

Bacteriological quality of water from watercoolers

QUALITÉ BACTÉRIOLOGIQUE DE L'EAU DES FONTAINES RÉFRIGÉRANTES

Fabien SQUINAZI¹, Valérie GANDRÉ²

⁽¹⁾Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris, 11 rue George Eastman, 75013 Paris

⁽²⁾Direction de la Qualité GIE ELIS, 31 rue Voltaire – BP 62, 92803 Puteaux Cedex

E-mail : fabien.squinazi@paris.fr

Abstract

Drinking watercoolers are point of use or bottled watercoolers. Point of use watercoolers should be regularly cleaned and disinfected and in operation, filter moving six-monthly. Elevated counts of Heterotrophic Plate Count (HPC) bacteria and Pseudomonas often show a water supply network contamination and insufficient maintenance or use of the watercooler. Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) method is used for water quality control in packaging and handling of bottled watercooler. Elevated HPC counts are in relation with normal evolution of a bottled water. The presence of other microorganisms may be in relation with the process of bottle cleaning/disinfection.

Keywords: watercoolers, water bacteriology, HPC (Heterotrophic Plate Count)

Résumé

L'eau destinée à la consommation humaine peut être distribuée par des fontaines réfrigérantes alimentées, soit par un branchement sur le réseau intérieur de distribution, soit par des bonbonnes d'une capacité de 18,9 litres. Les fontaines raccordées au réseau doivent être nettoyées et désinfectées et fonctionner régulièrement, le filtre changé semestriellement. Les numérations élevées en germes aérobies revivifiables et en Pseudomonas révèlent souvent une contamination du réseau mais aussi une insuffisance d'entretien et/ou d'utilisation de la fontaine. Les fontaines à bonbonne font l'objet de mesures de maîtrise de la qualité de l'eau aussi bien sur le conditionnement de l'eau que sur la distribution des bonbonnes en appliquant une démarche d'Analyse des risques – Points critiques pour la maîtrise (HACCP). Les numérations élevées de germes aérobies

revivifiables sont liées à l'évolution normale d'une eau conditionnée. La présence d'autres micro-organismes peut être liée au processus de lavage/désinfection des bonbonnes.

Mots clés : fontaines réfrigérantes, bactériologie de l'eau, micro-organismes revivifiables

INTRODUCTION

Le code de la santé publique précise que « toute personne qui offre au public en vue de l'alimentation humaine, à titre onéreux ou gratuit et sous quelque forme que ce soit, y compris la glace alimentaire, est tenue de s'assurer que cette eau est propre à la consommation ».

Le même texte définit « la personne publique ou privée responsable d'une distribution d'eau au public » qu'il s'agisse de réseaux publics ou de réseaux intérieurs. Elle peut être la collectivité territoriale ou les délégataires de service public responsables de la distribution publique, mais aussi le responsable des locaux ou établissements dans lesquels l'eau est fournie au public. Ce dernier est tenu notamment de respecter les règles de conception et d'hygiène applicables aux installations de distribution d'eau.

L'eau destinée à la boisson doit répondre en premier lieu à des qualités organoleptiques. Elle doit être agréable à boire, claire, fraîche et sans odeur. Elle doit posséder des qualités physico-chimiques qui correspondent aussi bien à l'absence d'éléments chimiques indésirables ou toxiques qu'à une teneur naturelle en sels minéraux équilibrée. Enfin, elle doit être exempte d'agents pathogènes.

Ces dernières années, la mise sur le marché et la large diffusion de fontaines réfrigérantes dans divers types de bâtiments (établissements recevant du public, entreprises, établissements de santé,...) ont créé de nouvelles conditions de consommation d'eau et ont fait l'objet d'interrogations quant à la qualité de l'eau distribuée.

Les fontaines réfrigérantes fournissent une eau rafraîchie (température 6-12 °C), désaltérante et sans goût de chlore. Il en existe deux grands types : les fontaines raccordées à un réseau intérieur de distribution d'eau, et les fontaines alimentées par une bonbonne d'eau, d'un volume de 18,9 litres, issue d'une usine d'embouteillage.

L'eau des fontaines doit répondre à des exigences de qualité ; or, ces exigences dépendent étroitement des conditions d'alimentation en eau des fontaines, de leurs caractéristiques techniques et de leur maintenance. L'objet de cet article est de fournir les éléments essentiels à une sécurité optimale d'utilisation des fontaines réfrigérantes.

1. Exigences de qualité de l'eau des fontaines

L'eau distribuée par les fontaines réfrigérantes et destinée à la boisson ne doit pas contenir un nombre ou une concentration de micro-organismes, de parasites ou de toutes autres substances constituant un danger potentiel pour la santé des personnes et doit être conforme aux limites de qualité définies dans le code de la santé publique. Elle doit, en outre, satisfaire à des références de qualité, valeurs indicatives établies à des fins de suivi des installations de production et de distribution d'eau et d'évaluation

de risques pour la santé des personnes.

Les limites et références de qualité doivent être respectées ou satisfaites au robinet de la fontaine pour les eaux fournies par un réseau de distribution ou pour les eaux fournies à partir d'appareils distributeurs approvisionnés par des récipients amovibles. Les paramètres microbiologiques de ces eaux sont présentés dans les tableaux 1 et 2.

Paramètres microbiologiques	Limites de qualité	Références de qualité
<i>Escherichia coli</i> (E. coli)	0 /100 ml	
Entérocoques	0 /100 ml	
Bactéries coliformes		0 /100 ml
Bactéries sulfito-réductrices y compris les spores*		0 /100 ml
Numération de germes aérobies revivifiables à 22 °C et à 37 °C		Variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle

Tableau 1 : Paramètres microbiologiques de l'eau destinée à la consommation humaine distribuée par une fontaine raccordée à un réseau intérieur de distribution (annexe 13-1 du code de la santé publique)

* Ce paramètre doit être mesuré lorsque l'eau est d'origine superficielle ou influencée par une eau d'origine superficielle. En cas de non- respect de cette valeur, un enquête doit être menée sur la distribution d'eau pour s'assurer qu'il n'y a aucun danger potentiel pour la santé humaine résultant de la présence de micro-organismes pathogènes, par exemple des *Cryptosporidium*.

Paramètres microbiologiques	Limites de qualité
<i>Escherichia coli</i> (E. coli)	0 /250 ml
Entérocoques	0 /250 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	0/250 ml
Numération de germes aérobies revivifiables à 22 °C **	100/ml
Numération de germes aérobies revivifiables à 37 °C **	20/ml
Bactéries sulfito-réductrices, y compris les spores	0/50 ml

* Les analyses doivent être commencées au moins 3 jours après le conditionnement

** Les analyses doivent être commencées dans les 12 heures suivant le conditionnement, l'eau étant maintenue entre 3 et 5 °C pendant cette période

Tableau 2 : Paramètres microbiologiques des eaux destinées à la consommation humaine vendues en bouteilles ou en conteneurs (annexe 13-4 du code de la santé publique), à l'exception des eaux de source préemballées, dont les limites sont fixées par le décret n°89-369 du 6 juin 1989.

Les caractéristiques de qualité microbiologique des eaux de source déterminées à l'émergence doivent répondre aux dispositions du code de la santé publique (annexe 13-4 – tableau 2). A chaque étape de sa commercialisation, une eau de source doit être exempte de parasites et de micro-organismes pathogènes. Elle doit être également exempte des germes témoins de contamination fécale dont la recherche est déterminée dans les volumes d'eau mentionnés. Sa teneur totale en micro-organismes revivifiables ne peut résulter que de l'évolution normale de sa teneur en germes à l'émergence.

2. Caractéristiques techniques des fontaines

2.1. Les fontaines raccordées au réseau intérieur

Les fontaines raccordées à un réseau intérieur de distribution d'eau peuvent être distinguées en deux grands groupes :

– *les fontaines à serpentín d'eau*, sans réservoir. L'eau circule dans un serpentín réfrigéré par un compresseur hermétique à haute pression (fontaine à tirage direct ou à détente directe) ou par un bloc de glace (fontaine à banquise ou réserve de glace),

– *les fontaines à réservoir*. L'eau est stockée dans un réservoir et refroidie.

Ces fontaines doivent être raccordées à un réseau type 1b, réseau privatif d'eau froide destinée à la consommation humaine, piqué sur le réseau collectif type 1a d'eau froide partant du compteur (Centre Scientifique et Technique du Bâtiment, 2003).

Les matériaux utilisés dans les fontaines, au contact de l'eau destinée à la consommation humaine, ne doivent pas être susceptibles d'altérer la qualité de l'eau. Leur utilisation est soumise à une autorisation du ministre chargé de la santé, donnée après avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA).

Les fluides caloporteurs des installations de traitement thermique fonctionnant en simple échange doivent appartenir à la liste diffusée par la circulaire DGS du 2 juillet 1985 et par la circulaire DGS/PGE/1D du 2 mars 1987.

Des systèmes de filtration (charbon actif, filtre à sédiment, filtre céramique,...) ou des procédés de traitement (ultraviolets, décarbonation) sont utilisés pour garantir la qualité de l'eau.

Le dispositif de stockage de l'eau dans les fontaines à réservoir doit être dimensionné pour éviter une stagnation prolongée ; l'adéquation du volume à la consommation est un critère de qualité.

2.2. Les fontaines alimentées par une bonbonne d'eau

L'eau de la bonbonne est refroidie dans un circuit interne réfrigéré par un fluide frigorigène.

Les matériaux utilisés pour les bonbonnes et pour le circuit interne de réfrigération, au contact de l'eau destinée à la consommation humaine, ne doivent pas être susceptibles d'altérer la qualité de l'eau. Leur utilisation est soumise à une autorisation du ministre chargé de la santé, donnée après avis de l'AFSSA.

Un système de filtration (filtre à 0,22 µm) permet de filtrer l'air introduit au moment du soutirage pour limiter toute introduction de micro-organismes dangereux.

3. Qualité bactériologique de l'eau distribuée par les fontaines

3.1. Les fontaines raccordées au réseau intérieur

3.1.1. La qualité de l'eau du réseau

La qualité de l'eau distribuée par une fontaine raccordée dépend de la qualité de l'eau du réseau intérieur de distribution.

Le réseau intérieur peut être le siège d'une prolifération des micro-organismes présents dans l'eau et de la formation d'un biofilm qui est un « ensemble de micro-organismes et de microcolonies de cellules filles, associés entre eux et/ou aux surfaces et interfaces, et inclus dans une matrice constituée d'exopolymères bactériens, de matière organique et non organique, ainsi que de macromolécules piégées du milieu environnant. » (Groupe Eau – Santé).

La séquence classique de formation du biofilm comporte les phases suivantes : transfert du micro-organisme de la phase aqueuse vers le support, adhésion initiale, transitoire et réversible, consolidation par production de polymères et enfin colonisation du support avec maturation du biofilm.

Les facteurs qui favorisent le développement des micro-organismes dans le réseau intérieur sont nombreux et comprennent notamment (Squinazi, 2006) :

- la nature et la concentration des éléments nutritifs (charge organique) de l'eau entrante,
- la densité des bactéries et les espèces introduites dans le réseau,
- le régime hydraulique et ses variations (temps de résidence de l'eau, variation de débit,...).

L'accumulation de biofilm à la surface des canalisations se fait dans une zone où la circulation de l'eau est freinée par les frottements sur la paroi qui créent une couche visqueuse (vitesse de circulation insuffisante), dans des bras morts ou appareils inutilisés.

- la température de l'eau supérieure à 25 °C,
- la corrosion des matériaux constitutifs qui crée une porosité, facteur d'accroche des micro-organismes, et une source de nutriments pour les micro-organismes,
- la nature des matériaux qui se révèlent inégaux pour l'aptitude à promouvoir la croissance microbienne.

Le biofilm continue à évoluer avec le temps. Il se produit un détachement de cellules microbiennes ou paquets de cellules présentes en surface qui correspond soit à une simple érosion, phénomène le plus fréquent, soit à un arrachage, avec transfert des micro-organismes dans l'eau.

Les problèmes les plus fréquents de qualité d'eau causés par la multiplication des micro-organismes dans les réseaux de distribution d'eau sont d'une part des dénombrements élevés des micro-organismes aérobies revivifiables, et d'autre part, la présence indésirable de micro-organismes potentiellement pathogènes, tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, bactéries coliformes, mycobactéries atypiques.

3.1.2. L'amplification de la contamination

La qualité de l'eau distribuée par une fontaine raccordée dépend aussi des conditions de multiplication des micro-organismes introduits dans la fontaine.

Une stagnation prolongée de l'eau favorise le développement microbien. Elle peut être liée à une utilisation faible ou irrégulière de l'eau, par exemple, pour des fontaines installées dans des restaurants de personnels où l'eau n'est délivrée qu'au déjeuner. L'eau stagne dans le flexible de raccordement, en matériau plastique souple, situé derrière la fontaine dans une atmosphère chaude. L'eau stagne également dans le circuit interne de la fontaine ou dans le dispositif de stockage dans les fontaines à réservoir.

Un développement microbien peut survenir au sein des éléments de filtration de l'eau, comme les filtres à sédiments ou les filtres à charbon actif.

3.2. Les fontaines alimentées par une bonbonne d'eau

3.2.1. La qualité de l'eau à la source

L'eau extraite d'aquifères souterrains est protégée des risques de pollution ; elle est qualifiée de « non vulnérable ». Elle ne subit aucun traitement sauf ceux autorisés par arrêté ministériel. Elle n'a pas l'obligation d'avoir une composition constante. Une eau de source commercialisée sous un même nom peut provenir de sources différentes et de régions éloignées. Elle est régulièrement contrôlée sur le plan microbiologique.

La qualité de l'eau conditionnée à la source dépend de la maîtrise du réseau de distribution dans l'usine d'embouteillage ou du lavage et désinfection des bonbonnes réutilisées.

3.2.2. La dégradation de la qualité de l'eau

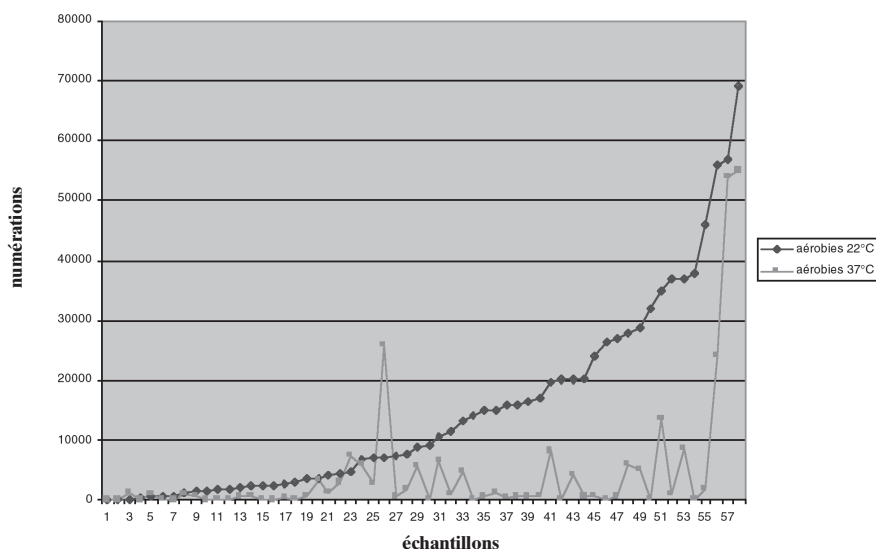
La stagnation prolongée de l'eau des bonbonnes, et en particulier dans des conditions défavorables (entreposage dans un local surchauffé, température extérieure élevée,...) favorise le développement des micro-organismes aérobies revivifiables, notamment ceux à 22 °C, comme le montre l'analyse d'une soixantaine d'échantillons d'eau prélevés au robinet de fontaines à bonbonnes (figure 1). Le nombre des bactéries viables et cultivables, très faible initialement, tend à augmenter naturellement après embouteillage, conformément aux caractéristiques physiologiques de ces bactéries (Leclerc et Moreau, 2002).

L'introduction de micro-organismes indésirables dans l'eau de la bonbonne peut survenir par l'entrée d'air, la jonction bonbonne – fontaine ou par l'intermédiaire des robinets de puisage.

4. L'impact des contaminants microbiologiques de l'eau des fontaines

4.1. Les micro-organismes aérobies revivifiables

L'environnement tellurique, aquatique, aérien ou végétal est peuplé de bactéries hétérotrophes qui ont besoin de composants organiques pour leur croissance et qui jouent un rôle essentiel dans le cycle de la matière organique.

Fig. 1. – Numération des germes aérobies revivifiables de l'eau des fontaines à bonbonnes

La réglementation impose la numération des bactéries hétérotrophes ou flore aérobie par incorporation de 1 ml d'eau dans une gélose PCA à l'extrait de levure (Plate Count Agar, sans glucose), à 22 °C durant 72 heures ou à 36 °C, durant 48 heures, selon la norme NF EN ISO 6222. Le seuil de détection est inférieur à 1 UFC/ml.

Le test « Heterotrophic Plate Count » (numération des micro-organismes revivifiables) mesure la population bactérienne hétérotrophe dans les eaux d'alimentation, distribuées en réseaux ou conditionnées. Les bactéries HPC des eaux de distribution traitées sont distinctes, qualitativement et quantitativement, des eaux d'aquifères souterrains. Chaque source paraît caractérisée par une large diversité bactérienne phénotypique et génétique (Guillot et Leclerc, 1993; Vachée *et al.* 1997). Des numérations de l'ordre de 10^4 – 10^5 UFC/L sont atteintes en 3 à 7 jours après l'embouteillage.

Il faut toutefois souligner que le test HPC ne mesure qu'une fraction des bactéries hétérotrophes présentes dans le milieu, c'est-à-dire celles qui sont cultivables dans les conditions choisies et qui correspondent à un pourcentage inférieur à 1%, voire 1%, du nombre total des bactéries comptées après marquage à l'acridine orange. En outre, le test n'est pas capable de faire la différence entre bactéries pathogènes et non pathogènes, et ne permet pas de détecter certaines bactéries potentiellement pathogènes, comme les *Legionella* ou les mycobactéries atypiques, qui ne peuvent se développer dans les conditions du test.

Le test HPC est habituellement utilisé pour contrôler l'efficacité des traitements de l'eau d'alimentation, en particulier de la désinfection, et pour surveiller la qualité de l'eau traitée au cours de la distribution et du stockage. La question de l'utilisation de ce test en tant que paramètre de santé publique a fait l'objet d'un symposium international (NSF/WHO, 2002).

Plusieurs études épidémiologiques ont montré l'absence d'association entre les bactéries dénombrées par le test HPC et des effets de santé chez l'homme.

Une étude longitudinale (Ferley *et al.*, 1986 ; Zmirou *et al.*, 1987), menée sur 18 mois, concernait des populations de 52 villages alimentés avec une eau de surface non traitée et analysée chaque semaine. Les numérations de streptocoques fécaux et de coliformes thermotolérants étaient plus souvent associées avec un taux plus élevé de gastro-entérites, alors que les concentrations de coliformes et de bactéries HPC n'étaient pas corrélées avec le risque.

L'étude de Payment *et al.* (1997) compare quatre groupes de consommateurs d'eau (eau du robinet, eau du robinet avec purge, eau embouteillée provenant de l'usine de traitement et eau minérale ou eau embouteillée ozonée). Les taux d'infections gastro-intestinales ne sont pas significativement différents pour les consommateurs d'eau embouteillée, alors que les numérations des bactéries HPC sont beaucoup plus élevées dans l'eau de l'usine que dans l'eau ozonée. En revanche, on observe moins de cas d'infections chez les consommateurs d'eau du robinet (HPC élevé) que pour les consommateurs d'eau du robinet purgée (HPC faible). Cette étude montre l'absence de corrélation entre les numérations de bactéries HPC et les infections gastro-intestinales humaines.

Les deux études de Calderon et Mood (1988), (1991), chez des consommateurs d'eau filtrée ou non, n'ont pas montré l'existence d'un risque particulier de gastro-entérites dû aux bactéries HPC.

Une étude randomisée chez deux groupes de nourrissons (Leclerc, 1990) a permis de comparer un groupe alimenté par du lait reconstitué avec de l'eau minérale naturelle et le second recevant le même lait mais reconstitué avec de l'eau minérale naturelle stérile. Aucune différence n'a été observée dans les deux groupes pour la survenue de troubles digestifs. En outre, les bactéries de l'eau minérale n'ont pas pu être isolées de prélèvements naso-pharyngés et de selles, ce qui montre qu'elles n'ont pas réussi à se fixer sur les muqueuses des organes de transit. Il faut ajouter que, depuis l'existence de la réglementation européenne en 1980 (EC, 1980), aucune épidémie ni aucun cas d'infection dû à l'ingestion d'eau minérale naturelle n'ont été rapportés dans la littérature ni déclarés aux autorités sanitaires des pays concernés.

Les bactéries HPC, isolées d'échantillons d'eaux du robinet, embouteillées ou de fontaines réfrigérantes, sont habituellement dépourvues de facteurs de virulence qui leur permettraient de survivre à l'acidité de l'estomac, d'adhérer aux cellules, de détruire les cellules (cytotoxicité), d'envahir les tissus et les organes (enzymes extracellulaires) (Lye et Dufour, 1991; Edberg *et al.* 1996, 1997 ; Edberg et Allen, 2002a). Une étude sur 240 souches représentatives de cinq sources françaises (Leclerc et Moreau, 2002) a montré qu'aucune des souches étudiées n'était capable, à la température de 37 °C, d'adhérer et de se multiplier en culture cellulaire (Hep-2), ni de produire d'effet cytotoxique.

Chez les souris, même soumises à une profonde immunodépression (Smith *et al.* 2001), des doses importantes de bactéries HPC (10^4 – 10^5) inoculées par voie intrapéritonéale ne sont pas en mesure d'engendrer une infection. Les bactéries HPC isolées des eaux minérales naturelles sont incapables de s'implanter et de se multiplier dans l'intestin de souris axéniques (Ducluzeau *et al.* 1976). Les essais d'ingestion de

bactéries HPC chez l'homme n'ont jamais réussi à déclencher une infection gastro-intestinale.

Les conclusions du symposium international NFS/WHO révèlent qu'il n'existe actuellement aucune donnée indiquant que les bactéries HPC puissent être directement associées à un risque de santé pour le consommateur humain. L'ensemble des données biologiques (facteurs de virulence), expérimentales sur l'animal et épidémiologiques montrent que les bactéries HPC des eaux distribuées et des bactéries autochtones des eaux minérales sont dépourvues de pouvoir pathogène, *in vitro* comme *in vivo*. Le test HPC ne peut être en conséquence comme critère de santé publique. Il ne peut pas non plus être un indicateur de la présence de bactéries pathogènes opportunistes telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas*, les mycobactéries atypiques.

4.2. Les bactéries pathogènes opportunistes

4.2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquiste de l'environnement hydrotellurique, des eaux douces, du sol et des végétaux. Ses exigences nutritionnelles minérales et sa capacité à survivre dans des conditions hostiles font qu'il s'adapte facilement à une large variété de situations. Cette bactérie peut se développer dans tous les types d'eau, distribuées ou conditionnées, comme les eaux minérales naturelles.

Pseudomonas aeruginosa ne s'implante pas et ne colonise pas l'hôte humain normal de façon significative et durablement. Un faible pourcentage d'individus (quelques %) hébergent la bactérie dans leur intestin et à des taux très bas, de l'ordre de $10^2 - 10^3/g$ (Leclerc et Moriamez, 1980), probablement du fait d'un désavantage compétitif par rapport à la flore autochtone pré-établie. Une expérimentation, conduite chez des volontaires humains, montre que l'ingestion d'une dose de 10^6 *P. aeruginosa* (Buck et Cook, 1969) est marquée simplement par une brève période d'isolement du germe dans les selles sans colonisation durable et sans aucun signe de diarrhée chez les receveurs. Chez des souris gavées avec des doses de 10^9 *P. aeruginosa*, aucun des animaux ne tombait malade, et la plupart d'entre eux (75%) n'avaient pas de signe de colonisation intestinale.

Aucune étude épidémiologique n'a montré, dans l'état actuel des connaissances, l'existence d'une association entre la présence de cette bactérie dans les eaux d'alimentation et l'apparition de cas de maladie. En revanche, chez des patients souffrant d'immunodépression profonde ou chez des patients hospitalisés, *Pseudomonas aeruginosa* a la capacité de produire une large variété de facteurs de virulence : adhésion, invasion et destruction cellulaire, activité anti-inflammatoire. Il est à l'origine de 10 à 20% des infections nosocomiales, sélectionné par les traitements antibiotiques auxquels il est le plus souvent résistant (Leclerc *et al.* 2002).

L'absence de *Pseudomonas aeruginosa* (inférieure à 1 UFC/100 ml) dans les eaux minérales naturelles ou dans les eaux conditionnées est réglementée (code de la santé publique). La présence de la bactérie est interprétée comme un manque de protection de l'aquifère vis-à-vis des contaminants de surface et donc comme un signe de vulnérabilité de cet aquifère. Son absence dans les eaux à usage alimentaire distribuées dans les établissements de santé est fortement recommandée et sa présence est à la fois

un indicateur de qualité de l'eau distribuée et une bactérie pathogène opportuniste pour des sujets fragilisés (Guide technique de l'eau dans les établissements de santé, 2005).

4.2.2 *Aeromonas spp.*

Les *Aeromonas*, représentée initialement par l'espèce *A. hydrophila*, comprennent 16 espèces, (Nichols *et al.*, 2002) dont plusieurs sont associées à des maladies humaines. Ce sont des hôtes naturels de l'environnement aquatique, principalement des eaux douces. Ils sont facilement isolés des réseaux d'eau de distribution avec des fréquences et des taux qui varient selon les situations. La colonisation des réseaux s'effectue en dépit de leur relative sensibilité aux composés chlorés et du fait de leur fixation dans les biofilms.

Les *Aeromonas* sont impliqués dans des cas de gastroentérites pouvant être dus aux aliments et à l'eau de consommation. De nombreux produits extracellulaires représentant des facteurs de virulence peuvent être élaborés par des souches de certaines espèces et expliqueraient leur pouvoir entéropathogène (beta-hémolysine d'activité cytostatique, dermonécrotique et léthale pour la souris, entérotoxine cytotonique, protéases) (Stelma *et al.* 1986, Janda, 1991).

Toutefois, Edberg et Allen (2002) considèrent que les *Aeromonas* ne remplissent pas la plupart (sinon la totalité) des critères qui sont exigés pour qu'un germe soit un entéropathogène de l'eau d'alimentation :

- un faible pourcentage de souches d'*A. hydrophila* peuvent être responsables de gastroentérites ou d'entérites banales, de faible durée et autolimitantes. La plupart des cas sont d'origine alimentaire et quelques cas seulement seraient associés à l'ingestion d'eau de puits non traitée ;

- la concentration des *Aeromonas* est beaucoup plus élevée dans les aliments que dans les eaux d'alimentation. Un faible pourcentage de souches possède des facteurs de virulence ;

- dans quelques enquêtes épidémiologiques, il y a peu de similitude entre les souches isolées de l'eau et les cas de diarrhée ;

- les souches d'*Aeromonas*, y compris celles d'*A. hydrophila*, sont de faible virulence.

Compte tenu de ces données, les auteurs estiment qu'il n'y a pas d'arguments suffisants pour considérer les *Aeromonas* des eaux d'alimentation comme des pathogènes opportunistes.

4.2.3. Autres micro-organismes

Les mycobactéries non tuberculeuses sont assez largement distribuées dans l'environnement hydro-tellurique et peuvent contaminer les réseaux d'eau d'alimentation, à faible fréquence et faible taux. Leur croissance peut être largement favorisée par la température ; elles peuvent ainsi coloniser les réseaux d'eau chaude sanitaire ou d'eau froide surchauffée.

Du point de vue de la santé publique, cette situation ne paraît pas comporter de risque particulier pour la population générale ou du moins aucune observation n'a été faite pour accréditer cette hypothèse. Certains groupes de patients, en particulier les sidéens, seraient plus à risque mais ce sujet reste discuté.

Des parasites, tels que *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium parvum*, ont été incriminés dans des troubles digestifs. L'eau stagnante des fontaines à réservoir ou des fontaines à bonbonnes peut permettre la prolifération de bactéries psychrophiles comme *Yersinia* ou *Listeria*.

5. La maîtrise de la qualité de l'eau des fontaines

Les fontaines réfrigérantes doivent être installées en petit nombre et dans des emplacements stratégiques afin que les consommateurs puissent les utiliser souvent. Elles doivent être facilement accessibles pour leur entretien et à l'abri de toute pollution d'origine extérieure, comme les coins fumeurs ou les ateliers particulièrement salissants. Elles doivent être situées dans des locaux bien ventilés.

Le choix d'une fontaine alimentée par une bonbonne ou d'une fontaine réseau repose non seulement sur une relation appropriée entre le volume d'eau des bonbonnes et le nombre de consommateurs potentiels, mais est aussi fonction de la qualité du réseau intérieur de distribution.

5.1. Les fontaines raccordées au réseau intérieur

Ces fontaines doivent être utilisées régulièrement pour limiter la stagnation de l'eau.

Elles doivent être maintenues dans un bon état d'entretien et de fonctionnement. Les composants de la fontaine nécessitent des actions spécifiques :

- flexible de raccordement : désinfection annuelle ou changement annuel si nécessaire,

- circuits internes : désinfection annuelle. On injecte le nettoyant – désinfectant dans les circuits internes, après coupure de l'alimentation d'eau et électrique de la fontaine, puis on remplit d'eau les circuits en rebranchant l'alimentation d'eau et électrique. Après le temps de contact préconisé par le fabricant, on vidange les circuits internes. On rince ensuite les circuits en tirant le volume d'eau approprié,

- réservoir (dans le cas des fontaines à réservoir) : vidange et nettoyage mensuels,
- partie externe (parois, becs verseurs – si non affleurants - grilles, cuvettes,...) : nettoyage mensuel,

- systèmes de filtration (filtre à sédiments, filtre à charbon actif, filtre céramique,...) : changement semestriel. Après coupure de l'alimentation d'eau et électrique, on remplace les filtres puis on les rince abondamment par passage d'un volume d'eau approprié,

- autres traitements de l'eau (ultra-violet, décarbonation) : suivi périodique.

5.2. Les fontaines alimentées par une bonbonne d'eau

5.2.1. Maîtrise de la qualité de l'eau à la source

Une eau de source est une eau d'origine souterraine, microbiologiquement saine et protégée contre les risques de pollution et respecte dans son état naturel les caractéristiques de qualité microbiologique définies dans les annexes du code de la santé publique. Elle est exploitée par une ou plusieurs émergences naturelles ou forées. Elle doit être introduite à la source dans des récipients autorisés destinés à la livraison au consommateur.

L'eau de source ne peut faire l'objet que des traitements ou adjonctions prévus par un arrêté des ministres chargés de la consommation et de la santé, pris après avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Cet arrêté précise les traitements ou adjonctions et fixe les conditions techniques à respecter afin de procéder à :

- la séparation des éléments instables, par décantation ou filtration, éventuellement précédée d'une oxygénation,
- la séparation des composés du fer, du manganèse et du soufre, ainsi que de l'arsenic, à l'aide d'air enrichi en ozone,
- la séparation de constituants indésirables,
- l'élimination totale ou partielle de gaz carbonique libre par des procédés exclusivement physiques,
- l'incorporation ou la réincorporation de gaz carbonique.

L'application de ces traitements ne doit pas avoir pour but ou effet de modifier les caractéristiques microbiologiques de l'eau.

L'utilisation d'eau prélevée dans le milieu naturel en vue de la consommation humaine par une personne publique ou privée est autorisée par arrêté du préfet, pris après avis du conseil départemental d'hygiène, et soumis à l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) :

- lorsque les projets concernent l'alimentation en eau de plus de 50 000 habitants, y compris, s'il y a lieu, la population saisonnière,
- lorsque les projets prévoient un captage en dehors des limites du département où sont situées la ou les communes intéressées et qu'il y a désaccord entre les préfets des départements intéressés sur le projet ou sur les conditions de contrôle et de surveillance des eaux captées,
- lorsque les projets portent sur l'utilisation, en vue de la consommation humaine, d'une eau dont la qualité dépasse l'une des limites fixées à l'annexe 13-3 du Code de la santé publique.

L'arrêté d'autorisation fixe les conditions de réalisation, d'exploitation et de protection du point de prélèvement et indique notamment les produits et procédés de traitement techniquement appropriés auxquels il peut être fait appel. On distingue trois périmètres de protection, immédiate, rapprochée et éloignée.

Les limites du périmètre de protection immédiate sont établies afin d'interdire toute introduction directe de substances polluantes dans l'eau prélevée et d'empêcher la dégradation des ouvrages. Les terrains compris dans ce périmètre sont clôturés, sauf dérogation prévue dans l'acte déclaratif d'utilité publique, et sont régulièrement entretenus. Toutes activités, installations et dépôts y sont interdits, en dehors de ceux qui sont explicitement autorisés dans l'acte déclaratif d'utilité publique.

A l'intérieur du périmètre de protection rapprochée, sont interdits les activités, installations et dépôts susceptibles d'entraîner une pollution de nature à rendre l'eau impropre à la consommation humaine. Les autres activités, installations et dépôts peuvent faire l'objet de prescriptions et sont soumis à une surveillance particulière, prévues dans l'acte déclaratif d'utilité publique. Chaque fois qu'il est nécessaire, le même acte précise que les limites du périmètre de protection rapprochée seront matérialisées et signalées.

A l'intérieur du périmètre de protection éloignée peuvent être réglementés les activités, installations et dépôts qui, compte tenu de la nature des terrains, présentent un danger de pollution pour les eaux prélevées ou transportées, du fait de la nature et de la quantité de produits polluants liés à ces activités, installations et dépôts ou de l'étendue des surfaces que ceux-ci occupent.

La vérification de la qualité des eaux conditionnées est assurée conformément à un programme d'analyse d'échantillons (paramètres microbiologiques et chimiques) défini à l'annexe 13-2 du Code de la santé publique. Les lieux de prélèvement des échantillons sont déterminés par un arrêté du préfet. Deux types d'analyse sont définis : un programme d'analyse de routine (R) et un programme d'analyse complémentaire (C). Les analyses portent sur la ressource, avant soutirage et après conditionnement. Les fréquences minimales annuelles d'échantillonnages et d'analyses dépendent du volume d'eau produit par jour. Les lots d'eau mises en bonbonnes ne sont libérés qu'après la validation des résultats d'analyse par la personne publique ou privée (libération paramétrique).

Le préfet peut, par arrêté, modifier le programme d'analyse des échantillons d'eau prélevés dans les installations de production et de distribution s'il estime que les conditions de protection du captage de l'eau et de fonctionnement des installations, les vérifications effectuées et la qualité de l'eau le nécessitent ou le permettent. Cette modification ne peut conduire à une augmentation du coût du programme d'analyse supérieure à 20%.

Les entreprises d'embouteillage doivent remplir les conditions suivantes :

- les ateliers doivent être construits en matériaux durs, les sols revêtus d'un matériau imperméable et agencés pour permettre un écoulement des eaux facile et rapide ; l'atelier d'embouteillage doit être isolé, tant des locaux destinés à la réception et au triage des récipients, que des locaux destinés à l'emballage et à l'expédition des eaux ;

- les récipients doivent être en matériaux autorisés par le ministre chargé de la santé après avis de l'AFSSA ;

- les opérations de lavage, de remplissage et de bouchage doivent s'effectuer sans intervention manuelle intermédiaire ;

– les récipients doivent être lavés et désinfectés à moins que leur fabrication ne garantisse leur propreté et leur stérilité au moment du remplissage. A l'exclusion de ceux qui sont fabriqués en continu ou livrés stériles, les récipients doivent être rincés avec une eau potable et égouttés lorsque le dernier rinçage n'est pas fait avec l'eau à embouteiller. Les produits utilisés pour le lavage et la désinfection ainsi que les nouveaux modes de stérilisation des récipients doivent être autorisés par le ministre chargé de la santé après avis de l'AFSSA. Les bouteilles doivent être mirées avant et après remplissage ;

– l'obturation doit présenter toutes garanties d'étanchéité et de salubrité.

La réutilisation des bonbonnes nécessite de valider l'efficacité du processus de nettoyage-désinfection.

L'étiquetage des eaux de source conditionnées qui sont détenues en vue de la vente, mises en vente, vendues ou distribuées à titre gratuit devrait comporter :

– le nom de la source exploitée par une ou plusieurs émergences naturelles ou forées ;

– l'indication du lieu d'exploitation ;

– l'indication se rapportant aux traitements.

La mise en œuvre par l'entreprise d'embouteillage d'une démarche HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), à savoir d'un système d'Analyse des risques – Points critiques pour leur maîtrise, permet de garantir la salubrité et la qualité de l'eau au distributeur et également au consommateur.

Cette démarche identifie les dangers potentiels, physiques, chimiques ou biologiques, qui affectent la sécurité de l'eau et spécifie les mesures nécessaires à leur maîtrise. La démarche couvre non seulement tout le processus d'embouteillage et ce depuis le forage, le processus de nettoyage et de désinfection des circuits d'eau à la source, mais aussi l'achat des différents consommables (bouchons, produits de nettoyage et de désinfection,...).

Le système repose sur les 7 principes suivants :

1. Identifier le ou les dangers éventuels associés au processus, à tous les stades. Évaluer la probabilité d'apparition du ou des dangers et identifier les mesures préventives nécessaires.
2. Déterminer les points/procédures/étapes opérationnelles qui peuvent être maîtrisés pour éliminer le ou les dangers ou minimiser leur probabilité d'apparition (point critique de maîtrise).
3. Établir la (les) limite(s) critique(s) à respecter pour s'assurer que le point critique est maîtrisé.
4. Établir un système de surveillance permettant de s'assurer de la maîtrise du point critique grâce à des mesures ou à des observations programmées.
5. Établir les actions correctives à mettre en œuvre lorsque la surveillance révèle qu'un point critique donné n'est pas maîtrisé.

6. Établir des procédures pour la vérification, incluant des mesures et des procédures complémentaires, afin de confirmer que le système HACCP fonctionne efficacement.
7. Établir un système documentaire concernant toutes les procédures et enregistrements appropriés à ces principes et à leur explication.

5.2.1. Maîtrise de la qualité de l'eau par le distributeur

La mise en œuvre par le distributeur de cette même démarche HACCP a pour objectifs de garantir au consommateur la salubrité et la qualité de l'eau des fontaines à bonbonnes.

A ce niveau, la démarche couvre l'achat des fontaines et de consommables (bonbonnes, gobelets, circuit interne, produits de nettoyage), la mise en place d'une fontaine, son entretien, le changement d'une bonbonne et la consommation de l'eau.

Parmi les mesures préventives relevées lors de l'identification des dangers, on signalera plus particulièrement la validation de l'emplacement de la fontaine, les conditions d'entreposage des bonbonnes remplies d'eau (protection vis-à-vis de la lumière, principe « premier arrivé – premier sorti », gestion des approvisionnements, Date Limite d'Utilisation Optimale), l'identification et la traçabilité des lots d'embouteillage, le changement systématique au bout de 15 jours de la bonbonne placée sur la fontaine (voyant lumineux), le changement systématique du circuit interne d'eau tous les 3 mois, la filtration de l'air introduit dans la bonbonne lors du soutirage (filtre à 0,22 µm changé tous les 3 mois).

Des audits réguliers sont réalisés sur les différentes étapes du processus de distribution d'eau. Un programme de contrôles bactériologiques d'échantillons d'eau, prélevés au robinet de fontaines installées, complète les procédures de vérification de l'efficacité du système HACCP.

CONCLUSION

Les fontaines réfrigérantes délivrent une eau fraîche, destinée à la consommation humaine. L'eau est consommée par tout le monde, y compris les personnes âgées, les femmes enceintes ou les enfants, et ceci dans plusieurs catégories de bâtiments.

Il est fondamental de garantir au consommateur la qualité bactériologique de l'eau délivrée par la fontaine et qui provient du réseau intérieur de distribution d'eau du bâtiment ou d'une bonbonne d'eau de source. Cette garantie de qualité repose sur une analyse des risques de contamination ou de prolifération microbienne, la maîtrise de l'ensemble du processus de distribution d'eau, à ses différentes étapes, et le maintien des fontaines dans un bon état d'entretien et de fonctionnement.

Une numération élevée de germes aérobies revivifiables cultivés à 22 °C et 37 °C en sortie de fontaine représente un signal d'alerte, bien que ces bactéries hétérotrophes sont dénuées de pouvoir pathogène comme cela résulte de l'absence de facteurs de virulence dans ces populations bactériennes, d'études expérimentales chez l'animal et d'études cliniques.

Leur signification est différente selon le type de fontaine. Pour les fontaines alimentées par une bonbonne d'eau, les numérations élevées de la flore hétérotrophe en sortie de fontaine sont liées à l'accroissement de la flore normale de l'eau qui dépend des caractéristiques physiologiques des bactéries, de la composition minérale de l'eau et des conditions d'entreposage. Pour les fontaines raccordées au réseau intérieur de distribution d'eau, les numérations élevées en germes aérobies revivifiables ou en *Pseudomonas* révèlent le plus souvent une dégradation de la qualité de l'eau du réseau intérieur mais peuvent aussi être en relation avec une insuffisance d'entretien et/ou d'utilisation de la fontaine.

BIBLIOGRAPHIE

- Buck A.C. and Cook E.M. (1969). The fate of ingested *Pseudomonas aeruginosa* in normal persons. *J. Med. Microbiol.* 2, p.521-525.
- Calderon R.L. and Mood E.W. (1988). Bacterial colonizing point-of-use, granular activated carbon filters and their relationship to human health. *U.S. Environmental Protection Agency*, CR-811904-01-0.
- Calderon R.L. and Mood E.W. (1991). Bacterial colonizing point-of-entry, granular activated carbon filters and their relationship to human health. *U.S. Environmental Protection Agency*, CR-813978-01-0.
- Centre scientifique et technique du bâtiment (2003). Réseaux d'eau destinée à la consommation humaine à l'intérieur des bâtiments - Partie 1 : Guide technique de conception et de mise en œuvre, 88 pages.
- Circulaire DGS du 2 juillet 1985 relative au traitement thermique des eaux destinées à la consommation humaine (article 16-9 du règlement sanitaire départemental type).
- Circulaire DGS/PGE/1D du 2 mars 1987 relative à la mise à jour des listes de fluides et additifs utilisés pour le traitement thermique des eaux destinées à la consommation humaine.
- Circulaire DHOS/DGS n°2005/417 du 9 septembre 2005 relative à la diffusion du Guide technique de l'eau dans les établissements de santé.
- Codex Alimentarius
Code d'usage international recommandé – Principes généraux d'hygiène alimentaire.
- Ducluzeau R., Dufresne S. and Buchan J.M. (1976). Inoculation of the Digestive Tract of Axenic Mice with the Autochthonous Bacteria of Mineral Water. *Eur. J Appl Microbiol.*, 2, p. 127-134.

- EC (1980). Council Directive relating to the quality of water intended for human consumption (80/778/EEC). *Official Journal of the European Community*, L229 (30.08.80), p. 11-29.
- Edberg S.C. and Allen M.J. (2002). Virulence and risk of HPC bacteria in human populations groups. Presented at the NSF International/World Health Organization Symposium on HPC Bacteria in Drinking Water, April 22-24 2002, Geneva, Switzerland.
- Edberg S.C., Gallo P. and Kontnick C. (1996). Analysis of the virulence characteristics of bacteria isolated from bottled, water cooler, and tap water. *Microbiol. Ecol. Health Dis.* 9, p. 67-77.
- Edberg S.C., Kopps S., Kontnick C and Escarzaga M. (1997). Analysis of cytotoxicity and invasiveness of heterotrophic plate count bacteria (HPC) isolated from drinking water on blood media. *J. Appl. Microbiol.* 82(4), p. 455-461.
- Ferley J.P., Zmirou D., Collin J.F. et Charel M. (1986). Étude longitudinale des risques liés à la consommation d'eaux non-conformes aux normes bactériologiques. *Rev. Epidemiol. Santé Publique*, 34, p. 89-99.
- Groupe Eau – Santé (2005). Eaux des établissements de santé : Lexique pratique, 100 pages.
- Guillot E. and Leclerc H. (1993). Bacterial flora in natural mineral waters : characterization by ribosomal ribonucleic acid gene restriction patterns. *Syst. Appl. Microbiol.* 16, p. 483-493.
- Janda J.M. (1991)
Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1991, 4, p. 397-410.
- Leclerc H. (1990). Les qualités bactériologiques de l'eau minérale d'Évian. In : *L'eau Minérale d'Évian*. P. 27. S.A. des Eaux Minérales d'Évian, France.
- Leclerc (2003). Y a-t-il des infections bactériennes opportunistes transmises par les eaux d'alimentation ? *Journal européen d'hydrologie*, 34, 11-44.
- Leclerc H. and Moreau A. (2002). Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS Microbiol. Rev.*, 26, p. 207-222.
- Leclerc H. et Moriamez J.C. (1980). Étude quantitative de la flore fécale de l'adulte et du nourrisson alimenté artificiellement. *Path. Biol.* 28(4), p. 217-226.
- Leclerc H. Schwartzbrod L., Dei Cas E. (2002). Microbials agents associated with waterborne diseases. *Crit. Rev. Microbiol.* 28(4), p. 371-409.

- Lye D.J. and Dufour A.P. (1991). A membrane filter procedure for assaying cytotoxic activity in heterotrophic bacteria isolated from drinking water. *J. Appl. Bact.* 70, p. 89-94.
- Nichols G.L., Holt D. and Said B. (2002). Identifying and examining information on emerging water borne pathogens. Presented at the NSF International/World Health Organization Symposium on HPC Bacteria in Drinking Water, April 22-24 2002, Geneva, Switzerland.
- Norme NF EN ISO 6222, Juillet 1999. Qualité de l'eau – Dénombrement des micro-organismes revivifiables – Comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélosé.
- NSF International/World Health Organization Symposium on HPC Bacteria in Drinking Water, April 22-24 2002, Geneva, Switzerland.
- Payment *et al.* (1997). A prospective epidemiological study of gastrointestinal health effects due to the consumption of drinking water. *Int. J. Environ. Health Res.*, 7, p. 5-31.
- Smith B.G., Lye D.J. and Messer J.W. (2001). Occurrence of heterotrophic bacteria with virulence characteristics in potable water. Poster Q-412, *100th Ann. Conf. Amer. Soc. For Microbiol.*, Orlando, FL.
- Stelma G.M., Johson C.H. and Spaulding P. (1986). Evidence for the direct involvement of β -hemolysin in *Aeromonas hydrophila* enteropathogenicity. *Curr. Microbiol.* 14, p. 71-77.
- Squinazi F. (2006). Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution d'eau – De la maîtrise des réseaux à la qualité de l'eau.
- Vachée A., Vincent P., Struijk C.B., Mossel D.A.A. and Leclerc H. (1997). A study of the fate of the autochthonous bacterial flora of still mineral waters by analysis of restriction fragment length polymorphism of genes coding for rRNA. *Syst. Appl. Microbiol.* 20, p. 492-503.
- Zmirou D., Ferley J.P., Collin J.F., Charel M. and Berlin J. (1987). A follow-up study of gastro-intestinal diseases related to bacteriologically substandard drinking water. *Am. J. Public Health*, 77, p. 582-584.

