

# L'eau potable contaminée en zone rurale?

**En général, l'eau de consommation provenant des captages situés en zone rurale est peu traitée ou ne l'est pas du tout. Or cette eau-là est particulièrement susceptible d'être contaminée par les lisiers ou les excréments des animaux en pacage. Les formes de résistance des cryptosporidies jouent un rôle important dans ce processus de contamination. Dans 9 des captages d'eau potable étudiés en zone rurale sur 15, la présence de cryptosporidies a effectivement été constatée. Reste à savoir si cette contamination représente un danger pour la population humaine.**

Les contrôles microbiologiques de la qualité des eaux potables prévus par la loi se limitent à la détection de *E. coli* et des entérocoques ainsi qu'à la détermination du nombre total de germes. C'est pourquoi les germes pathogènes résistants comme les cryptosporidies (voir encadré p. 10) restent en général insoupçonnés. Alors que *E. coli* disparaît très rapidement dans le milieu naturel, les formes de résistance des cryptosporidies appelées oocystes (Fig. 1) restent infectieuses pendant plusieurs semaines à plusieurs mois. De plus, les cryptosporidies sont capables de survivre dans l'eau chlorée, contrairement à *E. coli*. De ce fait, une eau potable remplissant les critères de qualité fixés par la loi peut fort bien contenir des germes pathogènes.

Les captages les plus menacés sont ceux situés dans les régions agricoles car l'eau peut facilement y entrer en contact avec les lisiers et les excréments d'animaux en pacage. Les animaux infectés par les cryptosporidies libèrent avec leurs excréments des germes infectieux qui peuvent alors se retrouver dans l'eau potable. Etant donné que cette eau n'est pas du tout ou peu traitée, l'EAWAG a voulu savoir quel était le risque d'une infection par les cryptosporidies suite à la consommation d'eau potable provenant des zones agricoles.

## Les cryptosporidies sont largement répandues

Pour traiter cette question, nous avons prélevé des échantillons d'eau dans 15 captages ruraux répartis sur toute la Suisse. L'eau prélevée a été soumise en parallèle aux

analyses prévues par la loi sur les denrées alimentaires et à un dosage des cryptosporidies (voir encadré). 9 des 15 captages

étudiés étaient effectivement contaminés par des cryptosporidies (Fig. 2). Jusqu'à présent, les concentrations mesurées en Suisse ne dépassent pas 3,83 oocystes/l dans les eaux de surface [1], 1,6 oocystes/l dans les eaux de source karstiques [2] et 0,25 oocystes/l dans l'eau potable [3]. Nos valeurs sont également de cet ordre.

D'autre part, 4 des 9 captages présentant des cryptosporidies étaient également contaminés par *E. coli*, une bactérie d'origine fécale (Fig. 2). L'eau provenant de ces captages ne remplissait donc pas les critères de qualité fixés pour l'eau potable.

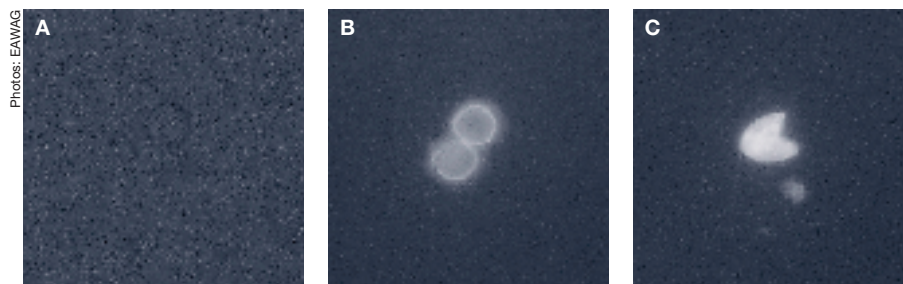


Fig. 1: Les oocystes de cryptosporidies sont à peine visibles en microscopie photonique classique (A). Le marquage de leur surface à l'aide d'anticorps associés à des colorants fluorescents permet de les observer en microscopie à fluorescence (B). Dans l'intestin grêle de leur hôte, les oocystes de cryptosporidies entrent en phase de germination (C) et libèrent 4 sporocystes. Ce processus est appelé excystation. Les sporocystes attaquent ensuite les cellules épithéliales où elles forment de nouveaux oocystes.

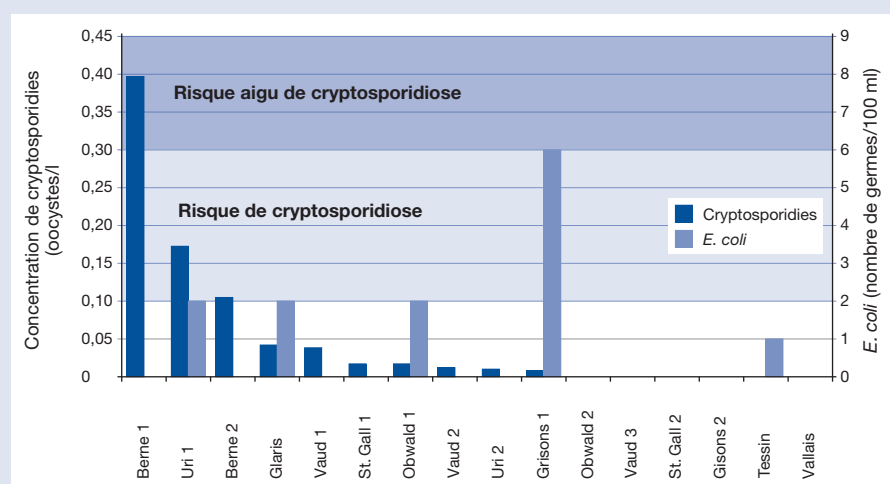


Fig. 2: Concentrations de cryptosporidies et d'*E. coli* mesurées dans des échantillons provenant de 15 captages d'eau potable en zone rurale, classés par ordre décroissant de contamination par les cryptosporidies. Berne 1 est un captage public. Dans l'intervalle de concentration 0,1-0,3 oocystes/l, il est possible que la maladie se déclare dans la population humaine; au-delà de 0,3 oocystes/l, des épidémies peuvent même se déclencher.

Dans les 5 captages restants, les dosages d'*E. coli* n'indiquaient pas de contamination fécale. Un autre captage présentait quant à lui un taux élevé d'*E. coli* sans renfermer de cryptosporidies.

### **Clostridium est un mauvais indicateur de cryptosporidies**

La directive européenne sur l'eau potable [4] considère *Clostridium perfringens*, un microorganisme dont les spores peuvent persister très longtemps dans le sol, comme un paramètre indicateur de germes pathogènes résistants d'origine fécale en partant du principe suivant: si aucun germe de *Clostridium* n'est décelable dans 100 ml d'eau, celle-ci est considérée comme étant exempte de toute autre forme de résistance parasitaire, notamment d'oocystes de cryptosporidies. Si ce postulat est valable, alors tous les échantillons d'eau contaminés par des cryptosporidies doivent impérativement contenir des germes de *Clostridium*. Pour vérifier l'existence d'une telle relation, nous avons effectué des dosages de *Clostridium* dans les échantillons prélevés dans les 15 captages d'eau potable. Nos résultats n'indiquent aucune corrélation entre la présence de cryptosporidies et celle de l'indicateur fécal résistant. Seuls deux captages d'eau potable étaient contaminés par *C. perfringens*: Les prélèvements de Glaris renfermaient aussi bien des cryptosporidies que des *Clostridium* (1 spore dans 100 ml d'eau) alors que ceux du Tessin présentaient 96 spores de *Clostridium* pour 100 ml mais aucune trace de cryptosporidies. Il semble donc que *C. perfringens* ne soit pas un bon indicateur de contamination par les cryptosporidies, ce qui est probablement dû à une trop grande différence de comportement dans l'environnement.

### **La situation en Suisse**

Il n'existe ni en Suisse ni à l'étranger de législation qui définisse clairement un seuil médical pour les cryptosporidies dans l'eau potable. Personne ne sait donc au juste comment évaluer le risque que représentent

ces germes pathogènes pour la consommation de ce bien naturel.

A partir d'une concentration de cryptosporidies de 0,1 oocystes/l, la maladie peut déjà se déclarer dans la population humaine et il devient pratiquement inévitable d'observer des cas de cryptosporidiose au-dessus de 0,3 oocystes/l [5]. La concentration de cryptosporidies dépasse 0,1 oocystes/l dans 20% des échantillons d'eau potable que nous avons analysés et même 0,3 oocystes/l dans l'un d'entre eux (Fig. 2). Dans 9 des 15 captages étudiés, le risque résiduel  $10^{-4}$  de cryptosporidiose défini aux Etats-Unis est dépassé (1 personne infectée sur 10 000 par an pour une concentration d'oocystes de plus de 0,0000327 par litre). Etant donné que nos dosages ne correspondent qu'à une prise de vue instantanée, il est fort probable que les concentrations soient plus élevées à d'autres moments de l'année, notamment après de forts événements pluvieux.

### **Encore aucune épidémie de cryptosporidiose en Suisse**

Malgré ces valeurs inquiétantes, aucune épidémie n'a été observée à ce jour en Suisse. Le taux de prévalence chez les patients diarrhéiques, c'est-à-dire le pour-



Fig. 3: L'épandage de lisier et...

centage de patients atteints de diarrhées provoquées par une cryptosporidiose à un moment donné, se situe en Allemagne et en Suisse entre 0,4 et 1,9% pour l'ensemble de la population. Ce taux est plus élevé chez les enfants (1,1–4,8%) et atteint même

## **Les cryptosporidies**

### **Que sont les cryptosporidies?**

Les cryptosporidies sont des parasites intestinaux protozoaires d'assez grande taille (5 µm de diamètre) dont les formes de résistance sont des oocystes (Fig. 1). Ils font partie des principaux protozoaires pathogènes de l'eau potable. Le genre des cryptosporidies compte 13 espèces. L'espèce la plus répandue, *Cryptosporidium parvum* est également pathogène pour l'être humain. Le spectre des hôtes potentiels de *C. parvum* s'étend probablement à tous les mammifères [6].

### **Comment une infection par les cryptosporidies se manifeste-t-elle?**

La maladie provoquée par les cryptosporidies, la cryptosporidiose, est une zoonose, c'est-à-dire une maladie animale, qui peut être transmise aux êtres humains. C'est en 1976 que les premières infections ont été recensées chez l'être humain et les cryptosporidioses d'origine hydrique sont connues depuis 1984. Depuis cette époque, plusieurs épidémies se sont produites aux Etats-Unis, en Grande-Bretagne et au Japon, la plus importante en 1993 à Milwaukee (Wisconsin, USA) ayant touché plus de 400 000 personnes [7]. Les oocystes libérés avec les excréments peuvent survivre plusieurs mois dans l'eau froide. La cryptosporidiose commence par l'ingestion d'oocystes (Fig. 1A + B). Après une période d'incubation de 2 à 12 jours qui correspond à une phase de germination (Fig. 1C) et de reproduction des oocystes dans l'intestin grêle, la personne infectée est atteinte de diarrhées liquides accompagnées de crampes abdominales souvent sans fièvre ni nausées, ni vomissements. La progression de la maladie est variable et irrégulière mais elle se guérit en général spontanément en moins de 30 jours. Chez les personnes au système immunitaire affaibli, en particulier les sujets infectés par le virus du sida, la maladie peut devenir chronique ou se développer de façon fulgurante, pouvant même parfois entraîner la mort. Il n'existe à ce jour aucun médicament permettant de traiter les cryptosporidioses.

### **La mise en évidence des cryptosporidies**

L'Agence américaine de l'environnement et l'Inspectorat britannique des eaux potables recommandent la méthode 1623 pour la détection des cryptosporidies dans l'eau de consommation. Cette méthode prévoit de faire passer sur le terrain une énorme quantité d'eau, entre 100 et 1000 litres, dans un filtre d'une porosité de 1 µm. Au laboratoire, les particules retenues par le filtre sont recueillies et soumises à un traitement immunomagnétique pour en extraire les cryptosporidies. Ces microorganismes sont alors marqués à l'aide d'anticorps de surface spécifiques préalablement associés à des colorants fluorescents puis décomptés au microscope à fluorescence (Fig. 1B).

La germination des oocystes actifs contenus dans les échantillons d'eau peut être provoquée en les plaçant à 37 °C sur un milieu de culture adéquat. Cette étape de culture permet de calculer le pourcentage d'oocystes actifs véhiculés par l'eau analysée.



...le pâturage à proximité des captages peuvent induire une contamination fécale de l'eau potable.

11,8% chez les malades du sida. Le nombre de cas de cryptosporidiose peut donc être évalué à environ 340 par an pour toute la Suisse [8] mais dans la réalité, la maladie est rarement diagnostiquée. Ce décalage pourrait avoir les raisons suivantes:

- Les cryptosporidies libérées par le bétail sont moins infectieuses qu'on ne le supposait. La méthode de détection que nous utilisons permet de mettre en évidence toutes les espèces de cryptosporidies, y compris celles qui sont peu ou non pathogènes.
- Les cryptosporidies qui se trouvent dans l'eau potable ne sont plus vitales ou ne sont plus infectieuses. Les oocystes peuvent perdurer dans l'environnement jusqu'à plusieurs mois en fonction des conditions du milieu. Si elles meurent avec le temps, elles restent tout de même détectables.
- Les personnes atteintes de cryptosporidiose consultent rarement un médecin. De plus, les échantillons cliniques ne sont généralement pas soumis à un dosage de cryptosporidies.
- La population humaine consomme en fin de compte très peu d'eau non bouillie.

### Conséquences dans la pratique

Les périmètres de protection définis par la loi pour chaque captage d'eau potable doivent être davantage respectés. Ainsi toute forme de pâturage et de fertilisation est interdite à proximité immédiate des captages, c'est-à-dire dans la zone S1 [9]. Cette restriction d'utilisation n'est pas toujours respectée, comme le montre la figure 3. Il est donc nécessaire de procéder à des contrôles réguliers. Les périodes sensibles

sont alors à observer avec le plus d'attention. Ainsi le risque de contamination fécale à partir des terrains environnants est particulièrement important à la suite d'événements pluvieux. Dans les zones de mauvaise filtration par le sol, il va donc s'avérer nécessaire de s'assurer de l'élimination des germes pathogènes de l'eau potable par une étape supplémentaire de désinfection, par les UV par exemple.

### Conséquences pour la recherche

On ne dispose pas encore de certitudes quant au danger réel encouru par les populations humaines consommatrices d'une eau périodiquement contaminée par les cryptosporidies, notamment suite aux événements pluvieux. On en sait trop peu sur la nature des espèces de cryptosporidies présentes en Suisse et sur la vitalité des oocystes dans l'eau potable pour pouvoir évaluer ce danger correctement.

Dans la suite du projet qui nous occupe, nous souhaitons combler ces lacunes. Pour ce faire, nous allons évaluer la vitalité des oocystes sur trois sites de contamination par les cryptosporidies à l'aide du test de sporulation (voir encadré) et déterminer en parallèle les espèces de *Cryptosporidium* présentes par génotypage. Les données recueillies seront alors utilisées pour une évaluation du risque. En complément de ces analyses, une enquête sera menée auprès des autorités locales et des médecins de la région pour tenter de savoir si le nombre de cas de cryptosporidiose a augmenté au cours des dernières années.

Même si les recherches prévues révélaient un faible pouvoir pathogène des cryptosporidies, il ne s'en agit pas moins d'indicateurs résistants de contamination fécale qu'il convient d'éliminer des eaux potables.

Nous tenons à remercier le Laboratoire Spiez pour le financement du projet.



Hans Peter Fuchsli, spécialiste de sciences de l'environnement, effectue un stage post-doctoral dans l'équipe de «Microbiologie de l'eau potable» du département de «Microbiologie de l'environnement» de l'EAWAG. Thèmes principaux de recherche: microbiologie des eaux potables, détection des germes pathogènes.

Coauteur: Thomas Egli

- [1] Regli W. (1994): Verbesserte Methoden für die Isolierung und den Nachweis von Giardia-Zysten und Cryptosporidien-Oozysten in Oberflächengewässern: Flockung mit  $Al_2(SO_4)_3$  und fluorescence-activated cell sorting (FACS). Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Zürich 70 S.
- [2] Auckenthaler A., Raso G., Huggerberger P. (2002): Particle transport in a karst aquifer: natural and artificial tracer experiments with bacteria, bacteriophages and microspheres. *Water Science & Technology* 46, 131-138.
- [3] Svoboda P., Ruchti S., Bissegger C., Tanner M. (1999): Occurrence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in surface, raw and drinking water samples. *Mitteilungen auf dem Gebiete der Lebensmittelhygiene*, 553-563.
- [4] Richtlinie 98/83/EG des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch: <http://europa.eu.int/scadplus/leg/de/lvb/l28079.htm>
- [5] Haas C.N., Rose J.B. (1995): Developing an action level for *Cryptosporidium*. *Journal American Water Works Association* 87, 81-83.
- [6] Xiao L., Fayer R., Ryan U., Upton S.J. (2004): *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clinical Microbiology Reviews* 17, 72-97.
- [7] Smith H.V., Rose J.B. (1998): Waterborne Cryptosporidiosis: Current status. *Parasitology Today* 14, 14-22.
- [8] Baumgartner A., Marder H.P., Munzinger J., Siegrist H.H. (2000): Frequency of *Cryptosporidium* spp. as cause of human gastrointestinal disease in Switzerland and possible sources of infection. *Swiss Medical Weekly* 130, 1252-1258.
- [9] Ordonnance sur la protection des eaux (1998): [www.admin.ch/ch/f/rs/c814\\_201.html](http://www.admin.ch/ch/f/rs/c814_201.html)