

Critères d'évaluation des caractéristiques hygiéniques et microbiologiques des eaux minérales

H. LECLERC (*)

Institut Pasteur de Lille, France

L'évaluation des caractéristiques microbiologiques en rapport avec la santé publique est étroitement contingente de la définition même que l'on donne à une eau minérale. Dans certains pays (p. ex. en France), la dénomination « eau minérale » est réservée aux eaux douées de propriétés thérapeutiques. Dans d'autres pays (p. ex. en Allemagne), l'eau minérale est une eau fortement minéralisée, qui doit renfermer au moins 1 g d'extrait sec par litre.

Il est évident que ces différences dans la conception même de la nature d'une eau minérale, ses propriétés et donc ses usages, influent considérablement sur la conception que l'on peut avoir dans l'appréciation de sa qualité. Pour éviter tout malentendu, nous aborderons le problème d'abord sur le plan écologique en situant l'origine des contaminations que l'on peut rencontrer dans l'eau, puis sur le plan épidémiologique en définissant les risques encourus par le consommateur, et en conséquence les contrôles analytiques à exercer pour les supprimer ou les limiter à un niveau admissible.

LES CONTAMINATIONS

À l'origine, au griffon l'eau minérale est exceptionnellement contaminée par des germes dangereux, bien qu'elle contienne certains microorganismes saprophytes. Les autorisations d'exploitation ne sont, en effet, réservées qu'à des gites parfaitement protégés sur le plan géologique. Par contre, c'est la technologie de l'embouteillage qui est le plus souvent responsable des contaminations rencontrées.

(*) Institut Pasteur du Lille, Domaine du C.E.R.T.I.A., 59650 Villeneuve d'Ascq, France.

1) L'eau minérale n'est jamais stérile à l'origine. Elle contient toujours un nombre plus ou moins restreint de bactéries, habituellement constant. Il est important de considérer la nature de ces germes. On les qualifie de saprophytes par opposition aux germes pathogènes, parce qu'ils sont généralement considérés comme inoffensifs. Nous verrons tout à l'heure ce qu'il convient d'en penser.

D'un point de vue nutritionnel, on dit souvent qu'elles sont autotrophes. Il convient d'être prudent dans ce domaine, car dans l'autotrophie stricte, la source de carbone est obligatoirement le CO_2 ou les sels de l'acide carbonique. Avec les moyens analytiques utilisés habituellement, cette propriété ne peut être mise en évidence. Les bactéries isolées dans ces conditions sont donc hétérotrophes, ou peut-être autotrophes facultatives. Dans l'hétérotrophie, la source de carbone est obligatoirement un composé organique. Si les bactéries ont besoin ou non de facteurs de croissance, on dit qu'elles sont auxotrophes ou prototrophes. Il est finalement vraisemblable de penser que les bactéries « saprophytes » des eaux minérales sont hétérotrophes ou autotrophes facultatives, et qu'elles doivent être aussi prototrophes dans la plupart des cas.

Du point de vue de la température de croissance, les bactéries mises en cause ont des besoins les plus variables. Certaines sont mésophiles, capables de se développer à la température de 30 °C, 37 °C, voire 41 °C. D'autres, qui semblent les plus fréquentes, sont psychrotrophes; elles se multiplient donc aux basses températures. Dans l'ensemble, toutes sont capables de croître à + 30 °C.

La présence de ces germes dans les eaux minérales est inévitable. Leur pouvoir de multiplication jusqu'à des concentrations très fortes, découle de leurs propriétés physiologiques fondamentales.

2) Les contaminations les plus dangereuses ont pour origine essentielle les conditions d'embouteillage. Elles sont essentiellement d'ordre technologique:

- Les emballages sont des sources importantes de contamination, qu'il s'agisse des flacons de verre de retour, qui doivent être parfaitement triés, nettoyés et désinfectés, qu'il s'agisse des flacons de plastique (ou de verre perdu), dont le stockage ne doit pas être prolongé dans des locaux de propreté insuffisante, etc.

- L'atmosphère des ateliers est trop souvent négligée. La contamination d'origine aérienne a pris une nouvelle dimension depuis l'emploi des plastiques. Les fines particules de plastique dispersées dans les ateliers d'extrusion se répandent à tous les niveaux. Elles fixent à leur surface les bactéries en suspension dans l'air. Elles peuvent contaminer les flacons au cours de l'ensilage ou dans les circuits qui conduisent de l'ensilage aux soutireuses. Ces microorganismes peuvent être des bactéries saprophytes de l'air (*Pseudo-*

monas, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*...) ou des coliformes d'origine incertaine (*Citrobacter*, *Enterobacter*) ou des bactéries fécales (coliformes fécaux, streptocoques fécaux) ou enfin des germes pathogènes (staphylocoques).

— Le personnel des ateliers n'a pas toujours une formation technique suffisante sur le plan sanitaire. Les manipulateurs peuvent être porteurs de germes pathogènes d'origine intestinale (*Salmonella*) qui sont diffusés lorsque les conditions élémentaires d'hygiène ne sont pas respectées ou d'origine cutané-muqueuse (staphylocoques).

CRITÈRES D'ÉVALUATION

Ils sont à la mesure des risques. Or, ces risques sont majorés si on compare les eaux minérales embouteillées aux eaux de distribution. Dans ce dernier cas, les eaux sont le plus souvent stérilisées au départ du gîte, ou de l'usine, de telle sorte que l'effet stérilisant soit encore perceptible à la distribution. Les eaux minérales, au contraire, ne peuvent être traitées. Leur qualité est donc étroitement contingente de la qualité originelle de l'eau et de la qualité technologique de l'embouteillage. D'où la nécessité, ici, d'une analyse beaucoup plus fine. Il est indispensable pourtant que celle-ci soit conforme aux exigences des activités de routine des laboratoires.

La contamination fécale et son évaluation

La mise en évidence des germes pathogènes est ici indispensable; celle des germes tests de contamination fécale reste classique:

Salmonella — à rechercher dans une quantité importante d'eau (p. ex.: 5 l en France).

Coliformes — La distinction entre coliformes fécaux et non fécaux paraît insuffisante. L'identification devrait être poursuivie jusqu'au niveau minimum des genres: *Escherichia* (*Escherichia coli*, seule espèce du genre); *Klebsiella*; *Enterobacter*; *Citrobacter*; (*Levinea*).

L'identification jusqu'au stade espèce ne peut être effectuée que par des laboratoires de haute qualification. A rechercher dans 100 ml d'échantillon.

Streptocoques fécaux — La meilleure connaissance (relative) du groupe autorise l'identification jusqu'au stade espèce: *S. faecalis*; *S. faecium*; *S. durans*; *S. boris*; *S. equinus*; à rechercher dans 100 ml d'échantillon.

Clostridium sulfito-réducteurs — A rechercher dans 20 ml ou mieux 50 ml d'échantillon. L'identification est ici complexe et en aucun cas justifiée.

Bacteriophages fécaux — Leur mise en évidence est un complément utile (dans 50 ml, ou mieux 100 ml d'échantillon).

La contamination cutané-muqueuse et son évaluation

Les contaminations d'origine humaine et aérienne sont prédominantes dans le cas des eaux minérales. Elles doivent faire l'objet d'une analyse rigoureuse comme dans le cas précédent. Deux catégories de bactéries paraissent représentatives d'une contamination cutané-muqueuse: les staphylocoques pathogènes et *Pseudomonas aeruginosa*. Leur importance découle de leur pouvoir pathogène bien connu et aussi de leur grande résistance aux agents antiseptiques et aux agents chimiothérapeutiques.

Staphylocoques pathogènes — Leur identification est classique; leur recherche pourrait être effectuée dans 100 ml d'échantillon sur milieux sélectifs.

Pseudomonas aeruginosa — Leur recherche n'est pas courante. Elle est pourtant fondamentale. Les travaux les plus récents montrent la très large diffusion de cette espèce dans l'environnement et surtout dans les eaux. Leur pouvoir entéropathogène semble de plus en plus fréquemment reconnu (gastro-entérites). Leur résistance exceptionnelle aux antibiotiques, en fait des agents redoutables. De par leur nature (prototrophes), ils peuvent se multiplier abondamment dans les eaux minérales ou autres. Leur recherche pourrait être effectuée dans 100 ml d'échantillon sur milieu sélectif. L'identification dans le genre *Pseudomonas* est complexe. Seule apparaît justifiée ici celle de *Pseudomonas aeruginosa*.

La contamination originelle en germes « saprophytes »

Initialement, nous l'avons dit, l'eau minérale n'est jamais stérile. Elle contient toujours un nombre généralement faible (1 ou 10 ou 100/1ml) de bactéries. Celles-ci ou d'autres, apportées au cours de l'embouteillage peuvent se multiplier abondamment pendant le stockage. Ces germes sont des hétérotrophes ou des autotrophes facultatifs. Ils sont aussi prototrophes. Peut-on admettre qu'une eau minérale contienne jusque 10^6 ou 10^7 et même plus de bactéries/1 ml, appartenant le plus souvent à une seule espèce.

L'opinion qui consiste à dire que la qualité d'une eau minérale doit être au moins égale à celle d'une eau distribuée sur le plan microbiologique mérite d'être discutée. Si le critère « germes saprophytes » est considéré comme un test important, en relation par exemple avec la santé des consommateurs, ceux qui émettent un tel jugement ont raison. Le problème consiste donc à connaître la signification exacte de ce test, c'est-à-dire le risque inhérent à l'ingestion de ces microorganismes.

Une autre opinion, tout aussi fréquemment émise, est de prétendre que des quantités de germes beaucoup plus importantes sont ingérées chaque

jour avec les aliments, les fruits, les végétaux consommés crus, etc. Cela est vrai, avec cette différence pourtant, que dans ce dernier cas, la flore établie au niveau de l'aliment est le plus souvent complexe et variée. Elle correspond à un véritable écosystème naturel microbien. Dans l'eau, la flore sera, au contraire, monomorphe et monospécifique. Le problème est là encore, de s'informer sur la signification du test, eu égard à la santé publique.

Il n'est évidemment pas souhaitable qu'une multiplication importante (10^4 — 10^5 /1 ml), voire exagérée (10^6 — 10^7 /1 ml) de bactéries se manifeste dans les eaux minérales embouteillées. Il est malheureusement impossible de la prévenir, sinon par un traitement frauduleux. La solution de ce dilemme repose sur l'interrogation suivante et l'alternative qui en résulte.

La présence de ces germes en quantité importante constitue-t-elle un risque?

1) Si des preuves tangibles le confirment chez l'homme, ou si des expérimentations animales permettent de le démontrer ou le supposer, il importe alors de les éliminer en sauvegardant dans toute la mesure du possible la nature même de l'eau minérale et ses qualités essentielles, au meilleur coût.

2) Dans le cas contraire, si d'une part le risque est nul, ou s'il ne repose sur aucune donnée scientifique, si d'autre part les propriétés essentielles de l'eau sont intégralment conservées, le litige devient discussion byzantine.

Que peut-on craindre finalement à la suite de l'ingestion de ces microorganismes en grande quantité? Sont-ils capables de s'implanter au niveau intestinal, de modifier les rapports de la flore microbienne et de provoquer des troubles gastro-intestinaux? Sont-ils capables de se fixer au niveau du rhinopharynx, de s'y maintenir, de s'y multiplier, puis de parvenir jusqu'aux méninges comme le font nombre de bactéries responsables de méningites infectieuses? Les microorganismes « saprophytes » dont il est question appartiennent habituellement aux genres *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* (à l'exclusion de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter calcoaceticus*, deux espèces au pouvoir pathogène parfaitement reconnu).

Aucune expérimentation sérieuse ne permet actuellement de répondre aux interrogations posées. Sur le plan épidémiologique, il est possible de faire état d'un certain nombre de méningites néo-natales dues à *Flavobacterium meningosepticum* décrites dans la littérature. Le rôle de l'eau d'alimentation des biberons a été suspecté. L'hypothèse a été avancée selon laquelle ces microorganismes, fréquents dans les eaux, seraient capables de coloniser le nasopharynx des nouveaux-nés et de manifester un pouvoir pathogène occasionnel sur des organismes débilités ou prématurés. Il convient

d'être très prudent dans l'interprétation de ces données tant il est vrai que le pouvoir pathogène d'un microorganisme est une notion extrêmement contingente. Ce pouvoir dépend du germe, bien sûr, mais aussi de l'organisme qui l'accueille et de multiples facteurs associés.

La contamination amibienne

On a beaucoup parlé, au cours de ces dernières années, de cas de méningo-encéphalites amibiennes primitives (MEAP), généralement consécutives à des baignades en piscines. Près d'une centaine de cas ont été maintenant dénombrés, à peu près constamment fatals. Ces infections sont dues à quelques espèces seulement du vaste monde des amibes. La plus fréquente est *Naegleria fowleri*. La présence d'amibes dans les eaux de piscines a incité les analystes à les rechercher dans les eaux de boissons et à les trouver très fréquemment dans les eaux des réseaux ou dans les eaux embouteillées, en particulier dans les eaux minérales. Il s'agit toujours d'amibes non pathogènes. Mais, en tout état de cause, un nouveau problème est né de ce fait. Peut-on accepter la présence de ces amibes, même non pathogènes, dans les eaux de consommation?

Certains ont avancé l'hypothèse selon laquelle l'agent causal de la MEAP ne serait pas l'amibe, mais un élément infectieux, vraisemblablement viral, porté par l'amibe. Ceci ouvre de nouveaux horizons sur le rôle de ces agents vecteurs dans l'épidémiologie des maladies infectieuses transmises par l'eau, surtout si l'on transpose ces potentialités dans le cas de l'hépatite infectieuse.

Le problème est, pour l'instant, posé. Pour y répondre, il est nécessaire de procéder à de vastes enquêtes épidémiologiques en même temps qu'à des travaux plus fondamentaux. Il est certain, en effet, que des conditions écologiques particulières et favorables (température) sont créées dans les eaux de piscine et qu'elles peuvent favoriser la sélection, le maintien et la multiplication d'amibes pathogènes. Cela n'est pas le cas avec les eaux d'alimentation embouteillées.

CONCLUSION

Pour conclure, on peut dire que l'évaluation de la qualité bactériologique d'une eau minérale repose sur deux critères dont les uns correspondent à des risques réels, parfaitement connus et dont les autres découlent de dangers hypothétiques.

Les premiers garantissent des contaminations fécales et des contaminations cutanéomuqueuses. Ils doivent être surveillés avec la plus extrême

rigueur et sévérité. Les seconds (bactéries «saprophytes», amibes) ne peuvent, dans l'état actuel des choses, être discutés sur les bases sérieuses. Ils doivent faire l'objet d'études et recherches approfondies avant toute décision.

Résumé. — L'évaluation de la qualité microbiologique des eaux minérales dépend étroitement de leur définition: eaux douces de propriétés thérapeutiques; eaux fortement minéralisées, etc.

A l'origine, au griffon, l'eau minérale est exceptionnellement contaminée par des germes dangereux, bien qu'elle contienne certains microorganismes saprophytes en nombre habituellement constant. Les autorisations d'exploitation ne sont, en effet, réservées qu'à des gites parfaitement protégés sur le plan géologique. Par contre, c'est la technologie de l'embouteillage qui est le plus souvent responsable des contaminations rencontrées: emballages, atmosphères des ateliers, personnel, etc.

Dans ces conditions, les critères d'évaluation doivent être considérablement élargis par rapport à ceux qui intéressent l'eau d'alimentation. On peut distinguer ceux qui correspondent à des risques réels parfaitement connus et ceux qui ont trait à des dangers plus hypothétiques et plus nuancés.

Les premiers garantissent des contaminations fécales (*Salmonella*, Coliformes, Streptocoques fécaux, *Clostridium sulfito-réducteurs*, bactériophages fécaux) et des contaminations cutaneo-muqueuses (Staphylocoques pathogènes, *Pseudomonas aeruginosa*). Ils doivent être surveillés avec la plus extrême rigueur et sévérité.

Les seconds concernent les germes «saprophytes» oligotrophes. Leur incidence sur la santé publique ne peut, dans l'état actuel des choses être discutée sur des bases sérieuses. Il en est de même de la présence des amibes qui apparaît fréquente dans les eaux de toute nature. Ces problèmes doivent faire l'objet de recherches approfondies.

Summary (*Evaluation tests of healthy and microbial features of mineral waters*). — The appraisalment of mineral waters microbial quality is closely depending of their definition: waters endowed with therapeutic properties, strongly mineralised waters, etc.

In the beginning mineral water is exceptionally infected by dangerous germs though it contain a regular load of some saprophytic microorganisms. Indeed, exploitation licences are reserved to geologically perfectly protected strata. On the other hand, there are contaminations which are due, most commonly, to the bottling procedures: packings, work-rooms atmospheres, staff, etc.

This being so, evaluation tests must be largely extended with regard to those of feed water. We can distinguish between some bound to perfectly known real risks and some referred to more hypothetical and more suggested dangers.

The first ones protect from fecal contaminations (*Salmonella*, coliforms, fecal *Streptococci*, sulphite-reducing *Clostridium*, fecal bacteriophages) and from cutaneous and mucous contaminations (pathogenic *Staphylococci*, *Pseudomonas aeruginosa*). They must be supervised with the most extreme severity.

The second ones are concerned with saprophytic oligotrophic germs. At the present time, their incidence on public health cannot be discussed on serious foundations. It is the same for amoebae's presence which seems frequent in all kinds of waters.

These problems must form the subject of thorough researches.