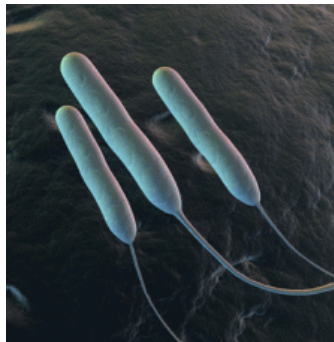
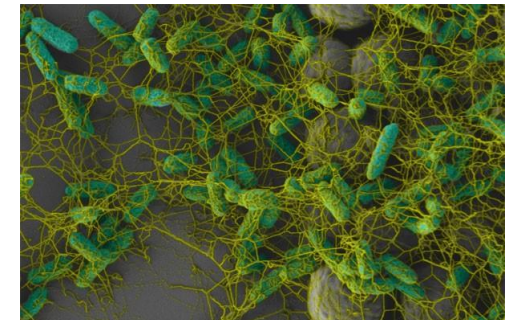


# **MICROBIOLOGIE DE L'EAU ET RISQUE NOSOCOMIAL**

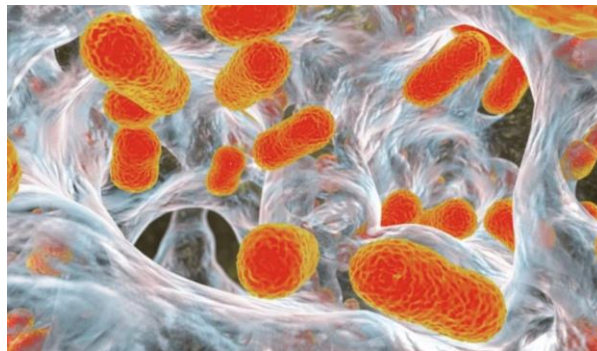


**Dr Véronique ROUX  
MCU-PH  
EOHH CLIN Hôpital Nord**



# INTRODUCTION

- ☛ **1943: microbiologiste américain Claude Zobell montre que les bactéries colonisant les parois d'un verre d'eau sont plus nombreuses que celles en suspension dans l'eau.**
- ☛ **Année 78: William Costerton sur la base de l'observation de l'ultrastructure de la plaque dentaire propose la théorie des biofilms.**
- ☛ **La bonne conception du réseau et le choix de matériaux limitant la corrosion et le tartre, permettent de réduire dès le départ les risques de prolifération des bactéries dans les circuits.**
- ☛ **L'entretien du réseau est primordial. Il faut éviter la stagnation de l'eau, maintenir une température élevée, lutter contre l'entartrage et la corrosion pour éviter la prolifération de bactéries pathogènes.**
- ☛ **Les traitements curatifs doivent être utilisés avec parcimonie. Ils ne sont applicables qu'à la condition que le réseau traité soit en bon état (absence de tartre, de produit de corrosion, de bras morts...)**



A microscopic image showing a complex, three-dimensional structure of a biofilm. The biofilm is composed of numerous small, rounded cells (likely bacteria) embedded in a matrix of extracellular polymeric substances. The structure is highly irregular and porous, with many small gaps and channels. The color is a deep blue, suggesting the use of a specific stain or lighting. The background is a lighter, uniform blue.

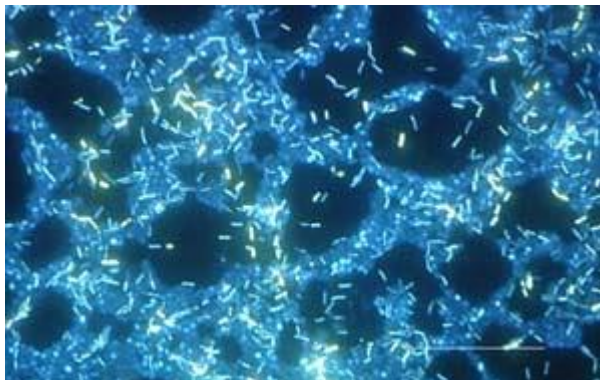
# LE BIOFILM

# DÉFINITION

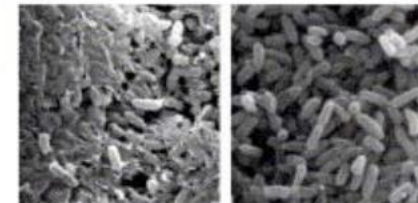


L'interface eau/matériau = lieu privilégié d'accumulation des cellules microbiennes et de matière organique et de multiplication des bactéries → formation du biofilm

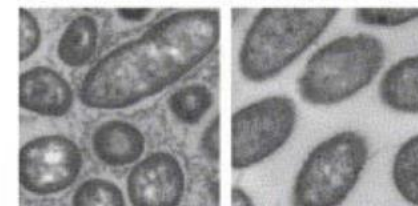
C'est un ensemble de cellules microbiennes, uniques ou en micro-colonies adhérant à la surface du matériau, enchevêtrées au sein d'un réseau complexe, hautement hydraté, d'exopolymères (fibres saccharidiques, lipides, protéines) avec des dépôts minéraux ou de corrosion.



SEM



TEM



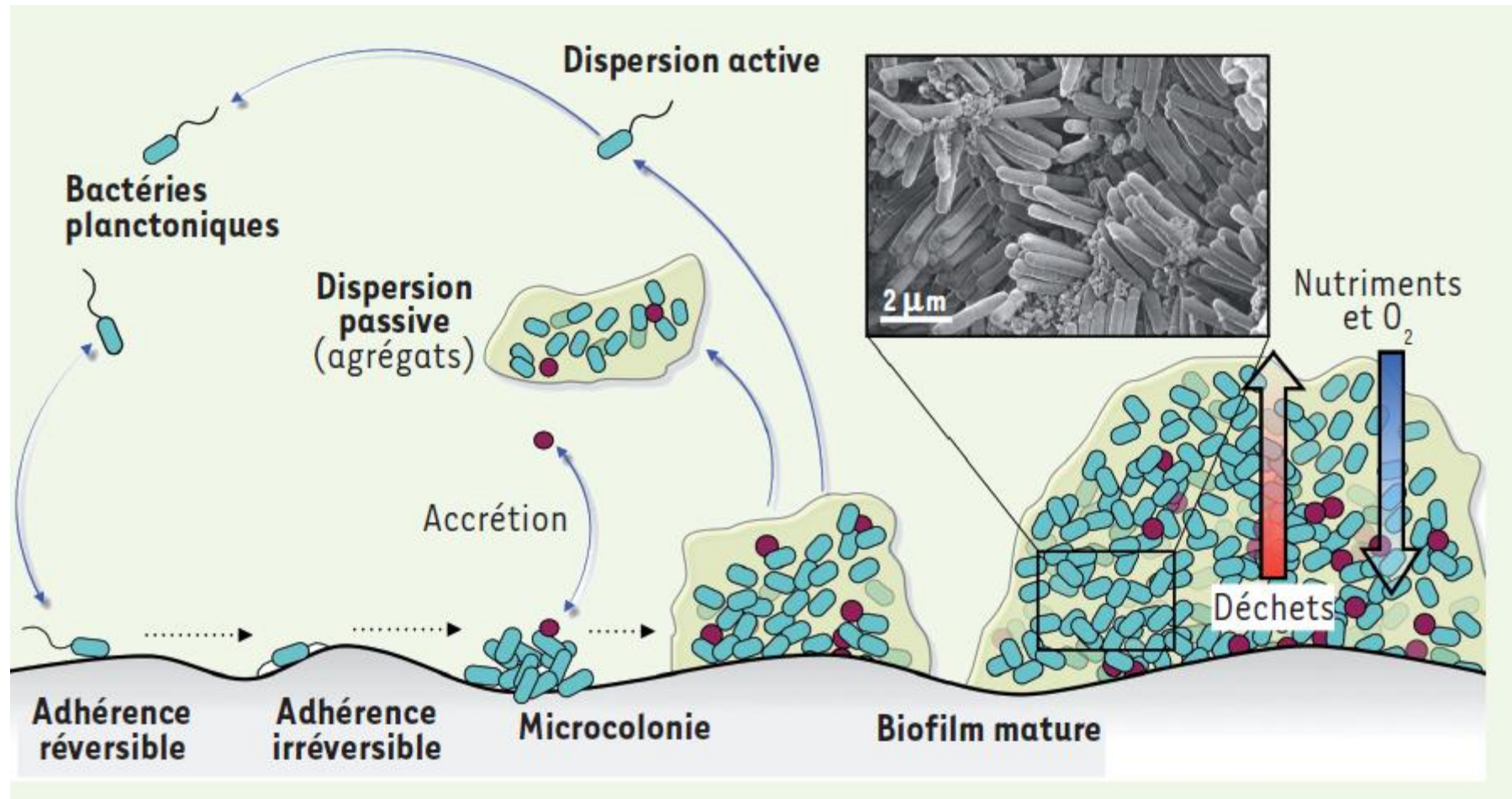
wt

matrice -

Visualisation de la matrice extracellulaire.  
Biofilm formé par *P. aeruginosa* wt et mutant déficient en production de matrice.



# FORMATION DU BIOFILM

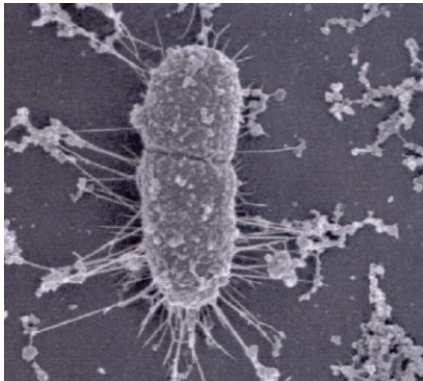


$10^8$  à  $10^{11}$  cellules/g poids humide

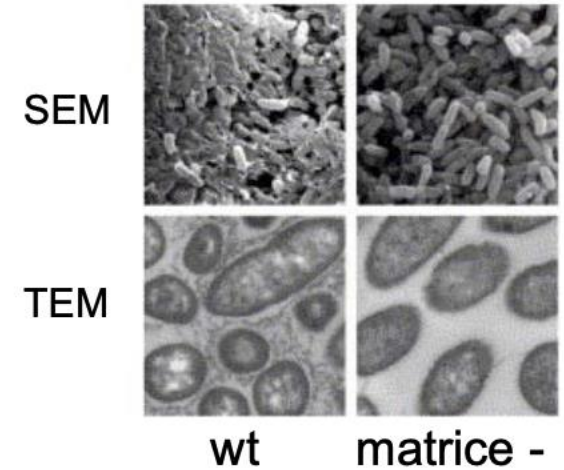
# A QUELLE VITESSE SE FORMENT LES BIOFILMS?

## Suite à des études expérimentales:

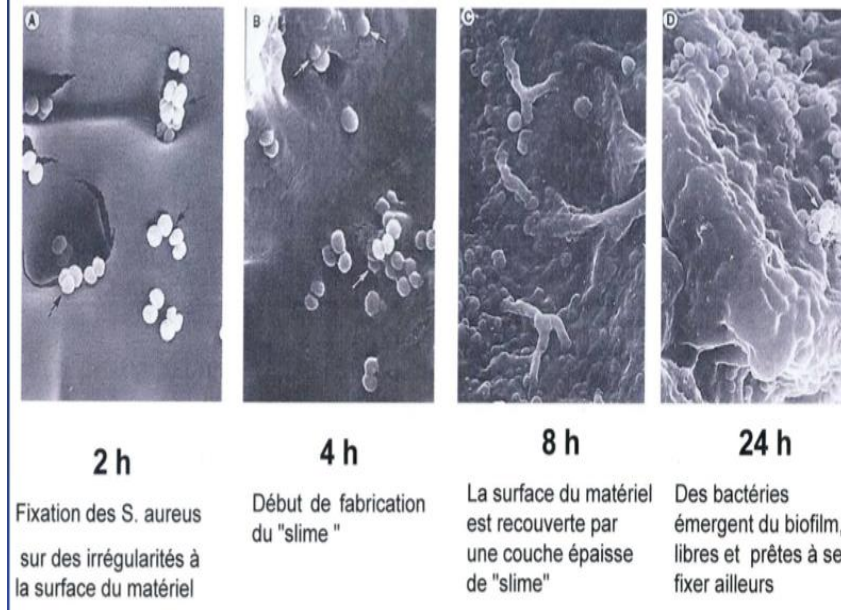
- \* Adhésion en quelques minutes
- \* Microcolonies fermement attachées en 2-4 h
- \* Matrice extracellulaire et tolérance aux biocides en 6-12h
- \* Colonies de biofilm matures en 2 à 4 jours /espèce
- \* Reformation biofilm après perturbation mécanique en 24 h



Adhésion par pili, fimbriae

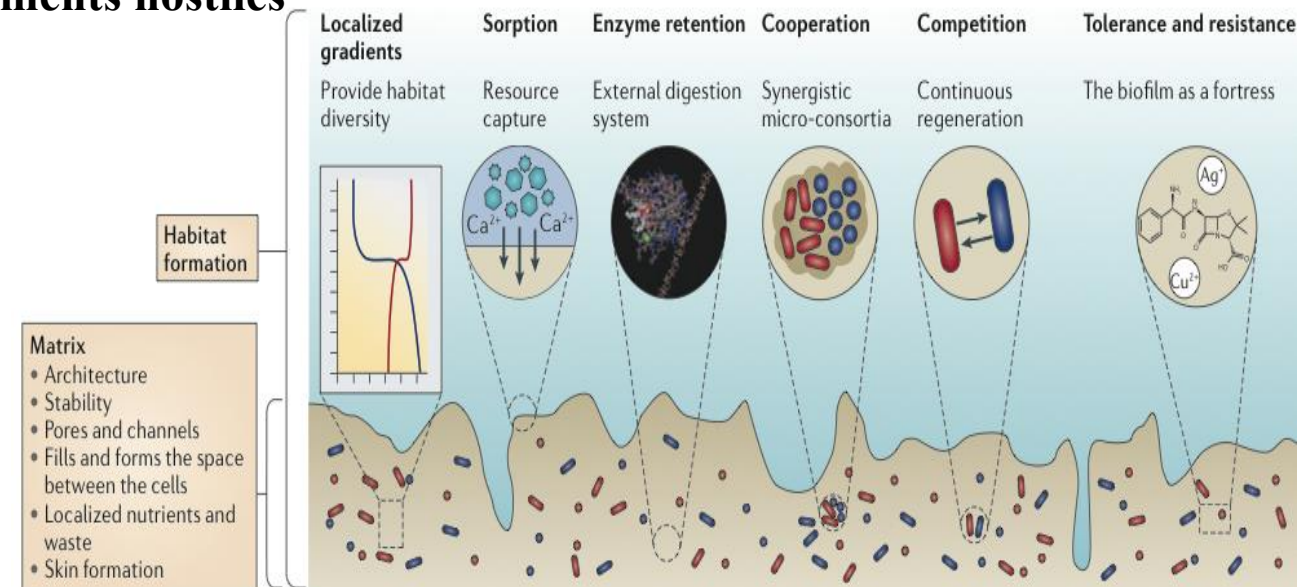


Visualisation de la matrice extracellulaire.  
Biofilm formé par *P. aeruginosa* wt et mutant déficient en production de matrice.



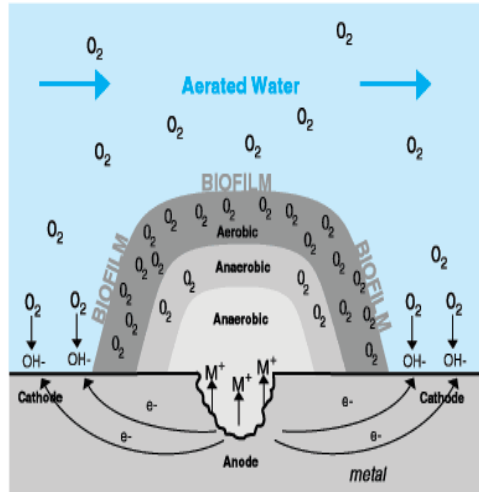
# Conséquences de la présence du biofilm

- Création d'un gradient d'oxygène de la surface vers la base du biofilm
- Communication des bactéries « Quorum Sensing » → production de la matrice du biofilm (exopolysaccharides + protéines + ADN)
- Transfert horizontal de gènes
- Résistance à la dessiccation (molécules hydrophobes de surface)
- « Récalcitrance des bactéries aux antibiotiques » concentrations 10 à 1000 fois >
- Capacité d'adaptation des bactéries à des environnements hostiles
- Présence de bactéries persistantes



## Conséquences de la présence du biofilm

### → Bio-corrosion des surfaces des matériaux (bactéries sulfato réductrices).



Les BSR réduisent le soufre dans la structure de l'acier, et produisent de l' $H_2S$  ou du  $SO_4$ . Ces deux phénomènes rendent l'acier plus faible, plus fragile et entraînent une corrosion (bactéries du genre *Clostridium*).

### → Hébergement transitoire ou à long terme de micro-organismes pathogènes ou d'intérêt sanitaire.

### → ADN extracellulaire: chargé négativement donc protection contre activité de composés cationiques bactéricides, structure du biofilm

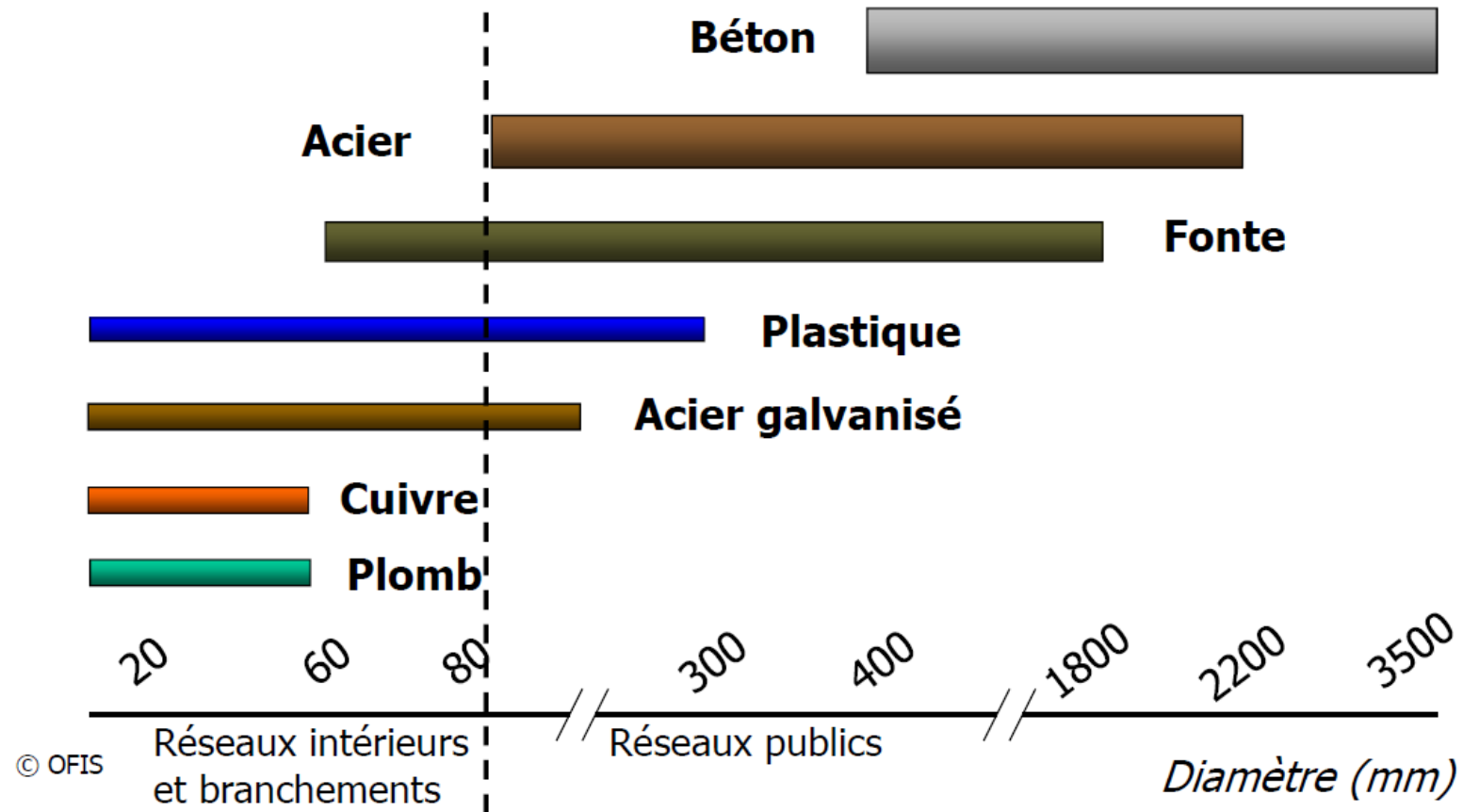
### → Protéines assurent l'adhésion aux surfaces et l'agrégation entre bactéries





# LES MATÉRIAUX

# LES MATÉRIAUX DES CANALISATIONS



**Plomb interdit depuis 1995 car toxique (saturnisme) → Cuivre, PER ou multicouche**

# LES MATÉRIAUX DES CANALISATIONS INTÉRIEURES

*Les critères à prendre en compte pour le choix d'un matériau sont:*

- Mise en œuvre facile
- Résistance → pas de déformation du tube, résistance aux chocs
- Résistance à la corrosion et au tartre → prolifération bactérienne moindre
- Résistance aux traitements préventifs ou curatifs
- Résistance au vieillissement
- Limitation de la croissance du biofilm
- Faible dilatation / eau chaude
- Matériau recyclable
- Matériau ininflammable, inattaquable par les rongeurs, insectes, termites
- Coûts installation et exploitation les plus réduits possibles

# LES MATÉRIAUX DES CANALISATIONS INTÉRIEURES

## Les matériaux métalliques:

### Le cuivre ( le plus utilisé)

- \* Rigidité, malléabilité qui rend la pose aisée
- \* Propriétés bactéricides
- \* Résiste à la corrosion, la pression, la chaleur, faible dilatation
- \* Recyclable
- \* Longue durée de vie
- 
- \* Onéreux
- \* Soudures ou raccords automatiques



### \* Cuivre recuit

- Malléable
- Cintrable à froid
- A protéger d'un contact direct avec la maçonnerie

### \* Cuivre écroui

- Vendu en barres rigides
- Cintrage après chauffage
- Personnel spécialisé





# LES MATÉRIAUX DES CANALISATIONS INTÉRIEURES

## Les matériaux de synthèse:

### Les polyoléfines

#### \* **Le polyéthylène réticulé** haute densité (PER).

- Remplace peu à peu le cuivre.
- Bonne résistance au tartre et à la corrosion.
- Economique
- Facile à cintrer à froid et à la main
- Simple à poser (raccords à compression ou à sertir)
- A protéger des UV (installation encastrée, coffrée, protégée par des gaines)
- Ne résiste pas aux températures > 60°C



#### \* **Les matériaux multicouches** (2 PER + couche intermédiaire de renfort (ex aluminium)).

- Insensible aux UV
- Cintrable à froid, à la main
- Facile et rapide à poser
- Raccords à sertir



# LES MATÉRIAUX DES CANALISATIONS INTÉRIEURES

	Cuivre	PER	Multicouche
Facilité d'installation			
Confort acoustique			
Durée de vie			
Indice de dilatation	Limité	Elevé	Limité
Installation	Apparente ou encastrée	Encastrée	Apparente ou encastrée

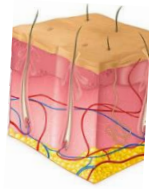
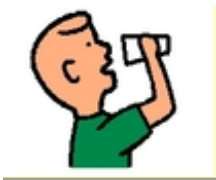
A high-speed photograph of water splashing, creating a dynamic blue and white background. The water droplets are frozen in time, showing intricate patterns and textures. The central text is overlaid on this background.

# **LES MICRO-ORGANISMES HYDRIQUES D'INTÉRÊT SANITAIRE**

# RISQUE INFECTIEUX LIÉ A L'EAU

La gravité de l'infection varie selon:

- ☛ La nature des micro-organismes
- ☛ Les voies d'exposition
  - \* Ingestion
  - \* Contact cutané-muqueux
  - \* Inhalation d'aérosols contaminés
  - \* Accès parentéral (dialyse)
  - \* Utilisation de dispositifs médicaux invasifs
- ☛ L'état immunitaire des patients exposés





# RISQUE INFECTIEUX LIÉ A L'EAU

## ☛ Infections à tropisme digestif:

Gastro-entérites et diarrhées

Norovirus, sapovirus, enterovirus, rotavirus, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Giardia lamblia*

A l'hôpital: *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridioides difficile*.

## ☛ Infections respiratoires:

*Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Acinetobacter* sp. (patients immunodéprimés)

## ☛ Infections cutanéomuqueuses:

*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp.,

## ☛ Infections cardiaques: endocardites ou bactériémies

Mycobactérie atypiques (*M. chimerae*)

## ☛ Infections osteo-articulaires:

Mycobactéries atypiques (*M. xenopi*)

## ***LEGIONELLA PNEUMOPHILA***

Ce sont des **bacilles Gram négatif**.

\* Aérobie stricte, cultivable sur milieu spécifique **BCYE** en 3 à 7 jours.

\* Ce sont des parasites intracellulaires facultatifs.

A côté de *L. pneumophila* d'autres légionelles peuvent être pathogènes chez l'homme.

\* *Legionella pneumophila* (70 à 90% des cas pour le séro groupe 1 (Lp1))

\* *Legionella jordanis* (10% des cas)

\* *Legionella bozemanii* (3% des cas)

Chez l'homme, contamination = inhalation aérosol de fines gouttelettes d'eau contaminée.

L'infectiosité d'un aérosol est liée à différents paramètres :

▶ la taille des gouttelettes,

▶ la concentration en *Legionella*

▶ la capacité des bactéries à survivre dans l'aérosol.

➔ Aérosol infectieux =  $2\text{ }\mu\text{m} < \text{diamètre} \leq 5\text{ }\mu\text{m}$



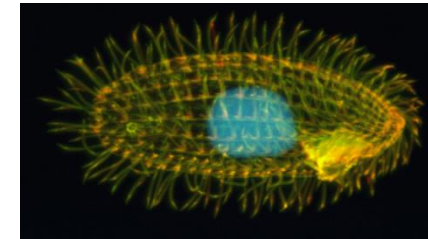
## ***LEGIONELLA PNEUMOPHILA***

*Dans les milieux hydriques, leur survie et leur croissance sont influencées par de nombreux paramètres :*

- \* la température : croissance optimale à 35° C, multiplication entre 20 et 45° C ; survie entre 6 et 66° C
- \* le pH : tolérance d'une large gamme de pH entre 5,5 et 10
- \* les concentrations en ions fer et zinc
- \* les conditions hydrauliques, notamment la stagnation de l'eau
- \* la présence d'autres micro-organismes : protozoaires, cyanobactéries, biofilms.

### **ASSOCIATION LEGIONELLES/PROTOZOAIRE-BIOFILM**

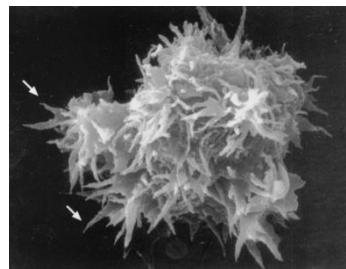
*Protozoaires = amibes libres ou ciliés*



Amibes se nourrissent: microalgues, protozoaires plus petits et de bactéries

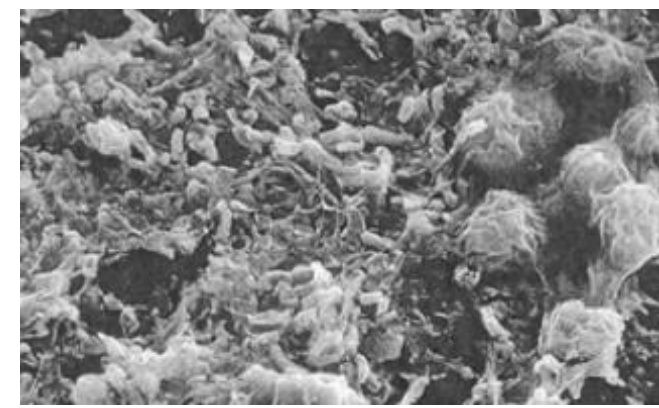
Ciliés se nourrissent: particules organiques, de bactéries, d'autres ciliés, de flagellés, d'animaux microscopiques

Amibes et ciliés = microenvironnement propice à leur multiplication dans un milieu extérieur défavorable (enkystement des amibes à des températures < 20°C)



## ***LEGIONELLA PNEUMOPHILA***

### ***Biofilm***

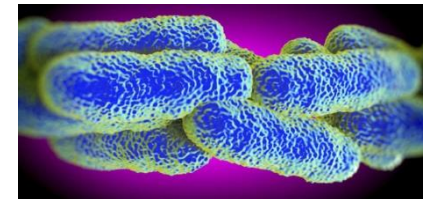
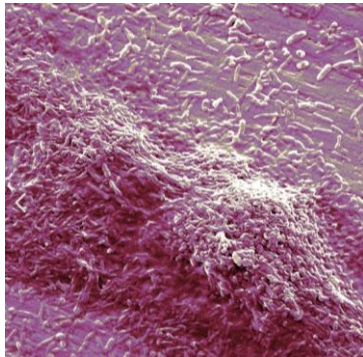


La proportion de *L. pneumophila* cultivables, dans la phase biofilm et dans la phase planctonique dans une installation simulant une canalisation d'eau potable, varie avec la température:

- \* 20° C, *L. pneumophila* représente une faible proportion (0,1 %) de la population bactérienne cultivable dans les deux phases.
- \* 40° C, *L. pneumophila* représente 12 % des bactéries de la phase planctonique et 50 % du biofilm.
- \* 50° C, *L. pneumophila* ne représente plus que 0,7 % des bactéries de la phase planctonique et 0,1 % du biofilm.
- \* 60° C, la bactérie est indétectable dans les deux phases.

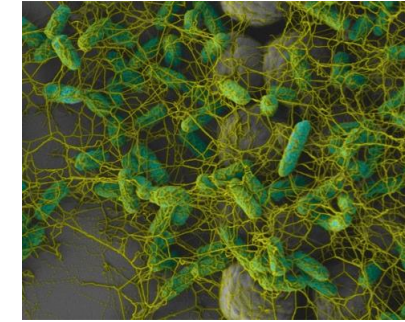
Biofilm = réservoir de *Legionella*

➔ survie et protection contre les stress environnementaux (traitements de désinfection)





## ***PSEUDOMONAS AERUGINOSA***



**Bacilles Gram négatif**, mobiles par un ou plusieurs flagelles, aérobies stricts

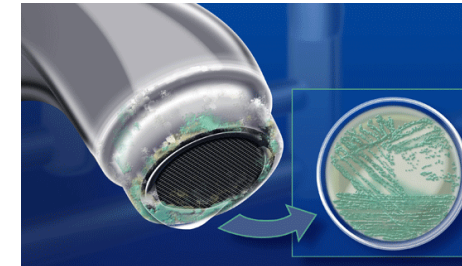
Bactérie environnementale, survie en milieu oligotrophe,  
Résistance à de nombreuses substances actives

Bactérie présente dans:

- \* les biofilms (surtout dans canalisations en matériau de synthèse)
- \* eau, robinetterie, dispositifs médicaux contenant des liquides
- \* certains produits alimentaires

Chez l'homme, il existe un portage sain au niveau:

- \* du tractus digestif (2 à 8%)
- \* des voies oto-rhino-laryngologiques
- \* des mains



Contact prolongé avec eau contaminée peut entraîner chez des personnes saines:

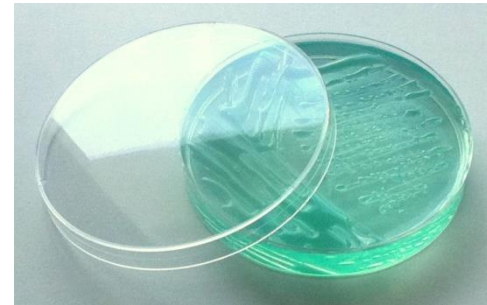
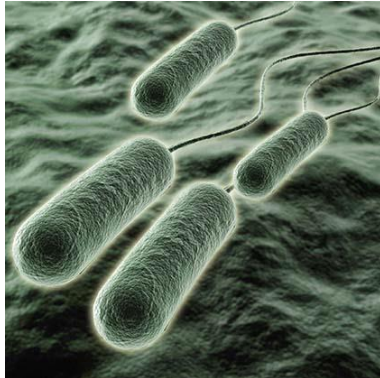
- \* kératoconjunctivites
- \* infections des voies ORL
- \* folliculites

## ***PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

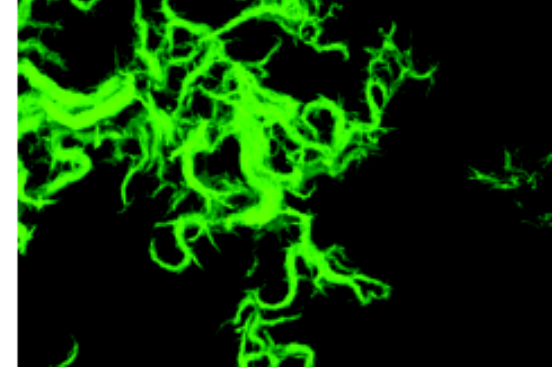
**Chez des personnes ayant un facteur prédisposant, on décrit:**

- \* des colonisations de sites cutanés (brûlure, infection du site opératoire),**
- \* des infections du système respiratoire (mucoviscidose)**
- \* des infections oculaires après griffure de la cornée.**
- \* Infections chez les patients immunodéprimés (cancer, agranulocytose, SIDA)**

***P. aeruginosa* est une cause fréquente d'infection nosocomiale**



## LES MYCOBACTÉRIES NON TUBERCULEUSES



Paroi riche en **acides mycoliques** = caractère hydrophobe → constitution de biofilm.

Bactéries oligotrophes, ubiquitaires: sol, végétation, poussière et toutes catégories d'eau.

Plus de 50 espèces de mycobactéries non tuberculeuses ont été identifiées.

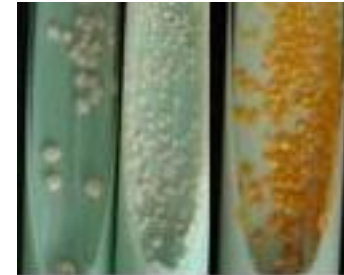
Leur identification repose sur:

- \* Leur vitesse de croissance (rapide avec une culture en moins de 7 jours au laboratoire ou lente) et
- \* La pigmentation des colonies (chromogène).

Température optimale de croissance différente selon l'espèce.

Peu sensibles aux variations de pH.

Particulièrement résistantes aux agents physiques et chimiques.



Certaines espèces, telles *M. avium*, peuvent se multiplier à l'intérieur de protozoaires, hôtes habituels des milieux hydriques.

## LES MYCOBACTERIES NON TUBERCULEUSES

**Rôle de l'eau dans la transmission des infections à mycobactéries non tuberculeuses par:**

- \* inhalation**
- \* aspiration**
- \* inoculation**
- \* contact**

**La plupart des mycobactéries non tuberculeuses se comportent comme des saprophytes mais certaines d'entre elles sont des pathogènes opportunistes.**

**Elles deviendront pathogènes dans certaines circonstances :**

- introduction accidentelle dans l'organisme (*M. marinum*, par contact avec l'eau d'un aquarium) ou nosocomiale (*M. xenopi* et spondylodiscites) ;**
- lésions préexistantes pulmonaires (*M. xenopi* ou *M. avium* sur tuberculose ou dilatation des bronches) ;**
- immunodépression (sida, maladie systémique, traitements immunosuppresseurs).**
- *M. chimaera* et CEC: infections généralisées, endocardites, médiastinites ou infections sur greffe vasculaire.**





A dynamic splash of clear blue water against a white background, with droplets and ripples visible. A red rectangular border is centered horizontally across the middle of the image.

# **ANALYSES ET MESURES**

# LES FACTEURS DE DÉVELOPPEMENT BACTÉRIEN

## Causes de dégradation

## Type de contamination

### Chimique

### Microbiologique

- Corrosion des canalisations
- Stagnation de l'eau
- Biofilm – Nids microbiens
- Retours d'eau
- Mauvais entretien de la robinetterie
- Défauts de conception
- Travaux sur le réseau

\*\*\*

\*

\*

\*\*\*

\*\*\*

\*\*\*

\*\*\*

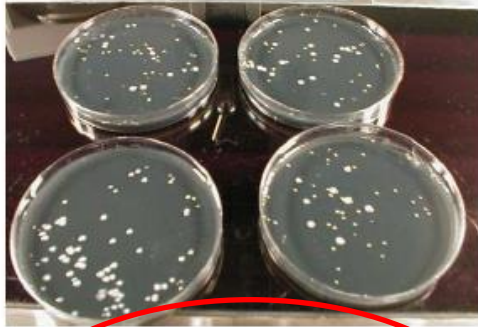
\*\*\*

\*\*\*

\*\*

\*\*\*

# LES DIFFÉRENTS PARAMÈTRES ÉTUDIÉS



## Bactériologie

Légionelles  
Flore aérobie

...



Contamination



## Physico-chimie

Pouvoir entartrant  
Corrosivité  
Température  
Turbidité ...



Facteurs de risques



## Paramètres hydrauliques

Débits  
Pression



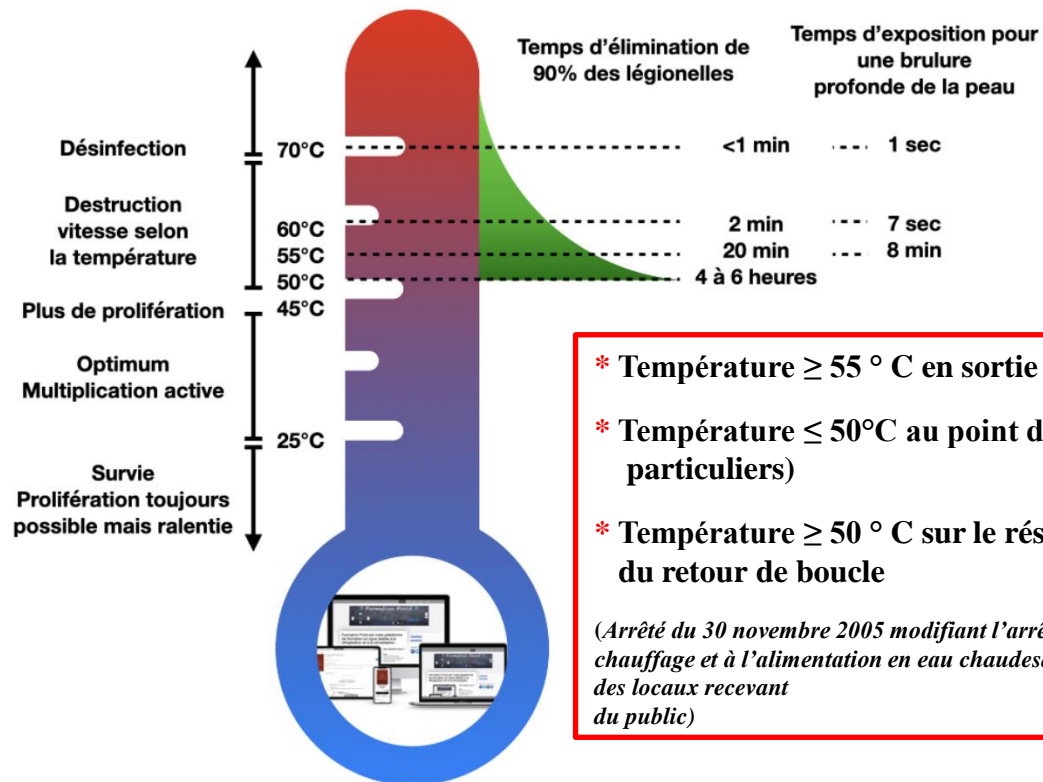
Fonctionnement

## MESURE DE LA TEMPÉRATURE DE L'EAU

- Vérifier le bon fonctionnement du réseau
- S'assurer d'une bonne maîtrise de la température sur l'ensemble du réseau

*Un juste équilibre à trouver:*

éviter les risques de brûlures  $\longleftrightarrow$  réduire au maximum les capacités de développement des légionelles



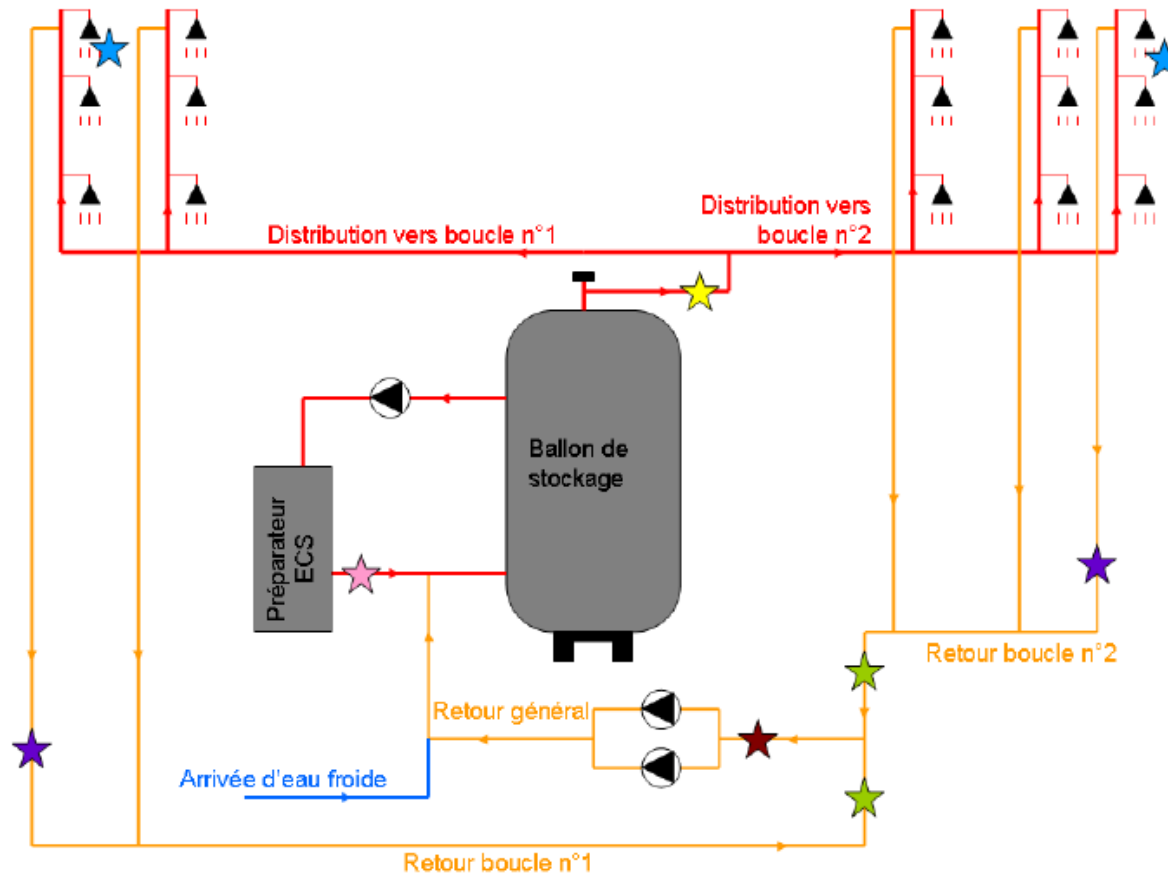
\* Température  $\geq 55^{\circ}\text{C}$  en sortie de production ECS

\* Température  $\leq 50^{\circ}\text{C}$  au point d'usage (à l'exception de points techniques particuliers)

\* Température  $\geq 50^{\circ}\text{C}$  sur le réseau de distribution , y compris au niveau du retour de boucle

(Arrêté du 30 novembre 2005 modifiant l'arrêté du 23 juin 1978 relatif aux installations fixes destinées au chauffage et à l'alimentation en eau chaude sanitaire des bâtiments d'habitation, des locaux de travail ou des locaux recevant du public)

# MESURE DE LA TEMPÉRATURE DE L'EAU: OU?



Thermomètre à infrarouge



Enregistreurs automatiques de température

- ★ Départ de production: **point obligatoire**
- ★ Retour de chaque boucle: **point obligatoire** (sauf difficulté d'accès)
- ★ Colonnes retour les plus éloignées de la production ECS à privilégier en remplacement des mesures aux points d'usage

- ★ Sortie préparateur ECS: point facultatif
- ★ Retour général: point obligatoire si les conditions d'accès ne permettent pas de relever la température sur chaque retour de boucle
- ★ Mesure aux points d'usage les plus éloignés de la production ECS: **points obligatoires** s'il n'est pas possible d'installer des thermomètres sur les colonnes retour

## LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES

Paramètres physico-chimiques			
Paramètres	Problèmes	Niveau cible	Fréquence
Indicateur de corrosion	Métaux, fuites, casses, contaminations, consommation du désinfectant	La corrosion doit être réduite au minimum	Dans le cadre d'une connaissance initiale ou d'une résolution de problèmes
Carbone Organique Total (COT)	Croissances bactériennes, consommation de désinfectant	< 2 mg/L	
Désinfectant résiduel associé au pH et à la température (uniquement si le réseau extérieur est traité avec un désinfectant)	Croissances bactériennes	0,1 mg/L de chlore libre <sup>(15)</sup> L'absence de désinfectant à l'entrée de l'établissement n'implique pas obligatoirement la nécessité de mettre en place une désinfection interne	Trimestrielle ou en continu par capteurs
Turbidité	Contaminations biologiques, dépôts, métaux, consommation désinfectant	< 0,2 NFU	Trimestrielle ou en continu par capteurs

**Fer et métaux issus de la corrosion: Cl, Cu, Zn Br selon le contexte de l'établissement**



## RECHERCHE DE LÉGIONELLES

La surveillance environnementale de *Legionella spp.* Est encadrée par la réglementation.

Elle est obligatoire :

- ☛ dans les **eaux minérales destinées à des usages thérapeutiques dans les établissements thermaux**, une fois par mois aux points d'usage les plus sensibles (arrêté 19 juin 2000).

- ☛ dans les **tours aéroréfrigérantes**, une fois par mois (soumises à enregistrement) ou tous les deux mois (soumises à déclaration) pendant la période de fonctionnement de l'installation (arrêtés du 13 décembre 2004). Concentration < 1000 UFC/L

- ☛ dans les **systèmes collectifs de brumisation** ( concentration < 10 UFC/L) bisannuel

- ☛ dans les **réseaux d'eau chaude sanitaire** des établissements de santé, les établissements sociaux et médico-sociaux d'hébergement pour personnes âgées, les autres établissements sociaux et médico-sociaux, les hôtels, les résidences de tourisme, les campings et les établissements, pénitentiaires une fois par an aux points d'usage représentatifs (arrêté du 1er février 2010).

- ☛ à compter du 1er janvier 2012, l'arrêté du 1er février 2010 la rend obligatoire dans les autres **établissements recevant du public**, une fois par an, aux points d'usage représentatifs des réseaux d'eau chaude sanitaire.

- ☛ **Hospitalisation à domicile, fauteuils dentaires?**

# FRÉQUENCES MINIMALES DES ANALYSES DE LÉGIONELLES ET DES MESURES DE LA TEMPÉRATURE DE L'EAU CHAUDE SANITAIRE DANS LES ÉTABLISSEMENTS DE SANTÉ

Points de surveillance	Mesures obligatoires pour chacun des réseaux d'eau chaude sanitaire
Sortie de la/des production(s) d'eau chaude sanitaire (mise en distribution)	Température de l'eau : 1 fois par jour (ou en continu)
Fond de ballon(s) de production et de stockage d'eau chaude sanitaire, le cas échéant	Analyses de légionelles : 1 fois par an - dans le dernier ballon si les ballons sont installés en série - dans l'un d'entre eux si les ballons sont installés en parallèle
Point(s) d'usage à risque le(s) plus représentatif(s) du réseau et point(s) d'usage le(s) plus éloigné(s) de la production d'eau chaude sanitaire	Analyses de légionelles : 1 fois par an  Analyses de légionelles : 1 fois par an Température de l'eau : 1 fois par semaine (ou en continu)
Points d'usage représentatifs situés dans les services accueillant des patients identifiés par le comité de lutte contre les infections nosocomiales (ou toute autre organisation chargée des mêmes attributions) comme particulièrement vulnérables au risque de légionellose	Analyses de légionelles : 1 fois par an Température de l'eau : 1 fois par semaine (ou en continu)
Retour de boucle (retour général), le cas échéant	Analyses de légionelles : 1 fois par an Température de l'eau : 1 fois par jour (ou en continu) au niveau de chaque boucle

## RECHERCHE DE LÉGIONELLES

Actuellement, seules les méthodes de dénombrement des légionelles dans l'eau par **culture** (normes NF T90-431 2014) et par **q-PCR** (norme NF T90-471) sont reconnues. Ces 2 normes nécessitent le pré-traitement des échantillons.

### Inconvénients de la méthode par culture:

- \* Délai de rendu des résultats (8-10 jours).
- \* La technique ne prend en compte que les bactéries libres, viables et cultivables.

### Valeurs normales:

- \* Eaux destinées à la consommation humaine dans les établissements recevant du public au niveau de points à risque à l'exception de ceux utilisés par des patients à haut risque  
culture:  **$10^3$  UFC/L**      q-PCR:  **$5 \cdot 10^3$  UG/L**
- \* ... pour les patients à haut risque: Limite de détection pour les 2 techniques

# RECHERCHE DE LÉGIONELLES



## Echantillonnage

Flacons stériles contenant du **thiosulfate de sodium** pour neutraliser les biocides oxydants et le chlore (200 mg/L). Prélever au moins 500 ml.

### ☛ Points techniques sur réseau d'eau chaude:

- Vannes de sortie d'eau du générateur, du retour de boucle, de pied de colonne : Flamber et faire couler préalablement l'eau, 2 à 3 minutes.
- Partie basse de ballon : Faire couler l'eau abondamment pour chasser les dépôts de la canalisation d'évacuation.

### ☛ Points d'usage sur réseau d'eau chaude : Robinets et pommes de douche

- Contrôle de l'exposition : le prélèvement est réalisé sur le premier jet.
- Contrôle des conditions de maîtrise du réseau : Le prélèvement est effectué après écoulement de 2 à 3 minutes de façon à recueillir l'eau en amont (2<sup>ème</sup> jet).

Dans tous les cas l'échantillon doit parvenir au laboratoire dans les 24 heures (enceinte isotherme non réfrigérée) et doit êtreensemencé le plus rapidement possible.

# RECHERCHE DE LÉGIONELLES

➔ Selon la norme NF T90-431 (novembre 2014): Recherche des légionelles par culture

## Etape de concentration par filtration



# RECHERCHE DE LÉGIONELLES

## Identification et dénombrement

### Incubation

8 à 11 jours à  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  en atmosphère 2,5% de  $\text{CO}_2$  avec 3 lectures à partir du 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> jour.

Colonies de coloration gris-bleu avec aspect de verre fritté à la loupe binoculaire

### Confirmation *Legionella* spp :

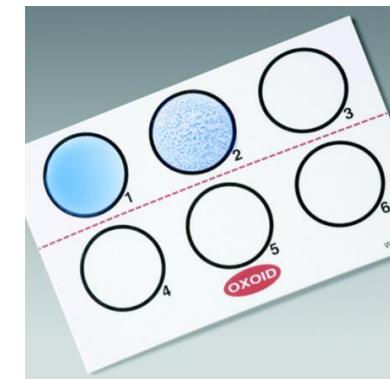
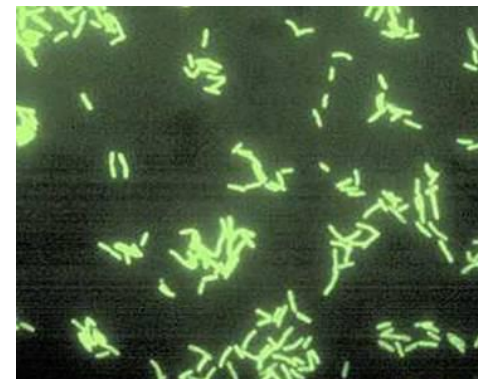
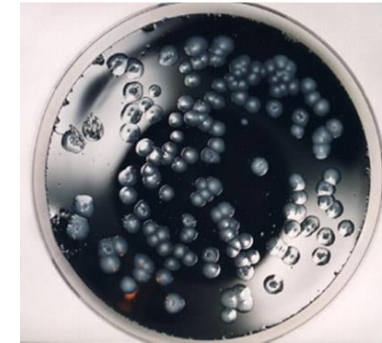
- \* Repiquage sur BCYE sans cystéine et BCYE avec cystéine **d'au moins 5 colonies suspectes**
- \* Incubation à  $36^\circ\text{C}$  2 à 4 jours

### Identification *L. pneumophila* :

- \* Immunofluorescence directe
- \* Agglutination

### Dénombrement

Dénombrer les colonies caractéristiques par boîte.





# RECHERCHE DE LÉGIONELLES

## Rendu des résultats

☛ absence de colonies de *Legionella* et/ou *L. pneumophila* :

le rapport d'essai portera la mention : *Legionella*..... <10 UFC/L  
dont *Legionella pneumophila*.....<10 UFC/L  
commentaire : *Legionella* non détectée.

☛ présence d'une colonie ou plus sur une boîte :

le résultat est quantifiable, le rapport d'essai mentionne le nombre.

Considérer les boîtes exploitables ( $1 \leq n \leq 150$ ) et calculer le nombre de colonies

*Ex pour la boîte sans filtration*

$$N = n \times 10^6 / 200$$

# RECHERCHE DE LÉGIONELLES

☛ Selon la norme NF T90-471 (avril 2010): Recherche de légionelles par q-PCR

**3 temps:**

- \* Filtration (100 mL à 1L)
- \* Extraction de l'ADN (au max le surlendemain du prélèvement)
- \* Amplification d'une séquence spécifique de l'ADN appartenant au genre *Legionella* ou à l'espèce *L. pneumophila* (gène codant pour l'ARN 16S ou gène *mip*) .

Identification et quantification des amplicons en temps réel. Si la réaction n'est pas effectuée le jour même congélation à -20°C de l'extrait.

Utilisation d'une solution calibrante.

Liste d'inclusivité et d'exclusivité des bactéries amplifiées par le système.



# LES MICRO-ORGANISMES INDICATEURS DE POLLUTION OU D'EFFICACITÉ DE TRAITEMENT

## Dénombrement des germes revivifiants (NF EN ISO 6222)

Les eaux contiennent une multitude de micro-organismes de sources diverses (végétation, sol) dont l'estimation globale fournit une information utile pour l'évaluation et la surveillance de la qualité de l'eau.

### Dénombrement des bactéries aérobies à 22 °C et à 36 °C.

L'eau est inoculée par incorporation dans un milieu non sélectif (gélose à l'extrait de levure fondue et refroidie à 45°C) la lecture est faite après 72 heures d'incubation à 22°C ou 48 heures d'incubation à 36 °C.



### Les coliformes:

Ces micro-organismes vivent en abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs de contamination fécale récente.

### Dénombrement des coliformes (NF EN ISO 9308-1)

Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies de coliformes de se développer préférentiellement au cours de l'incubation

à une température de 36°C. Cette étape est suivie d'un test de confirmation spécifique.

### Dénombrement des *Escherichia coli* (NF EN ISO 9308-1)

L'incubation se fait à 44°C, les tests de confirmations spécifiques sur les colonies typiques permettent de mettre en évidence ce type de bactéries.



# LES MICRO-ORGANISMES INDICATEURS DE POLLUTION OU D'EFFICACITÉ DE TRAITEMENT

## Dénombrement des entérocoques intestinaux (NF EN ISO 7899-2)

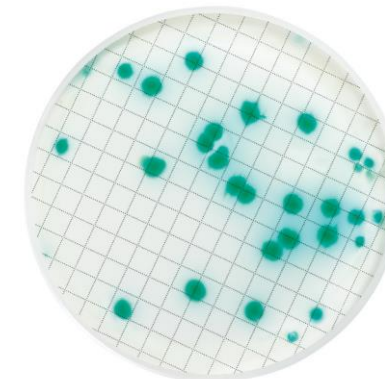
Ces micro-organismes sont des hôtes normaux du tube digestif et sont plus résistants que les coliformes.

Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies d'entérocoques de se développer préférentiellement au cours de l'incubation à 36°C et sous un aspect caractéristique. Cette étape est suivie d'un test de confirmation spécifique avec le transfert de la membrane sur un milieu d'identification.



## Dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* (NE EN ISO 11290-1)

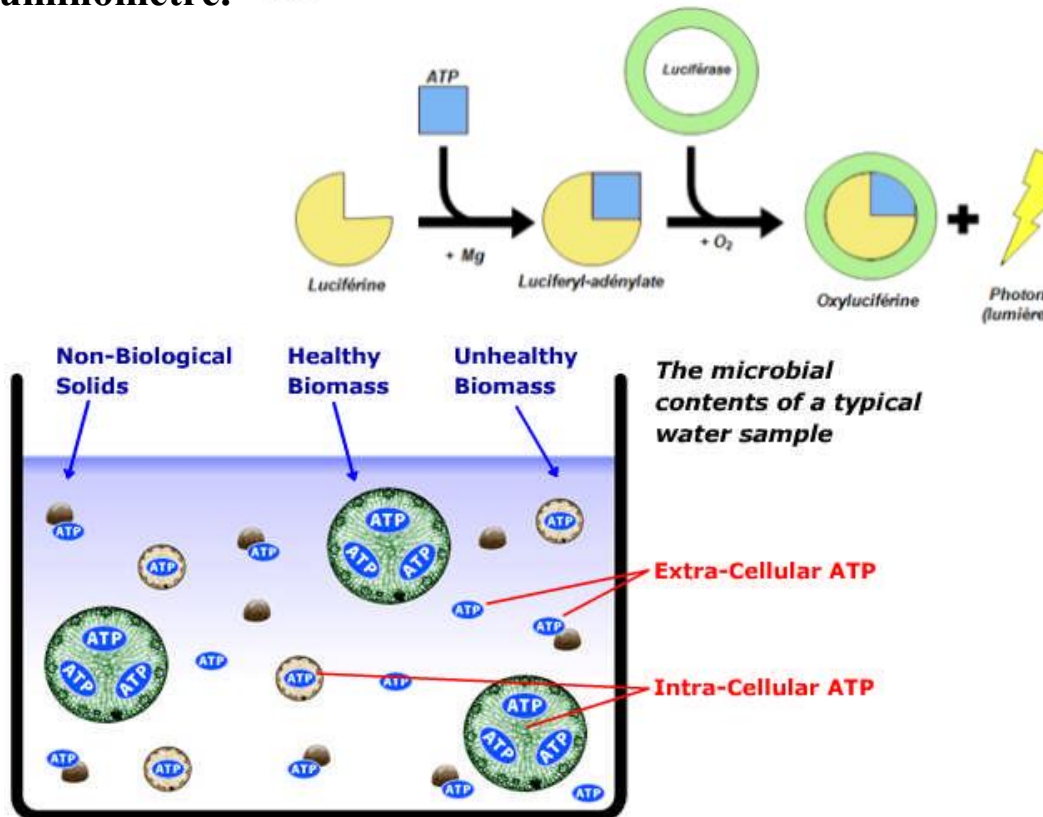
Après filtration sur membrane d'une quantité connue d'eau, la membrane est placée sur un milieu gélosé sélectif. Ceci permet aux colonies de *Pseudomonas* de se développer préférentiellement au cours de l'incubation à 36°C et sous un aspect caractéristique, les tests de confirmation spécifiques sur les colonies typiques permettent de mettre en évidence ce type de bactéries.



## ATP-MÉTRIE

L'ATP-métrie est une technique de mesure instantanée de la concentration d'ATP dans les échantillons d'eaux. C'est un transporteur d'énergie situé à l'intérieur des cellules vivantes et impliqué dans toutes les fonctions biologiques, telles que la nutrition, l'entretien et la reproduction.

L'ATP est donc un indicateur direct de la flore totale vivante dans les échantillons d'eaux. ATP-métrie est basée sur le principe de la bioluminescence. Le signal est calibré grâce à une solution standard d'ATP et le transforme en résultat reproductible et quantitatif par un luminomètre.



A dynamic water splash background with blue and white droplets and bubbles. The splash is centered behind the title text.

# **LES MÉTHODES DE TRAITEMENT DE LA CONTAMINATION DES RÉSEAUX**



☛ les traitements de nettoyage et de désinfection ne sont efficaces que dans les réseaux où **l'eau circule correctement**.

☛ le traitement de désinfection est d'autant plus efficace qu'un **nettoyage** a été effectué au préalable.

☛ la **maîtrise de la température** en tout point du réseau en circulation peut permettre de s'affranchir de tout traitement de désinfection.

☛ les interventions curatives ne garantissent **pas une efficacité à long terme**.

☛ les traitements peuvent avoir des **conséquences néfastes** sur le réseau, c'est-à-dire en créant un déséquilibre de l'écosystème microbien avec l'émergence de microorganismes particuliers et en dégradant les matériaux des installations (corrosion), favorisant aussi de nouveaux gîtes de développement microbien.

## TRAITEMENTS PRÉVENTIFS ET CURATIFS

Le traitement curatif consiste à mettre en œuvre, après nettoyage, une désinfection “choc” ponctuelle destinée à diminuer, de manière très significative, la concentration des micro organismes en suspension dans l’eau et de ceux fixés dans les biofilms.

Toutefois, ces actions curatives ne peuvent être qu’exceptionnelles et de courte durée, car, en l’absence de mesures préventives générales (relatives à la conception, la maintenance, la température de l’eau, ...), le réseau se colonisera à nouveau en quelques semaines.

### Les traitements de nettoyage des installations d’eau:

Les traitements de nettoyage sont utilisés soit pour ôter les dépôts et les incrustations soit pour retirer une partie du biofilm.

Le nettoyage chimique consiste à introduire dans la canalisation un mélange de produits chimiques permettant la dissolution des différents dépôts. Ces derniers sont en général constitués de carbonates de calcium et/ou d’hydroxydes de fer.

Les mélanges utilisés sont constitués d’un **acide** (acide chlorhydrique ou acide sulfamique par exemple), de **réducteurs** et d’un **inhibiteur de corrosion** (acide phosphorique par exemple).



## TRAITEMENTS PRÉVENTIFS ET CURATIFS



### Le traitement thermique:

- Désinfection choc curative sur un réseau mis hors service et consiste à faire
- Circulation de l'eau à une température de 70° C environ pendant 30 minutes dans la partie du réseau de distribution d'eau concernée.
- Vidange et rinçage soigneux des canalisations avec de l'eau du réseau public.

**Mais ➔ efficacité transitoire vis-à-vis de la contamination microbienne.**

Leur efficacité est souvent insuffisante sur les amibes libres qui résistent à 70 °C. Par ailleurs, le choc thermique peut ne conduire qu'à un stress et non une destruction des bactéries.

Température de l'eau	Temps d'exposition	
	Brûlure profonde de la peau*	Destruction des légionelles
70° C	1 seconde	1 minute
60° C	7 secondes	30 minutes
50° C	8 minutes	Croissance stoppée

\* pour une personne adulte en bonne santé (valeurs publiées par la Société française d'étude et de traitement des brûlures - 1992).  
Le risque est plus important pour des personnes fragiles et les jeunes enfants.

- ce traitement de désinfection choc doit être réalisé de manière exceptionnelle, dans l'attente de la mise en œuvre de solutions pérennes permettant notamment la maîtrise des débits de circulation d'eau dans le réseau et le respect des consignes de températures de l'eau distribuée.

## TRAITEMENTS PRÉVENTIFS ET CURATIFS

### Les traitements chimiques:

#### *Le traitement préventif*

**Il consiste à mettre en œuvre de manière permanente un procédé ou une injection de produit à faible dose (désinfection continue ou discontinue) afin d'obtenir la maîtrise de la prolifération des micro-organismes en suspension dans l'eau (0,2 à 0,5 mg/L de chlore libre).**

**Il doit être réservé à des situations exceptionnelles lorsque les autres mesures préventives (relatives à la conception, la maintenance, la température,...) ne peuvent être mises en œuvre de manière satisfaisante. En effet, il ne faut pas négliger les inconvénients possibles de tels traitements: risques liés aux sous-produits éventuels, effets corrosifs sur les réseaux et modifications de l'écosystème microbien avec apparition de micro-organismes particuliers.**

#### *Le traitement curatif*

**Il pourra être basé sur l'utilisation des produits suivants:**

- **les composés chlorés générant des hypochlorites et les dichloroisocyanurates : 100 mg/L de chlore libre pendant 1 heure ou 50 mg/L de chlore libre pendant 12 heures ou 15 mg/L de chlore libre pendant 24 heures,**
- **le peroxyde d'hydrogène mélangé à l'argent 100 à 1 000 mg/L jusqu'à 12 heures,**
- **l'acide peracétique en mélange avec  $H_2O_2$  : 1 000 ppm en équivalent  $H_2O_2$  pendant 2 heures,**
- **la soude : pH >12 au moins une heure.**

## TRAITEMENTS PRÉVENTIFS ET CURATIFS

### Les traitements physiques:

#### *La filtration terminale (microfiltration sur membrane à 0,22 micron) :*

Elle a pour objectif d'éliminer la contamination bactérienne aux points d'usage à risques.

#### Il existe deux types de filtres :

- des filtres réutilisables un certain nombre de fois (après stérilisation). Il faudra s'assurer du maintien de la qualité des filtres dans le temps, en tenant compte des indications du fabricant.
- des filtres dits à usage unique ou non réutilisables, qui doivent être renouvelés au bout de quelques jours ou semaines, selon les données du fabricant.



## TRAITEMENTS PRÉVENTIFS ET CURATIFS

*Le traitement par rayonnement ultra-violet (longueur d'onde comprise entre 250 et 260 nm):*

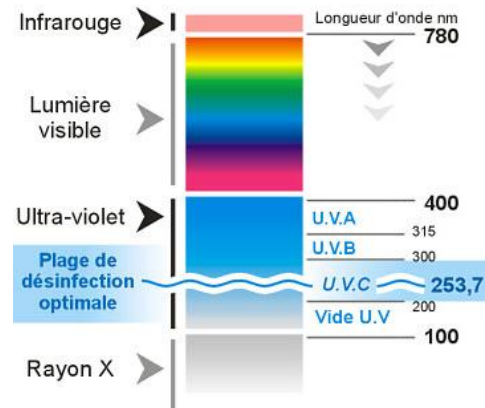
Il est souvent utilisé au point d'usage, en raison de son absence de rémanence. Pour obtenir une garantie de désinfection par les UV, il est obligatoire d'utiliser une dose d'irradiation suffisante pour inactiver les micro-organismes.

Les molécules organiques ou minérales, les matières en suspension ou les colloïdes, qui absorbent les rayonnements, constituent une interférence à leur efficacité.

L'installation doit être dimensionnée en fonction des débits à traiter.

Les lampes ou générateurs d'ultraviolets doivent être remplacés suivant les indications du constructeur.

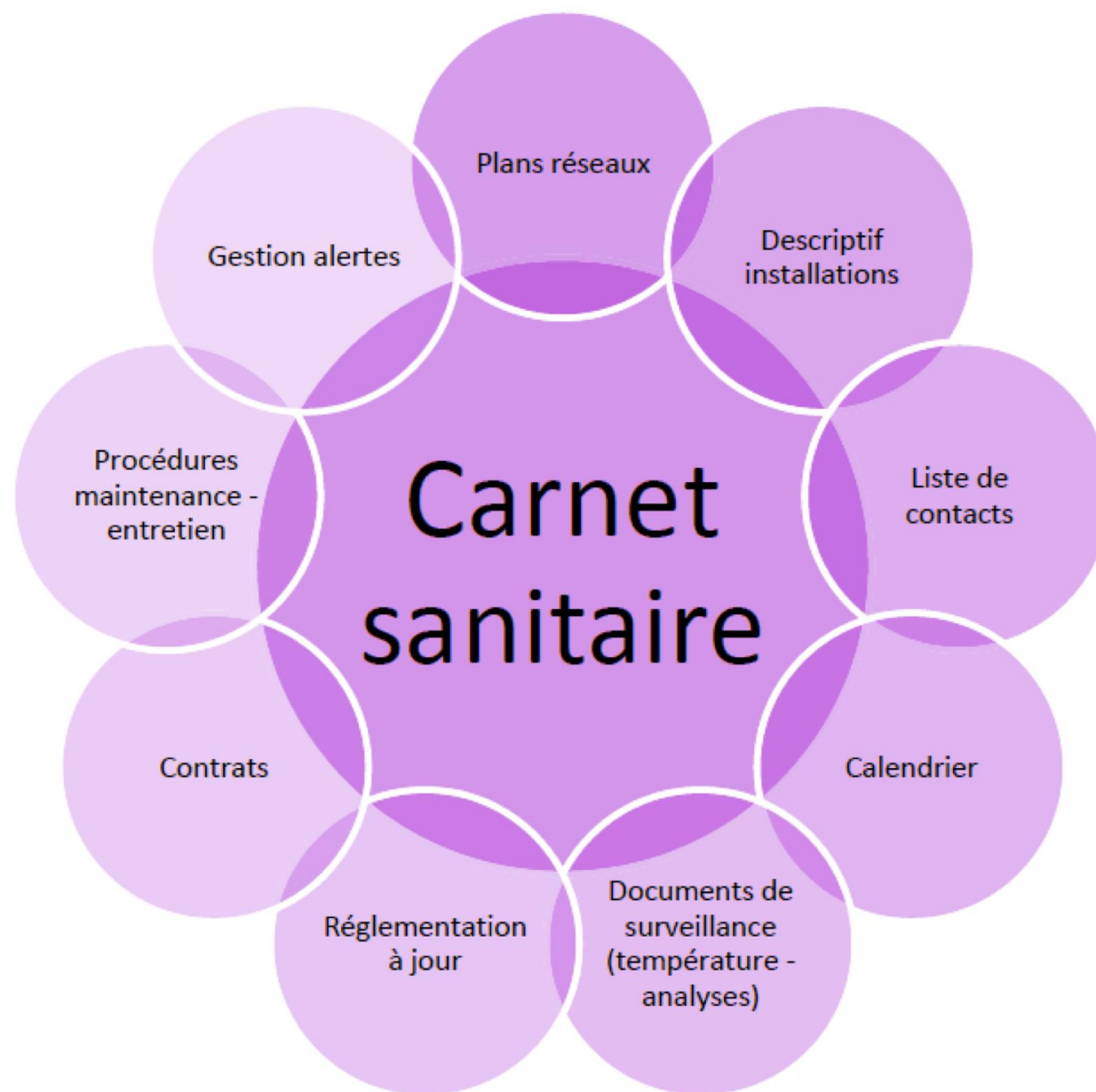
Un nettoyage régulier de l'installation doit être assuré.





A dynamic water splash with a large, curved droplet at the bottom and smaller droplets scattered above, all in shades of blue against a white background.

# **LE CARNET SANITAIRE**



## **LE CARNET SANITAIRE**

**Il regroupe l'ensemble des informations existantes qui concernent la conduite, la surveillance, l'entretien ou maintenance de routine, la maintenance préventive et les réparations des installations d'eau froide et d'eau chaude sanitaire (*circulaire du DGS/DHOS n°2002-243 du 22 avril 2002 relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements de santé*).**

**Il comprend différents volets qui doivent être régulièrement tenus à jour :**

- ☛ renseignements relatifs à l'organisation, aux intervenants, aux responsabilités des personnes concernées : entreprises intervenantes,...**
- ☛ documents de présentation des installations de distribution d'eau :**
  - schéma descriptif actualisé du réseau : circuits, systèmes de protection, points d'injection de produit, points de prélèvement, points de purges,...**
  - caractéristiques principales : matériaux constitutifs des canalisations, état des canalisations, système de production d'eau chaude, appareils de traitement d'eau,...**
  - travaux de modification, de rénovation ou d'extension des installations de distribution d'eau.**

## **LE CARNET SANITAIRE**

☛ **liste des différents postes utilisateurs d'eau dans l'établissement, classés par type d'usage (alimentaire, sanitaire, soins, technique,...).**

☛ **procédures et protocoles concernant :**

- **la maintenance et l'entretien des installations : nature, fréquence**
- **la surveillance des installations (modalités de prélèvement, niveaux d'intervention, à respecter pour la qualité de l'eau),**
- **les consignes d'intervention (mesures curatives), en cas de dépassement du nombre de germes autorisé,**
- **la stérilisation ou le remplacement des filtres terminaux et des préfiltres,**

## **LE CARNET SANITAIRE**

☛ **le journal d'intervention comprenant :**

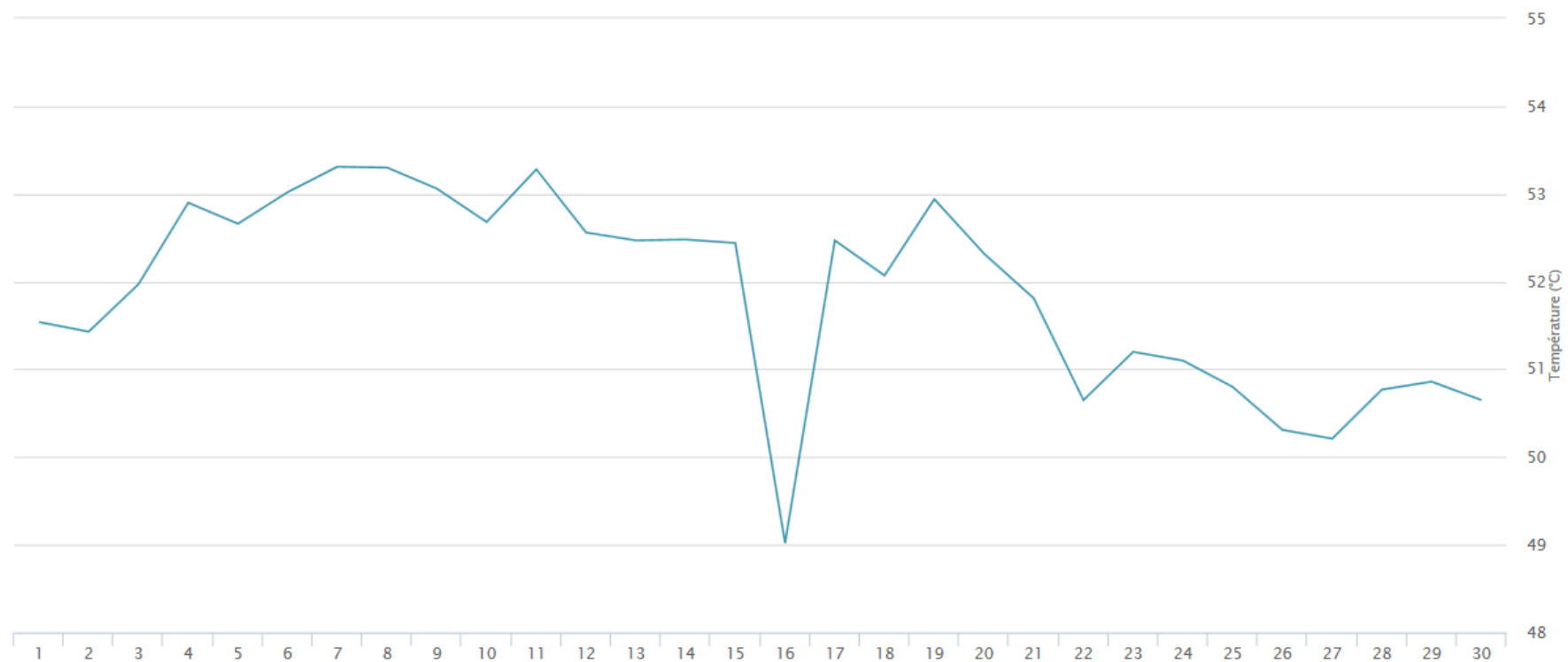
- **le registre des interventions effectuées : fiche d'entretien (nature de l'intervention, date, intervenant, commentaire), fiche de traitement**
- **le relevé des consommations d'eau**
- **le relevé de températures de l'eau froide et de l'eau chaude**
- **le relevé des prélèvements et des analyses d'eau**

☛ **le programme d'amélioration des installations de distribution d'eau, avec échéancier**

# COURBE DE TEMPÉRATURE

LT08 - IGH ADULTES - MENSUEL

◀ ▶ Aujourd'hui 17 novembre 2015 Semaine 47 novembre 2015 ▼ 2015 🔒 Zoom x ●



— LT08 - LT08\_DEPART DE BOUCLE RESEAU BAS IGH (GALVA DN60 0°C) (°C) — LT08 - LT08\_RETOUT DE BOUCLE RESEAU BAS IGH (PVC DN40 +3°C) (°C)  
— LT08 - LT08\_RETOUT DE BOUCLE RESEAU HAUT IGH (PVC DN40 +5°C) (°C) — LT08 - LT08\_DEPART DE BOUCLE RESEAU HAUT IGH (PVC DN100 +6°C) (°C)  
— LT08 - LT08\_RETOUT DE BOUCLE RESEAU MOYEN IGH (PVC DN40 +3°C) (°C) — LT08 - LT08\_DEPART DE BOUCLE RESEAU DOUCHES COMMUNES IGH (PVC DN40 +5°C) (°C)

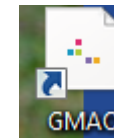


A dynamic water splash with numerous droplets and bubbles, creating a sense of movement and energy. The water is a clear, vibrant blue, and the splashes are captured in mid-air, with some droplets appearing as small, perfect spheres.

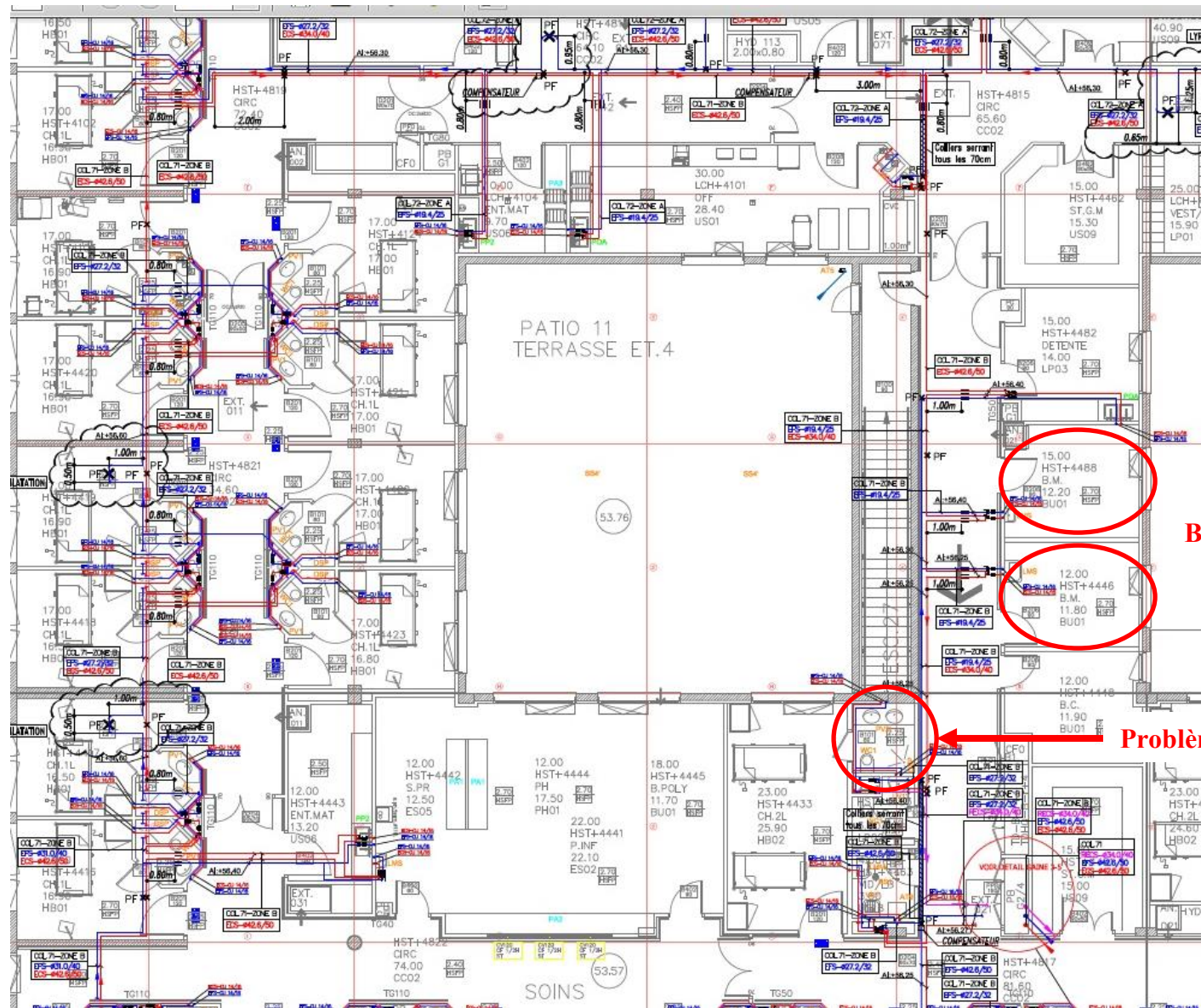
# **GESTION DES PROBLÈMES**

## **PRÉLÈVEMENT EAU POSITIF À *LEGIONELLA* SP.**

- **L'EOH émet une alerte par l'intermédiaire de la GMAO**
- **Une réunion est programmée avec les services techniques**
- **Etudier la configuration du réseau d'eau: recherche de points d'eau peu ou pas utilisés**
- **Etudier les courbes de température de la partie du réseau d'eau concerné**
- **Définir les points à prélever pour étudier la partie du réseau touché par la contamination**
- **Faire filtrer la douche et le robinet de la chambre**
- **Après l'obtention des résultats prendre les mesures correctives**



# EXEMPLE



Bureaux

Problème de légionnelle

## CAS DE LÉGIONELLOSE

### Définition d'un cas de légionellose :

*Toute personne présentant une pneumopathie accompagnée d'au moins un des signes biologiques suivants :*

#### Cas confirmé

- isolement de *Legionella spp.* dans un prélèvement clinique
- augmentation du titre d'anticorps (x4) avec un 2ème titre minimum de 128
- présence d'antigènes solubles urinaires.



#### Cas probable :

- titre(s) d'anticorps  $\geq 256$
- PCR positive dans un prélèvement biologique.

#### Cas nosocomial

Un cas de légionellose est défini comme cas nosocomial **certain** lorsque le patient a séjourné dans un établissement de santé de façon continue pendant la totalité de la période supposée d'exposition (période de 10 jours avant le début des signes).

Si le séjour dans l'établissement de santé ne couvre pas la totalité de la période supposée d'exposition, le cas est considéré comme un cas nosocomial **probable**.



## CAS DE LÉGIONELLOSE

### Cas groupés

Au moins deux cas, survenus dans un intervalle de temps et d'espace géographique susceptible d'impliquer une source commune de contamination.

*Temps:* il est recommandé de ne pas étendre la recherche de cas au-delà des deux ans précédant le cas signalé.

### Enquête environnementale

L'enquête environnementale vise à identifier et maîtriser la (ou les) source(s) la (les) plus probable(s) de la contamination pour éviter l'apparition de nouveau(x) cas.

- Des mesures immédiates de gestion peuvent être recommandées (par exemple : arrêt d'utilisation des douches, pose de filtres...).



- Rechercher le parcours d'hospitalisation du patient
- Vérifier les courbes de températures du secteur du réseau d'eau concerné.
- Effectuer des prélèvements d'eau au niveau des douches et des robinets des chambres qui ont été occupées par le patient sans filtre 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> jet.
- En cas de positivité, prendre les mesures correctives.



**L'HYGIÈNE DES MAINS**  
**TOUS CONCERNÉS !**