



CHAIRE INDUSTRIELLE CRSNG EN EAU POTABLE



ÉCOLE **POLYTECHNIQUE** DE MONTREAL

FORUM DE TRANSFERT

VALIDATION DE L'ESTIMATION RAPIDE DE
CYANOBACTÉRIES PAR SONDE FLUOROMÉTRIQUE DE
PHYCOCYANINE *in vivo* ET DE SON APPLICATION POUR
LA DÉTECTION ET LE SUIVI DES EFFLORESCENCES
9 FÉVRIER 2012

Michèle Prévost



Plan de la présentation

1. **Équipe de projet**
2. **Mise en Contexte**
3. **Équipe de projet**
4. **Objectifs du projet**
5. **Résultats**
 1. validation au laboratoire
 2. validation terrain aux prises d'eau potable
6. **Production scientifique et diffusion**
7. **Travaux en cours**
8. **Conclusion**

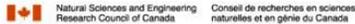




1. Équipe de projet



Australian
Water
Quality
Centre



Fonds de recherche
sur la nature
et les technologies

Québec 

Développement durable,
Environnement
et Parcs

Québec 

Chercheurs

- Michèle Prévost et Sarah Dorner EPM
- David Bird GRILL UQÀM
- CRC/SAWater Dr. Gayle Newcombe et Dr. Mike Burch
- Sébastien Sauvé, Université de Montréal
- Lee Bowling, New South Wales Office of Water

Étudiants (ÉPM)

- M.Sc.A.: N. McQuaid et Sisi Zhao
- Ph.D. Arash Zamyadi et Mohamed Ndong

Partenaires

- Ville de Granby et de Bedford
- CEAEQ – analyses taxonomiques et prêt de sonde
- Dr Brient – prêt de sonde



2. Mise en contexte

Recommandations aux usines de traitement

Cyanobactéries	Actions pour les usines
> 2 000 cellules/ml	Avis public
100 000 cellules/ml	Considérer source alternative

WHO
Chorus, et Bartram 1999

Approche MDDEP 2009 (guide d'Intervention)

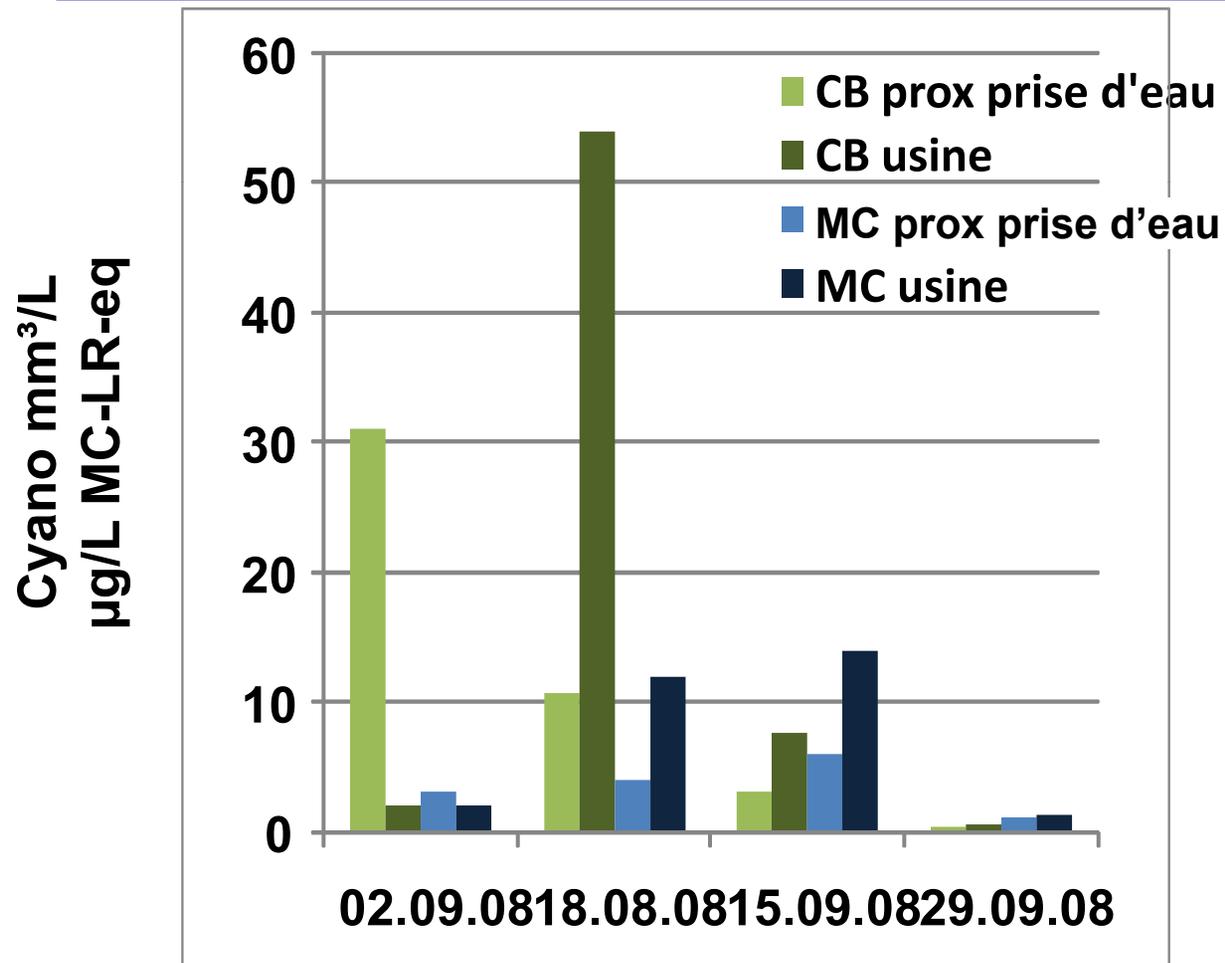
Cyanobacteries	Actions
<p>≥ 20 000 cellules/mL à 200 mètres ou moins de la prise d'eau 1X/5ans >10 000 cellules/mL à l'eau brute, 1X/5 ans</p>	<ul style="list-style-type: none">• vérification du traitement et échantillonnage hebdomadaire• avis public après deux évènements positifs (CB ou toxines)



2. Mise en contexte

Les problématiques des CB toxiques dans les sources d'eau potable

Présence des CB et leurs toxines dans un plan d'eau avec prise eau potable



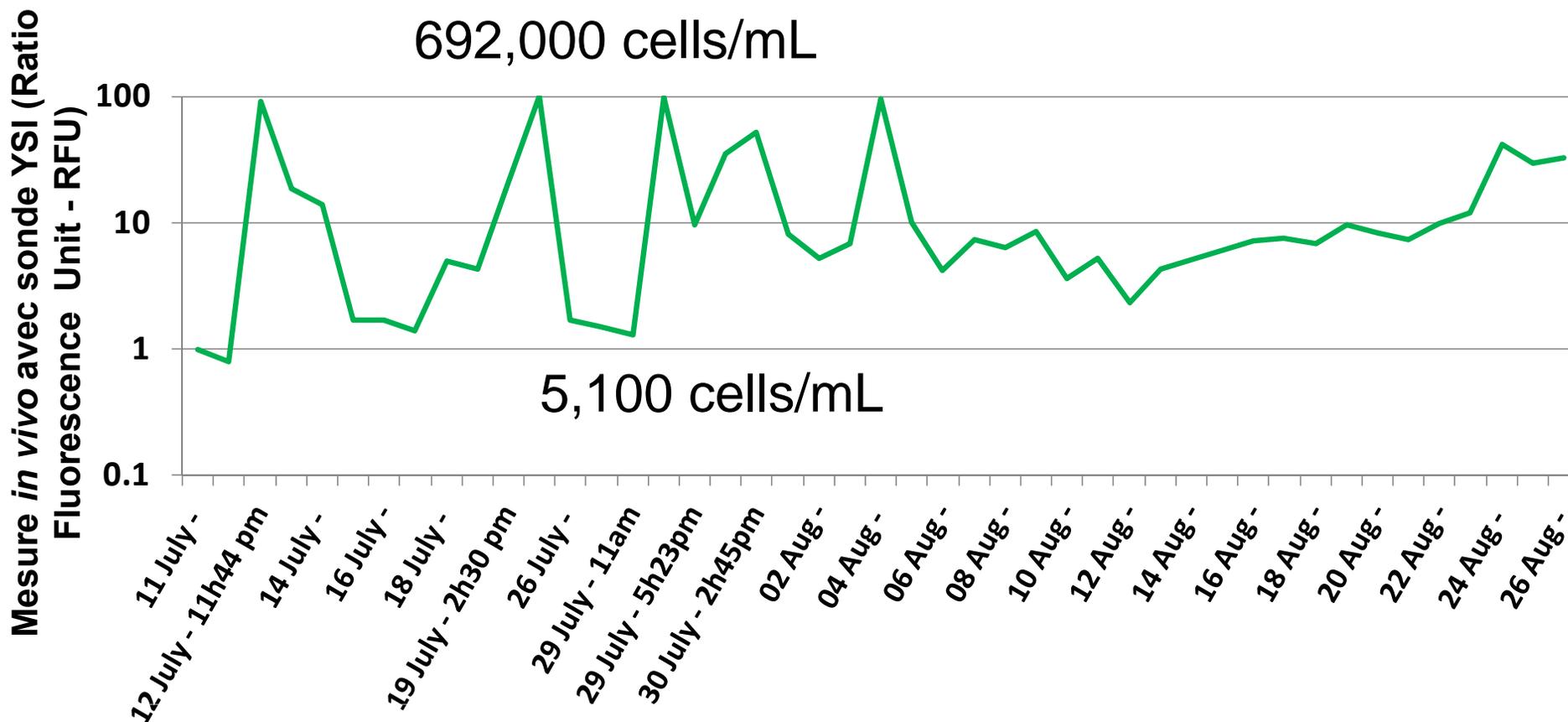
Détection rapide de CB à la prise d'eau et à sa proximité

Ajustement du traitement



2. Mise en contexte

Variabilité temporelle des concentrations à l'eau brute de l'usine d'eau potable (été 2011)



Des variations de plus de 100X en < 12 heures



2. Mise en Contexte

Présentation des sondes fluorométriques

- Méthodes actuelles de détection (comptage taxonomique) sont fastidieuses, coûteuses avec des délais d'analyse importants.
 - trop lourdes pour localiser et suivre l'évolution des efflorescences *in situ* et pas à la portée des municipalités.
- Méthode émergente: La mesure de la phycocyanine *in vivo* par des sondes immergeables

Phycocyanine (PC):
Pigments accessoires
des cyanobactéries
en eaux douces

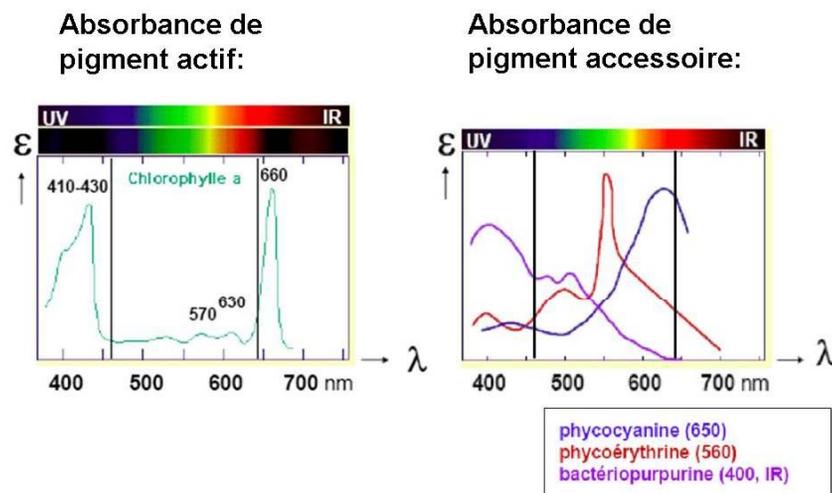


Signature
fluorescente
caractéristique
de PC



Distinguer les
cyanobactéries
au sein d'une
biomasse algale

- Les avantages des sondes:
 - la spécificité
 - la simplicité relative d'opération
 - la rapidité des prises de mesure





3. Objectifs du projet

L'objectif principal de la recherche est de valider l'utilisation des sondes de PC *in vivo* sur des eaux naturelles.

Les objectifs spécifiques étaient de :

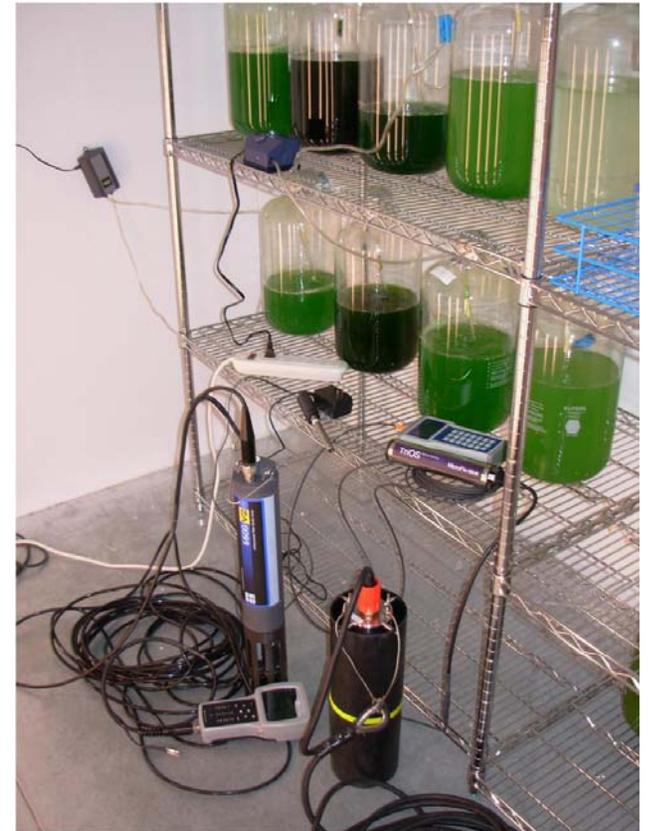
- (1) vérifier l'importance des principales interférences de fluorescence: la présence de biomasse algale, de la turbidité et de l'intensité de lumière;**
- (2) documenter l'importance des biovolumes sur l'erreur d'estimation des nombres de cyanobactéries;**
- (3) démontrer l'utilité d'un système multi-sondes (PC, Chl a, pH, turbidité, conductivité, température) pour le suivi périodique et intensif de deux plans d'eau par deux études de cas;**
- (4) mesurer avec la sonde PC et les dénombrements taxonomiques les concentrations de cyanobactéries dans 50 lacs du Québec;**
- (5) proposer une méthodologie de mesure et d'interprétation des données de PC et statuer sur les bénéfices de mesurer et d'interpréter les autres paramètres en continu (Chl a, pH, conductivité, OD, etc.).**



4. Approche expérimentale

ÉPM (Canada) et AWQC (Australia)

- Sondes optiques PC (4)
- Dénombrements taxonomiques par le CEAEQ, AWQC et GRILL
- Suspensions mono espèces et mixtes
 - *Anabaena circinalis*
 - *Microcystis flos-aquae*
 - Blooms naturels de 5 sites au Quebec (Canada)
 - *Scenedesmus sp.* + *Pseudokirscneriella subcapitata*
- Calibration 1 ou 2 points selon manufacturier
- Simulation de turbidité inorganique (kaoline et betonite) + mesure de turbidité induite par les CB





Sondes de PC *in vivo* commercialement disponibles pour la détection des CB



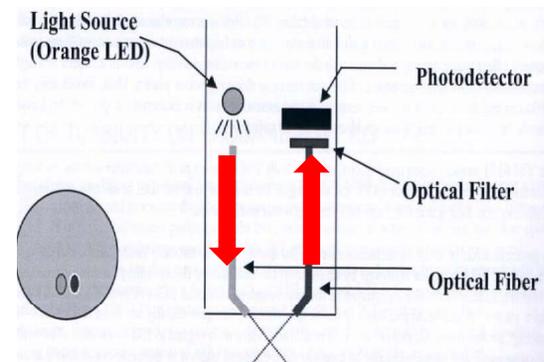
**bbe,
FluroProbe**
(sans nettoyage)



**TriOS
miroFlu-blue**
(pas *in situ*)



**YSI
6131 BGA-PC**
YSI, CHLa



(YSI Incorporated, 2006)



4.1 Résultats de validation en laboratoire

Caractéristiques des sondes testées

Sonde <i>In vivo</i>	Excitation longueur d'ondes (nm)	Emission Longueur d'ondes (nm)	Resolution	Limite de détection	Limite de quantification	Type d'unités de lecture
YSI Probe -PC Prototype1 Prototype2 Probe -Chl a Prototype-Chl a	590 (15) 590 610 470 470	660 (20) 685 (40) 685 (40) 680 685	0.1/ 0-100 *	0.2*	0.7*	ratio fluorescence unit (RFU)
TriOS-PC	620	655 (5)	0.1/ 0-200	0.7 **	2.3 **	$\mu\text{g PC / l}$
bbe -PC	610	680	0.05/ 0-200	0.3*	0.6*	$\mu\text{g Chl}a / \text{l}$

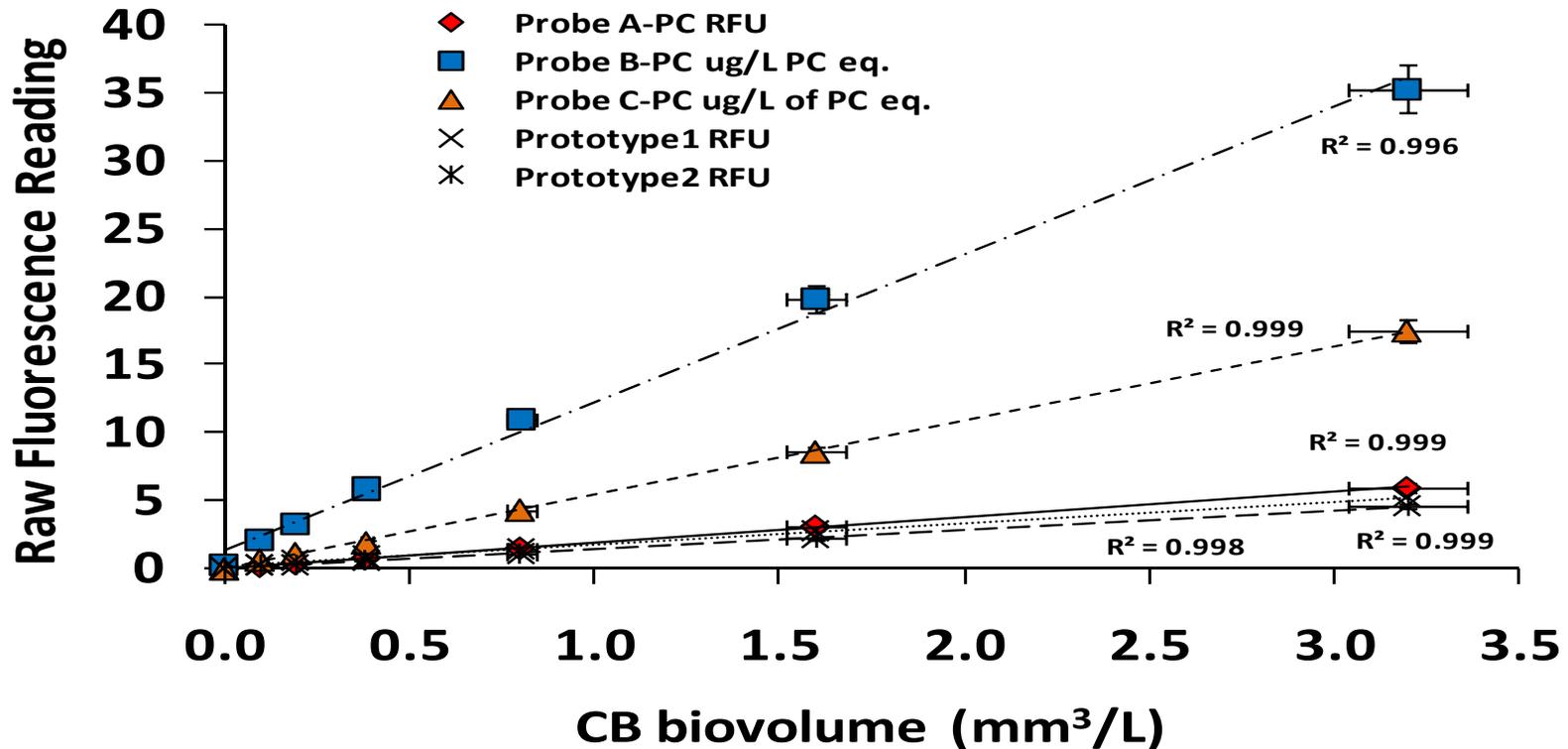
* monoculture de *Microcystis aeruginosa*.

** monoculture of 4,000 cells/mL de *M. aeruginosa*



Facteur de conversion

Lectures de sondes en unités 'brutes' VS biovolume de *M. aeruginosa* (1,000-33,000 cells/mL)

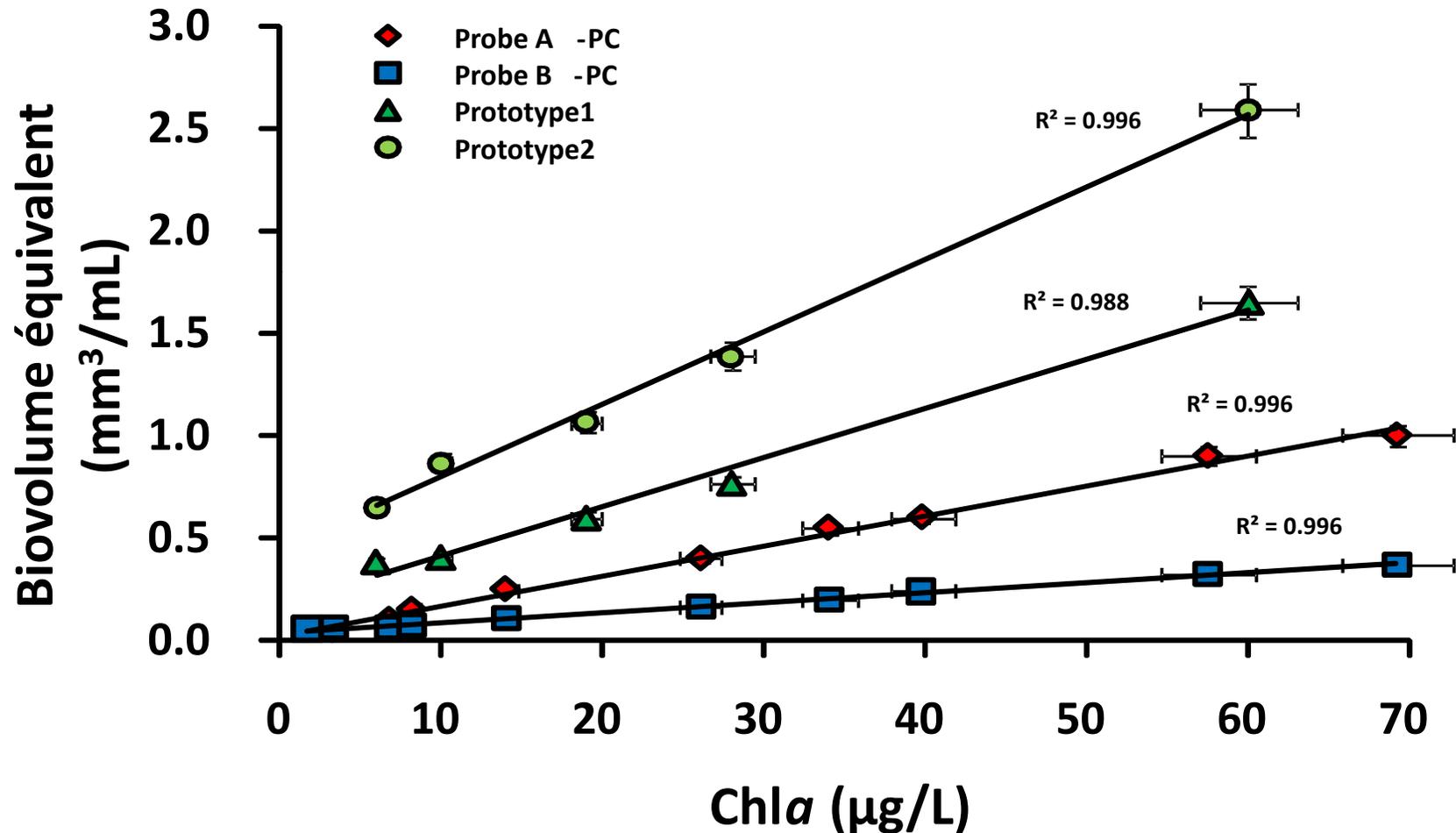


Valeurs du '*Fluorescence Biovolume Equivalent Unit FBEU*' pour différentes sondes en équivalent biovolume (mm³/L) de *M. aeruginosa*

PC <i>in vivo</i> Probe	YSI	Prototype1	Prototype2	TriOS	bbe
FBEU	0.50	0.50	0.70	0.07	0.18



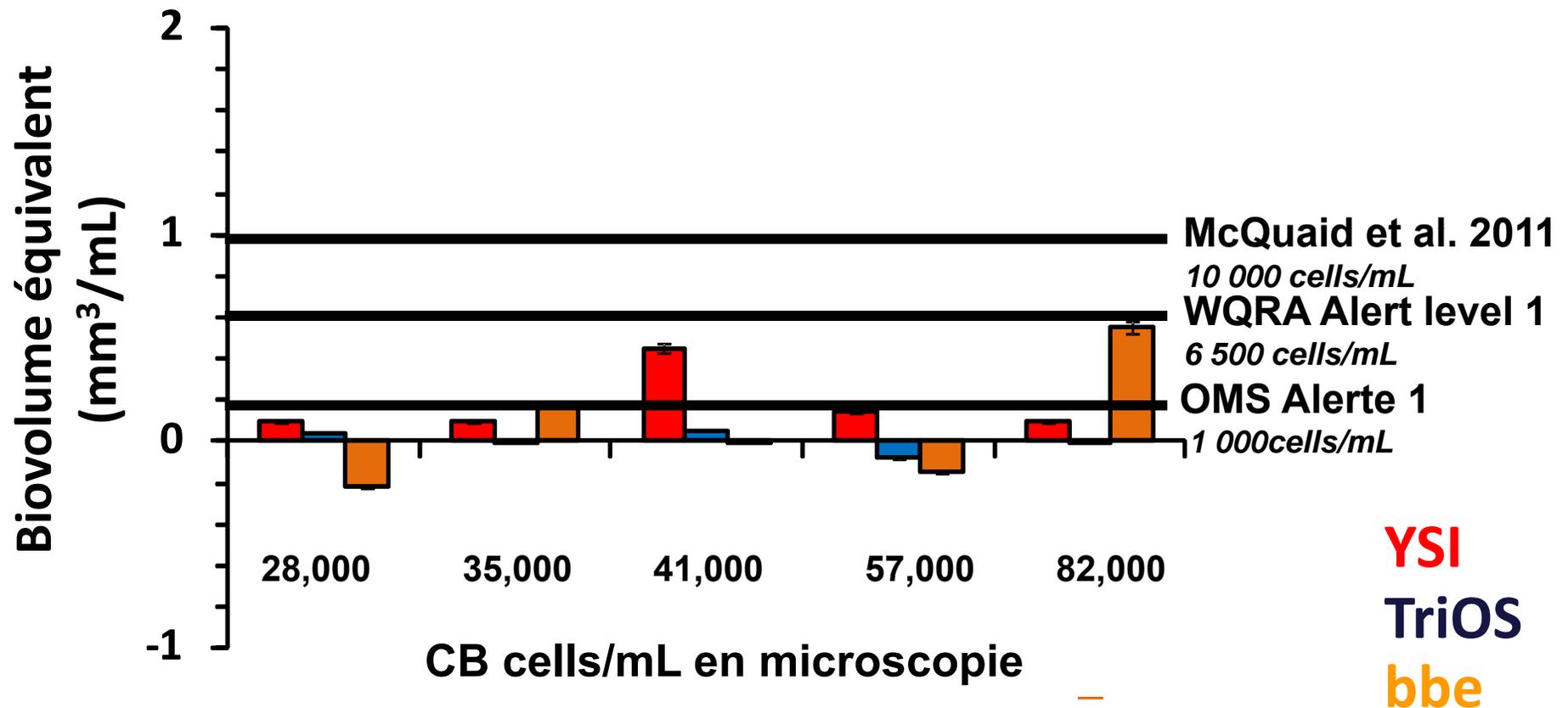
Contribution and interference des algues eucaryotes au signal de fluorescence *in vivo* des sondes à PC



Lectures des sondes YSI (standard + 2 prototypes) et triOS en présence de Pseudokirchneriella subcapitata et de Scenedesmus sp.



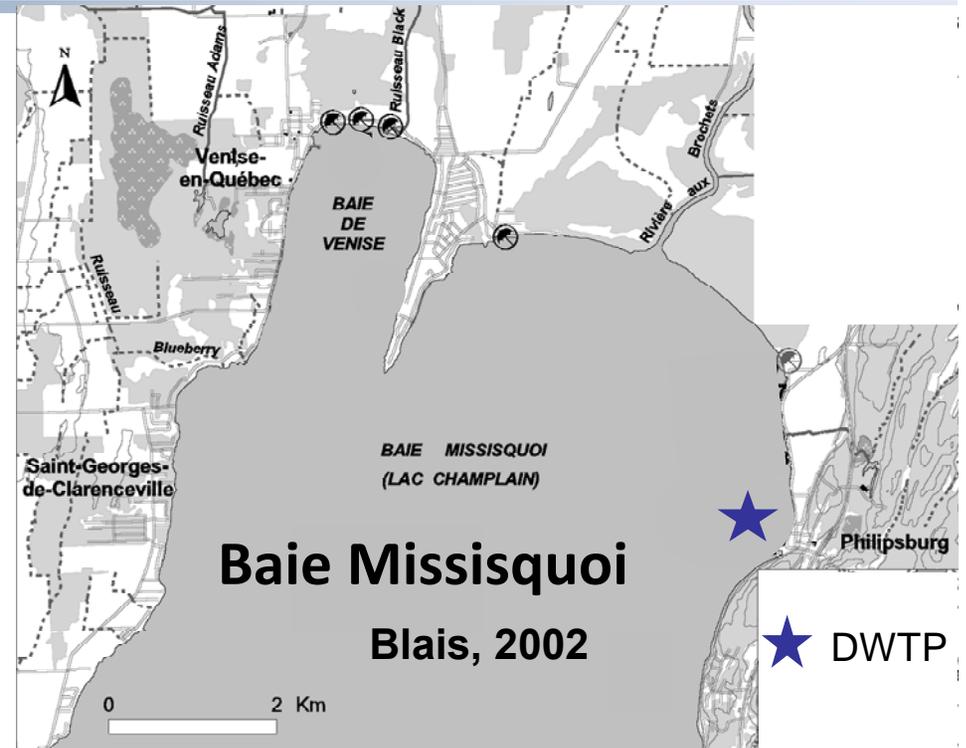
Erreur apportées par la présence des algues eucaryotes à l'estimation de la biomasse de CB estimée par les sondes à PC.



Suspensions de *M. aeruginosa* and mixtes de *M. aeruginosa* & *Pseudokirchneriella subcapitata* en présence de concentration constante de Chla concentration @ 13.0 µg/L).



4.2 Résultats validation terrain



Réservoir Lemieux et Rivière Yamaska

*Lac Williams, Lac Roxton, Fleuve, Lac
St Louis
autres lacs négatifs lors des visites (22
en 2009)*



4.2 Validation terrain des sondes à PC

Détermination de seuils d'alarmes en RFU correspondant aux seuils de l'OMS

Seuils proposés	Microcystine (µg/L)	<i>Microcystis</i> spp. (mm ³ /L)	RFU equiv
OMS Alert Level 1 *		0.2	1.7
OMS Alert Level 2 *		10	10.1
OMS – concentrations MC max dans l'eau potable *	1		1.6
Conc. microcystines (µg/L) avec mortalités**	19.5		6.2

* Chorus, 1999 **Carmicheal, 2001



4.2 Validation terrain des sondes à PC

Estimation du risque potentiel de présence de MC (2007-08)

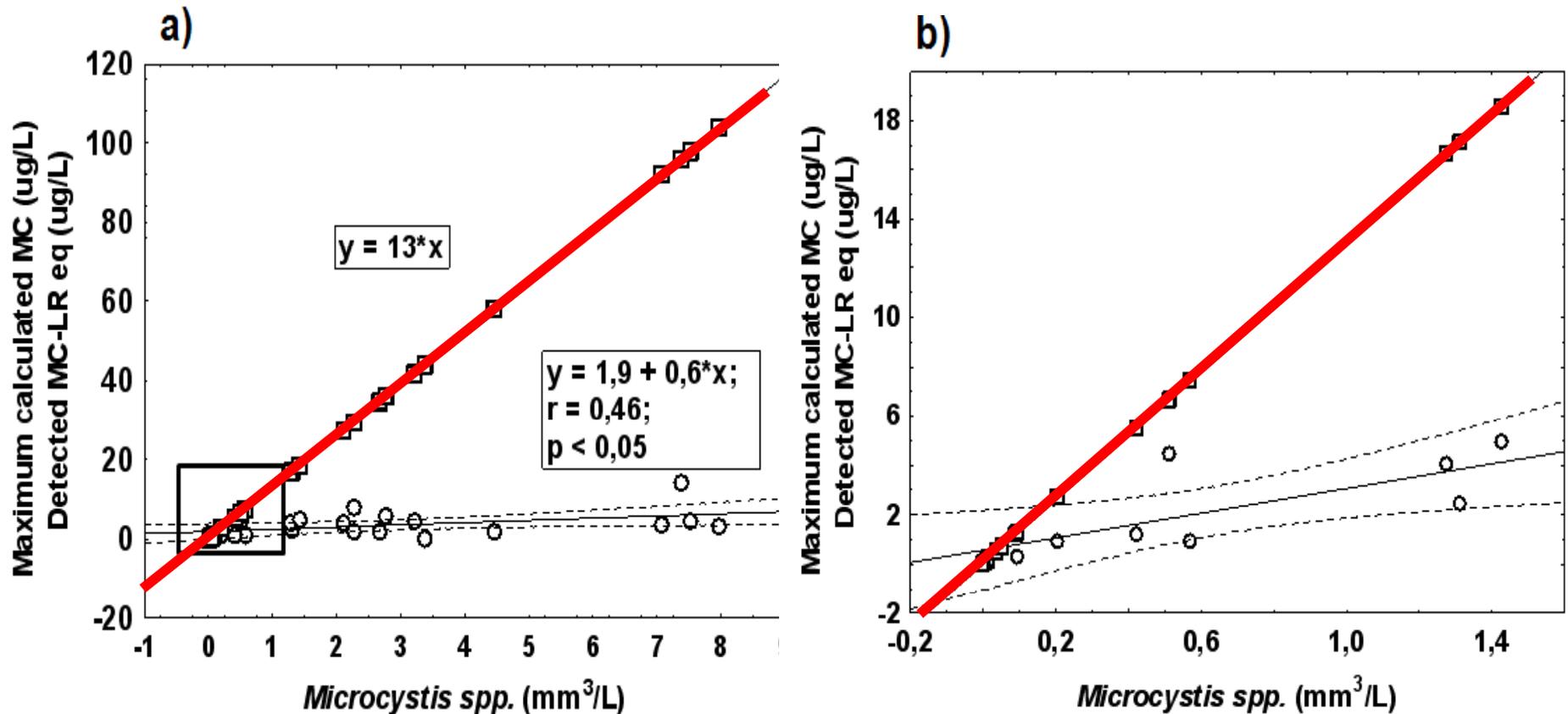
- Fixer des seuils de PC *in vivo* en fonction de la toxicité si le bloom est toxique en utilisant des valeurs réelles
- Facteur de conversion utilisé par les agences réglementaires pour fixer les seuils de nombre ou de biomasse de CB
 - Conversion de 0.2 (pg/cellule) MC pour *Microcystis* sp. (WHO 1999) à (pg/μm³)
- Biovolume de *M. flos-aquae* de 14.1μm³ utilisé pour calculer les seuils de toxicité équivalents pour la Baie de Missisquoi

$$(0.2 \text{ pg of microcystin})/\text{cell} * (1 \text{ cell } M. \text{ flos-aquae})/(14,1 \text{ } \mu\text{m}^3) \\ = 0.014 \text{ pg}/\mu\text{m}^3$$



4.2 Validation terrain des sondes à PC

Estimation du risque potentiel de présence de MC (2007-08)

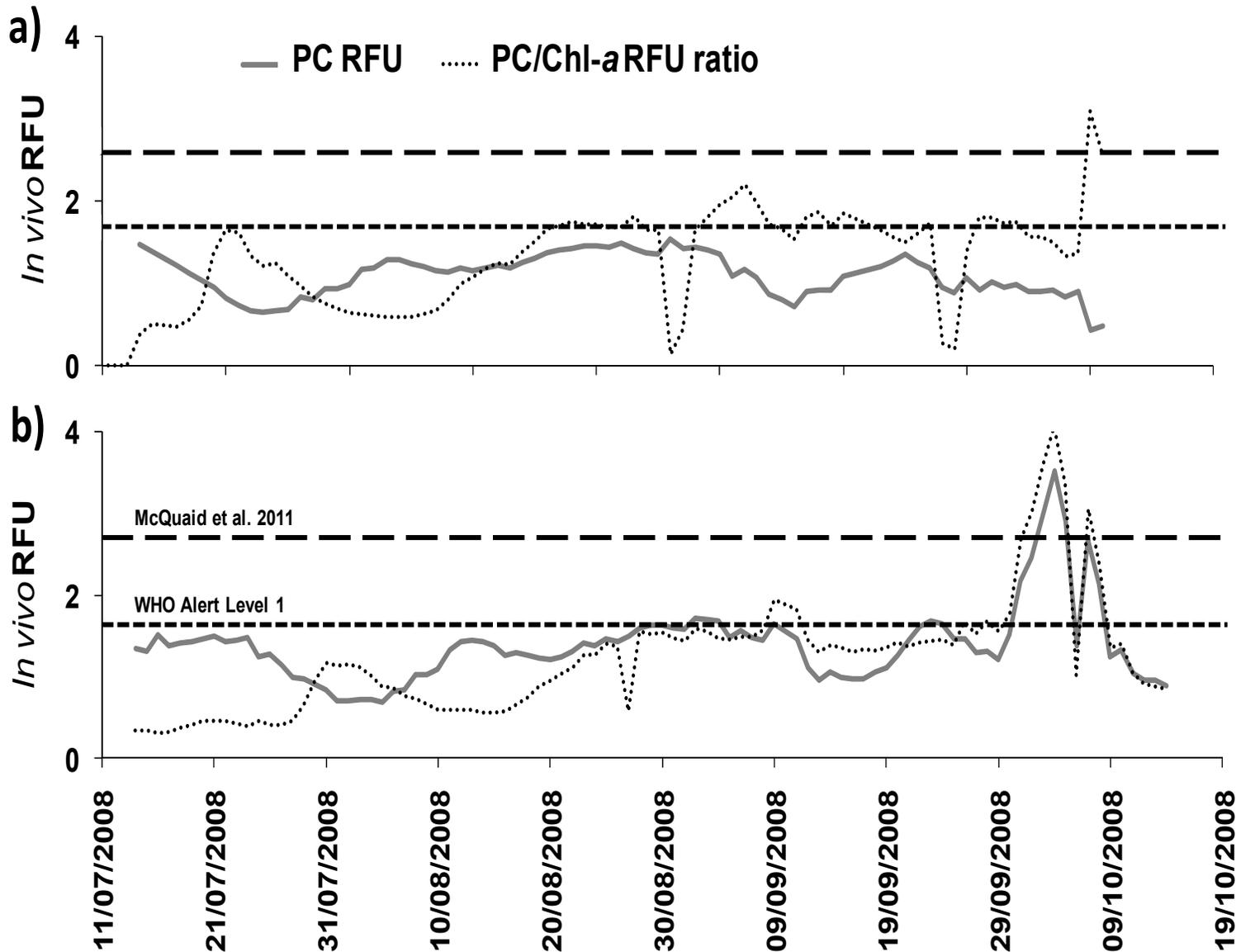


< seuil d'alerte 1 OMS (0.2 mm^3/L) la *microcystine* ($\mu\text{g}/\text{L}$) mesurée sur le terrain s'approche de la concentration théorique max ($\mu\text{g}/\text{L}$)



4.2 Validation terrain des sondes à PC

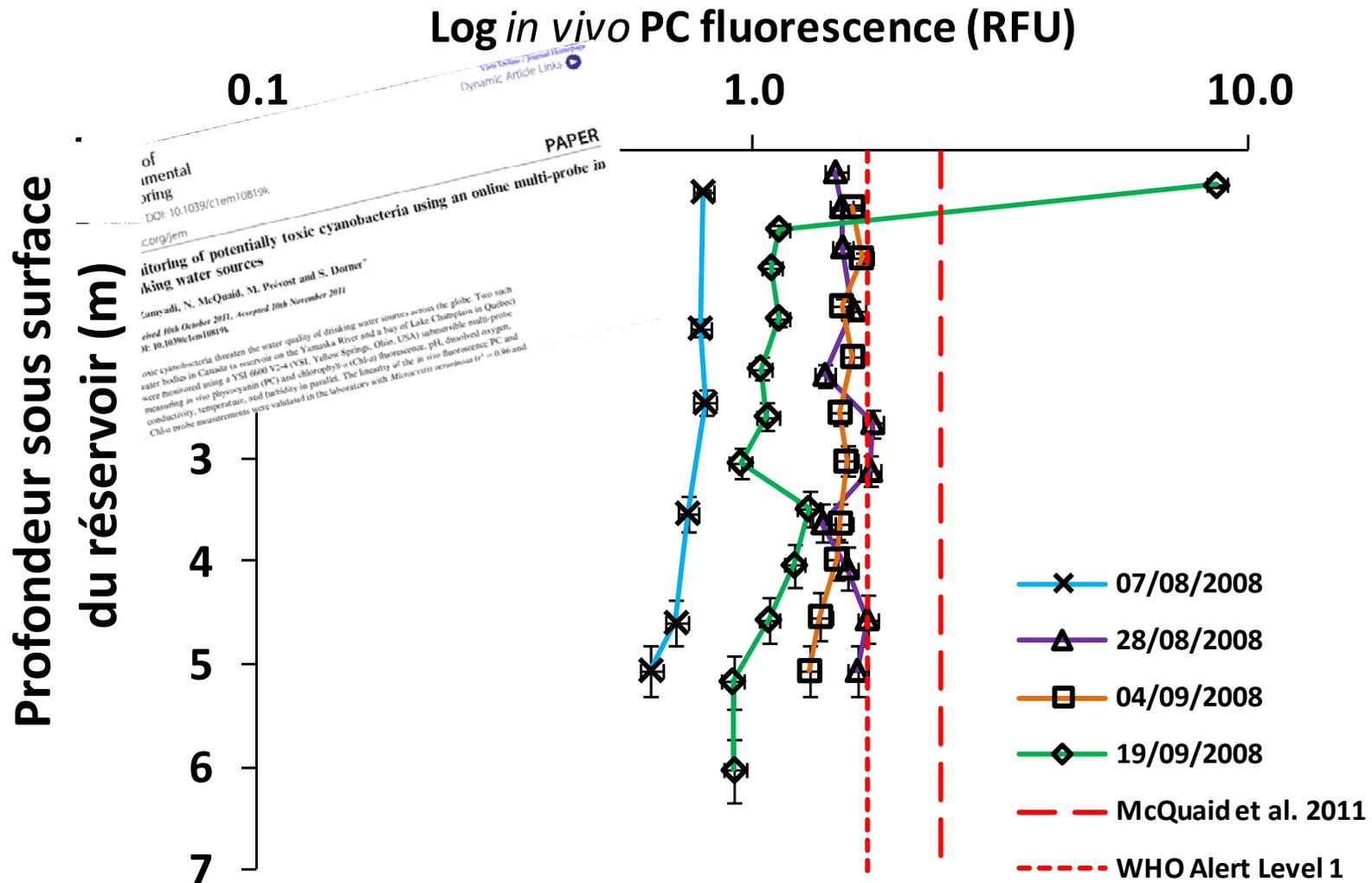
Application à la surveillance des prises d'eau et du plan d'eau – Site Yamaska





4.2 Validation terrain des sondes à PC

Application à la surveillance des prises d'eau et du plan d'eau – Site Yamaska





4. Résultats application terrain

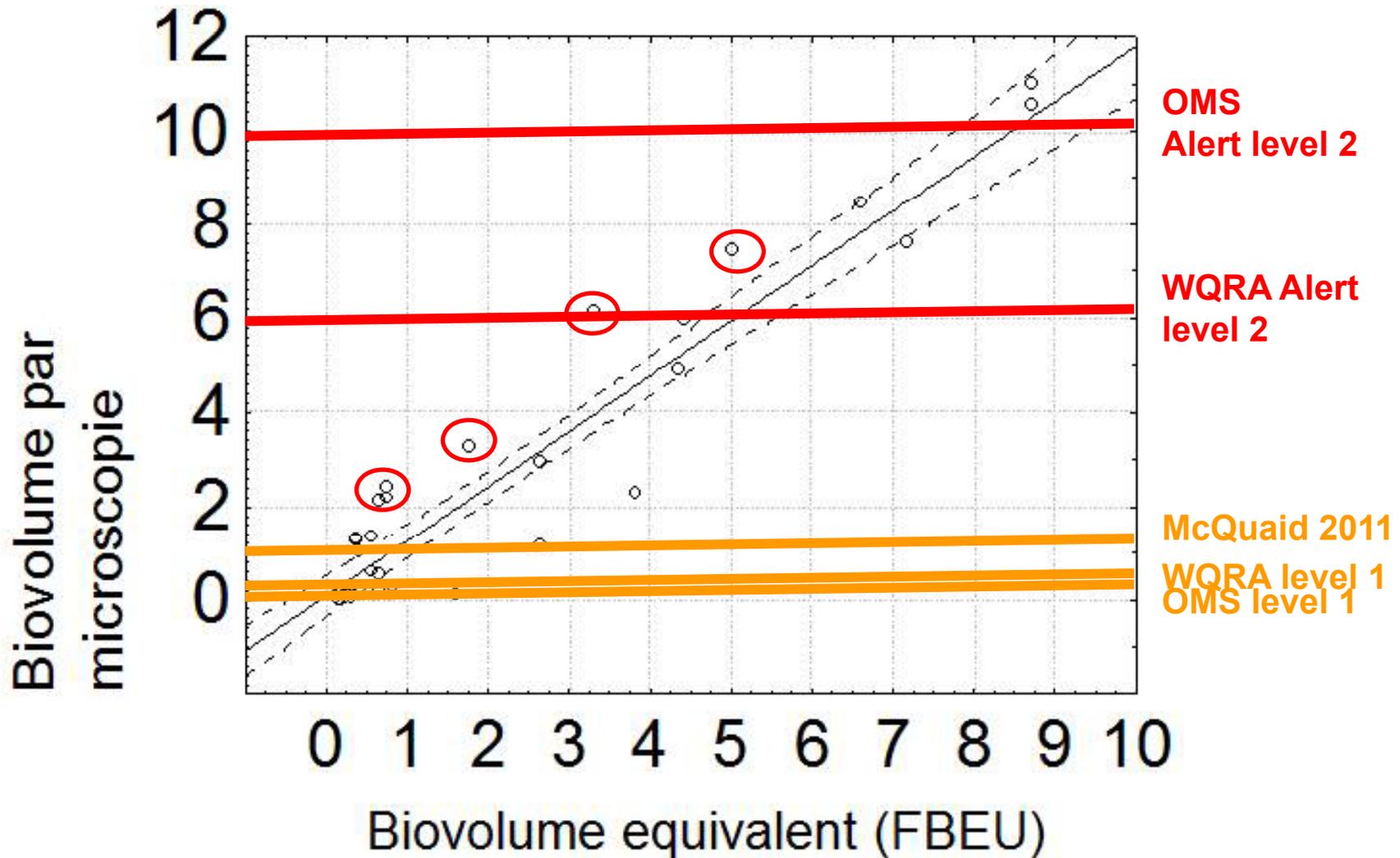
Activité 2.3 Validation de la mesure de la PC *in vivo* dans 50 lacs

- **Collaboration avec de l'UQÀM, MDDEP et EC (#échantillons)**
- **Rivière Yamaska Nord (1), Réservoir Lemieux (1), Lac Waterloo (2), Lac William Basin Nord et Sud (5), Baie Missisquoi (9), Lac Roxton (3)**
- **Pas de résultats:** Lac Tremblant (1), Lac Nomingue (1), Lac Kanawana (1), Lac Kenogamichiche (1), Lac Beaulac (1), Lac Caron (1), Lac Ouellet (1), Lac Vert (1), Réservoir Choiniere (3), etc.
- **Prises d'échantillons pour analyses au laboratoire et mesures *in vivo***
- **Comptes taxonomiques par le laboratoire d'UQÀM**



4.2 Validation terrain des sondes à PC

Application à la surveillance des seuils d'alerte



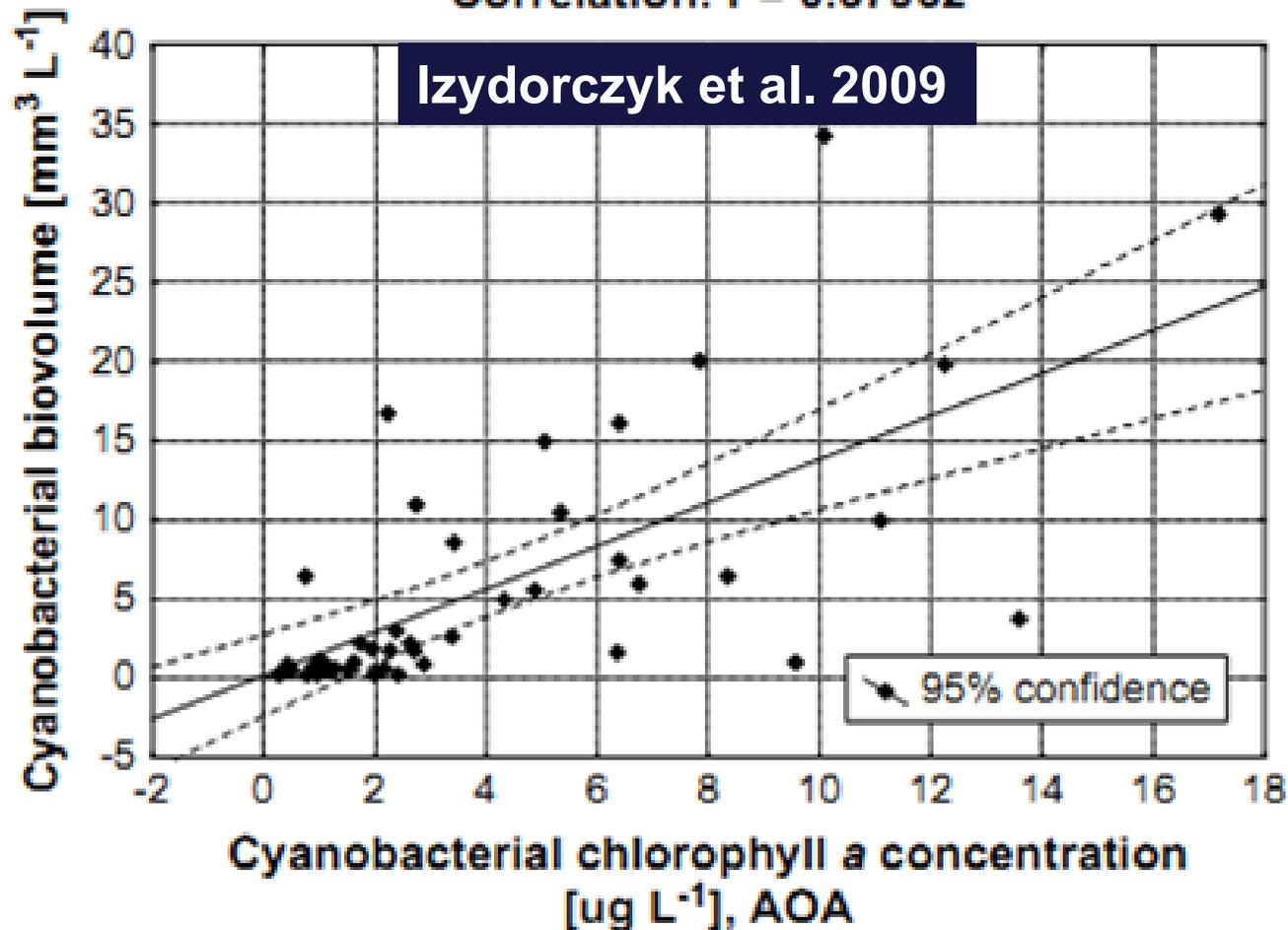


4.2 Validation terrain des sondes à PC

Application à la surveillance des seuils d'alerte

$$\text{BIOVOL} = 0.17959 + 1,3637 * \text{AOA}$$

Correlation: $r = 0.67962$

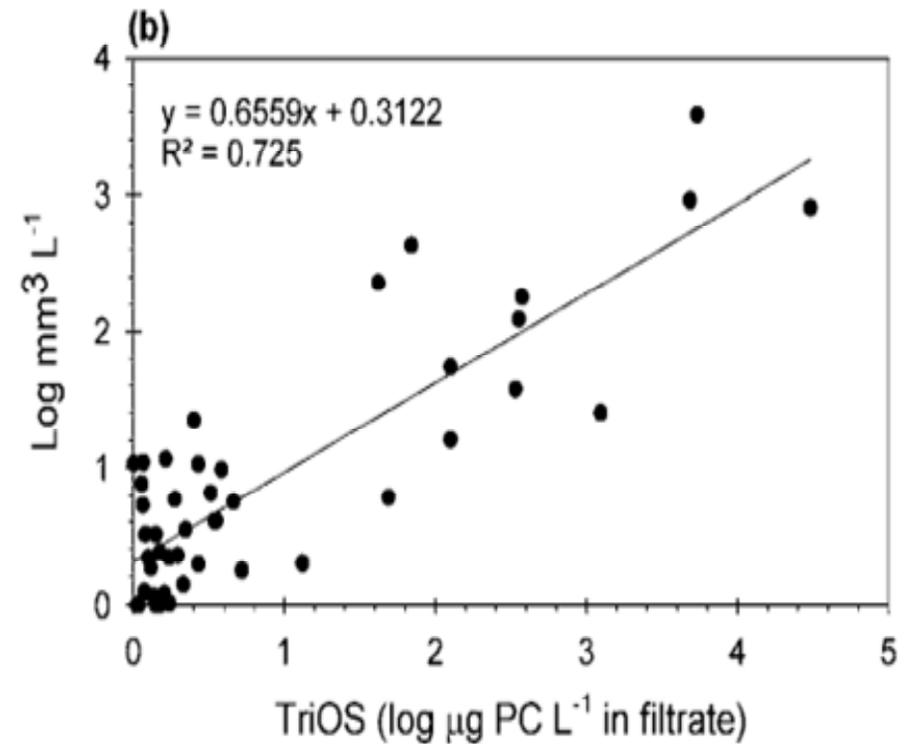
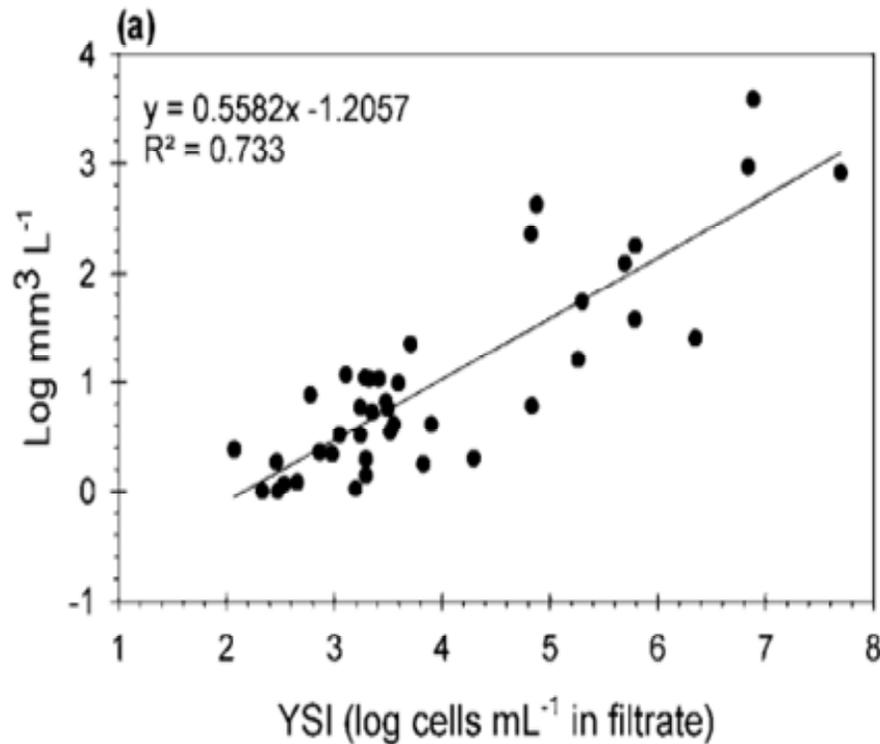




4.2 Validation terrain des sondes à PC

Application à la surveillance des seuils d'alerte

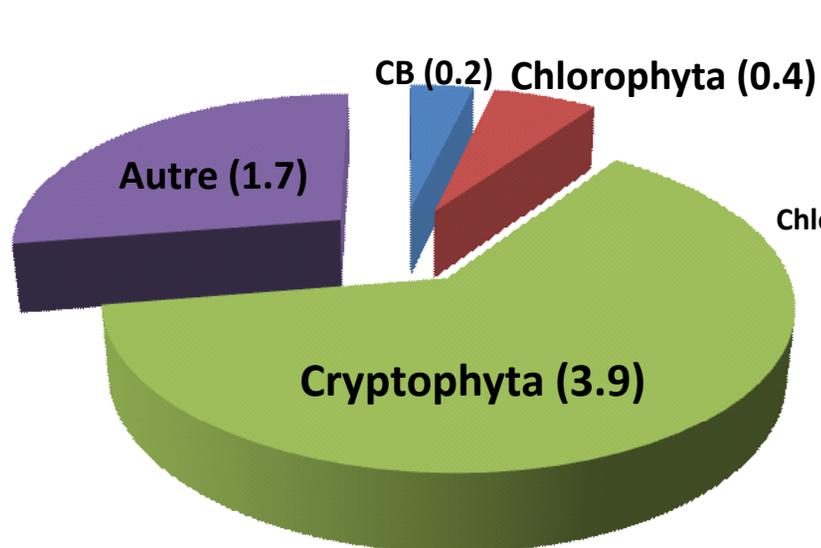
Bastien et al. 2011



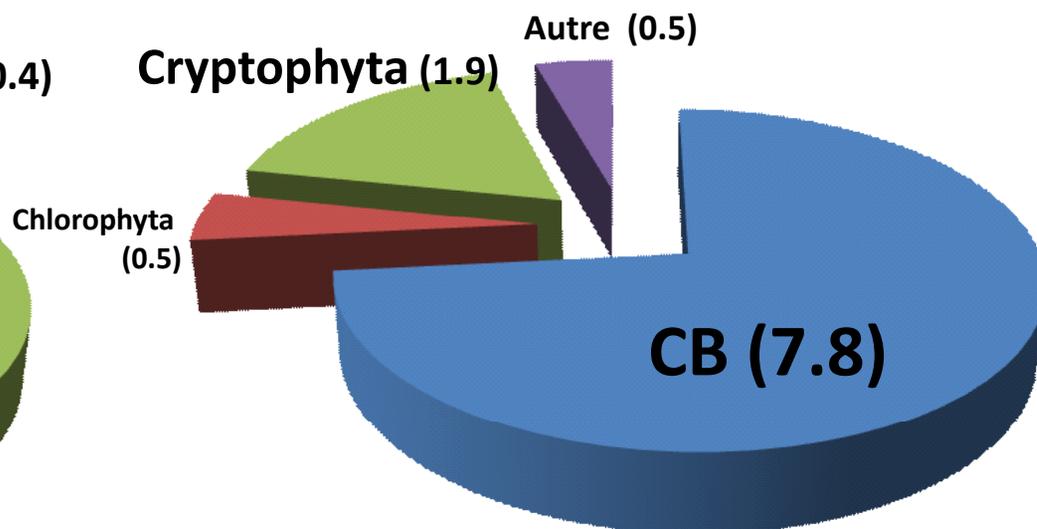


Diversité des biovolumes (mm^3/L) dans des efflorescences de deux lacs

a) Baie de Missisquoi



b) Lac Roxton



**Proportion des biovolumes de blooms naturels
: *Présence non négligeable de Cryptophyta***



5. Production scientifique et diffusion des résultats

- **Rapport de stage d'Arash Zamyadi, 2010**
- **Mémoire M.Sc.A. Natasha McQuaid, 2009**
- **Thèse de doctorat d'Arash Zamyadi, 2011**
- **Présentations dans des conférences (17)**
- **Publications scientifiques (3)**
 1. **McQuaid, N., Zamyadi, A., Prévost, M., Bird, D. F. & Dorner, S. Use of in vivo phycocyanin fluorescence to monitor potential microcystin-producing cyanobacterial biovolume in a drinking water source. Journal of Environmental Monitoring 13, 455-463 (2011).**
 2. **Zamyadi, A., McQuaid, N., Prévost, M., and Dorner, S. (2011) Monitoring of potentially toxic cyanobacteria using an online multi-probe in drinking water sources, Journal of Environmental Monitoring View Online.**
 3. **Zamyadi, A., McQuaid, N., Dorner, S., Bird, D. F., Burch, M., Baker, P., Hobson, P., and Prévost, M. (2011) Cyanobacteria detection using in vivo fluorescence probes: managing interferences for improved decision-making (Accepté), Journal of the American Water Works Association.**



5. Production scientifique et diffusion des résultats

Réseautage pour collecte et partage d'information:

- **Lee Bowling New South Wales Office of Water**
- **Présentation conseil Ville de Bedford**
- **AWQC Knowledge transfer seminar and interest group**
- **Brisbane, Southeast Queensland water reserach workshop**
- **Environnement Canada (C. Hudon, J.P. Amyot),**
- **Université de Montréal (A. Cattaneo)**
- **INRS (Isabelle Laurion)**
- **CEAEQ (E. Veilleux)**
- **MDDEP (S. Blais, H. Tremblay, S. Blais)**
- **fabricant des sondes utilisées dans ce projet (R. Ellison, YSI)**
- **représentants des municipalités (Montréal, Laval, Pointe Claire, Repentigny, Granby, etc.)**



6. Travaux en cours

- **Interférences à la mesure des cyanotoxines – publication en préparation**
- **Stabilité de la PC vs toxines**
 - **Travaux PhD de Ehsan Maghsoudi avec S. Dorner
ÉPM**
- **Analyse de la base de donnée du MDDEP**
 - **Fin des travaux de Sisi Zhao (M.Sc.A) – printemps 2012**
- **Rapport final d'activités**
- **Formulation des recommandations d'utilisation pour le monitoring des prises d'eau potable au Québec**



Conclusions

- Le biovolume a un impact majeur sur les mesures de PC et les valeurs de fluorescence correspondant à des biovolumes devraient être utilisées pour fixer les seuils d'alerte
- Les sondes à PC *in vivo* peuvent être utilisées pour surveiller les seuils d'alarmes de plus de 10,000cellules/mL
- La fluorescence *in vivo* PC est corrélée à la concentration extraite de Chl a et de PC
- La principale interférence est la présence d'algues vertes qui donne un faux signal de lecture de PC
 - mesure simultanée de Chl a et PC: incontournable pour estimer l'interférence potentielle des algues vertes.
- Mesures *in vivo* peuvent être utilisées pour estimer les biovolumes mais le choix des sondes influence les résultats. Toutes les sondes testées avaient des interférences plus ou moins prononcées
- La mesure *in vivo* PC fluorescence permet d'estimer le biovolume de CB qui peut ensuite être relié à un potentiel de toxicité