

Des agents pathogènes dans l'eau (potable)?

Malgré la bonne qualité de l'eau potable dans la plupart des pays industrialisés, on a assisté ces dernières années à plusieurs reprises à des «accidents» dus à des contaminations de l'eau par des micro-organismes qui se sont parfois manifestées par des sortes d'épidémies. Pour contrôler la qualité microbiologique de l'eau potable, on détermine par des analyses de routine le nombre d'organismes indicateurs. Parmi eux, on compte p. ex. des entérobactéries inoffensives que l'on trouve dans la flore intestinale de l'homme et de certains mammifères. Pour certains agents pathogènes qui ont proliféré ces dernières années, la méthode basée sur les indicateurs semble cependant inadaptée. On fait alors de plus en plus souvent appel à des techniques moléculaires basées sur des principes biochimiques, génétiques et immunologiques. Elles permettent la détection sélective de pathogènes donnés et sont du reste bien souvent plus sensibles et plus rapides que les méthodes de contrôle conventionnelles.

On trouve des micro-organismes dans toutes les eaux. Un problème se pose lorsque les virus, bactéries ou protozoaires avec un potentiel pathogène humain sont présents en trop grand nombre [1]. Cette règle n'est pas que valable pour l'eau potable. La transmission de maladies d'origine microbienne se fait le plus souvent par la consommation de fruits, de légumes et de salades crues qui sont entrés en contact avec de l'eau contaminée lors de leur irrigation dans le jardin ou bien au moment de leur rinçage. De même, le bain ou la douche constituent une voie de contamination envisageable. Pour l'élevage de poissons, de crustacés et de mollusques en aquaculture industrielle, il est également indispensable d'utiliser de l'eau exempte de pathogènes.

Le siècle des épidémies par l'eau potable

Les maladies dues à de l'eau potable contaminée par des pathogènes sont caractérisées par des symptômes aigus provoqués par la prolifération de l'agent pathogène dans le corps de son hôte. Par opposition, on observe généralement une symptomatologie de type chronique lorsque la maladie est causée par une eau potable contaminée par des polluants chimiques. Au XIX^e siècle, «le siècle des épidémies par l'eau

potable», les contaminations de l'eau potable faisaient partie du lot quotidien des habitants de l'Europe centrale. Surtout les grandes villes européennes ont vu s'abattre sur elles des épidémies de choléra, de ty-

phus et de dysenterie principalement dues à la mauvaise qualité de leur approvisionnement en eau potable et ont vu mourir près de 50% des personnes infectées. Aujourd'hui encore ces épidémies «classiquement» transmises par l'eau potable apparaissent de façon sporadique dans les pays industrialisés, de manière très localisée cependant. Certains cas récents sont présentés dans le tableau 1.

En général, la qualité de l'eau potable suisse est excellente et il n'y a pas lieu de s'inquiéter. Bien que plus de 60% de l'eau potable soit distribuée sans traitement préalable, elle respecte les normes imposées par la loi. Il est par contre probable qu'une grande partie des cas d'infection dues à l'eau potable ne soient jamais signalés. Il serait donc souhaitable d'améliorer en Suisse les enquêtes épidémiologiques en introduisant une obligation de déclaration de ces cas comme c'est d'usage aux USA, en Angleterre, en Australie ou en Suède.

Année	Lieu	Cause	Cas de maladies (et de décès)
2001	Pamplona, SP	Infection de <i>Legionella</i> à l'hôpital	18 (3)
2001	Paris, F	Infection de <i>Legionella</i> à l'hôpital	12 (6)
2001	Murcia, SP	Cas de légionellose dans la commune	315 (2)
2000	Walkerton, CAN	Des pluies torrentielles provoquent la contamination de l'eau potable par des <i>E. coli</i> entérohémorragiques (EHEC), pathogènes provenant du purin des bovins	2 000
1998	La Neuveville, CH	Une avarie au niveau du système de pompage entraîne une rétention des eaux usées et leur débordement dans les eaux souterraines. Agents pathogènes: <i>Shigella sonnei</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>	1 600
1998	Toute la Suisse	Légionelloses	78 (8)
1993	Milwaukee, USA	Des filtres défectueux dans le système de traitement de l'eau potable entraînent la propagation d'oocystes de <i>Cryptosporidium parvum</i> très résistants à la chloration	403 000
1979/80	Ismaning, DE	La contamination d'un captage d'eau potable due à des conduits d'évacuation des eaux usées défectueux entraîne la propagation de dysenterie bactérienne (notamment <i>Shigella</i>)	2 450
1963	Zermatt, CH	Le déversement d'eaux usées non traitées dans le Zmuttbach qui sert à l'approvisionnement en eau potable accompagné d'une panne au niveau de la chloration à Zermatt entraîne la propagation de <i>Salmonella typhi</i>	437

Tab. 1: Exemples d'accidents importants par l'eau potable dans les pays industrialisés.

La progression de la maladie du légionnaire

On assiste dans les pays industrialisés à une multiplication des cas de maladies dues à de «nouveaux» agents pathogènes (Tab. 2). En fait, il s'agit en général de micro-organismes déjà connus mais n'ayant jusqu'à présent que rarement joué un rôle pathogène. On peut p. ex. citer le cas de la maladie du légionnaire qui apparaît de plus en plus souvent ces derniers temps. Cette maladie est provoquée par la bactérie *Legionella pneumophila* qu'on trouve ainsi que ses cousins les plus proches en petit nombre dans toutes les eaux naturelles car ils sont capables de survivre dans les amibes et les biofilms et sont inoffensifs lorsqu'ils atteignent le corps humain par la boisson. Par contre, si cette bactérie pénètre dans les poumons par aspiration d'aérosols, elle peut y provoquer de graves pneumonies (Tab. 2). Les aérosols sont produits p. ex. dans les douches ou dans les locaux climatisés. Cependant, seules les installations d'eau chaude fonctionnant à une température inférieure à 55 °C présentent un danger potentiel. Les légionelles se sentent alors particulièrement à leur aise et se multiplient à loisir. Ces dernières années, c'est surtout dans les hôpitaux que la maladie du légionnaire a entraîné la mort de nombreux patients. D'après l'Office Fédéral de la Santé Publique, la Suisse recense en

Pathogènes	Symptômes de maladie	
Bactéries	<i>Escherichia coli</i> pathogène (EHEC)	Dyspepsie, (graves) diarrhées
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Dermatoses et otites
	<i>Legionella pneumophila</i>	Pneumonies, «Fièvre de Pontiac»
	<i>Aeromonas hydrophila</i> entre autres	Diarrhées, inflammations tissulaires
	<i>Campylobacter jejuni</i> entre autres	Infections intestinales, diarrhées
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Entérites, entérocolites, ev. arthrite
	<i>Chlamydia</i>	Inflammations des yeux
Virus	Calicivirus	Infections grippales, grippe estivale, maux de gorge
	Rotavirus	graves diarrhées surtout chez les enfants
	Hépatite A	Hépatite infectieuse
	Virus Norwalk (petit virus rond)	Infections intestinales surtout chez les enfants en hiver
Protozoaires et parasites	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Diarrhées, dangereux pour les enfants, les personnes âgées et les malades du SIDA
	<i>Pfisteria</i>	Provoque surtout des maladies chez les poissons
	<i>Giardia intestinalis</i>	Diarrhées

Tab. 2: «Nouveaux» micro-organismes et virus pathogènes et maladies qu'ils provoquent. On ne dispose pour bon nombre d'entre eux que de connaissances partielles sur leurs occurrences, leurs voies de propagation, leurs effets et leur dose infectieuse.

moyenne 40 à 80 cas par an, 10% des patients ne survivent pas à la maladie [1, 2]. Les «nouveaux agents pathogènes» qui sont responsables d'un grand nombre de cas de maladies gastro-intestinales dues à l'eau (potable) sont probablement des virus.

La méthode basée sur les indicateurs: avantages et inconvénients

Le contrôle de qualité microbiologique de routine de l'eau potable (et également des eaux minérales, de baignade et à usage industriel) n'est pas basé sur la recherche d'agents pathogènes. Une telle analyse serait beaucoup trop coûteuse. On part plutôt du principe selon lequel les agents pathogènes sont libérés en même temps que les bactéries intestinales inoffensives avec les excréments d'humains ou d'animaux malades et qu'ils sont répandus. C'est pourquoi on se sert «d'organismes indicateurs» qui permettent de signaler une éventuelle contamination de l'eau par des excréments humains ou animaux. D'après

l'Organisation Mondiale de Santé, l'OMS, un indicateur doit:

- être libéré par l'hôte et être présent en même temps que les agents pathogènes,
- être présent en nombre plus important que les agents pathogènes,
- se trouver de manière spécifique dans les excréments,
- être plus résistant au stress environnemental et à la désinfection que les agents pathogènes,
- être lui-même inoffensif,
- être facilement détectable et quantifiable.

Cette liste montre bien qu'il n'existe pas d'indicateur «idéal» pour les différents agents pathogènes. On utilise à l'heure actuelle une série d'organismes comme indicateurs standards (Tab. 3). La mise en évidence d'*Escherichia coli*, une bactérie intestinale, ou d'entérocoques et la détermination du nombre total de germes de bactéries hétérotrophes (ces dernières n'étant pas indicatrices d'agents pathogènes mais du degré d'eutrophisation de l'eau) sont des méthodes standards appliquées dans le monde entier. D'autres bactéries ou virus peuvent être également utilisés comme indicateurs en fonction des besoins et des particularités régionales. En Suisse, les valeurs standards d'*Escherichia coli* et d'entérocoques dans des échantillons d'eau sont de 1 germe pour 100 ml d'eau potable non traitée et de 5 germes pour 100 ml d'eau de source. On a bien vu dans le cas du Milwaukee (Tab. 1) que *E. coli* ne se prêtait pas toujours comme organisme indicateur. Bien que l'eau potable y ait été suffisamment chlorée et que le nombre de germes d'*E. coli* ait été inférieur aux directives légales, une épidémie de cryptosporidiums s'est déclarée. Ce phénomène s'explique

Organisme indicateur	% dans les excréments de mammifères	Nombre par g d'excréments	Avantages	Inconvénients
<i>Escherichia coli</i>	100	10 ⁷ -10 ⁹	Facile à compter	Moins résistant que certains pathogènes
Enterococci	100	10 ⁵ -10 ⁶	Ubiquité dans l'eau	Réservoirs dans la nature
<i>Clostridium perfringens</i>	13-35	10 ⁶ -10 ⁷	Résistant dans la nature et à la désinfection	Difficile à cultiver car demande des techniques anaérobies
Coliphages (spécifiques des excréments)	6	10 ¹ -10 ²	Ev. comme modèle pour les entérovirus	Non résistant dans la nature

Tab. 3: Organismes indicateurs actuellement utilisés pour la détection de contaminations de l'eau (potable) par des matières fécales et éventuellement des agents pathogènes microbiens.



P. Nadler, Kuesnacht

Une eau saine – cela s'entend?

par la présence d'oocytes (formes de latence) de ces organismes qui sont très résistants à la chloration.

Méthodes de détection traditionnelles et moléculaires

Le problème spécifique et délicat de l'analyse de l'eau potable réside dans la nécessité de détecter un petit nombre d'organismes dans un grand volume d'eau. On commence donc en général une analyse par une étape de concentration. Dans les méthodes classiques en plaques qui sont faciles à réaliser et peu onéreuses, des cellules isolées d'*E. coli* et d'entérocoques sont appliquées sur une plaque d'agar avec des milieux de culture sélectifs pour se multiplier et donner des cultures visibles et quantifiables. Cette méthode est cependant très longue: il faut compter jusqu'à 3 jours avant d'obtenir des résultats. Elle présente d'autre part l'inconvénient d'une sélectivité assez faible.

Si on ne souhaite pas se fier au décèlement d'organismes indicateurs et qu'on veuille détecter directement les agents pathogènes, la situation se complique. En effet, pour de nombreux pathogènes il n'existe souvent pas des méthodes de culture convenables ou bien les techniques disponibles sont très complexes et onéreuses. C'est pourquoi on envisage depuis quelques années de recourir à des méthodes moléculaires pour l'analyse microbiologique de l'eau potable [3]. Bon nombre de ces méthodes ont été développées pour le diagnostic médical de maladies d'origine microbienne et sont employées avec succès dans ce domaine. Elles ne peuvent malheureusement pas être appliquées telles

quelles à l'analyse de l'eau potable et doivent être adaptées à ce domaine particulier. Les méthodes moléculaires permettent p. ex. de déceler des fragments d'acide nucléique qui présentent une séquence spécifique, typique de certains agents pathogènes. Même si un seul germe et donc un seul fragment présentant la séquence visée se trouve dans un échantillon d'eau, il est théoriquement possible de le multiplier à l'aide de l'amplification en chaîne par polymérase (PCR = polymérase chain reaction) jusqu'à ce qu'il soit présent dans une quantité détectable. D'autres méthodes se basent sur la détermination immunologique de composants cellulaires spécifiques des pathogènes à l'aide d'anticorps (récapitulation dans le rapport de l'OCDE en préparation). Une liaison des anticorps ou fragments d'acide nucléique à un colorant facilite encore la détection. Les méthodes moléculaires sont donc nettement plus efficaces que les techniques classiques quant à la sélectivité et le temps qu'elles nécessitent. Pour certaines méthodes moléculaires, un traitement automatisé des échantillons est même envisageable. Dans les années à venir, les méthodes moléculaires joueront surtout un rôle dans les études fondamentales ayant pour objet la caractérisation du comportement de micro-organismes pathogènes et de virus lors des épidémies. Par contre, elles ne pourront être appliquées qu'exceptionnellement dans le cadre des analyses de routine. On place cependant beaucoup d'espoir dans ces nouvelles méthodes d'identification des virus. Les visions actuelles en ce qui concerne la détection des germes pathogènes vont des bâtonnets de test aux mesures directes

faisant appel à des fibres de verre pourvus d'anticorps et qui émettent des signaux lumineux au contact de pathogènes, ces signaux étant détectables au moyen de fibres optiques.

Approche holistique pour une eau potable saine et de qualité irréprochable

On assiste actuellement dans le monde entier à un développement et à une validation des techniques moléculaires d'analyse de l'eau potable dont l'efficacité est mise en comparaison avec celle des méthodes classiques. Par ailleurs, un groupe de travail commun à l'OCDE et à l'OMS, et dans lequel des représentants de l'EAWAG jouent un rôle décisif, s'attache à l'élaboration d'une directive qui devrait paraître encore cette année. Ce document présente un récapitulatif des concepts et méthodes actuels d'analyse microbiologique de l'eau potable ainsi que quelques pensées sur l'avenir. Les experts ont convenus qu'il n'est pas nécessaire de développer des concepts complètement nouveaux. Ils recommandent surtout d'adopter une approche holistique. Cela signifie qu'il faut intégrer dans le concept de barrière actuel (stations d'épuration, périmètres de protection, désinfection lors du traitement de l'eau potable, etc.) des informations supplémentaires sur les ressources en eau, le climat, l'hydrogéologie, le contrôle du traitement des eaux (destinées à la consommation), le recensement épidémiologique des maladies dues à l'eau et l'évaluation des risques.



Wolfgang Köster, microbiologiste et chef du groupe «Biologie de l'eau potable» dans la division «Microbiologie de l'environnement et écotoxicologie moléculaire» de l'EAWAG. Domaines de recherche: Stratégies de survie des micro-organismes dans les systèmes aquatiques, méthodes

de détection moléculaires, processus de transport dans les micro-organismes.

Coauteurs: Thomas Egli et Annette Rust

[1] BAG, Abteilung Epidemiologie und Infektionskrankheiten (1999): Legionellose in der Schweiz von 1995 bis 1998. Bulletin Bundesamt für Gesundheit 36/99, 690–693.

[2] McFeters G.A. (ed.) (1990): Drinking water microbiology. Springer Verlag, New York, 502 p.

[3] Rose J.B., Grimes D.J. (2001): Reevaluation of microbial water quality. American Academy of Microbiology, 18 p. Voir sous: <http://www.asmsusa.org/acasrc/pdfs/water2.pdf>

Pour plus d'informations:

http://www.eawag.ch/publications_e/proceedings/oecd.html

<http://www.bag.admin.ch/infekt/krank/legio/f>

<http://www.asmsusa.org/pasrc/sdwa.htm>

<http://www.asmsusa.org/pasrc/coliform.htm>