

Microbiologie de l'eau potable : de la théorie à la pratique



Frederik Hammes, microbiologiste de l'environnement, travaille au sein d'un groupe de Microbiologie de l'eau potable et d'écophysiologie du département de Microbiologie de l'environnement.

L'eau de boisson renferme naturellement une grande variété de microorganismes et les processus microbiens jouent même un rôle central dans la potabilisation des eaux. Toutefois, la présence de bactéries indésirables peut compromettre la qualité de l'eau. De nouveaux procédés permettent maintenant une meilleure surveillance de l'eau potable et une meilleure compréhension des processus microbiens dans ce milieu.

Les bactéries sont une composante naturelle de l'eau potable. La plupart des consommateurs et consommatrices sont toutefois peu enclins à accepter la présence de ces organismes invisibles et pour la plupart inconnus. Cette mauvaise presse est en partie due au fait que certains germes véhiculés par l'eau de boisson peuvent provoquer des maladies. Ainsi, ces dernières années, des milliers de personnes ont péri en Haïti et au Zimbabwe suite à des épidémies de choléra dues à la bactérie *Vibrio cholera*. Un développement incontrôlé de bactéries peut d'autre part affecter la coloration ou les propriétés organoleptiques de l'eau potable ou en causer la turbidité.

Mais la grande majorité des microorganismes de l'eau potable sont inoffensifs. Les processus microbiens sont bien au contraire

un élément majeur des traitements de potabilisation des eaux. De nombreuses usines de production d'eau potable recourent ainsi à la filtration biologique dans laquelle des bactéries (fixées par exemple dans un filtre à charbon actif ou à sable) assurent l'élimination de composés organiques indésirables [1].

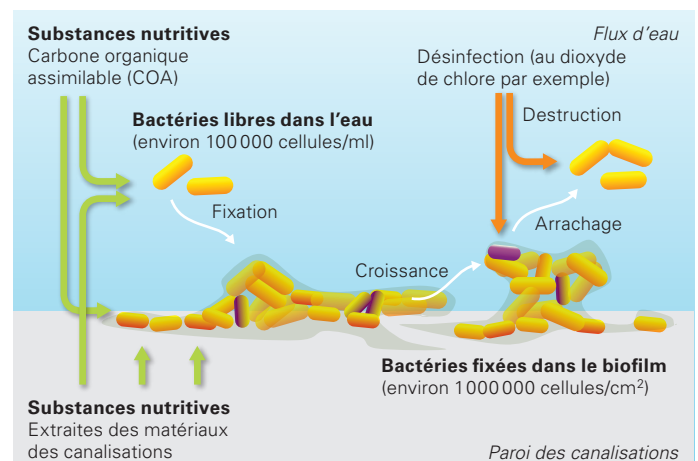
L'équilibre bactérien. Il est donc indispensable de disposer d'une connaissance suffisante de la diversité des microorganismes, de leur écologie et des processus microbiologiques qui se déroulent dans l'eau de boisson pour continuer d'améliorer la gestion de l'eau potable et livrer aux consommateurs et consommatrices un produit sûr et de bonne qualité. L'objectif n'est pas uniquement de produire une eau potable de qualité irréprochable

Les processus microbiologiques fondamentaux qui se déroulent dans les systèmes d'alimentation en eau potable sont encore mal connus.

Photo : Diversité des microorganismes intervenant au niveau d'un filtre biologique utilisé pour la potabilisation des eaux.



Fig. 1 : Equilibre dynamique dans une conduite d'eau potable. Les microorganismes se nourrissent principalement de carbone organique assimilable (COA). On appelle COA la partie du carbone dissous dans l'eau qui est immédiatement utilisable par les microorganismes et qui joue un rôle décisif pour leur prolifération. Le COA est donc un paramètre clé pour le contrôle du nombre de bactéries dans l'eau potable et donc de sa stabilité microbiologique.



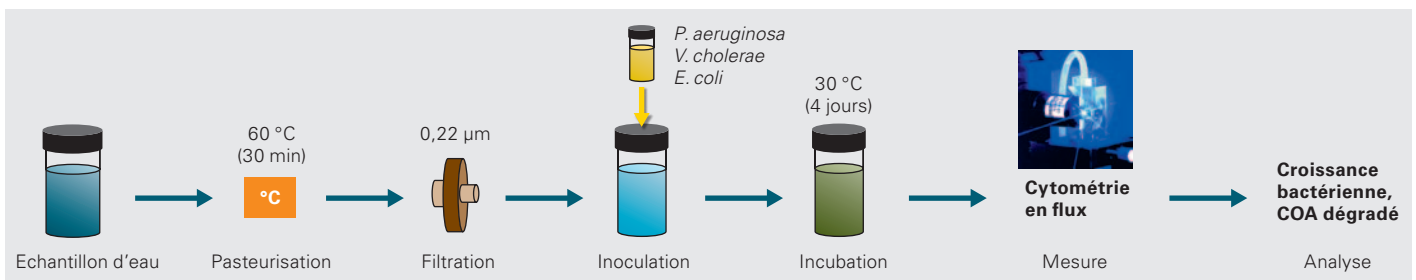


Fig. 2: Principe de fonctionnement de la méthode PGP (d'après [4]).

mais aussi d'en garantir la qualité à l'arrivée chez le consommateur. Pour éviter une croissance bactérienne trop importante lors du transport et du stockage de l'eau potable, des produits désinfectants tels que le chlore ou le dioxyde de chlore lui sont ajoutés dans certains pays. Cette mesure peut cependant s'accompagner d'effets secondaires étant donné qu'en plus d'éliminer les germes pathogènes, le chlore peut réagir avec la matière organique encore contenue dans l'eau potable et former des sous-produits toxiques [2].

La Suisse et de nombreux pays européens comme l'Allemagne, l'Autriche et les Pays-Bas souhaitent éviter les ajouts de produits chimiques dans l'eau potable et misent déjà dans de nombreux réseaux de distribution, en plus de la chloration, sur une stabilisation biologique de l'eau. Cette idée est le fruit d'observations et connaissances scientifiques et techniques et de l'expérience acquise sur le terrain. L'objectif est d'empêcher la croissance bactérienne dans les conduites par une limitation des apports de nutriments. En effet, l'abondance des bactéries dépend de la quantité de substances nutritives présentes dans l'eau sous forme de carbone organique (sucre, acides aminés, acides organiques, etc.). La compétition entre les microorganismes pour cette nourriture limite de son côté la prolifération des différentes espèces et contribue à un équilibre stable dans la communauté (Fig. 1).

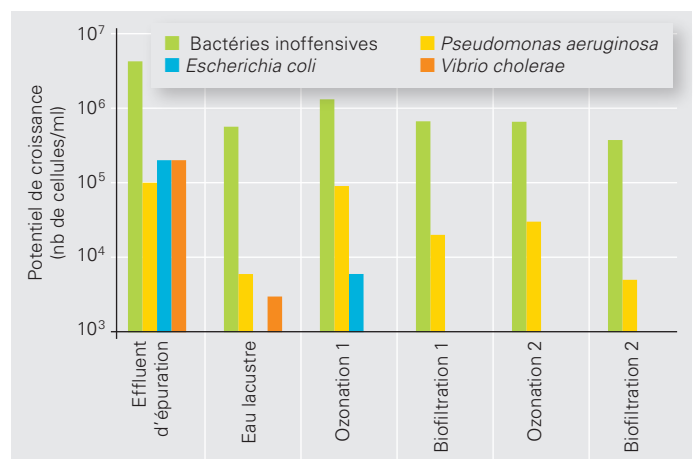
Pour pouvoir contrôler la qualité microbiologique de l'eau potable avec fiabilité, il est donc besoin de méthodes d'analyse permettant de mesurer des paramètres tels que l'offre alimentaire ou la biomasse bactérienne.

Evaluation du potentiel de croissance des pathogènes. Le dosage des substances nutritives disponibles est une bonne méthode pour estimer le nombre de bactéries pouvant se développer dans l'eau potable. Étant donné que le carbone organique constitue normalement le facteur limitant, presque tous les services des eaux effectuent un dosage du carbone organique dissous (COD) dans leurs analyses de routine. La teneur en COD de l'eau considérée comme potable est en moyenne de 0,5 à 2 milligrammes par litre. Les microorganismes n'en consomment toutefois que de 1 à 10 %. Cette partie, le carbone organique assimilable (COA), correspond donc à la fraction déterminante pour la potabilisation des eaux [3]. Les moindres traces de COA peuvent induire une croissance bactérienne indésirable. Ainsi, 0,001 milligrammes suffisent à nourrir 10 000 000 de cellules bactériennes.

Pour pouvoir évaluer la qualité hygiénique de l'eau, il ne suffit cependant pas de mesurer la quantité de COA. Il importe bien davantage de détecter avec fiabilité la présence de germes pathogènes éventuels. Au cours des dix dernières années, l'Eawag a donc travaillé à l'élaboration d'une méthode permettant de doser spécifiquement la part du COA dont se nourrissent les bactéries pathogènes [4]. Cette méthode repose sur la constatation de préférences nutritionnelles très marquées chez les différentes espèces de bactéries et de grandes différences dans leur capacité à dégrader les nutriments. La technique appelée « pathogen growth potential (PGP) assay » permet ainsi d'estimer directement si et à quel degré un échantillon d'eau est favorable au développement de bactéries spécifiques comme *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* ou *Pseudomonas aeruginosa* (Fig. 2).

Le fait que la méthode PGP puisse être appliquée à d'autres milieux que l'eau potable a été démontré par de nombreux tests réalisés avec des effluents et de l'eau prélevée dans le milieu naturel. La figure 3 montre par exemple comment le potentiel de croissance des bactéries pathogènes et inoffensives évolue au cours des traitements de potabilisation d'une eau lacustre en comparaison avec un effluent de station d'épuration. La filtration biologique produit ainsi un abattement presque total du PGP – mis à part un potentiel résiduaire pour *Pseudomonas aeruginosa* – du

Fig. 3: Evolution du potentiel de croissance des pathogènes et des bactéries inoffensives dans une eau en cours de potabilisation par rapport à un effluent d'épuration (d'après [4]).



fait de la consommation du carbone organique assimilable par les bactéries du filtre au détriment des pathogènes.

La méthode PGP permet non seulement d'évaluer la qualité de l'eau pour la consommation humaine mais aussi de contrôler l'efficacité des traitements de potabilisation. Elle livre d'autre part des informations précieuses sur les exigences nutritionnelles des différentes espèces de bactéries et sur la compétition pour la nourriture entre les pathogènes et les bactéries inoffensives.

Comptage des bactéries viables et non viables. Un millilitre d'eau potabilisée renferme entre 20 000 et 200 000 cellules bactériennes selon l'origine de l'eau brute et les techniques de potabilisation employées. Le nombre de bactéries présentes dans l'eau potable est un paramètre crucial aussi bien pour les scientifiques que pour les responsables sur le terrain. En effet, toute modification de la concentration en bactéries est révélatrice de processus microbiens susceptibles de modifier la qualité de l'eau.

En complément de la méthode PGP, certaines techniques permettent une détermination directe des concentrations de cellules. Ainsi par exemple, la dégradation du carbone organique assimilable peut être suivie par l'augmentation du nombre de bactéries. De telles mesures sont particulièrement intéressantes pour contrôler la stabilité microbiologique de l'eau potable pendant son séjour dans le réseau de distribution.

Avec la cytométrie en flux et le dosage de l'adénosine triphosphate (ATP), l'Eawag a développé ces dernières années des outils d'analyse capables de remplacer les méthodes traditionnelles de culture sur milieu gélosé qu'elles surpassent par leur exactitude et leur rapidité [5 et 6]. Ces deux approches complémentaires nous permettent de déterminer la qualité microbiologique d'une large gamme d'échantillons d'eau (eau souterraine, eau potable, eaux minérales, eaux de surface, eaux usées, etc.) (Fig. 4).

Pour contrôler de l'efficacité des mesures de désinfection (par ozonation ou chloration par exemple), les laboratoires ont toutefois besoin de techniques permettant de dénombrer les cellules vivantes ou viables.

La cytométrie en flux combinée à des méthodes de coloration livre également des informations sur l'activité ou la viabilité des microorganismes présents dans l'eau. Ainsi, grâce à cette méthode, Maaike Ramseier a pu démontrer l'efficacité de différents oxydants pour la désinfection de l'eau (ozone, chlore, dioxyde de chlore, monochloramine, ferrate et permanganate) dans sa thèse de doctorat [7]. Les oxydants attaquent en effet les parois

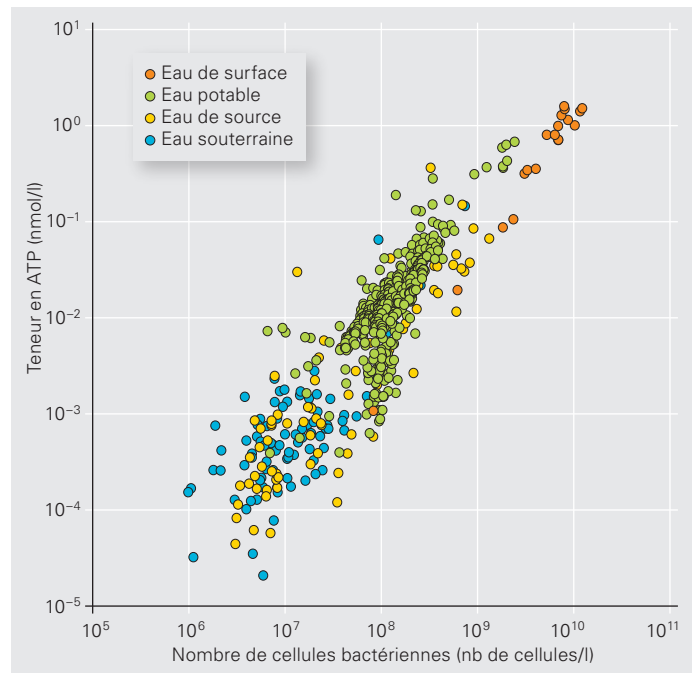


Fig. 4 : Corrélation entre le nombre de cellules bactériennes (mesuré par cytométrie en flux) et la teneur en ATP de divers échantillons d'eau. Les échantillons présentent des rapports différents en fonction de leur origine (données tirées de [6] ou fournies par Stefan Kötzsch).

cellulaires de bactéries et les affectent ainsi gravement. L'iodure de propidium permet une coloration sélective des cellules aux membranes endommagées et donc de les distinguer des cellules intactes lors du comptage par cytométrie en flux. Dans un échantillon d'eau du robinet traitée au dioxyde de chlore, la progression de la neutralisation des bactéries au cours du traitement a pu être suivie (Fig. 5).

Par la caractérisation de propriétés spécifiques des cellules (dans ce cas, l'intégrité de la paroi cellulaire), il est non seulement possible d'évaluer l'efficacité d'une méthode de désinfection mais aussi d'expliquer en partie les mécanismes en jeu lors du processus. En combinant méthodes de coloration et cytométrie en flux, les scientifiques ont ainsi élaboré un outil d'analyse permettant d'étudier et de comprendre la cinétique d'élimination des bactéries.

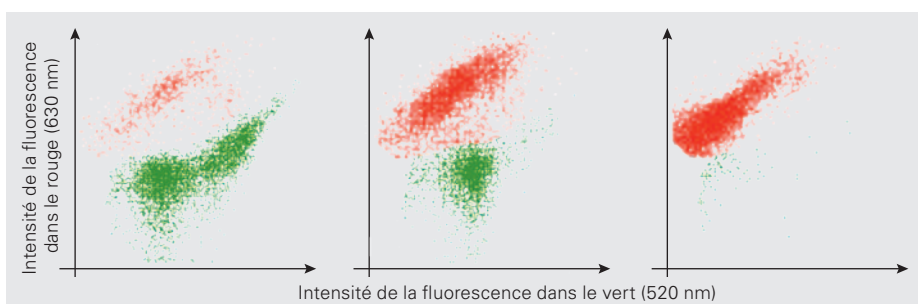


Fig. 5 : Distinction entre cellules bactériennes viables et non viables par cytométrie en flux après coloration à l'iodure de propidium. Les cellules colorées en rouge sont endommagées, les vertes intactes (sans coloration spécifique). De gauche à droite, le degré d'atteinte des bactéries augmente suite à la prolongation de l'exposition au désinfectant (d'après [7]).

Les producteurs et distributeurs d'eau potable disposent de leur côté d'un procédé leur permettant de vérifier directement sur le terrain l'efficacité des techniques de désinfection employées. Ce contrôle en temps réel leur permet de réagir immédiatement aux dysfonctionnements éventuels et aux modifications de la qualité microbiologique de l'eau. Ainsi, la distinction entre bactéries blessées et intactes permet une surveillance des réseaux distribuant de l'eau chlorée : étant donné que la chloration détruit totalement les bactéries, la présence de cellules intactes dans les conduites est révélatrice d'une croissance bactérienne et donc d'une défaillance de la protection chimique. Pour la Suisse, cette approche est particulièrement intéressante étant donné que de plus en plus de producteurs d'eau potable envisagent de passer du traitement chimique à la stabilisation biologique pour garantir l'innocuité microbiologique de l'eau distribuée.

Les services des eaux des villes de Bâle, de Zurich, de Riga et d'Amsterdam ont déjà testé cette méthode avec succès dans des études de cas et l'utilisent, adaptée à leurs besoins, dans le domaine de la recherche et de la surveillance.

Une meilleure compréhension des processus. La diversité du monde microbien est bien documentée : on recense 52 souches bactériennes rassemblant au total de un à dix millions d'espèces. Celles-ci présentent une très grande diversité de propriétés physiques, d'exigences nutritionnelles et d'états physiologiques [8]. Or pendant de nombreuses années, les scientifiques ne disposaient pas réellement d'outils performants pour appréhender et décrire en détail toute cette diversité.

Les récents progrès réalisés dans le domaine du séquençage haut-débit du génome bactérien permettent aujourd'hui d'identifier des milliers de microorganismes dans un minuscule échantillon d'eau. En partenariat avec l'University of Illinois, l'Eawag a ainsi étudié par pyroséquençage la diversité microbienne de l'eau potable non chlorée. Cette méthode permet une caractérisation détaillée des communautés bactériennes *via* l'analyse d'un certain type de gènes (gènes codant pour l'ARNr 16S), ce qui nous a permis d'identifier les différents groupes de microorganismes présents et de déterminer leur fréquence respective.

En plus de livrer une longue liste de noms de bactéries, cette étude a montré que le pyroséquençage était une méthode adaptée à l'évaluation de la stabilité de l'eau potable dans le réseau de distribution [3]. Elle nous a en effet permis de détecter les moindres changements dans la flore microbienne, suite par exemple à des épisodes de croissance ou à une contamination extérieure, et d'identifier les organismes responsables.

Nous avons d'autre part constaté que lorsqu'elle était de bonne qualité, l'eau potable présentait une grande stabilité au niveau de la concentration de cellules bactériennes et de la composition des communautés microbiennes de son lieu de production jusqu'au robinet de l'utilisateur.

De telles méthodes nous permettront à l'avenir de mieux comprendre les mécanismes intervenant dans les communautés microbiennes des systèmes d'approvisionnement en eau potable et donc d'en estimer la valeur fonctionnelle. Pour le moment, nous savons par exemple que les filtres biologiques fonctionnent

parfaitement, mais nous ignorons presque tout de la composition et des propriétés de leur flore bactérienne. Il est plus que probable qu'une meilleure compréhension des processus microbiens aboutira à une optimisation de la conception et de la conduite des filtres biologiques.

Le développement de la population mondiale et l'augmentation consécutive des besoins en eau dans un contexte de changements environnementaux et en particulier climatiques vont accentuer la sollicitation des ressources en eau et rendre l'approvisionnement en eau potable de plus en plus difficile. Pour pouvoir faire face aux difficultés à venir, il est besoin d'une planification prévoyante et d'une bonne connaissance des processus microbiologiques intervenant dans les systèmes de production et d'adduction d'eau potable.

L'élaboration d'une large gamme de méthodes nouvelles est d'une part profitable à la recherche en lui permettant de mieux comprendre ces processus fondamentaux. Mais ces méthodes et le savoir qu'elles permettent d'acquérir fournissent aussi aux responsables de l'approvisionnement en eau potable des instruments leur permettant d'optimiser les systèmes de potabilisation et d'assurer la durabilité et la qualité de l'alimentation en eau potable dans l'avenir. ○○○

- [1] Hammes F., Berger C., Köster O., Egli T. (2010): Assessing biological stability of drinking water without disinfectant residuals: A case-study of the Zurich water supply system. *Journal of Water Supply: Research and Technology, Aqua* 59 (1), 31–40.
- [2] Sedlak D.L., von Gunten U. (2011): The chlorine dilemma. *Science* 331, 42–43.
- [3] Lautenschlager K., Boon N., Wang Y., Egli T., Hammes F. (2010): Overnight stagnation of drinking water in household taps induces microbial growth and changes in community composition. *Water Research* 44 (17), 4868–4877.
- [4] Vital M., Stucki D., Egli T., Hammes F. (2010): Evaluating the growth potential of pathogenic bacteria in water. *Applied and Environmental Microbiology* 76 (19), 6477–6484.
- [5] Hammes F., Vital M., Stucki D., Lautenschlager K., Egli T. (2009): Advances in microbiological methods for drinking water analysis: Flow cytometry, assimilable organic carbon and pathogen growth potential. *TECHNEAU: Safe drinking water from source to tap*. IWA Publishing, Alliance House, London.
- [6] Hammes F., Goldschmidt F., Vital M., Wang Y., Egli T. (2010): Measurement and interpretation of microbial adenosine tri-phosphate (ATP) in aquatic environments. *Water Research* 44 (13), 3915–3923.
- [7] Ramseier M.K., von Gunten U., Freihofer P., Hammes F. (2011): Kinetics of membrane damage to high (HNA) and low (LNA) nucleic acid bacterial clusters in drinking water by ozone, chlorine, chlorine dioxide, monochloramine, ferrate(VI), and permanganate. *Water Research* 45 (3), 1490–1500.
- [8] Schloss P.D., Handelsman J. (2004): Status of the microbial census. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68, 686–691.