004). Presence, infectivity, and stability of enteric viruses in seawater: relationship to marine water quality in the Florida Keys. *Mar. Pollut. Bull., 48*(7-8), 698-704. Doi : 10.1016/j.marpolbul.2003.09.008

Wu, J., Long, S.C., Das, D. et Dorner, S.M. (2011). Are microbial indicators and pathogens correlated? A statistical analysis of 40 years of research. J. *Water Health, 9*(2), 265-278. doi: 10.2166/wh.2011.117

Zhang, Y., Hong, P.-., LeChevallier, M.W. et Liu, W. (2015). Phenotypic and phylogenetic identification of coliform bacteria obtained using 12 coliform methods approved by the U.S. Environmental Protection Agency. *Appl. Environ. Microbiol., 81*(17), 6012-6023. doi: 10.1128/AEM.01510-15