

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE:

Monsieur le Professeur **HABRIOUX** Gérard

ASSESEURS

Madame le Professeur **CHULIA** Dominique
Monsieur **COMBY** Francis, Maître de Conférences

PROFESSEURS

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE- PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACIE GALENIQUE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE - CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACIE GALENIQUE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
DREYFUSS Gilles	PARASITOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	PHYSIQUE - BIOPHYSIQUE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE-HYDROLOGIE-ENVIRONNEMENT
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

Madame **ROCHE** Doriane

MAITRES DE CONFERENCES

ALLAIS Daovy

BASLY Jean-Philippe

BATTU Serge

BOTINEAU Michel

CARDI Patrice

CLEDAT Dominique

COMBY Francis

DELEBASSEE Sylvie

DREYFUSS Marie-Françoise

EA KIM Leng

FAGNERE Catherine

FROISSARD Didier

FOURNIER Françoise

JAMBUT Anne Catherine

LAGORCE Jean-François

LARTIGUE Martine

LIAGRE BERTRAND

LOTFI Hayat

MARION Sandrine

MOREAU Jeanne

PARTOUCHE Christian

ROUSSEAU Annick

SIMON Alain

TROUILLAS Patrick

VIANA Marylène

VIGNOLES Philippe

PHARMACOGNOSIE

CHIMIE ANALYTIQUE

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE

PHYSIOLOGIE

CHIMIE ANALYTIQUE

CHIMIE THERAPEUTIQUE

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

PHARMACODYNAMIE

THERAPEUTIQUE

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE

BIOCHIMIE

CHIMIE THERAPEUTIQUE

CHIMIE ORGANIQUE

PHARMACODYNAMIE

SCIENCES BIOLOGIQUES

TOXICOLOGIE

CHIMIE THERAPEUTIQUE

IMMUNOLOGIE

PHYSIOLOGIE

PHYSIQUE-INFORMATIQUE

CHIMIE PHYSIQUE ET CHIMIE MINERALE

BIOMATHEMATIQUES ET INFORMATIQUE
PHARMACEUTIQUE

PHARMACIE GALENIQUE

INFORMATIQUE

ASSISTANT

FAURE Monique

PHARMACIE GALENIQUE

PROFESSEUR CERTIFIE

MARBOUTY Jean-Claude

ANGLAIS

ATER

CALLISTE Claude

BIOPHYSIQUE

MARFAK Abdelghafour

BIOPHYSIQUE

RIAH DEHKORDI Homayoun

PHYSIOLOGIE-PARASITOLOGIE

TALLET Dominique

PHARMACOLOGIE

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,

Monsieur le Professeur CANG NGUYEN BA

Professeur, laboratoire d'Hydrologie-Environnement, Université

Bordeaux 2

Directeur de l'Institut du thermalisme

En acceptant spontanément d'être le tuteur de notre cursus d'interne en Pharmacie Spécialisée, vous nous avez accordé votre confiance et vous nous avez aidés à réaliser nos projets dans les domaines de l'environnement et de l'hygiène à l'hôpital. Votre présidence à cette thèse est pour nous un grand honneur. Que ce travail soit le témoignage de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

A NOTRE DIRECTEUR DE THESE,

Monsieur le Professeur GACHIE

Professeur, laboratoire d'épidémiologie, économie et prévention,

Université Bordeaux 2

Praticien Hospitalier

Chef de service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Bordeaux

Pour votre soutien tout au long de notre internat, pour la confiance que vous nous avez accordés cette année en acceptant de diriger notre travail de recherche dans le cadre du DEA et cette thèse d'exercice et pour nous avoir guidés dans nos orientations professionnelles à venir, soyez assuré de notre profond respect et de notre sincère reconnaissance.

A NOS JUGES,

Madame Bertrice LOULIERE

Pharmacien Inspecteur de Santé Publique

Vous avez accepté de juger cette thèse. Nous sommes très sensibles à cet honneur et nous vous témoignons de notre sincère considération.

Monsieur Vincent MARQUE

Praticien Hospitalier Pharmacien

Travailler à vos côtés fut très enrichissant professionnellement et humainement. Vous nous avez toujours soutenus et encouragés dans nos projets. Pour votre confiance et votre bienveillance, veuillez recevoir toute notre reconnaissance et notre profond respect.

Monsieur Christian MOESCH

Professeur, laboratoire d'hygiène, d'hydrologie et d'environnement

Vous avez spontanément accepté de juger ce travail. Votre présence dans ce jury nous fait le plus grand plaisir. Soyez assuré de notre sincère reconnaissance.

Madame Céline OHAYON-COURTES

Maître de Conférences en Hydrologie

Pour nous avoir dirigés de près dans notre cursus d'interne, pour vos encouragements continus et votre soutien tout au long de ces trois ans, pour votre grande disponibilité, votre gentillesse et votre dynamisme, veuillez trouver ici le témoignage de notre gratitude et de notre profond respect.

REMERCIEMENTS

Au personnel du service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Bordeaux

Je tiens à vous remercier pour votre accueil chaleureux dans le service et pour votre bienveillance. A vos côtés, j'ai pu apprendre un peu plus chaque jour. Merci à toutes pour votre soutien pendant cette année chargée de stress et plus particulièrement au Docteur Hélène Boulestreau pour son soutien quotidien, ses encouragements et ses grandes qualités humaines.

Au personnel du Laboratoire Hygiène-Environnement, Université Victor Ségalen, Bordeaux 2

Un grand merci à tous pour votre accueil chaleureux depuis trois ans et votre éternelle bonne humeur. Je tiens à remercier plus particulièrement Sandrine Bousseau, Pharmacien, pour sa grande disponibilité, ses compétences, sa très précieuse aide technique et sa gentillesse.

A nos chefs de service, maîtres de stages et leurs équipes

Monsieur le Professeur LACHATRE

Monsieur le Professeur DARMON

Madame TEXIER-MAUGEIN

Monsieur MARQUE

Monsieur le Professeur GACHIE

Monsieur LABADIE

Merci aussi à Monsieur Daniel Zaro-Goni et à Mademoiselle Sandrine Bousseau pour m'avoir aidée à réaliser quelques photographies.

A Laurent

Tu as été mon havre de paix pendant cette année surchargée. Nous voilà enfin réunis. A notre nouvelle vie pleine de bonheur.

A mes parents

Grâce à votre soutien permanent et tout votre amour, vous m'avez aidée à arriver jusque-là. Cette thèse est pour vous.

A Sophie, Pascal et la petite Emma

Votre soutien et vos encouragements n'ont jamais manqué. Merci.

A Didier

Grâce à ton accueil, la petite Normande a fait rapidement sa place à Bordeaux. Merci pour ton amitié inestimable.

A Virginie

Ton amitié de 10 ans reste la même malgré ces kilomètres qui nous séparent. Ton soutien pendant ces longues études à Caen puis à Bordeaux n'a pas de prix. Merci.

A Olivier et Karine, Bertrand et Annie, Jérôme

Vous n'y croyiez peut-être pas et pourtant, mes études touchent à leur fin! Merci d'être toujours là.

A Louise, Hélène, Caroline, Renaud, Véro, Seb, Anne-Céline, Jimmy, Virginie et tous ceux que j'ai eu la chance de croiser impasse des moufles!

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	13
LA LEGIONELLOSE ET LES LEGIONELLES.....	17
1. La légionellose.....	18
1.1. La Maladie des Légionnaires	18
1.2. La fièvre de Pontiac.....	19
1.3. Mécanisme de la maladie	20
1.4. Epidémiologie et surveillance	21
2. L'agent pathogène, <i>Legionella sp</i>.....	27
2.1. Classification taxonomique.....	27
2.2. Morphologie.....	28
2.3. Caractères cultureux.....	29
2.4. Virulence de <i>Legionella pneumophila</i>	30
2.5. Diagnostic biologique.....	30
2.6. Recherche des <i>Legionella</i> dans l'environnement.....	33
2.7. Sensibilité aux antibiotiques et traitement.....	35
3. Facteurs favorisant la présence et la prolifération des légionelles.....	36
3.1. L'eau.....	36
3.2. Les amibes libres.....	42
3.3. Les réservoirs de <i>Legionella</i>	46
UNE HISTOIRE REGLEMENTAIRE DE 25 ANS	50
1. Les eaux destinées à la consommation humaine.....	51
1.1. Eau froide sanitaire.....	52
1.2. Eau chaude sanitaire.....	55
2. Surveillance et prévention de la légionellose.....	57
2.1. Déclaration et surveillance des légionelloses.....	57
2.2. Les légionelloses nosocomiales.....	60

3. L'eau et les légionelles.....	61
3.1. Les établissements thermaux.....	61
3.2. Les établissements de santé et ceux recevant du public.....	64
3.3. Les tours aéro-réfrigérantes.....	66
ETUDE MENEES SUR DIFFERENTS ETABLISSEMENTS DE SANTE DE LA REGION SUD-OUEST.....	68
1. Matériel et méthodes.....	69
1.1. Matériel.....	69
1.2. Méthodes.....	70
2. Résultats.....	74
2.1. Description des données.....	74
2.2. Analyses.....	75
3. Discussion.....	77
LA MAITRISE DU RISQUE "LEGIONELLES" DANS LES ETABLISSEMENTS DE SANTE.....	81
CONCLUSION.....	93
REFERENCES.....	95
ANNEXES.....	101

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Photographie n°1: Cliché radiographique d'un patient immunodéprimé atteint de la Maladie des Légionnaires.....	18
Figure n°1: Evolution du nombre de légionelloses déclarées en France de 1989 à 2000.....	21
Photographie n°2: Légionelles observées au microscope optique à immersion après coloration de Gram.....	28
Photographie n°3: Colonies de légionelles obtenues par culture sur milieu BCYE α	29
Photographie n°4: Légionelles présentes dans une expectoration et observées en immunofluorescence directe	32
Figure 2: Représentation schématique d'une section longitudinale d'une canalisation d'un réseau de distribution d'eau potable.....	41
Figure 3: Les deux principaux types de tour aéro-réfrigérante utilisés en France.....	49
Photographie n°5: Mise en évidence d'amibes libres par observation de leur migration sur une gélose recouverte d' <i>Escherichia coli</i>	71
Photographie n°6: Kyste d' <i>Acanthamoeba sp</i> observé au microscope optique.....	72
Photographie n°7: Trophozoïte amiboïde d' <i>Acanthamoeba sp</i> avec pseudopodes filiformes observé au microscope optique.....	72

INTRODUCTION

La première description de la "Maladie des Légionnaires" a été réalisée au cours du 58^{ème} congrès de l'American Legion à Philadelphie, Pennsylvanie (USA) en juillet 1976. Une épidémie d'affections respiratoires graves s'était produite parmi les 4500 participants à ce congrès d'anciens combattants, logeant à l'hôtel Bellevue-Stratford du 21 au 24 juillet 1976. 182 cas de pneumopathie aiguë fébrile avaient été recensés dont 29 furent mortels. Le taux de létalité atteignit alors 15,9%. D'autres cas furent observés chez des personnes n'ayant pas participé au congrès et n'ayant pas pénétré dans l'hôtel mais qui se trouvaient dans la rue, à proximité de l'établissement (1). L'hypothèse de la contamination par voie aérienne avait été rapidement évoquée incriminant le système de traitement d'air de l'hôtel.

Le 18 janvier 1977, le "Center for Diseases Control" (CDC) d'Atlanta annonça la découverte par Mac Dade et son équipe d'une nouvelle espèce bactérienne (2). Il s'agissait d'une bactérie Gram négatif isolée à partir de fragments de tissu pulmonaire de quatre des sujets décédés de la "Maladie des Légionnaires" à Philadelphie. La bactérie en question est caractérisée par des particularités de coloration et de culture qui expliquent qu'il ait fallu attendre 1977 pour la découvrir. Le rôle étiologique de ce micro-organisme dans l'épidémie de Philadelphie a été démontré au moyen d'un test d'immunofluorescence indirecte réalisé avec des sérums de convalescents de la maladie. L'appellation de *Legionella pneumophila* ne fut donnée à ce germe qui n'appartenait à aucune famille bactérienne connue qu'en 1979 (3).

La découverte de la bactérie responsable et la mise au point de techniques immunologiques de diagnostic ont permis de démontrer que plusieurs épidémies d'affections non encore étiquetées, comme celle apparue dans un hôpital psychiatrique de Washington D.C. en 1965 (4) ou celle survenue à Philadelphie en 1976 (1), étaient en réalité des épidémies de légionellose (2). Un pas significatif venait d'être franchi en pathologie infectieuse et notamment dans le domaine des pneumopathies aiguës.

Depuis l'épidémie de Philadelphie, d'autres épidémies ont été décrites dans le monde entier (Etats-Unis, Europe occidentale, Japon, Israël, Australie...) (5, 6, 7) et notamment des épidémies de légionelloses nosocomiales (7, 8, 9, 10, 11) : les patients hospitalisés présentent, en effet, de plus en plus de facteurs favorisant l'acquisition d'une légionellose comme la prise d'un traitement immunosuppresseur, une greffe ou un stade évolué d'une maladie chronique. De plus, les réseaux de distribution d'eau des centres hospitaliers, par leur grande taille et leur complexité, sont souvent favorables à la multiplication des légionelles.

En France, la situation dans les établissements de santé a été récemment évaluée. En 1998, une étude menée au Centre Hospitalier Universitaire de Tours a montré que la contamination bactérienne par *Legionella pneumophila* concernait la quasi-totalité des réseaux d'eau chaude sanitaire. Plus récemment, une enquête réalisée en 1999 par la Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales (DRASS) d'Aquitaine et la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) de Gironde montrait des concentrations plus élevées de légionelles sur les réseaux d'eau des établissements de santé comparés aux autres établissements recevant du public (12). Enfin, en 2001, le Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN) de l'interrégion Paris-Nord a montré que les établissements de santé connaissaient mal leur réseau d'eau et ne pratiquaient pas tous une maintenance systématique de leur installation (13).

Ainsi, malgré une meilleure compréhension de l'écologie des légionelles dans les réseaux d'eau hospitaliers, la prévention de la "Maladie des Légionnaires", infection opportuniste nosocomiale, reste un problème important et non résolu. De nombreuses zones d'ombre sont, en effet, encore associées à cette infection : l'existence d'une relation entre légionelles libres et légionelles intracellulaires et notamment entre légionelles et amibes (14, 15), la difficulté voire l'impossibilité d'éradiquer les amibes dans un réseau, le rôle important et complexe des biofilms (16, 17, 18) et le lien entre la contamination des réseaux par les légionelles et le risque infectieux encore mal connu.

Alors qu'en règle générale le maintien de la qualité de l'eau (19) est d'autant mieux assuré que le réseau est court et que le débit est fort favorisant un temps de

séjour plus faible, ces conditions sont rarement réunies dans un grand établissement de soins et il est alors impossible de garantir une qualité homogène de l'eau distribuée.

En effet, la dégradation de la qualité microbiologique de l'eau peut survenir à tout moment entre le lieu de production et un point périphérique du réseau.

D'une part la prolifération de micro-organismes peut être la conséquence d'une contamination exogène des réservoirs (due à une contamination du réseau public d'adduction) ou endogène (par des infiltrations ou des mauvaises conditions de stockage) ou d'une contamination du réseau intérieur, par exemple lors de travaux. La multiplication de micro-organismes *in situ* peut être due à la stagnation de l'eau au niveau d'espaces ou de bras morts du réseau, de robinets et de brise-jet, de pommes de douches et de ballons de stockage (16).

D'autre part, la présence d'un biofilm peut être une source importante de micro-organismes.

Enfin, l'eau de ces réseaux subit différents traitements spécifiques comme l'adoucissement, le détartrage par électrolyse ou par addition de substances filmogènes dans le circuit qui modifient les qualités physico-chimiques de l'eau et peuvent favoriser le développement de micro-organismes tels que les légionelles et les amibes.

Dans une première partie, nous ferons une synthèse de la littérature afin d'évaluer les connaissances sur les légionelles et leur environnement.

Puis nous ferons l'inventaire de l'ensemble des textes réglementaires fondant la police sanitaire de l'eau et des légionelles depuis 25 ans et applicables aux établissements de santé.

Ensuite, nous exposerons une étude que nous avons réalisée en 2001 dans le service d'Hygiène Hospitalière du CHU de Bordeaux sur plusieurs établissements de santé de la région Sud-Ouest : l'objectif de cette étude était de confirmer ou de rechercher des facteurs explicatifs à la présence de légionelles dans ces réseaux particuliers.

Enfin, au regard des connaissances actuelles et de la réglementation en vigueur, nous discuterons les moyens à mettre en œuvre afin de mieux gérer le risque de légionellose dans les établissements de santé et les difficultés rencontrées.

LA LEGIONELLOSE
ET LES LEGIONELLES

1. LA LEGIONELLOSE

Le terme de "légionellose" désigne toutes les infections dont les légionelles sont responsables. Quelles que soient les différentes formes cliniques de la maladie, la pathologie évolue en suivant toujours les mêmes étapes à partir de la contamination : une période d'incubation suivie d'une phase d'invasion marquant l'apparition de signes cliniques et d'une phase d'état.

1.1. La Maladie des Légionnaires

Après une incubation de 2 à 10 jours, la maladie débute brutalement par des céphalées, avec malaise, des myalgies, une fièvre modérée et des frissons. A la phase d'état, deux jours plus tard, la température corporelle atteint et dépasse parfois 40°C associée à une bradycardie faible. Des signes respiratoires apparaissent marqués par une toux d'abord sèche puis productive, une polypnée et des douleurs thoraciques. L'examen clinique détecte des râles crépitants disséminés et les radiographies pulmonaires mettent en évidence des infiltrats diffus des deux poumons.



Photographie n°1. Cliché radiographique d'un patient immunodéprimé atteint de la Maladie des Légionnaires et montrant des opacités nodulaires circulaires (20).

Cette pneumonie fébrile est accompagnée d'une part de signes neurologiques sans méningite (confusion mentale, léthargie et céphalées) et d'autre part de signes digestifs avec une diarrhée aqueuse (30 à 50% des cas), des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales. D'autres manifestations plus rares ont été rapportées: pleurésie, péricardite, myocardite, rhabdomyolyse, encéphalite, rash et broncho-spasme.

Il est habituel d'observer une hyperleucocytose sanguine marquée (supérieure à 20000 leucocytes par microlitre de sang).

L'évolution sans traitement est mortelle dans 15 à 20% des cas chez les sujets sans antécédents d'immunodépression. Le taux de mortalité peut atteindre 80% en milieu hospitalier chez des sujets immunodéficients. De plus, chez ces patients, la pneumonie a une tendance à l'abcédation et des surinfections bactériennes sont fréquentes (*Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*) (21).

La majorité des cas nécessite une hospitalisation et un traitement antibiotique pendant trois semaines voire quatre à six semaines chez les immunodéprimés (20).

1.2. La fièvre de Pontiac

Elle débute de la même manière que la Maladie des Légionnaires avec un syndrome pseudo-grippal, des myalgies et des céphalées. Dans ce cas, le pronostic vital n'est pas mis en jeu car la guérison est souvent spontanée, en 2 à 3 jours. L'incubation est de 36 heures en moyenne mais elle peut varier de 5 heures à 3 jours après l'inhalation des bactéries.

L'infection se localise dans les voies aériennes supérieures et n'est pas accompagnée d'une atteinte pulmonaire. Le début est brutal avec une fièvre à 39-40°C, une tachycardie, des malaises et des céphalées accompagnées de frissons, de myalgies et parfois de confusion. Une toux sèche est retrouvée dans 50% des cas avec une rhinite, un mal de gorge ou une irritation oculaire. Cependant, contrairement à la Maladie des Légionnaires, aucune lésion pulmonaire ne peut être observée à la radiographie (21).

Cette infection est facilement traitée par les macrolides et les signes cliniques disparaissent complètement après une fatigue persistante de quelques jours.

De très nombreuses nuances cliniques peuvent être observées entre ces deux syndromes causés par *Legionella pneumophila*, selon l'âge, le terrain ou la gravité des manifestations secondaires (métastases). Il est probable que l'infection chez les sujets sans antécédents peut souvent rester inapparente, seulement marquée par une élévation des taux sanguins d'anticorps spécifiques.

1.3. Mécanisme de la maladie

La porte d'entrée habituelle de l'agent infectieux se situe au niveau du tractus respiratoire. Les bactéries sont inhalées sous forme d'aérosols qui gagnent les alvéoles pulmonaires lorsque leur taille est suffisamment faible, c'est-à-dire inférieure à 5 micromètres (μm).

Les bactéries sont alors phagocytées par les macrophages alvéolaires dans lesquels elles persistent et se multiplient. La destruction de ces macrophages alvéolaires et la prolifération des bactéries entraînent une pneumonie aiguë disséminée caractérisée par une alvéolite purulente avec l'afflux de nombreux granulocytes et de macrophages enserrés dans un réseau fibrineux.

Cette inflammation aiguë est souvent associée à une hémorragie intra-alvéolaire et à une extension rétrograde de l'infection vers les bronchioles et les ganglions lymphatiques loco-régionaux. Cette alvéolite purulente s'accompagne d'une réaction inflammatoire dans le tissu interstitiel œdématisé et infiltré par de nombreuses cellules. L'infection reste habituellement confinée au tissu pulmonaire mais une diffusion hématogène est possible.

Les bactéries peuvent donc être retrouvées dans le sang et les organes du système réticulo-endothélial (foie, rate, ganglions lymphatiques). Des localisations métastatiques en dehors de ces organes sont possibles mais rares (21).

1.4. Epidémiologie et surveillance

1.4.1. Données épidémiologiques

La surveillance de la légionellose en France repose principalement sur le système de déclaration obligatoire, institué en 1987 (22).

Depuis la mise en place de la déclaration obligatoire et jusqu'en 1997, le nombre de cas déclarés est resté très faible (0,35 pour 100 000 habitants) (23). Des mesures de renforcement de ce système ont été prises en 1997 (Annexe 1: Réseau de surveillance de la légionellose en France) et ont coïncidé avec une augmentation des notifications des cas de légionellose (85 cas en 1996, 610 en 2000)(24) (Figure 1).

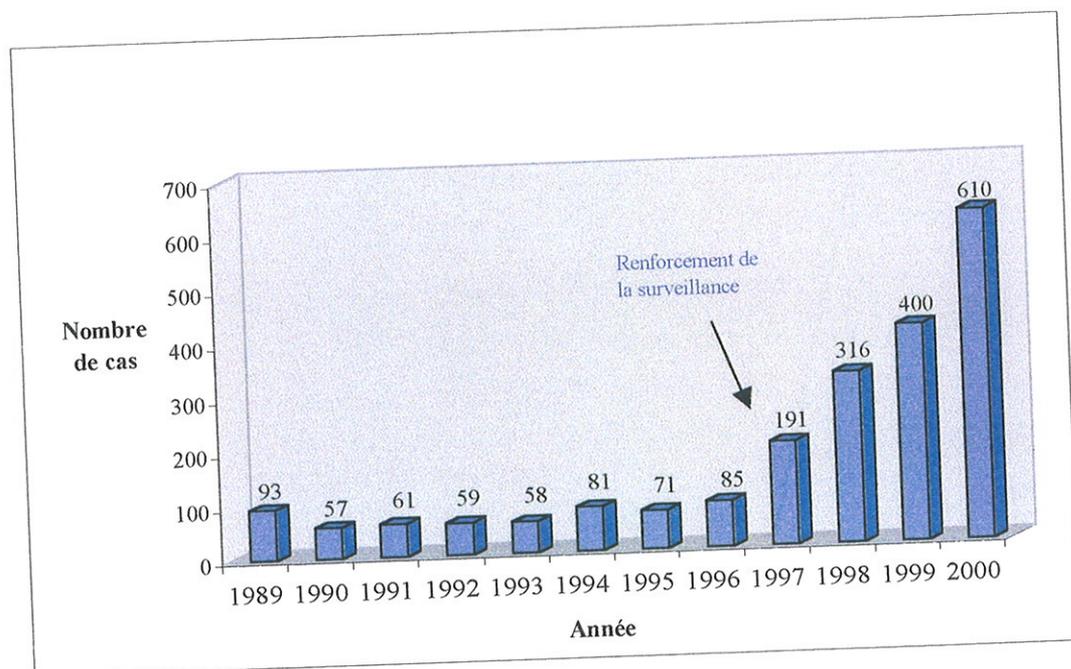


Figure 1: Evolution du nombre de légionelloses déclarées en France de 1989 à 2000 (23, 24).

L'amélioration des méthodes diagnostiques et une meilleure connaissance de la maladie peuvent expliquer cette tendance. Une enquête basée sur une méthode de capture/recapture réalisée à partir de trois sources d'informations (les déclarations obligatoires, les données du Centre National de Référence (CNR) et les données d'une enquête auprès des laboratoires de bactériologie) a indiqué en 1998 une exhaustivité de la déclaration obligatoire de 33% pour l'ensemble des cas (10% en 1995) et de 70% pour les cas diagnostiqués par culture (25).

Depuis 1997, devant tout cas de légionellose nosocomiale, une enquête est réalisée par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) de l'établissement concerné. A la suite d'un cas isolé d'un patient ayant séjourné dans un hôtel ou un camping, la DDASS rappelle à l'établissement concerné les règles de bonnes pratiques d'entretien d'un réseau d'eau chaude sanitaire en vue de limiter la multiplication des légionelles et devant des cas liés ou groupés, une enquête est réalisée par les services Santé-Environnement de la DDASS.

La France participe également au réseau européen de surveillance des légionelloses acquises lors des voyages (European Working Group for *Legionella* Infections, EWGLI). Ce réseau qui regroupe trente et un pays signale aux autorités sanitaires du pays concerné tout cas de patient atteint de légionellose ayant voyagé pendant les dix jours précédant le début de la maladie en précisant les lieux fréquentés. Ce système permet l'identification des cas groupés pouvant être rattachés à une source commune d'exposition afin de prendre des mesures de prévention appropriées.

Avec 610 cas déclarés en 2000, l'incidence en France métropolitaine est de 1 cas pour 100 000 habitants et se situe dans la moyenne européenne. 92 décès sont survenus et la létalité pour les cas avec une évolution connue à la date de la déclaration est de 25%. La majorité des cas (98%) étaient porteurs d'une infection à *Legionella pneumophila* (24).

Les établissements de santé sont des lieux de contamination où les légionelloses sont graves : en 2000, environ 20% des cas de légionelloses étaient d'origine nosocomiale certaine ou probable soit environ une centaine de cas par an

sur l'ensemble des hôpitaux et environ 40% des cas décédaient alors qu'en milieu communautaire la létalité était de 16%.

Dans le réseau européen EWGLI, 2136 cas ont été notifiés en 1999 soit une incidence de 0,5 pour 100 000 (mais ces chiffres dépendent de la qualité du système de surveillance variable dans chaque pays).

1.4.2. Mode et lieux de contamination

1.4.2.1 Mode de contamination

Puisque la porte d'entrée est pulmonaire et la contamination se fait par inhalation des bactéries sous forme d'aérosols, tout système qui génère des gouttelettes d'eau est susceptible d'être une source de contamination. A l'intérieur d'un bâtiment, la source est habituellement une douche, un bain à remous ou un système de climatisation alors qu'à l'extérieur de certains bâtiments, la source est le plus souvent une tour aéro-réfrigérante.

Un autre mode de contamination cité est l'instillation directe au niveau des bronches. Ce mode concerne essentiellement les malades sous thérapie respiratoire bien qu'il soit recommandé d'utiliser de l'eau stérile en oxygénothérapie dans les humidificateurs à usage unique pré-remplis ou dans les barboteurs et en aérosolthérapie dans les nébulisateurs (26).

Quelques contaminations par "fausses routes alimentaires" (aspiration lors d'ingestion d'eau) ont été rapportées chez des patients ayant subi une chirurgie oncologique au niveau de la tête et du cou. Il pourrait se former un aérosol contaminant lors de ces "micro-aspirations" (27).

L'hypothèse d'une contamination par ingestion n'a jamais été prouvée. Aucune transmission inter-humaine n'a été rapportée.

1.4.2.2 Lieux de contamination

Les infections nosocomiales sont des infections contractées dans un établissement de santé. Elles peuvent toucher les personnes soignées ainsi que les professionnels de santé en raison de leur activité (28).

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation et si elle était absente à l'admission à l'hôpital. Ce critère est applicable à toute infection. Lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après l'admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire (29).

Une enquête menée par le CCLIN de Paris-Nord en 2001 auprès de 247 présidents de CLIN d'établissements de santé de l'interrégion Nord (13) a montré que seulement 43% des établissements avaient réalisé un plan de leur réseau d'eau. 77% et 73% des établissements avaient des concentrations en légionelles dans leur réseau supérieures à 10^3 UFC/L respectivement dans l'eau chaude sanitaire et dans les ballons de stockage. 75% des centres déclaraient assurer une maintenance ou un entretien des réseaux.

En Angleterre, la fréquence d'isolement de *Legionella* dans les réservoirs d'eau froide des immeubles est de 11%. Dans les installations individuelles de production et de distribution d'eau chaude sanitaire, la prévalence varie selon les études de 6 à 37% (30).

Une enquête réalisée en 1999 par la DRASS d'Aquitaine et la DDASS de Gironde sur les réseaux d'eau des établissements de santé et les autres établissements recevant du public montrait des concentrations plus élevées de légionelles pour les établissements de santé comparés à ceux recevant du public. 34% des analyses d'eau effectuées dans les établissements de santé évalués étaient positives (supérieures à 50 UFC/L) et 20,4% avaient une concentration supérieure à 10^3 UFC/L. Par ailleurs,

52% de ces établissements ont trouvé au moins un de leurs prélèvements positifs au seuil de détection pour les légionelles (12).

1.4.3. Sujets à risque et exposition à risque

La légionellose peut s'observer chez l'adulte en bonne santé sans antécédents pathologiques. Ainsi, la légionellose est une cause peu fréquente mais régulière de pneumonie communautaire.

Toutefois, certains sujets contractent préférentiellement la maladie car ils présentent un ou plusieurs facteurs de risque particuliers tels que le sexe (sex ratio homme/femme = 3), l'âge (supérieur à 51 ans), l'alcool-tabagisme, certaines maladies chroniques comme le diabète et les bronchopathies, la corticothérapie au long cours et l'immunosuppression (cancer, hémopathie, splénectomie, greffes et SIDA) (31). De tels sujets constituent une population à risque pour la légionellose.

En France, d'après la surveillance épidémiologique faite en 2000, la présence d'un ou plusieurs facteurs favorisants a été retrouvée chez 436 cas (71%) : 81 (13%) présentaient un cancer ou une hémopathie, 78 (13%) avaient un traitement de corticoïdes ou d'autres traitements immunosuppresseurs, 67 (11%) étaient diabétiques et 244 (40%) étaient des fumeurs. Le tabagisme a été cité comme seul facteur favorisant chez 153 (25%) d'entre eux (24).

Concernant l'exposition à risque, elle est souvent rapportée dans les cas de légionellose. Parmi les 610 cas, 293 (48%) ont présenté une exposition à risque dans les 10 jours précédant le début de la maladie : séjour dans un hôpital ou une clinique (20%), dans un hôtel ou un camping (9%), dans un établissement thermal ou une maison médicalisée (1%).

Enfin, dans 17 % des cas, un séjour dans un pays étranger a été signalé.

1.4.4. Critères de diagnostic

La définition d'un cas unique, de cas groupés et d'un cas nosocomial sont donnés dans la fiche de déclaration (Annexe n°2: Fiche de déclaration d'un cas de légionellose) puisque la légionellose est une maladie à déclaration obligatoire depuis 1987.

Les critères sont :

- pneumopathie associée à au moins un des résultats suivants :
 - isolement de *Legionella spp* dans un prélèvement clinique
 - augmentation du titre d'anticorps d'un facteur 4 avec un 2^{ème} titre d'au moins 128
 - immunofluorescence directe positive
 - présence d'antigène soluble urinaire
 - un titre d'anticorps élevé au moins égal à 256

- On parle de cas groupés si au moins deux cas sont survenus à moins de 6 mois d'intervalle chez des personnes ayant fréquenté un même lieu. S'il y a plus de 6 mois d'intervalle, on dit que les cas sont liés.

- On parle de légionellose nosocomiale lorsque la maladie est survenue au cours d'une hospitalisation. L'origine nosocomiale est certaine (probable) si le patient a effectué un séjour à l'hôpital pendant 10 jours (un jour minimum) précédant le début des signes cliniques.

2. L'AGENT PATHOGENE, *LEGIONELLA SP*

2.1. Classification taxonomique

La famille des *Legionellaceae* constitue un groupe phylogénétiquement individualisé parmi les bactéries à Gram négatif. Selon la classification officielle proposée par le CDC, il n'existe actuellement qu'un seul genre *Legionella* regroupant 43 espèces différentes de *Legionella* et 3 sous-espèces correspondant à 64 sérogroupes antigéniquement distincts (32).

L'espèce *Legionella pneumophila* a elle-même été subdivisée par Brebber et son équipe en trois sous-espèces qui sont :

- *Legionella pneumophila* subspecies *pneumophila* regroupant la souche Philadelphia-1 et des souches des sérogroupes 1 à 14
- *Legionella pneumophila* subspecies *fraseri* regroupant la souche Los Angeles-1 (souche type du séro groupe 4) et des souches des sérogroupes 1, 4, 5 et Lansing-3
- *Legionella pneumophila* subspecies *pascullei* regroupant les souches du séro groupe 5 dont la souche type est U8W

En fait, seules certaines espèces correspondent génétiquement à des légionelles, les autres sont en fait rattachées aux genres *Tatlockia* (comprenant deux espèces) et *Fluoribacter* (comprenant quatorze espèces). Comme aucun marqueur phénotypique ne permet de distinguer les souches des genres *Tatlockia* et *Fluoribacter* des *Legionella sensu stricto*, l'usage est de toujours dénommer *Legionella* l'ensemble des souches de ces trois genres.

A côté de ces 43 espèces, des légionelles à développement intracellulaire obligatoire ont été désignées sous le nom de "*Legionella*-like amoebal pathogens" (LLAPs). Ces souches de LLAPs ne forment pas un groupe phylogénétiquement distinct et unique au sein du genre *Legionella*. Elles représentent différentes espèces distribuées dans tout le genre *Legionella* (32).

2.2. Morphologie

Il s'agit d'un petit bacille polymorphe, mobile au moyen de un ou plusieurs flagelles (à l'exception de *Legionella oakridgensis*), non sporulé, doté de l'organisation pariétale des bactéries à Gram négatif, c'est-à-dire une paroi riche en lipides, de structure complexe formée de 2 couches séparées par un espace périplasmique : une couche mince de peptidoglycane et la membrane externe constituée de lipopolysaccharide encore appelé endotoxine. La coloration de Gram étant négative, les légionelles apparaissent donc au microscope optique sous la forme de petits bacilles roses (photographie n°2).



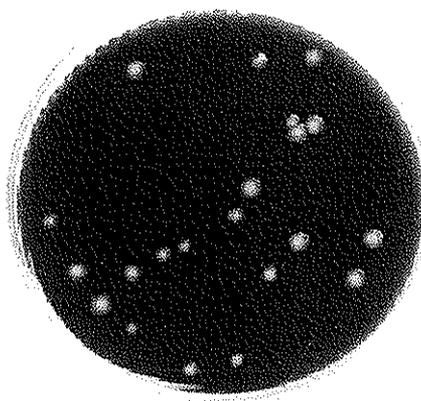
Photographie n°2: Légionelles observées au microscope optique à immersion après coloration de Gram (grossissement x1000) (33)

Chaque entité bactérienne mesure de 0,3 μm à 0,9 μm de large et de 2 à 20 μm de long. Cependant, après culture, on peut noter une variation de taille. La multiplication s'effectue surtout entre 20 et 48°C avec une température optimale de croissance de 37°C.

2.3. Caractères cultureux

Les légionelles sont des germes à métabolisme aérobie strict dont les exigences de culture sont très strictes et rigoureuses. Elles ne cultivent sur aucun milieu classique y compris sur la gélose au sang. Les milieux de culture doivent être enrichis en L-Cystéine et en fer. La croissance optimale du germe se fait à 37°C en atmosphère enrichie en CO_2 (2,5%), à pH légèrement acide. Leur croissance est lente et il faut un délai de 2 à 4 jours avant l'apparition des premières colonies à partir d'un prélèvement.

Les colonies de *Legionella* sont grises, brillantes et muqueuses, caractérisées par leur polymorphisme et un aspect de verre brisé lorsqu'elles sont observées à la loupe (photographie n°3).



Photographie n°3: Colonies de légionelles obtenues par culture sur milieu BCYE α (34).

A 45°C leur multiplication se ralentit et il faut atteindre une température supérieure à 60°C pour les détruire. Inversement, quand la température diminue, les légionelles ralentissent ou stoppent leur multiplication mais survivent.

Le milieu de culture spécifique recommandé est la gélose BCYE α (Buffered Charcoal Yeast Extract α -cétoglutarate) contenant du charbon (qui agit comme détoxifiant) et un tampon acide (permettant de stabiliser le pH à 6,9) comme éléments spécifiques pour une croissance optimale en 3 à 7 jours.

2.4. Virulence de *Legionella pneumophila*

Legionella pneumophila est une bactérie à multiplication intracellulaire facultative qui peut échapper aux défenses de l'hôte en parasitant les monocytes et les macrophages dans lesquels elle survit. Les granulocytes semblent également incapables de la détruire. Les bactéries persistent dans les vacuoles de phagocytose en inhibant la fusion phagolysosomiale et s'y multiplient. *Legionella pneumophila* est un bacille à gram négatif possédant une endotoxine qui pourrait être responsable de la fièvre, des céphalées et du choc.

2.5. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique des légionelloses présente plusieurs aspects (Annexe n°3: Sensibilité et spécificité des méthodes diagnostiques de la légionellose) (35) :

- le diagnostic bactériologique direct, basé sur la culture et l'identification de l'agent pathogène dans des échantillons appropriés tels que expectoration, aspiration trachéale, lavage bronchique, biopsie pulmonaire ou liquide pleural: c'est le diagnostic de certitude des légionelloses. Il permet de détecter toutes les espèces et devrait être réalisé de façon systématique.

- l'immunofluorescence directe (IFD) spécifique de *Legionella pneumophila* 1 dans les sécrétions bronchiques ou sur le parenchyme pulmonaire après biopsie.
- la recherche d'antigènes urinaires de *Legionella*
- le sérodiagnostic ou diagnostic indirect basé sur la mise en évidence d'une séroconversion significative vis-à-vis des antigènes de *Legionella*. Seule la sérologie de *Legionella pneumophila* 1 est reconnue au niveau international.
- la détection par amplification génique

2.5.1. Examen direct des prélèvements cliniques

L'examen direct s'effectue grâce à la méthode de coloration de Gram. Les légionelles sont des bacilles à Gram négatif (faiblement colorés), non sporulés, non acidorésistants et non capsulés, de 0,3 μm à 0,9 μm de large sur 2 à 20 μm de long.

Les légionelles apparaissent sous forme de bacilles courts et fins.

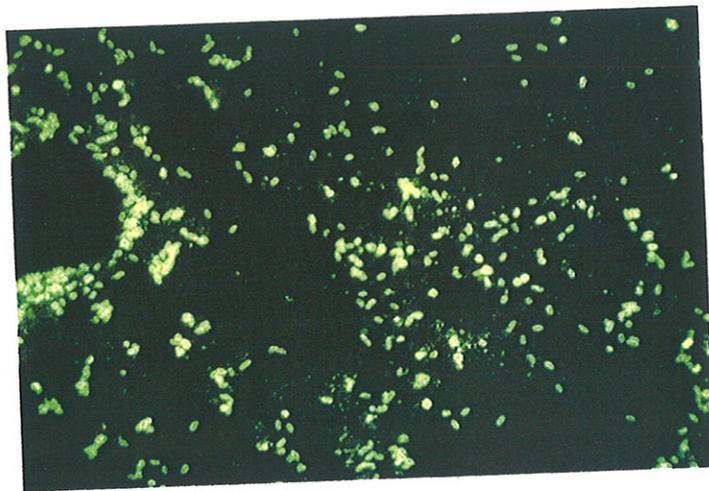
2.5.2. Mise en culture du prélèvement

La culture des légionelles, bien que difficile puisque le succès de la méthode dépend de la nature du prélèvement et de sa qualité, est la méthode de choix car l'isolement de l'agent pathogène reste le diagnostic de certitude. La recherche de *Legionella* se fait sur milieu spécifique BCYE α . Seul cet examen permet de comparer des souches isolées chez les malades avec des souches isolées dans l'environnement par des techniques de typage moléculaire servant à confirmer la source de contamination. Cet examen de référence est réalisé dès l'apparition des symptômes avant toute antibiothérapie. La spécificité est de 100% et la sensibilité de 40 à 60% (31).

2.5.3. Immunofluorescence directe

L'examen direct de prélèvements au microscope à fluorescence est la méthode de choix la plus couramment utilisée.

L'immunofluorescence directe (IFD) se pratique à l'aide d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux qui reconnaissent tous les sérogroupes connus de *Legionella pneumophila* pour la majorité des réactifs commercialisés (photographie n°4).



Photographie n°4: Légionelles observées en immunofluorescence directe à partir d'une expectoration (36)

Le principal inconvénient de cette technique est sa faible sensibilité (25 à 40%) avec un seuil de détection de 10^4 UFC/mL. La spécificité de 60 à 70% est liée à des réactions immunologiques croisées avec certaines bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* (32).

2.5.4. Recherche d'antigènes urinaires

Au moins 80% des patients atteints de légionellose possèderaient des antigènes solubles des légionelles dans leurs urines dès l'apparition des symptômes (3-4 jours). Ces antigènes sont détectables par méthode immunoenzymatique (ELISA), radioimmunologique (RIA) (37) ou par agglutination (technique au latex) (31).

L'intérêt de ces méthodes, existant sous forme de kit, réside dans la rapidité de leur réalisation (réponse en 15 minutes) et dans la facilité d'exécution. Malheureusement, aucun test actuellement commercialisé ne permet de détecter tous les sérogroupes de *Legionella pneumophila* et toutes les espèces de légionelles.

C'est pourquoi la sensibilité est faible : 56% si on considère toutes les espèces de légionelles et 80% si l'on ne considère que *Legionella pneumophila* séro groupe 1. La spécificité est de 99% (32). La valeur prédictive positive, c'est-à-dire la probabilité d'être atteint de légionellose sachant que le test est positif, est de 86% et la valeur prédictive négative, c'est-à-dire la probabilité de ne pas être atteint sachant que le test est négatif, est de 95%.

2.5.5. Diagnostic sérologique

L'immunofluorescence indirecte (IFI) mise au point par Mac Dade (2) lors de l'épidémie de Philadelphie reste la méthode la plus utilisée bien que le diagnostic de la maladie soit alors tardif voire même rétrospectif. Les anticorps détectés par la réaction d'immunofluorescence indirecte sont en majorité dirigés contre le lipopolysaccharide (LPS) ou endotoxine de la membrane externe des légionelles. Ces anticorps apparaissent le plus souvent une semaine après le début de l'infection et le pic est atteint 3 à 4 semaines plus tard (31). Pour un titre élevé précoce, la sensibilité est faible (10%) mais pour une séroconversion, elle est de 75% et la spécificité de 95%. La sérologie permet le diagnostic de légionellose à distance de l'infection en surveillant l'évolution du titre en anticorps. La seule limite tient au délai d'apparition des anticorps, 1 à 3 semaines après le début de la maladie (37).

2.6. Détection par amplification génique

Cette méthode de détection rapide est encore au stade de développement et n'est pas actuellement utilisée en routine. Le principe repose sur l'amplification de l'acide désoxyribonucléique (ADN) d'une cellule de la légionelles par Polymerase Chain Reaction (PCR) à partir d'amorces puis détection par hybridation avec des sondes géniques.

2.7. Recherche des *Legionella* dans l'environnement

Les lieux de prélèvements seront choisis en tenant compte des arguments épidémiologiques, de la structure des réseaux d'eau et de l'identification de points critiques (38) :

- dans les réseaux d'eau chaude sanitaire : points de puisage, partie basse des ballons de stockage
- dans les réseaux d'eau froide si la température est anormalement élevée (supérieure à 25°C)
- au niveau d'installations de conditionnement d'air et de tours aéro-réfrigérantes

Le prélèvement consiste à recueillir 1 litre d'eau dans un flacon stérile contenant 20 mg/L de thiosulfate de sodium qui inhibe l'action germicide du biocide oxydant présent dans l'eau.

Plusieurs techniques de prélèvement peuvent être réalisées aux points d'usage :

- prélèvement sans flambage en prenant le premier jet de l'eau à température d'utilisation pour rechercher une contamination au point d'usage dans les conditions normales d'utilisation
- prélèvements après écoulement prolongé pour rechercher une contamination du réseau à l'amont du point d'usage
- prélèvement effectué par écouvillonnage du robinet ou de la pomme de douche pour étudier l'écologie au point de prélèvement.

Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire en moins de 48 heures avec un emballage réfrigéré en période d'été.

La recherche et la numération des légionelles dans l'eau sont effectuées selon la norme AFNOR NT 90-431 en cours de modification (39). Cette méthode normalisée permet l'obtention de résultats homogènes avec une sensibilité de 50 Unité Formant Colonie par Litre (UFC/L) suffisante au regard du risque sanitaire. Les résultats complets de recherche et de dénombrement sont en général disponibles en 10 à 14 jours.

L'enquête environnementale sera suivie de mesures envisagées de réduction du risque en cas de concentration trop élevée : fermeture des tours aéro-réfrigérantes, restriction d'activité ou d'usage de l'eau, mise hors service de locaux ou d'installation, nettoyage, désinfection, protocoles d'entretien et de surveillance.

2.8. Sensibilité aux antibiotiques et traitement

Legionella sp est une bactérie à développement intracellulaire obligatoire chez l'homme. L'efficacité du traitement sera donc obtenue avec des antibiotiques à forte concentration intracellulaire comme les macrolides, la rifampicine ou les fluoroquinolones.

Il existe une résistance naturelle aux bêta-lactamines en raison d'une production de bêta-lactamase par le germe.

L'érythromycine a été pendant longtemps l'antibiotique de référence pour le traitement de la légionellose (31). Il est remplacé aujourd'hui par l'utilisation d'autres macrolides comme la spiramycine (Rovamycine®) mieux tolérés. Ce traitement doit être institué le plus tôt possible, de préférence par voie intra-veineuse. La durée minimale de traitement est de 2 à 3 semaines. Une résistance acquise à ces antibiotiques n'a pas encore été rencontrée. Les macrolides étant des inducteurs des mono-oxygénases à cytochrome P450, on préférera utiliser les fluoroquinolones comme la ciprofloxacine chez les transplantés traités par ciclosporine (20).

3. FACTEURS FAVORISANT LA PRESENCE ET LA PROLIFERATION DES LEGIONELLES

La prolifération des légionelles semble être favorisée par une température comprise entre 25 et 45°C, les dépôts organiques et minéraux comme le tartre, la corrosion ou un biofilm (35), la stagnation de l'eau et la présence concomitante d'autres micro-organismes des milieux aquatiques comme les amibes libres puisque le développement des légionelles peut être intracellulaire chez les protozoaires (*Acanthamoeba* et *Naegleria* principalement) (14, 40, 41, 42, 43, 44).

3.1. L'eau

3.1.1. Les qualités microbiologiques

La qualité microbiologique de l'eau peut favoriser le développement de certaines bactéries comme les légionelles pour plusieurs raisons :

- L'écosystème constitué par le réseau de distribution de l'eau (température convenable, débit faible, biofilm à l'intérieur des canalisations) permet à une flore hydro-tellurique de se développer dans cet environnement particulier.
- La présence dans cette flore hydro-tellurique de micro-organismes tels que *Legionella* ou de tout autre micro-organisme peut être à l'origine de pathologies en cas de développement dans les réseaux et aux points d'usage si les conditions environnementales leur sont favorables (compétition entre espèces).

- La contamination d'origine fécale avec comme indicateurs *Escherichia coli* et les bactéries à métabolisme anaérobie sporulées sulfito-réductrices semble favoriser la présence de certains micro-organismes.
- La relation existant entre certains micro-organismes : il est admis que des légionelles se développent facilement dans certaines amibes libres et dans d'autres protozoaires qui peuvent les protéger d'agressions extérieures et favoriser leur multiplication.

3.1.2. Les qualités physico-chimiques

3.1.2.1 Température

La température semble être un des facteurs déterminants de la présence ou non de *Legionella* qui est une bactérie thermophile (30, 45) c'est-à-dire qu'elle se multiplie mieux à des températures voisines de 40°C bien qu'elle soit capable de survivre plusieurs mois aux températures basses.

La viabilité des légionelles est réduite à partir de 50°C. Ainsi, en condition expérimentale, le temps nécessaire pour abaisser de 1 logarithme une population de légionelles est de l'ordre de 20 minutes à 55°C, 6 minutes à 57,5°C et 2 minutes à 60°C.

La zone thermique comprise entre 20 et 50°C doit être réduite au maximum sur les réseaux collectifs d'eau chaude pour limiter leur présence. Les légionelles, comme les amibes libres, ont une température optimale de croissance de 37°C (46).

3.1.2.2 PH

Le pH de l'eau varie en fonction des différents constituants qui la composent et des différents traitements qu'elle subit.

Le pH de l'eau potable doit être compris entre 6,5 et 9 ce qui est favorable à la survie et à la multiplication de nombreux micro-organismes. Toutefois, aucune association directe entre le pH et la présence des légionelles n'a été démontrée.

3.1.2.3 Dureté et conductivité

3.1.2.3.1 Dureté

La dureté totale de l'eau ou titre hydrotimétrique correspond à la somme des concentrations exprimées en milliéquivalents par litre (mEq/l) en ions calcium (dureté calcique) et magnésium (dureté magnésienne) (47). Elle est aussi exprimée en degré Français (°F) : le degré Français représente la dureté d'une solution contenant 10 mg de carbonate de calcium (CaCO_3) par litre. Ainsi, 1 mEq/l = 5°F.

En ce qui concerne les eaux livrées à la consommation humaine et ayant subi un traitement d'adoucissement, la dureté totale ne doit pas être inférieure à 15°F (19).

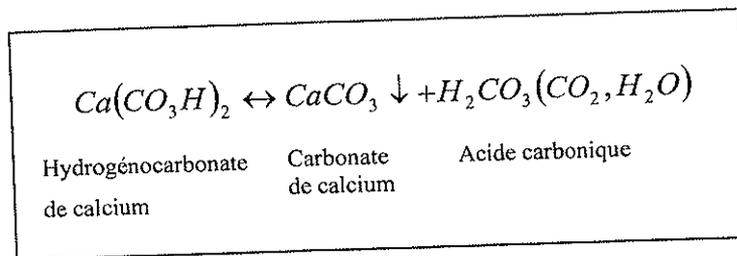
Cependant, une dureté élevée conduit à la formation de tartre (carbonate de calcium et de magnésium) sous l'effet de la chaleur. C'est pourquoi il est préconisé de réduire la dureté de l'eau par adoucissement et/ou d'inhiber la formation d'un dépôt par traitement chimique anti-tartre pour certaines installations techniques et pour certaines machines comme les autoclaves.

3.1.2.3.2 Conductivité

La conductivité est la mesure physico-chimique de la capacité de l'eau à transmettre le courant électrique. Elle correspond à la minéralisation totale de l'eau et est donc le signe de la présence d'ions dans l'eau. Elle se mesure en microSiemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$). La relation entre la minéralisation de l'eau et la présence de légionelles n'a pas été démontrée. Cependant, *Legionella* ne semble pas se rencontrer dans l'eau de mer.

3.1.2.3.3 Formation de tartre

Pour une teneur donnée en hydrogénocarbonates et carbonates de calcium et de magnésium, il existe dans l'eau une quantité nécessaire de CO_2 pour empêcher la décomposition et la précipitation des carbonates selon une réaction qui, à l'équilibre, est la suivante:



En cas de déficit en CO_2 , l'équilibre se déplace dans le sens d'une précipitation de carbonate de calcium et l'eau devient dure et entartrante. Ainsi, le chauffage de l'eau, entraînant un dégagement de CO_2 , favorisera le dépôt de tartre sur les canalisations.

A l'inverse, lors d'un adoucissement de l'eau, c'est-à-dire un échange des ions calcium et magnésium contre des ions sodium sur une résine échangeuse d'ions, l'excès de CO_2 dans l'eau rendra celle-ci plus agressive par formation d'acide carbonique, entraînant un risque de corrosion des canalisations dans les réseaux de distribution.

3.1.2.4 Le biofilm

Ces différentes propriétés de l'eau peuvent favoriser la formation d'un biofilm qui est un ensemble de micro-organismes vivants et morts, enrobés dans une matrice de polymères exo-cellulaires synthétisés par les bactéries et de particules organiques et minérales de l'eau. La présence de ce biofilm à la surface interne des matériaux constitutifs des canalisations est reconnue pour promouvoir les phénomènes de corrosion (17).

Le phénomène principal de formation d'un biofilm est lié aux possibilités des micro-organismes de s'adapter aux conditions de survie difficile (manque de nutriments, température, turbulence) qu'ils rencontrent dans les réseaux. Son apparition et son développement y sont favorisés pour plusieurs raisons (17) :

- les conditions d'écoulement de l'eau : les zones de stagnation, les bras morts et les zones de faible débit
- l'état des surfaces intérieures des canalisations et les matériaux qui les composent : la corrosion, les dépôts minéraux (tartre) et la rugosité du matériau (18)
- la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau : la température élevée favorisant le dépôt de tartre par précipitation des carbonates, la dureté, la concentration en carbonate organique dissous biodégradable et la saturation en oxygène

L'épaisseur du biofilm augmente avec l'âge de celui-ci et l'intégration d'autres micro-organismes (48). Son arrachage par le flux circulant permet aux micro-organismes de se retrouver en suspension dans l'eau et d'aller coloniser d'autres endroits du réseau.

L'existence du biofilm a donc plusieurs conséquences pratiques sur le réseau et l'eau distribuée :

- il protège efficacement les micro-organismes (bactéries, protozoaires) des conditions difficiles de survie comme la température élevée dans l'eau chaude sanitaire, le manque de nutriments et la présence de désinfectant
- il réduit l'activité des désinfectants oxydants comme le chlore qui est consommé par les matières organiques du biofilm et qui ne peut atteindre que

la couche superficielle du biofilm laissant indemnes les micro-organismes des couches profondes

- les variations brutales de pression et de débit, l'arrachage du biofilm par le flux circulant contribuent à la contamination de l'eau distribuée grâce au relargage massif des micro-organismes (18)

Ainsi, en protégeant les micro-organismes qu'il abrite, il constitue un écosystème à part entière, à la fois stable et difficile à éradiquer (Figure 2).

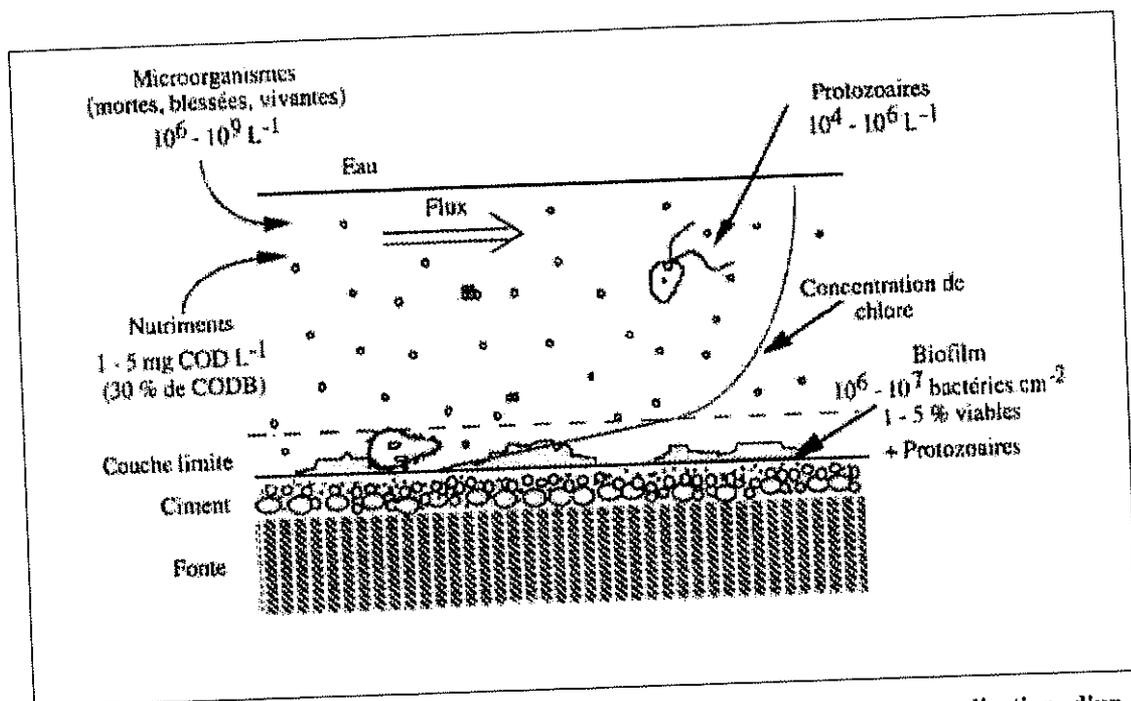


Figure 2: Représentation schématique d'une section longitudinale d'une canalisation d'un réseau de distribution d'eau potable montrant l'accumulation d'un biofilm et les caractéristiques moyennes de l'eau (17)

En définitive, le biofilm présent dans un réseau de distribution est un système dynamique dont une partie est constamment éliminée et constamment renouvelée.

3.2. Les amibes libres

Des modifications écologiques induites par l'homme dans l'habitat, à l'occasion de la préparation d'eau chaude sanitaire à partir d'eau de distribution publique, permettent la présence d'amibes libres et d'une flore bactérienne associée dans les réseaux. Un risque amibien direct par inhalation d'aérosol contaminé n'a pas été décrit. Par contre, un risque indirect de légionellose tient pour partie à la symbiose non spécifique entre amibes libres banales et *Legionella*. Cette association est de nature à assurer la pérennité de cette bactérie dans les réseaux d'eau chaude sanitaire si la température de l'eau n'est pas trop élevée.

Dans l'habitat, à l'hôpital et en piscine, cette symbiose est préoccupante et interroge sur des mesures de prévention primaire par désinfection, choc thermique et/ou filtration, cette dernière étant radicale face aux deux facteurs de risque, amibes libres et légionelles.

3.2.1. Différentes espèces d'amibes libres

Il existe dans l'environnement (eau, sols) des amibes dites "libres" car non parasitaires qui peuvent mener dans ces compartiments une existence autonome à des concentrations qui peuvent être élevées.

Parmi les nombreux genres et espèces recensés, le pouvoir pathogène du genre *Naegleria* a été démontré. Dans ce dernier, l'espèce *fowleri*, en quantité très faible dans l'environnement aquatique, est susceptible d'engendrer des méningo-encéphalites amibiennes primitives. La contamination peut s'effectuer par inhalation d'une eau contaminée au cours de baignades ou par exposition à un aérosol.

Quant à *Acanthamoeba sp*, plus fréquente dans notre environnement, elle est responsable de pathologies neurologiques et oculaires. L'encéphalite amibienne granulomateuse, conséquence clinique de l'infection par cette espèce d'amibes, surviendrait électivement chez des sujets fragilisés, contrairement à la méningo-

encéphalite amibienne primitive. La kératite amibienne est depuis longtemps associée au port de lentilles de contact, facteur de risque le plus important (42).

Naegleria fowleri peut exister sous trois formes: la forme végétative (appelée trophozoïte), la forme kystique et la forme flagellée n'existant pas chez *Acanthamoeba* (Annexe n°4: Morphologie de *Naegleria fowleri* et *Acanthamoeba sp*) (42).

La présence de ces formes particulières dépend des caractéristiques physiques du milieu (humidité, température, salinité). Dans des conditions difficiles de survie, les protozoaires sont sous la forme kystique extrêmement résistante.

3.2.2. Ecologie des amibes libres

Les amibes sont des protozoaires ubiquitaires des eaux douces et des sols humides (ruisseaux, mares et barrages réchauffés par le soleil et sources d'eau chaude naturelles) où la température entre 20 et 40°C est favorable à leur présence.

Naegleria sp, *Naegleria fowleri* et *Acanthamoeba sp* ont été isolées dans des sources thermales en Italie, Nouvelle-Zélande et Mexique. En 1998, Sibille a mis en évidence des protozoaires dans les eaux potables à des concentrations totales allant de 5.10^4 à 7.10^5 protozoaires par litre (49).

Elles sont aussi présentes dans les eaux artificielles réchauffées : lacs de refroidissement de centrales électriques, rejets d'eau chaude d'installation, piscines et eau chaude sanitaire.

D'après Pernin en 1981, *Naegleria fowleri* peut survivre à des températures élevées jusqu'à 44-45°C. De nombreuses études menées depuis les années 80 sur des eaux réchauffées (effluents de diverses installations industrielles y compris des centrales électriques) ont montré un lien évident entre une température élevée de l'eau (35-40°C) et une concentration plus importante en amibes libres (50). De Joncheere, en 1975, aboutit à la conclusion qu'une température des eaux supérieure ou égale à 20°C est une condition nécessaire mais non suffisante pour le développement de *Naegleria fowleri*.

Depuis, on a retrouvé la présence de *Naegleria fowleri* dans des piscines, dans des établissements thermaux, dans des sources d'eau chaude naturelle et des mares chauffées par le soleil, dans des eaux d'égouts et dans l'eau du robinet (42).

Leur présence est donc favorisée par des températures de l'eau plutôt chaudes mais aussi par la conductivité et la présence de bactéries leur servant de substrat.

Selon Tyndall, en 1989, les paramètres fortement corrélés à l'abondance des amibes thermophiles du genre *Naegleria* sont la température (supérieure à 26,5°C) et la conductivité. Sur le plan écologique et en absence de prédateurs ou compétiteurs, une température élevée de l'eau et la présence de nutriments (matières organiques) favorisent la multiplication de *Naegleria fowleri*.

Bien qu'elles soient associées négativement à la présence de chlore libre résiduel, elles sont beaucoup plus résistantes que les bactéries aux désinfectants utilisés dans les réseaux, notamment lorsqu'elles sont sous forme de kystes puisqu'elles peuvent alors résister à de fortes concentrations en chlore actif. *Legionella pneumophila*, protégée par un kyste d'*Acanthamoebae polyphaga*, peut survivre à des teneurs en chlore atteignant 50 mg/L (51).

Les amibes libres peuvent donc survivre à des conditions défavorables (températures plus basses, manque de matières organiques et de bactéries et présence de désinfectant) en s'enkystant. C'est pourquoi, dans les milieux naturels, leur recherche reste souvent négative en hiver lorsqu'elles hibernent dans les sédiments en profondeur puis réapparaissent au printemps dès que la température augmente. Ainsi, la présence d'amibes libres semblent être plus importante les mois les plus chauds c'est-à-dire de juin à octobre sous nos climats.

La présence d'*Acanthamoebae* dans l'air a également été rapportée plusieurs fois (Kingston et Warhurst 1969, Lawande et collaborateurs en 1983 et Rivera et collaborateurs en 1993) tant dans l'air extérieur qu'à l'intérieur d'un hôpital, à des concentrations de l'ordre de 10 à 20 kystes/m³.

3.2.3. Relation légionelles/amibes libres

Les conditions de survie des trophozoïtes d'amibes libres sont donc les mêmes que celles des légionelles mais grâce à leur forme kystique les amibes offrent à ces bactéries une protection temporaire et une survie possible.

Legionella pneumophila peut infecter et se multiplier dans les amibes du genre *Acanthamoeba* (40, 41, 50), *Naegleria*, *Hartmanella* ainsi que dans des protozoaires ciliés du genre *Tetrahymena*. Contrairement aux autres espèces de *Legionella*, la faible spécificité d'hôte de *Legionella pneumophila* pourrait rendre compte de sa plus grande fréquence dans les infections humaines. Ces protozoaires jouent alors le rôle de réservoir permettant aux bactéries de traverser la chaîne de traitement de l'eau et, ainsi protégées, coloniser le réseau. Les légionelles, une fois phagocytées par les amibes, vont survivre et se multiplier à l'intérieur des protozoaires de la même façon qu'elles le font dans les macrophages humains. Elles se retrouvent enfermées dans une vacuole de phagocytose qui ne fusionne pas avec les lysosomes et après 36 à 48 heures d'infection, la vacuole de phagocytose, contenant environ 10^4 bactéries, emplit la quasi totalité de la cellule hôte (40, 41).

La pénétration et le développement des légionelles dans les amibes libres leur permettent ainsi de survivre dans des conditions très défavorables et d'ensemencer le milieu après lyse des cellules amibiennes (50). Les légionelles et les trophozoïtes d'amibes sont sensibles à des teneurs en chlore de 1 à 2 partie par millions (ppm) c'est-à-dire des teneurs rencontrées dans les réseaux d'eau lors de leur désinfection (19).

Les amibes libres semblent donc jouer un rôle majeur dans ce problème de santé publique, ce qui expliquerait entre autre la difficulté que nous avons à éradiquer définitivement les réseaux d'eau de ces bactéries.

3.3. Les réservoirs de *Legionella*

Les légionelles, dont le réservoir est principalement hydrique, sont présentes à l'état naturel dans les eaux douces (lacs et rivières) et les sols humides (35, 37). Les milieux hydriques naturels sont très rarement à l'origine de maladie, à la différence des eaux domestiques qui constituent des sites de prolifération et de dissémination (31). A partir du milieu naturel, la bactérie colonise des sites hydriques artificiels lorsque les conditions de son développement sont réunies. Sa prolifération peut ainsi être favorisée par les conditions présentes dans différentes installations dites "à risque" telles que les réseaux d'eau chaude, les circuits des tours aéro-réfrigérantes et les bains à bulles.

3.3.1. Les réservoirs naturels

Les légionelles sont des bactéries hydrotelluriques, ubiquitaires de notre environnement. Elles sont présentes dans toutes les eaux douces telles que les lacs, les étangs et les rivières.

Dans ces eaux, les légionelles sont retrouvées à des températures variant de 0 à 60°C. Paradoxalement, les légionelles, qui sont des germes exigeants, ont une présence très vaste dans notre environnement. Un tel contraste est en accord avec l'hypothèse selon laquelle ces bactéries ne seraient pas libres dans le milieu naturel mais hébergées par d'autres organismes comme les amibes libres vivant dans les mêmes habitats aquatiques (15, 52).

3.3.2. Les réservoirs artificiels

On cherche à les détecter car ils constituent une importante source de contamination pour l'homme. Ils sont essentiellement représentés par les circuits de distribution d'eau potable (53, 54, 55, 56) et plus particulièrement les circuits de

production d'eau chaude sanitaire (30, 45, 51, 57) et les systèmes de climatisation et de conditionnement d'air (tours de ruissellement). Les bains à bulles et les saunas ont été incriminés de façon plus ponctuelle. Dans tous ces systèmes, l'élément commun majeur est la présence d'un espace d'eau stagnante avec une température de l'eau plutôt chaude (entre 35 et 45°C).

3.3.2.1 Les réseaux d'eau chaude sanitaire

Dans un établissement de santé, ces réseaux sont souvent très complexes de part leur taille et les différentes structures qu'ils alimentent (Annexe 5: schéma général d'un réseau d'un établissement de santé) (58). Cette complexité, associée à des températures élevées de l'eau, font de ces réseaux un écosystème favorable à la présence et à la multiplication des légionelles.

Ces bactéries colonisent fréquemment les parties basses des ballons d'eau chaude où règnent des températures plus favorables à leur développement.

Les plus fortes concentrations en *Legionella* sont retrouvées lorsqu'existe de l'eau stagnante dans les bras morts des tuyauteries (59) ou dans un circuit d'eau chaude en boucle avec une température inférieure à 50°C, ce qui est surtout le cas pour certaines installations collectives. On observe habituellement une augmentation de cette concentration après des travaux de plomberie sur le réseau. Les portions non utilisées de réseau, chambres inoccupées par exemple, ont des concentrations plus élevées de légionelles en l'absence de purges régulières.

Le rôle de certains matériaux et des substances chimiques ont été étudiés : le fer et le zinc même à basse concentration favoriseraient leur développement (60). Parmi les matériaux utilisés dans les réseaux de distribution, la colonisation est moindre pour le cuivre et plus importante lors de l'utilisation de certains caoutchoucs synthétiques et du chlorure de polyvinyle (44).

D'autres études ont mis en avant le rôle des robinets avec brise-jet (59), des flexibles et des pommes de douches connus comme sites favorables de multiplication

des légionelles dans un réseau (6, 8, 51, 61) du fait d'une petite quantité d'eau stagnante et de l'entartrage qu'ils génèrent fréquemment. Par ailleurs, les aérosols qu'ils forment sont suffisamment petits pour atteindre les alvéoles pulmonaires.

3.3.2.2 Les systèmes de traitement de l'air et les tours aéro-réfrigérantes

Ce sont les premiers équipements mis en cause dans la multiplication ou le transport de ces bactéries. Les circuits chauds industriels ou les groupes frigorifiques, utilisés en climatisation, en froid industriel ou commercial, sont des milieux favorables au développement des légionelles compte tenu de la température de l'eau et du contact entre l'air et l'eau dans ces installations.

Les tours aéro-réfrigérantes, situées à l'extérieur des bâtiments, sont des systèmes de refroidissement de ces circuits chauds. Elles évacuent la chaleur vers l'extérieur en pulvérisant l'eau en fines gouttelettes dans un flux d'air circulant à contre-courant grâce à un ventilateur. Cette circulation forcée de l'air, qui intensifie les transferts de chaleur entre les deux fluides, provoque l'entraînement d'un aérosol de gouttelettes appelé panache. Ainsi, les légionelles peuvent coloniser les tours aéro-réfrigérantes puis être véhiculées dans l'air extérieur par le panache qui s'en échappe.

Chacun peut ainsi être exposé à un aérosol potentiellement infectieux, soit directement par voisinage, soit indirectement par un système de traitement d'air dont la prise d'air neuf serait proche d'une tour. Les types de tours aéro-réfrigérantes les plus à risque sont ceux à système ouvert où le flux d'air chaud ascendant entraîne avec lui des microgouttes potentiellement infectieuses. De tels systèmes sont encore très répandus en France (Figure 3).

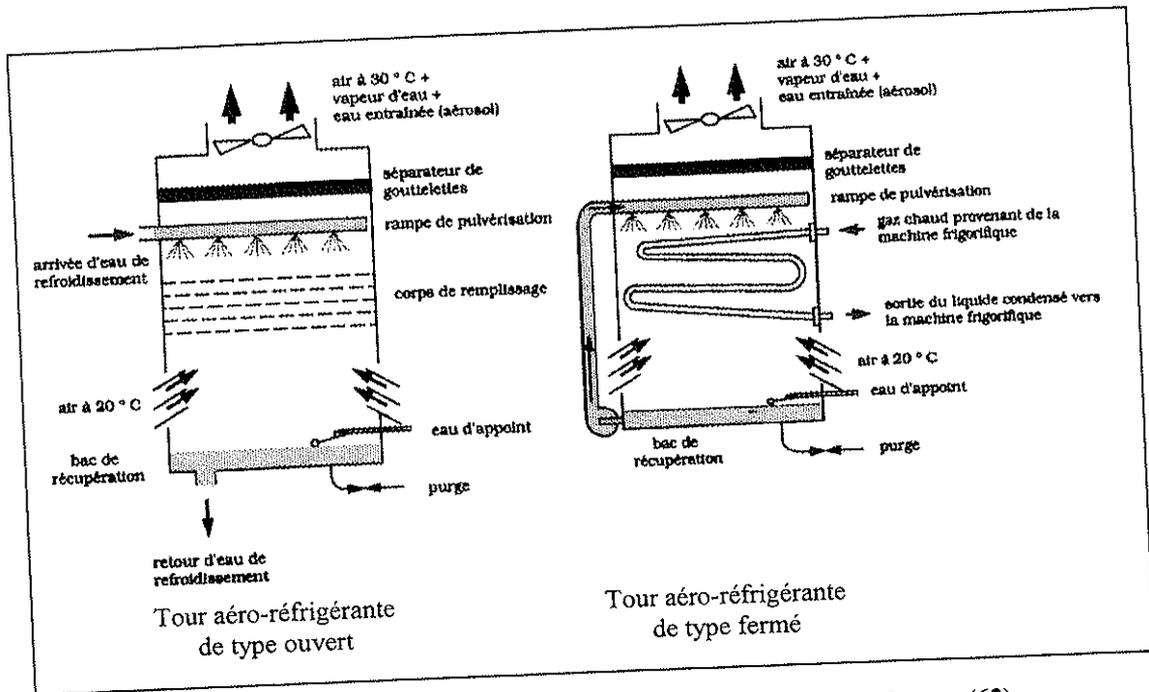


Figure 3: Les deux principaux types de tour aéro-réfrigérante utilisés en France (62)

UNE HISTOIRE REGLEMENTAIRE
DE 25 ANS

Ce cadre réglementaire, tissé depuis 25 ans, régit le contrôle de la sécurité sanitaire au travers :

➤ de décrets et d'arrêtés opposables (ils s'imposent aux établissements de santé publics et privés)

➤ de circulaires précisant l'interprétation correcte de ces textes ou explicitant les procédures administratives utiles à leur application et n'apportant pas d'obligations supplémentaires et n'ayant donc pas de valeur juridique en tant que telle

➤ de recommandations ou de guides de bonnes pratiques annexés à ces circulaires qui n'ont pas de force obligatoire; cependant ils lient les agents publics chargés du contrôle et de l'inspection qui doivent s'y référer pour apprécier les situations qu'ils sont amenés à constater.

Nous verrons donc comment, au fil du temps et des connaissances acquises, la réglementation a évolué pour renforcer la maîtrise de la qualité dans le domaine de l'eau afin de réduire le risque de légionelloses dans les établissements de santé.

1. LES EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE

L'eau est un élément indispensable au fonctionnement d'un établissement de soins. Pour chaque malade, l'hôpital consomme en moyenne 1000 litres d'eau par lit et par jour, soit autant que quatre individus dans la vie courante. Cette utilisation n'est pas sans risque car la présence des malades à haut risque infectieux (immunodéprimés, brûlés, prématurés, greffés et aplasiques) et la présence d'une flore microbienne dont l'eau est le vecteur représentent un risque potentiel.

Ainsi, maîtriser la qualité microbiologique de l'eau est un enjeu important pour tout établissement de santé.

1.1. Eau froide sanitaire

Toutes les eaux entrées et distribuées dans un établissement relèvent de la responsabilité du directeur de l'établissement. Celui-ci doit en effet garantir et vérifier sa qualité et notamment sa potabilité dans les différents locaux.

➤ Comme le précise l'article L.1321-1 du code de la santé publique (63) : *"...quiconque offre au public de l'eau en vue de l'alimentation humaine, à titre onéreux ou à titre gratuit et sous quelque forme que ce soit, y compris la glace alimentaire, est tenu de s'assurer que cette eau est propre à la consommation"*.

➤ Dès 1975, la circulaire DGS/DH n°429 du 8 avril 1975 relative aux problèmes d'hygiène publique dans les établissements hospitaliers porte un intérêt aux problèmes d'hygiène publique liés à l'alimentation en eau et notamment sur la qualité de potabilité de l'eau au compteur ainsi que sur la recherche de germes hospitaliers : *"le gestionnaire de l'établissement hospitalier est tenu de s'assurer que l'eau d'alimentation à l'arrivée à l'établissement est potable, en faisant procéder à des analyses régulières ainsi que l'exigent l'article L.19 (L.1321-1) du code de la santé publique (...). D'autre part, l'eau d'alimentation distribuée aux malades doit faire l'objet à la diligence de l'administration hospitalière de contrôles périodiques. Ces analyses doivent être complétées par la recherche des germes de l'hospitalisme."* (64).

Les règles qui régissent la qualité de l'eau à l'hôpital sont bâties sur des outils réglementaires et juridiques : la qualité de l'eau destinée à la consommation humaine est un facteur essentiel de santé publique. Il est donc indispensable que l'eau livrée à la consommation ait des caractéristiques qui ne présentent aucun danger pour la santé. Ces obligations s'appuient actuellement sur des recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) reprises par des directives européennes transcrites dans le droit national par chaque état membre.

➤ Le décret 89-3 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles, modifié par les décrets 90-330 du 10 avril 1990, 91-257 du 7 mars 1991, 95-365 du 5 avril 1995 et 99-242 du 26 mars 1999 précise "les limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine" et définit dans son article 2 de la section I qu' "au lieu de leur mise à disposition de l'utilisateur, les eaux destinées à la consommation humaine doivent satisfaire aux exigences de qualité"(19). Pour être potable, l'eau doit donc répondre à certaines exigences:

- qualité organoleptique concernant la couleur, l'odeur et la saveur
- qualité physico-chimique concernant la température (inférieure à 25°C), le pH (entre 6,5 et 9), les concentrations maximales admissibles définies pour les substances en relation avec la structure naturelle de l'eau et pour les substances indésirables et toxiques
- qualité microbiologique concernant les numérations maximales admissibles impératives des germes pathogènes (salmonelles, staphylocoques pathogènes, *Pseudomonas aeruginosa*, entérovirus) et non pathogènes servant d'indicateurs (coliformes thermotolérants, streptocoques fécaux et spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices) et concernant des valeurs-guides pour les bactéries aérobies revivifiables.

De même, quelques exigences techniques sont signalées:

- les matériaux en contact avec l'eau et utilisés dans les systèmes de production ou de distribution d'eau (article 7) ne doivent pas être susceptibles d'altérer la qualité de l'eau
- concernant l'entretien des réseaux intérieurs, les installations de distribution doivent "pouvoir être entièrement nettoyées, rincées, vidangées et désinfectées."

Enfin, dans l'article 8, un programme d'analyse des échantillons d'eau est défini: "la vérification de la qualité de l'eau est assurée, conformément au programme d'analyse d'échantillons" et il fixe le type d'analyse et la fréquence d'échantillonnage (19).

➤ Ce décret a été complété le 31 juillet 1991 par une circulaire relative aux eaux destinées à la consommation humaine (65) apportant des précisions, entre autre, lors d'une désinfection par le chlore. "En distribution, en fonctionnement normal, la teneur ne devrait pas dépasser 0,1 mg/l en chlore résiduel. (...) la fréquence d'analyse peut être augmentée lorsque cette valeur est dépassée. Pour que la désinfection au chlore soit efficace, (...) il est nécessaire qu'après une durée de contact de l'ordre de quinze minutes, le chlore libre résiduel soit compris entre 0,2 et 0,5 mg/l."

Pour cela, l'établissement doit mettre en place un système de surveillance de la qualité de l'eau qu'il distribue afin de détecter tout écart à la potabilité, notamment en matière de pollution microbiologique.

➤ Le Ministère de la Santé pose pour la première fois, par le biais de la circulaire du 30 mai 1997 relative à la microbiologie des eaux destinées à la consommation humaine (66), le problème de la présence de parasites dans les eaux destinées à la consommation humaine. Cette circulaire rappelle notamment qu'un lien entre turbidité et parasites existe mais qu'il n'existe pas, à ce jour, d'exigence de qualité pour la turbidité à la sortie des installations de traitement. En attendant une modification du décret 89-3 (19), "il est souhaitable que les exploitants des installations de traitement de l'eau soient particulièrement vigilants au suivi de la mesure de turbidité et qu'ils recherchent les facteurs explicatifs de turbidité supérieure à 0,5 NTU (Néphélométric Turbidity Unity)". Ceci a été d'ailleurs repris dans la directive européenne du 3 novembre 1998.

1.2. Eau chaude sanitaire

L'eau chaude sanitaire est produite par accumulation, semi-accumulation ou par production instantanée, à partir de l'eau du réseau d'eau froide de l'établissement. Elle est utilisée pour l'entretien et le nettoyage des locaux hospitaliers, l'hygiène du personnel et la toilette des patients.

➤ Elle doit répondre aux critères de potabilité définis dans le décret 89-3 à quelques exceptions près du fait des traitements qu'elle peut subir. En effet pour lutter contre l'entartrage et la corrosion, divers traitements sont autorisés. Ils sont à base de polyphosphates, de silicates, de zinc et sont parfois associés à des électrodes d'aluminium et de magnésium qui peuvent influencer sur la qualité de l'eau chaude sanitaire (Annexe 6: Exigences de la qualité physico-chimique de l'eau chaude sanitaire traitée) (58):

- la température peut être bien sûr supérieure à 25°C
- les concentrations supérieures en aluminium (0,5 mg/L), en silicates (10 mg/L) et en phosphates (5 mg/L) dues aux adoucissements des eaux chaudes sanitaires sont tolérées.

➤ Suite à la survenue d'accidents graves par brûlures occasionnées par une température trop élevée de l'eau chaude sanitaire et signalée par les circulaires n°420-TG3 du 28 mai 1974 et n°538-TG3 du 3 juillet 1974 relatives à la prévention des accidents de brûlures survenus dans les établissements d'hospitalisation publics, un arrêté d'application de la partie réglementaire du Code de la construction (Titre III) paraît le 23 juin 1978. Dans son article 36, il fixe une limitation de la température des eaux chaudes sanitaires à 60°C : *"La température de l'eau chaude sanitaire ne doit pas dépasser 60°C au point de puisage. Le cas échéant, à cet effet, un moyen de réglage doit être à la disposition de l'utilisateur"*.

Une directive européenne du 3 novembre 1998 est en cours de transposition en droit français et sera suivie d'une modification du décret 89-3. Les mesures accompagnant ce nouveau texte devraient porter, entre autres, sur les concentrations maximales admissibles en métaux (plomb, nickel, arsenic) et sur la responsabilité du propriétaire du bâtiment au regard de la qualité de l'eau non plus au compteur mais au point d'usage.

2. SURVEILLANCE ET PREVENTION DE LA LEGIONELLOSE

2.1. Déclaration et surveillance des légionelloses

Afin de détecter les cas groupés, d'orienter les mesures de prévention et d'estimer l'incidence de cette maladie, la surveillance de la légionellose est mise en place dès 1987 par le biais de la déclaration obligatoire.

➤ Le décret n°87-1012 du 11 décembre 1987 (22) en ajoutant à la liste des maladies à déclaration obligatoire la légionellose (Annexe n°7: Liste des maladies à déclaration obligatoire) incite à *"mieux surveiller les contaminations humaines par les systèmes de climatisation et les tours de refroidissement pour lesquelles il existe des mesures efficaces d'intervention"*. On cherche désormais à suivre l'évolution de l'incidence de la légionellose, à détecter les cas groupés et à orienter les mesures de prévention.

Pour mieux répondre aux interventions lors de survenue de cas groupés engendrés par cette nouvelle modalité de surveillance, une mise à jour des connaissances des médecins inspecteurs et des ingénieurs sanitaires est apparue nécessaire tout comme la mise en place de protocoles d'intervention.

➤ Dans cette optique, la circulaire DGS/PGE/1C n°238 du 28 mars 1989 relative à la listériose et à la légionellose fait une mise au point des connaissances sur la légionellose et décrit les grandes lignes de l'investigation des cas groupés et les principes de prévention des légionelloses (67).

Devant tout cas de légionellose, une étude descriptive du cas et de son entourage et la recherche de *Legionella* dans l'environnement sont demandées.

Des mesures de prévention sont préconisées en ce qui concerne les tours de ruissellement et les systèmes de distribution d'eau en rappelant les recommandations

de l'OMS (chloration du réseau et élévation de la température de l'eau à 50°C aux points d'usage).

Enfin, elle rappelle les principales missions du Centre National de Référence (CNR) créé en 1980 et basé à Lyon:

- diagnostic bactériologique et sérologique des légionelles
- identification complète des souches de *Legionella* pour confirmation et complément de caractérisation
- identification épidémiologique des souches par les marqueurs appropriés
- conduite et/ou coordination d'enquêtes sur le terrain, en liaison avec les DDASS
- entretien d'une collection bactérienne et d'une sérothèque
- enseignement: stages de formation pratique.

Au cours d'investigations menées sur une vingtaine de foyers de cas groupés depuis 1987, il est apparu que la circulaire de 1989 nécessitait d'être détaillée et complétée (38).

En 1995, un groupe de travail, coordonné par la Direction Générale de la Santé et le Réseau National de Santé Publique, aujourd'hui Institut de Veille Sanitaire (InVS), montre une sous-déclaration majeure de la légionellose (90% de cas ne sont pas déclarés) ne permettant pas d'obtenir des informations fiables sur la situation épidémiologique de cette maladie. La définition de cas semble obsolète face aux nouvelles méthodes de diagnostic et la fiche de déclaration est mal adaptée pour valider les cas déclarés.

➤ Devant ces problèmes, des mesures ont été prises et sont exposées dans la circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997 relative à la surveillance et à la prévention de la légionellose. Elle définit l'organisation de la surveillance de la légionellose, l'intervention lors de la déclaration d'un cas et la prévention en l'absence de cas

- Une nouvelle fiche de déclaration des cas de légionelloses est réalisée (Annexe n°2: Fiche de déclaration d'un cas de légionellose); les sources d'information sont diversifiées afin d'améliorer le signalement des cas et un véritable réseau de surveillance est mis en place intégrant à la fois les Comités de Lutte contre les Infections Nosocomiales, le Centre National de Référence et les Directions Départementales des Affaires Sanitaires et Sociales (Annexe n°1: Réseau de surveillance de la légionellose en France).

- Enfin, au réseau national s'ajoute un réseau européen de surveillance coordonné par le centre anglais de surveillance des maladies transmissibles (CDSC): le European Working Group for Legionellosis Infection (EWGLI) regroupant alors 22 pays. Il permet de surveiller les légionelloses acquises lors de voyage.

- On distingue différentes interventions en fonction du contexte : hôpital et station thermale (personnes à risque), hôtels, camping, lieu de travail et domicile: *"une véritable expertise des systèmes de production d'eau chaude est demandée lors de la survenue de cas groupés dans les établissements recevant des personnes à risques"*.

- Concernant la prévention primaire, il n'existe pas de réglementation sur les sources habituelles de contamination que sont les réseaux d'eau chaude sanitaire et les tours aéro-réfrigérantes (38).

Un guide complet et détaillé joint à cette circulaire définit les démarches à suivre lors d'une investigation d'un ou plusieurs cas de légionellose et donne les étapes d'une enquête environnementale et les mesures d'entretien du réseau qui doivent être prises (38).

2.2. Les légionelloses nosocomiales

Par décision du conseil d'état du 30 juillet 1997 (Article L.3113-1 du Code de la Santé Publique) (63), la transmission de données individuelles à l'autorité sanitaire devient obligatoire pour certaines maladies, dont la légionellose, définies par avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique.

Dans le décret n°99-362 du 6 mai 1999 (Art.R11-2 et R11-3 du Code de la Santé Publique) (63), apparaît pour la première fois la notion de notification et de signalement à l'autorité sanitaire des cas de maladies, dont la légionellose, inscrites sur la liste des maladies devant faire l'objet d'une transmission obligatoire de données individuelles (Art.D11-1) (63) et sur la liste des maladies devant être signalées sans délai (Art.D11-2) (63). Les modalités de transmission à l'autorité sanitaire de données individuelles sont précisées par le décret n°2001-437 du 16 mai 2001.

Enfin, le principe et les modalités de signalement sont définies dans le décret n°2001-671 du 26 juillet 2001 (Art.L.6111-4 et Art.R.711-1-11 à R.711-1-14) (63) et la circulaire du 30 juillet 2001. Les recommandations portent sur les objectifs du signalement, l'information des patients, le circuit d'information et l'évaluation du dispositif. Le signalement constitue un dispositif complémentaire des enquêtes épidémiologiques et de surveillance. Il est réalisé à l'aide d'une fiche de signalement (Annexe n°8: Fiche de signalement d'une infection nosocomiale). Il ne remplace pas la notification et le signalement des maladies à déclaration obligatoire fixé par le décret 99-362 du 6 mai 1999.

Depuis le 6 mai 1988 (68), la lutte contre les infections nosocomiales s'organise dans les établissements de santé au sein du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN). En 1995 (69) dans le cadre du plan gouvernemental de lutte contre les infections nosocomiales présenté le 3 novembre 1994, les objectifs et les missions du CLIN sont définis. Selon le décret n°99-1034 du 6 décembre 1999 (Art.R.711-1-1 du Code de la Santé Publique) (63) et la circulaire n°645 du 29 décembre 2000 relative à l'organisation de la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé, la surveillance des

infections nosocomiales doit être assurée et "*les infections suspectes d'être directement causées par une source environnementale (eau, air, alimentation, par exemple: légionellose)*" doivent faire l'objet d'une alerte.

Lorsque l'origine de l'infection inscrite sur la liste des maladies à signalement ou notification obligatoire (Annexe n°7: Liste des maladies à déclaration obligatoire) est suspectée d'être nosocomiale, le décret instaurant un signalement des infections nosocomiales impose en outre que le praticien de l'équipe opérationnelle d'hygiène soit informé.

3. L'EAU ET LES LEGIONELLES

Grâce à de nombreux travaux dans les années 80 (40, 41, 45, 54, 55, 60, 61), on sait que la contamination par les légionelles se fait par inhalation d'aérosols et le lien entre qualité de l'eau et présence de légionelles dans les réseaux est maintenant établi. Des lieux d'exposition particulièrement à risque sont les établissements thermaux où les aérosols sont fréquents et où la population hébergée est souvent fragilisée (personnes âgées, sujets atteints de maladies chroniques, brûlés...). C'est pourquoi, dès 1989, après le recensement de plusieurs épidémies, des mesures ont été prises pour limiter le risque de légionelloses dans ces établissements puis dans les établissements de santé et les établissements recevant du public en 1998.

3.1. Les établissements thermaux

Depuis l'inscription de la légionellose à la liste des maladies à déclaration obligatoire en 1987, les cinq premières années de déclaration obligatoire ont permis de recenser une centaine de cas dont l'origine était surtout thermale. En 1989, une épidémie déclarée à Gréoux-les-Bains, station thermale des Alpes de Haute

Provence, recensait 37 cas dont 2 décès. Les aérosols en grande quantité dans le vaporarium ont été rapidement incriminés comme source de légionelles et il devenait alors urgent de prendre des mesures vis-à-vis de ces établissements à risque, l'arrêté et la circulaire de 1989 n'apportant pas suffisamment de précisions quant à ce type d'établissements.

L'eau minérale naturelle est assimilable à un principe thérapeutique dans les établissements thermaux où les pratiques induisent la formation d'aérosols en grande quantité auxquels les curistes et le personnel peuvent être exposés de manière prolongée.

➤ Du fait de l'évolution des informations sur la qualité de l'eau dans ces établissements, de l'amélioration des connaissances concernant ces installations et puisque ces établissements sont un lieu d'exposition particulièrement à risque, un arrêté et une circulaire relatifs à la qualité des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux sont parus dès 1992 (70) abrogeant ceux de 1989.

Ils fixaient à 10^2 UFC/L la valeur de référence à partir de laquelle un suivi attentif s'imposait et à 10^3 UFC/L celle à partir de laquelle des mesures de lutte et de prévention étaient déclenchées sur les lieux de production d'aérosols.

En raison du mode de contamination par *Legionella*, ils demandaient à ce que soit assurée prioritairement la qualité des eaux alimentant les aérosols.

Cette circulaire était contemporaine d'un guide des 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales en juin 1992 (repris en 1999). Un guide de bonnes pratiques sanitaires dans les établissements thermaux est également paru en juin 1995. L'objectif de ces guides était d'aider les personnes responsables de réseaux à mettre en place les mesures souhaitées par la réglementation. Il y est signalé que *"les risques associés à la contamination de tout ou partie du réseau par les légionelles seront évalués, notamment au niveau de distribution de l'eau chaude"* (71).

Plusieurs incidents survenus dans des établissements thermaux, le bilan des contrôles réglementaires révélant dans certains endroits une situation préoccupante au plan de la qualité microbiologique de l'eau, l'évolution des connaissances scientifiques et les nouvelles exigences en matière de sécurité sanitaire ont amené les instances sanitaires à actualiser les dispositions de la circulaire de 1992 relative à la qualité des eaux dans les établissements thermaux.

➤ Ainsi, la circulaire DGS/VS4 n°2000-336 et l'arrêté du 19/06/2000 donnent des précisions sur les germes à prendre en compte, sur les critères de qualité de l'eau à la source et aux points d'usage, sur les plans de surveillance et la périodicité des contrôles de la qualité de l'eau, sur le type de traitement et les règles de maintenance à appliquer en fonction de la nature des matériaux des canalisations (72).

La présence de légionelles dans un établissement thermal n'est plus admissible en raison :

- de leur caractère pathogène responsable de pneumopathies
- de la gravité de la maladie qu'elles provoquent, voire de la létalité rencontrée dans certains cas
- des particularités de la population fréquentant ce type d'établissement (personnes fragilisées)
- de la capacité des légionelles à se multiplier en milieu chaud et humide, ce qui est généralement le cas dans les établissements thermaux
- de la nature des pratiques thermales favorisant la création d'aérosols, vecteurs de contact avec les muqueuses
- de la difficulté à éliminer cette bactérie lorsqu'elle colonise des réseaux ou d'autres installations.

Selon l'arrêté, les prélèvements en vue des analyses de surveillance pour les établissements thermaux sont à effectuer à l'émergence et aux points d'usage, à une fréquence variant selon la durée d'ouverture de l'établissement. Pour les points d'émergence et les points d'usage, la norme correspond à un seuil inférieur à 50 UFC/L (seuil de détection de la méthode normalisée) (39).

Enfin la circulaire fait état des "*amibes libres revivifiables à 30°C dans les eaux bien que non directement pathogènes pour l'homme, (qui) ne devraient pas être présentes en raison de la capacité de ces amibes à jouer le rôle de vecteur des légionelles*" et souhaite aussi qu'une recherche des entérovirus dans les eaux thermales soit envisagée.

Après avoir fixé la réglementation pour les établissements thermaux, il a fallu élargir ces mesures et ces recommandations aux autres établissements à risque: établissements de santé et établissements recevant du public (hôtels, camping et immeubles du secteur tertiaire).

3.2. Les établissements de santé et ceux recevant du public

Comme le signalait déjà la circulaire de 1989 relative à la listériose et à la légionellose (67), "*Il n'existe actuellement aucune norme sur une concentration minimale admissible de Legionella dans les réseaux d'eau de distribution d'eau. Il apparaît actuellement qu'en dessous d'une concentration de 1000 UFC/l, le risque d'apparition de cas de légionellose est très faible voire nul. En fait, le risque varie en fonction de l'état immunitaire des personnes exposées et de la densité de la durée d'exposition aux aérosols contaminés.*"

La survenue en 1997 et 1998 de plusieurs épisodes de cas groupés de légionellose communautaire ou nosocomiale démontre à l'évidence que les recommandations datant de 1989 sont insuffisamment connues par les responsables des établissements concernés.

➤ D'après la circulaire DGS n°98/771 du 31 décembre 1998: "*Une contamination même faible (au niveau du seuil de détection par exemple) par des légionelles aux points d'usage peut constituer un danger sanitaire, particulièrement pour les sujets présentant des facteurs de risque(...)*". Elle précise les préconisations concernant la gestion du risque de prolifération des légionelles dans les réseaux et les systèmes de traitement d'eau. Elle encourage la réalisation d'inventaires des installations à risque et la diffusion des conseils d'entretien de ces installations (73).

Il est demandé, à l'article 2, la mise en œuvre de "*la surveillance de la contamination des réseaux par la recherche de légionelles sur des prélèvements effectués dans les réservoirs, ballons de stockage, installations à risque ainsi qu'aux points d'usage. La périodicité et le choix des sites de prélèvements ne peuvent être définis une fois pour toutes. Ils dépendent en effet des résultats observés, de l'usage qui est fait des installations, de la manière dont les patients risquent d'être exposés et des facteurs de risque de ces patients, ainsi que des difficultés éventuellement rencontrées pour traiter les épisodes de contamination. Ces prélèvements doivent être effectués au moins une fois par an dans tous les réservoirs, ballons d'eau et installations à risque, ainsi qu'au niveau de 2 points d'usage par tranche de 100 lits (et au minimum 10 points d'usage pour les établissements de moins de 500 lits).*"

Concernant les établissements recevant du public et les installations à risque, il est recommandé d'évaluer au moins une fois par an la présence de légionelles et plus souvent en cas de contrôles positifs (73).

Afin d'apporter des précisions sur les seuils minimum admissibles de *Legionella* dans les réseaux des établissements de santé en distinguant les sujets "à risque" des autres, une nouvelle circulaire devrait paraître prochainement.

3.3. Les tours aéro-réfrigérantes

Ces installations particulièrement à risque, ont été incriminées comme source de légionelles dès les premières épidémies. Pour les tours aéro-réfrigérantes les plus puissantes (puissance supérieure à 50 kWatts), leur activité libérant des panaches en font des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) soumises à une réglementation spécifique.

➤ La circulaire du 23 avril 1999 et l'arrêté préfectoral de Paris du 27 avril 1999 ont pour champ d'application les "*installations de réfrigération ou compression relevant de la nomenclature des installations classées pour la Protection de l'Environnement et disposant d'un système de refroidissement dont l'évacuation de la chaleur vers l'extérieur se fait par pulvérisation d'eau dans un flux d'air (tour aéro-réfrigérante, condenseur évaporatif)*". (74, 75)

Au travers de ces textes, il s'agit de répondre à deux objectifs:

- éviter la propagation dans l'environnement d'aérosols pouvant présenter un risque microbien (*Legionella* notamment)
- veiller à ce que les circuits d'eau ne soient pas propices à la prolifération de *Legionella*.

L'entretien et la maintenance de ces installations sont alors définies et des prélèvements et analyses microbiologiques sont demandés avec une définition du seuil de concentration en légionelles détectées :

- arrêt immédiat des systèmes de refroidissement si des concentrations en légionelles supérieures ou égales à 10^5 UFC par litre sont détectées
- mesures nécessaires à prendre si des concentrations en légionelles supérieures ou égales à 10^3 UFC par litre mais inférieures à 10^5 UFC par litre sont détectées.

Enfin des mesures de conception, d'implantation de nouveaux systèmes et de maintenance des installations sont données dans le guide "*Legionella* et tours aéro-réfrigérantes" de juin 2001 (76).

**ETUDE MENE E SUR DIFFERENTS
ETABLISSEMENTS DE SANTE
DE LA REGION SUD-OUEST**

Dans un tel contexte, il nous paraissait intéressant de mener une investigation sur des échantillons d'eau chaude sanitaire dans différents établissements de santé de la région Sud-Ouest afin d'étudier la variabilité physique, chimique et microbiologique de la qualité de l'eau des réseaux des établissements de santé et montrer que cette qualité pouvait conditionner la prolifération des légionelles à l'intérieur de ces réseaux.

Cette étude devait nous aider à optimiser les mesures préventives lourdes imposées par un cadre réglementaire exigeant pour contenir la contamination à un niveau le plus bas possible et ainsi améliorer la gestion du risque épidémique de légionellose nosocomiale.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Matériel

L'enquête portant sur la qualité de l'eau des établissements de santé a été réalisée de février à juin 2001 sur le CHU de Bordeaux comprenant les sites Pellegrin, Haut-Lévêque, Xavier-Arnoz, Saint André, le Centre Jean Abadie, Lormont et différents hôpitaux, cliniques et maisons de retraite médicalisées de la région Sud-Ouest.

Les prélèvements ont été effectués en tenant compte de la répartition et de la fréquentation du point d'eau, notamment en choisissant préférentiellement les services hébergeant des patients à risque, les zones d'aérosolisations fréquentes (douches communes, lavabos servant à la toilette des patients, unités d'odontologie) et en suivant les recommandations de la réglementation (9).

Des prélèvements d'eau de un litre sur thiosulfate de sodium (neutralisant des dérivés chlorés) pour la recherche de légionelles ont été effectués dans le cadre de la surveillance systématique afin de répondre à la réglementation (39, 73).

Parallèlement à ces échantillons, nous avons prélevé dans des flacons stériles un litre supplémentaire par point surveillé pour la recherche d'amibes libres et 300 ml pour l'analyse chimique.

L'enquête ne portait que sur les prélèvements de surveillance systématique d'eau chaude sanitaire et non sur les contrôles faisant suite à une désinfection du système.

Toutes les analyses étaient effectuées dans les 12 heures suivant le prélèvement.

1.2. Méthodes

1.2.1. Recherche de légionelles

La recherche de légionelles dans l'eau a été réalisée selon la norme AFNOR NT 90-431 par une technique de culture sur milieu spécial BCYE α (39) après avoir filtré les échantillons d'un litre d'eau sur une membrane de polycarbonate de 0,45 μ m de porosité et de 47 mm de diamètre.

La croissance sur le milieu de culture était relativement lente, de 3 à 10 jours selon les espèces.

Le résultat était exprimé en Unité Formant Colonie par litre (UFC/L) et la limite de détection de la technique était de 50 UFC/L.

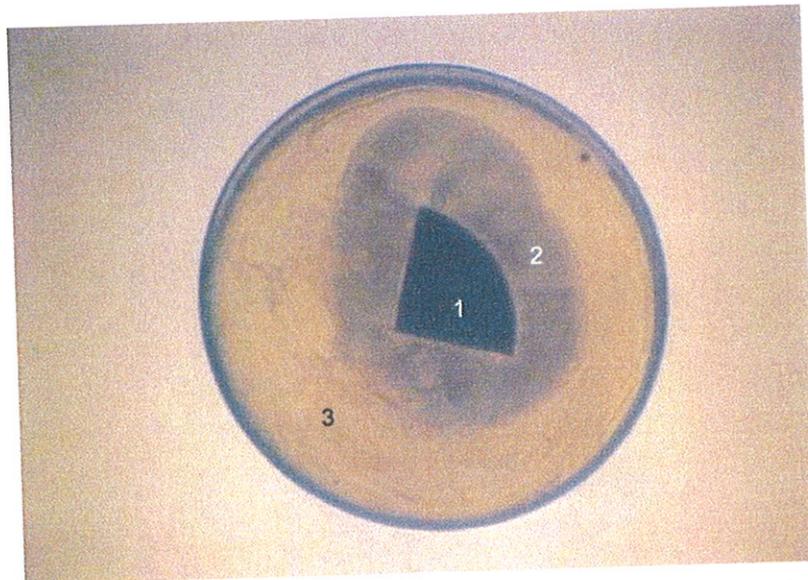
1.2.2. Recherche d'amibes

Les échantillons d'eau d'un litre ont été concentrés par filtration sur des membranes en acétate de cellulose de 1,2 μm de porosité et de 47 mm de diamètre. La filtration a été réalisée en contrôlant le vide qui ne devait pas excéder 20 millibars pour la survie des amibes. Les membranes étaient ensuite retournées et déposées sur une gélose non nutritive à 1,5% d'agar dont la surface avait été préalablement recouverte d'*Escherichia coli* étalés au râteau obtenus à partir d'une culture en nappe après 18 heures d'incubation à 37°C. Ces colonies d'*Escherichia coli* servaient de substrat aux amibes.

Les boîtes de Pétri, scellées au parafilm, étaient mise à incuber 15 jours à 37°C et examinées quotidiennement.

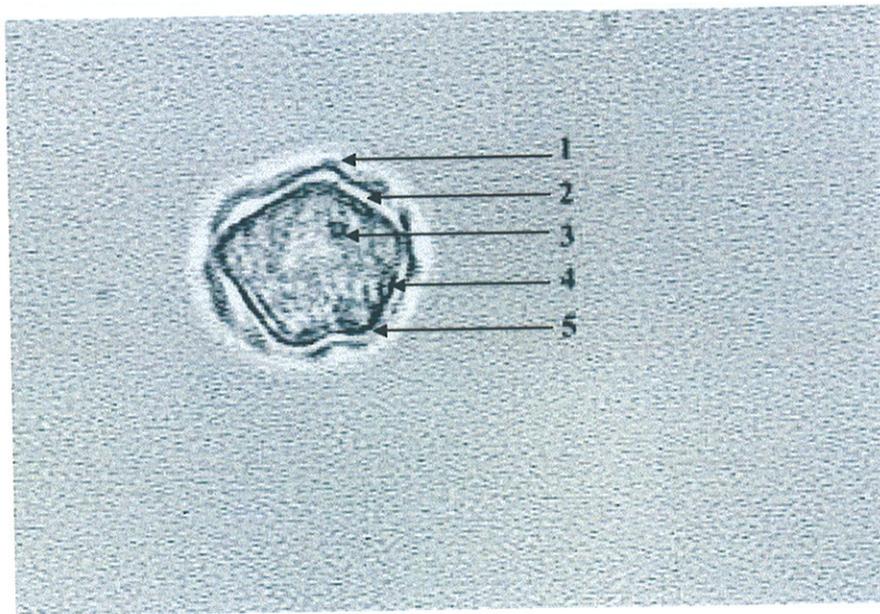
Les résultats étaient exprimés en présence ou absence d'amibes libres.

Macroscopiquement, nous avons observé une plage de lyse entre 1 et 7 jours caractérisant la migration des amibes sur la gélose (photographie n°5).



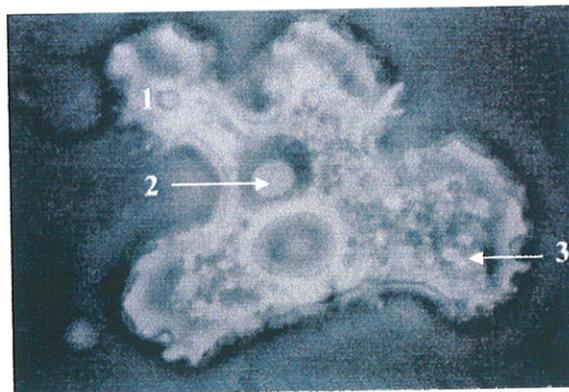
Photographie n°5: Mise en évidence d'amibes libres par observation de leur migration au bout de 5 jours sur une gélose recouverte d'*Escherichia coli*

- 1- membrane (1/4) de filtration déposée à l'envers sur la gélose
- 2- plage de lyse signant la migration des amibes libres sur la gélose
- 3- gélose recouverte d'*Escherichia coli*



Photographie n°6: Kyste d'*Acanthamoeba sp* observé au microscope optique (grossissement x1000).

- 1- exokyste**
- 2- endokyste**
- 3- noyau**
- 4- paroi du kyste**
- 5- ostiole**



Photographie n°7: Trophozoïte amiboïde d'*Acanthamoeba sp* avec pseudopodes filiformes observé au microscope optique (grossissement x1000).

- 1- acanthopode**
- 2- vacuole pulsatile**
- 3- noyau**

La présence d'amibes libres était confirmée par une observation des amibes sous forme de kystes (photographie n°6 page 69) et de trophozoïtes (photographie n°7 page 69) au microscope optique à immersion (grossissement x1000). La mobilité des trophozoïtes était observée entre lame et lamelle au microscope optique à immersion (grossissement x1000).

1.2.3. Analyse physico-chimique de l'eau

La température, la concentration en chlore libre et la concentration en chlore total ont été mesurées rapidement après le prélèvement par le service d'Hygiène Hospitalière pour les prélèvements du CHU de Bordeaux et par le Laboratoire Hydrologie-Environnement de l'Université Bordeaux II pour les autres prélèvements.

Les mesures de pH, de dureté et de conductivité ont été réalisées par le Laboratoire Hydrologie-Environnement pour tous les prélèvements.

1.2.4. Analyse statistique

Les données ont été saisies à l'aide du logiciel Excel 97.

Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel STATA version 7 pour Windows.

La description des variables nous a permis de vérifier la distribution de nos données et de repérer les valeurs manquantes. Elle nous a notamment permis d'observer la faible variabilité du chlore libre et du chlore total mesurés et nous n'avons donc pas tenu compte de ces deux variables pour l'analyse.

L'analyse univariée nous a permis d'étudier l'association entre chaque variable indépendante et la variable dépendante "légionelles" définie:

- soit selon le seuil de détection (strictement inférieure ou supérieure ou égale à 50 UFC/L). L'association entre cette variable dépendante binaire LEGIO et les différentes variables explicatives était alors testée par une régression logistique simple.

- soit comme variable dépendante quantitative continue, LOGLEGIO, codant pour la concentration en légionelles transformée en \log_{10} pour se rapprocher des conditions de normalité. Son association avec les différentes variables explicatives était testée par l'analyse de variance (test F de Fisher).

Cette analyse univariée nous a aidés dans le choix du codage pour les variables indépendantes et dans la sélection des variables utiles pour l'analyse multivariée en prenant un seuil conservateur $p < 0,25$.

Puisque les établissements prélevés étaient différents du point de vue de la qualité de leur réseau de distribution d'eau (âge, matériau, taille et maintenance différents), nous avons fait l'hypothèse de l'existence d'une corrélation intra-établissement qui nécessitait une méthode d'analyse statistique adaptée. La méthode que nous avons choisie pour tenir compte de cette éventuelle corrélation intra-établissement était celle des modèles à effet aléatoire.

2. RESULTATS

2.1. Description des données

Sur les 10 établissements de santé de la région Sud-Ouest prélevés, nous avons effectué 106 prélèvements à raison de 3 à 23 prélèvements par établissement.

Les prélèvements ont pu être réalisés au niveau de quatre types de point de prélèvement du réseau de distribution : ballon de stockage (31,2%), tour aéro-réfrigérante (9,4%), douche (34,9%) et robinet (24,5%) (Annexe n°9, tableau n°1).

Sur les 106 prélèvements effectués, 67 (63,2%) avaient une concentration en légionelles supérieure ou égale à 50 UFC/L, répartis de la façon suivante : 24 (35,8%) prélèvements entre 50 et 10^3 UFC/L, 34 (50,7%) entre 10^3 et 10^5 UFC/L et 9 (13,5%) au-delà de 10^5 UFC/L.

Nous avons pu détecter la présence d'amibes dans 68,9% des prélèvements et dans 86,6% des prélèvements dont la concentration en légionelles était supérieure ou égale à 50 UFC/L (Annexe n°9, tableau n°2).

Pour 80,6% des prélèvements dont la concentration était supérieure ou égale à 50 UFC/L, la température était inférieure à 50°C et pour 41,8% la conductivité était supérieure à 500 μ S/cm (Annexe n°9, tableau n°2).

Pour les prélèvements dont la concentration en légionelles était détectable, la dureté était en moyenne de 12,4°F et la conductivité de 708 μ S/cm et lorsque les concentrations étaient non détectables, la moyenne de la dureté observée était de 8,6°F et la conductivité de 610 μ S/cm (Annexe n°9, tableau n°3). Aucune légionelle et aucune amibe n'a été détectée pour une température supérieure à 58,8°C.

2.2. Analyses

Deux analyses univariées ont été réalisées : l'une sur 106 données en étudiant les concentrations en légionelles détectables ou non, l'autre sur 67 données en étudiant les concentrations en légionelles détectées et prises en continue. Elles nous ont aidés à choisir le codage des variables explicatives (Annexe n°9, tableau n°4).

Enfin, ces analyses univariées nous ont permis de sélectionner les variables à inclure dans chaque modèle final selon le critère de sélection $p < 0,25$.

2.2.1. Régression logistique

D'après l'analyse univariée, les variables explicatives retenues pour le modèle complet de régression logistique étaient la température, la présence d'amibes, la dureté et la conductivité.

Une stratégie pas à pas descendante a été réalisée à partir de ce modèle complet. Le modèle final obtenu n'incluait comme variables explicatives que la dureté et la présence d'amibes (Annexe n°9, tableau n°5).

L'effet "établissement" a été testé dans le modèle final. Le test du rapport de vraisemblance entre le modèle de régression logistique à effet aléatoire et le modèle de régression sans effet aléatoire, ajusté sur les autres variables, nous a montré que la corrélation intra-établissement était significative ($p < 5.10^{-3}$).

D'après l'estimation de l'Odds Ratio (OR) associé à la présence d'amibes ($OR = e^{2.791} = 16,29$) et ajusté sur la dureté, le risque de détecter la présence de légionelles est significativement plus élevé en présence d'amibes ($p < 10^{-4}$).

D'après l'estimation de l'OR associé à la dureté ($OR = e^{0.149} = 1,16$) et ajusté sur la présence d'amibes, le risque de détecter la présence de légionelles est significativement plus élevé lorsque la dureté augmente d'une unité ($p = 0,031$). Pour une augmentation de 10°F, l'estimation de l'OR est alors de 4,4. Sachant que la moyenne de la dureté est de 11°F [9,9 – 12,1], un écart de 10°F justifié par l'adoucissement ou non du réseau ou d'une partie du réseau augmente nettement le risque d'avoir des légionelles au-delà du seuil de détection.

2.2.2. Régression linéaire

D'après l'analyse univariée, les variables explicatives retenues pour le modèle complet de régression linéaire étaient le point de prélèvement, la température, la dureté et le pH.

Après une stratégie pas à pas descendante, le modèle final obtenu n'incluait comme variables explicatives que le type de point de prélèvement, la température et le pH.

L'effet "établissement" a été testé dans le modèle final. La variance de l'effet aléatoire tendant vers la valeur nulle et les vraisemblances des modèles à effets fixes et à effets aléatoires étant identiques, aucune corrélation intra-établissement n'a été mise en évidence. Nous avons donc retenu le modèle de régression linéaire simple (Annexe n°9, tableau n°6).

Les ballons, représentant la classe de référence pour la variable POINT, sont les points de prélèvements les plus fréquemment contaminés par les légionelles, suivis des robinets, seul point de prélèvement significativement associé à la présence de légionelles ($p = 0,008$).

L'estimation du coefficient de la variable pH (1,089) indique que le \log_{10} moyen de la concentration en légionelles augmente significativement ($p = 0,026$) avec le pH après ajustement sur le point de prélèvement et la température et sachant que la concentration en légionelles est détectable.

L'estimation du coefficient de la variable Température TP1 (-0,949) indique que le \log_{10} moyen de la concentration en légionelles diminue significativement ($p = 0,012$) lorsque la température est supérieure ou égale à 50°C après ajustement sur le point de prélèvement et la dureté et sachant que la concentration en légionelles est détectable.

3. DISCUSSION

Les facteurs connus influençant la contamination des réseaux d'eau par les légionelles sont donc nombreux : la température (30, 45), la présence d'amibes (14, 40, 41), les dépôts organiques et minéraux (43) et le biofilm (17, 18, 48). Ainsi, dans

la continuité de ces études, nous nous sommes intéressés à des associations possibles entre la prolifération des légionelles dans l'eau chaude sanitaire et les caractéristiques physico-chimiques et parasitologique de l'eau dans les établissements de santé.

Dans un premier temps, nous avons pu montrer une association significative entre la concentration en légionelles détectable et la dureté ($p = 0,031$) et la présence d'amibes ($p < 10^{-4}$).

Secondairement, nous avons pu montrer une association significative entre la prolifération des légionelles et le pH ($p = 0,026$), la température ($p = 0,012$) et le prélèvement d'un robinet ($p = 0,008$).

Comme plusieurs auteurs (18, 20, 30, 45, 48, 53, 77), nous avons pu confirmer une association significative entre la concentration en légionelles détectable et les amibes et entre la prolifération des légionelles et la température.

De plus, cette étude nous a permis de démontrer l'association entre les concentrations en légionelles détectables et la dureté ainsi que l'association entre la prolifération des légionelles, le pH et le point de prélèvement ce qui, à notre connaissance, n'avait pas encore été démontré (48).

Alors que notre étude a été réalisée dans des régions où l'eau fournie par les réseaux de distribution semble être exempte d'amibes au point d'émergence, nous avons mis en évidence une forte présence d'amibes dans les différents établissements ce qui est en faveur d'une contamination tout au long du réseau non hermétique aux polluants de l'environnement.

Les ballons de stockage de l'eau apparaissent comme les points du réseau les plus à risque dans la contamination par les légionelles. Lorsque la température maintenue dans ces ballons est insuffisamment élevée, les conditions nécessaires à la prolifération des légionelles sont remplies à savoir la stagnation de l'eau chaude et le dépôt important du biofilm. Le risque de prolifération des légionelles, même s'il est plus faible, est associé significativement aux robinets ($p = 0,008$). Une définition plus fine des points de prélèvements (leur fréquence d'utilisation et le type de robinetterie par exemple) aurait pu apporter des informations complémentaires vis-à-vis de la

multiplication *in situ* des légionelles mais ces critères n'ont pas été évalués pour chaque point.

D'autre part, les tours aéro-réfrigérantes connues pour être un facteur de développement des légionelles apparaissent dans l'étude comme moins souvent colonisées : depuis la publication de la circulaire du 23 avril 1999 et de l'arrêté préfectoral de la ville de Paris du 27 avril 1999 (74), des efforts sur l'entretien de ces tours semblent faits et les résultats tendent à s'améliorer.

Le faible effectif dans certains établissements a entraîné une perte de puissance importante dans l'analyse de nos résultats et nous a contraints à regrouper des classes de certaines variables explicatives entraînant une perte d'information. La littérature nous aurait plutôt incités à considérer la température en trois classes ($< 20^{\circ}\text{C}$; de 20 à 50°C et $\geq 50^{\circ}\text{C}$) mais compte tenu du faible nombre d'échantillons ayant une température inférieure à 20°C , nous avons regroupé les deux premières classes. Nous n'avons donc pas pu montrer que pour des températures inférieures à 20°C , les concentrations en légionelles augmentent mais de façon moins importante qu'entre 20 et 50°C .

Le seuil de détection des légionelles de 50 UFC/L est une limite analytique incontournable qu'il nous a fallu prendre en compte en sachant qu'un prélèvement dont la concentration est inférieure à 50 UFC/L n'est pas forcément exempt de légionelles. Les concentrations inférieures à ce seuil n'ont donc pas pu être prises en compte dans l'analyse linéaire.

Au niveau du prélèvement, il nous a été impossible de prélever réellement les points périphériques (douches et robinets) au premier jet matinal puisqu'au moment du prélèvement, les points avaient été utilisés quelques heures avant.

Enfin, il aurait été intéressant pour l'analyse d'avoir une définition plus approfondie des réseaux de distribution d'eau des différents établissements (âge,

taille, composition des matériaux). Grâce à des modèles à effet aléatoire, nous avons pu tout de même prendre en compte cette corrélation intra-établissement supposée et elle est apparue significative lorsque la concentration en légionelles était analysée globalement en détectable/non détectable. Mais lorsque l'on a voulu affiner l'analyse en étudiant les variations de concentration au-delà du seuil, l'effet "établissement" ne jouait plus. Nous avons constaté que les petits établissements avec un réseau de distribution homogène et peu étendu avaient une présence de légionelles moindre et donc une qualité de l'eau plutôt bien maîtrisée. Pour les grands établissements, le réseau de taille importante est hétérogène quant à la nature des matériaux, au niveau d'entartrage, à la présence de biofilm, au traitement de l'eau et à l'ancienneté des réseaux ce qui rend difficile la maîtrise de la qualité de l'eau chaude sanitaire du point de production à tous les points d'usage. Les concentrations en légionelles varient alors d'un point à l'autre et l'effet "établissement" n'intervient plus.

**LA MAITRISE DU RISQUE
"LEGIONELLES" DANS LES
ETABLISSEMENTS DE SANTE**

Depuis la première description des légionelles en 1977 par Mac Dade (2) et devant le nombre croissant de cas de légionelloses déclarés ces vingt dernières années, de nombreuses études ont été réalisées concernant les légionelles et plus particulièrement les facteurs favorisant leur présence au sein de réseaux de distribution d'eau afin d'orienter les mesures à prendre pour diminuer le risque de légionellose.

Divers liens entre la présence de légionelles dans l'eau et la qualité physico-chimique et microbiologique de l'eau ont été démontrés.

L'association entre la présence de légionelles et la température de l'eau entre 30 et 45°C a été démontrée et confirmée de nombreuses fois (6, 37, 44, 45, 48). En 1985, Groothuis montre qu'au-delà de 60°C, les légionelles sont totalement éradiquées.

La relation entre les amibes libres et les légionelles a été prouvée par de nombreuses études. Depuis la première épidémie en 1976 (1), les tours aéro-réfrigérantes, souvent incriminées comme source de *Legionella pneumophila*, étaient aussi connues comme sources d'amibes libres. Dès 1980, Rowbotham étudie alors la relation entre amibes libres et légionelles et observe la survie de certaines espèces de légionelles à l'intérieur des protozoaires. En 1982, Tyndall, en co-cultivant *Legionella pneumophila* et des amibes libres, montre l'existence d'une symbiose réelle entre ces micro-organismes. Depuis, Rowbotham, Tyndall, Nahapetian, Breiman et bien d'autres (14, 15, 37, 41, 46, 50, 51, 77, 78, 79) ont confirmé et étudié cette symbiose où les amibes libres et d'autres protozoaires peuvent être des vecteurs et des réservoirs de légionelles. Ces parasites, en hébergeant les légionelles, leur permettent de survivre à l'abri de conditions défavorables. Par le biais de notre étude, nous avons pu confirmer ce résultat puisque le risque d'avoir une concentration en légionelles supérieure ou égale à 50 UFC/L apparaît significativement plus élevé en présence d'amibes ($p < 10^{-4}$).

Nous avons pu aussi montrer que la dureté semblait avoir une influence sur la présence de légionelles puisque le risque d'avoir une concentration en légionelles supérieure ou égale à 50 UFC/L apparaît significativement plus élevé lorsque la dureté augmente d'une unité ($p = 0,031$). Une augmentation de 10°F justifiée par

l'adoucissement ou non du réseau ou d'une partie du réseau augmente nettement le risque d'avoir des légionelles au-delà du seuil de détection.

D'autre part, certains de ces facteurs favorisant la présence ou la prolifération des légionelles sont intimement liés. Par exemple, le chauffage d'une eau dure en précipitant les carbonates de calcium et de magnésium présents dans l'eau favorise le dépôt de tartre à l'intérieur des canalisations et facilite ainsi la formation d'un biofilm.

La maîtrise du risque de légionelles dans l'eau passe donc par la maîtrise de la qualité de l'eau distribuée et donc par la maîtrise des réseaux de distribution.

Les établissements de santé sont des sites très particuliers où le risque de légionelles est plus difficile à maîtriser : leur dimension et les malades qu'ils hébergent font de leurs réseaux un lieu où le risque d'acquisition d'une légionellose est important.

L'hôpital est un gros consommateur d'eau ce qui augmente le risque de mettre en contact un patient avec une eau contaminée. La taille de ces bâtiments et de leurs réseaux rend difficile la maîtrise de la qualité de l'eau.

En effet, la température de l'eau chaude peut varier de façon importante d'un point à l'autre du réseau et, en un point, d'une période à l'autre. Il est donc difficile d'assurer une température constante du point de production à tous les points d'usage et ceci d'autant plus que le réseau est complexe, notamment lorsqu'il comprend des bras morts difficiles à atteindre par les différents traitements de l'eau.

Ces bras morts, plus fréquents dans les réseaux complexes des établissements de santé comparés aux hôtels ou aux immeubles de plus petite taille, sont le siège d'une circulation difficile voire d'une stagnation de l'eau formant des niches propices à la multiplication des micro-organismes comme les légionelles. Des variations brutales de pression, l'érosion ou l'arrachage du biofilm contribuent également à la contamination de l'eau distribuée (16).

L'hétérogénéité de l'ancienneté, de la composition des matériaux et de l'état de ces réseaux rend plus difficile la mise en œuvre des traitements préventifs ou correctifs nécessaires au maintien de la qualité de l'eau et non sans risque vis-à-vis du réseau qu'ils peuvent corroder davantage s'ils ne sont pas appropriés.

Par ailleurs, la présence très fréquente d'amibes, la température insuffisante dans les ballons de stockage et surtout aux points d'usage, la dureté de l'eau très élevée dans certaines régions, la résistance de certains micro-organismes aux agents désinfectants de l'eau, l'existence d'un biofilm et la présence non négligeable de bras morts dans les réseaux de grande taille font de ces réseaux un écosystème particulier et très favorable au développement et à la prolifération des légionelles.

Enfin, une autre particularité des établissements de santé les distinguant des autres installations exposant un public tout-venant à un risque collectif est la population humaine fragile qu'ils hébergent puisque ces sujets, dont les défenses sont parfois gravement compromises, présentent des facteurs de risque individuels.

Dans une démarche de qualité de soins, nous devons maîtriser au mieux le risque infectieux hydrique par le maintien de la qualité de l'eau, enjeu permanent pour les établissements de santé. Pour nous aider dans cette démarche, nous avons à notre disposition un cadre réglementaire complet que ce soit à propos de la qualité de l'eau elle-même (19) ou des risques qu'elle peut véhiculer (38, 70, 73), accompagné d'un ensemble de recommandations qui nous aident à mettre en place des mesures de prévention et d'action (26, 29, 71, 80, 81). L'évolution du dispositif législatif tend actuellement vers une sécurité toujours accrue pour l'utilisateur et le domaine de l'eau est au cœur de cette préoccupation de sécurité sanitaire (26). Mais leur mise en application reste difficile lorsque nous devons prendre en compte à la fois la qualité de l'eau, la qualité des installations existantes, les particularités des services hébergeant les malades et aussi le coût important de toutes ces mesures.

Avant tout, la qualité des matériaux constituant un système de distribution d'eau est primordiale puisqu'elle est totalement liée à la qualité de l'eau véhiculée : « Une installation de distribution d'eau froide, de production et de distribution d'eau chaude sanitaire, doit être réalisée en prenant un certain nombre de précautions sans lesquelles l'eau véhiculée risque de se voir altérée » (81). Pour cela, les matériaux utilisés doivent répondre à une conformité sanitaire selon l'article 7 du

décret 89-3 et la circulaire du 27 avril 2000 (82) et définie dans l'arrêté du 29 mai 1997 modifié (83). Nous avons à notre disposition :

- la fonte ancienne (réseau ancien)
- la fonte ductile (réseau récent)
- l'acier galvanisé (acier recouvert d'une couche de zinc)
- le cuivre
- l'acier inoxydable
- les matières plastiques telles que le polyéthylène, le polychlorure de vinyle et le polypropylène.

L'acier galvanisé, par son faible coût, est largement répandu dans les canalisations de nos établissements de santé. Malheureusement, son domaine d'utilisation est lié à la composition de l'eau et à ses caractéristiques physico-chimiques (81). L'acier galvanisé n'est plus protégé de la corrosion dès que la température de l'eau est supérieure à 60°C car à cette température les produits de corrosion du zinc qui ont réagi avec l'eau et ses constituants sont solubles et ne procurent pas la protection constatée lorsque la température est inférieure à 50°C. Pour éviter cet effet de "sable" dans les canalisations (10, 11), un filmogène doit être ajouté dans le réseau d'eau chaude sanitaire.

Au contraire, le cuivre, dont le coût est nettement plus élevé, a un excellent comportement vis-à-vis de la qualité de l'eau et de ses traitements physiques et chimiques. Certains auteurs montrent d'ailleurs que la présence de cuivre dans un réseau d'eau limite la formation d'un biofilm.

Les matériaux doivent donc être choisis en fonction des caractéristiques de l'eau disponible : par exemple, en présence d'une eau dure susceptible d'être adoucie, un réseau de distribution d'eau sera plus facile à gérer s'il est composé de cuivre, d'acier inoxydable ou de polymères par rapport à l'acier galvanisé qui demande une maîtrise parfaite des traitements anticorrosion (81).

Enfin, nous devons tenir compte de la compatibilité des différents matériaux entre eux : *"La juxtaposition de matériaux de nature différente ne doit en aucun cas modifier les qualités de l'eau, ni entraîner notamment l'apparition de phénomènes de corrosion"* (81). La mise en présence de cuivre en amont d'acier galvanisé est

interdit, tout comme la présence de cuivre dans la boucle de circuits collectifs d'eau chaude sanitaire.

La conception architecturale adéquate du réseau est, elle aussi, indispensable au maintien de la qualité de l'eau.

Le réseau ne doit pas comporter de bras morts qui favorisent la prolifération de micro-organismes par stagnation de l'eau et qui empêchent les traitements chimiques ou thermiques d'atteindre ces points contaminés. Lorsqu'ils existent, ils constituent alors un véritable réservoir de micro-organismes relarguant régulièrement suffisamment de germes ou de parasites pour permettre une contamination permanente et non contrôlable du réseau de distribution d'eau. La circulaire du 31 décembre 1998 (73) recommande d'ailleurs d'établir les plans des réseaux afin de rechercher puis d'éliminer tous les bras morts existants.

La présence de clapets anti-retour sur le réseau est impérative pour éviter une pollution de l'eau en cas de dépression sur le réseau public et pour séparer l'eau traitée de l'eau non traitée sur le réseau intérieur. Enfin, les installations de production et de distribution d'eau chaude sanitaire collectives sont en général bouclées assurant une circulation continue de l'eau.

La conception des équipements est, elle aussi, importante. Le dimensionnement correct d'un ballon de production d'eau chaude sanitaire doit permettre un débit suffisant de l'eau dans les réseaux. Il semblerait d'ailleurs qu'une production instantanée d'eau chaude sanitaire par échangeur à plaques est à privilégier lorsque le choix est possible car il évite la stagnation d'eau à une température élevée comme c'est le cas dans ces ballons (81).

Après avoir pris en compte ces éléments de conception des réseaux, le choix des traitements curatifs et préventifs dont on connaît l'efficacité peut être fait.

Le détartrage et la désinfection de certaines parties du réseau, réalisés pour éliminer les biofilms, sont à l'origine de manœuvres souvent difficiles. Dans ce cas, la qualité dépend des choix initiaux, de la qualité des matériaux mais aussi d'un équilibre acido-basique et minéral de l'eau pour éviter que celle-ci n'agresse ou n'entarte trop

rapidement les canalisations. Pour le réseau, la qualité procède avant tout de choix et de mesures techniques adaptés (26):

- L'adoucissement est un système de lutte antitartre qui s'effectue par résine échangeuse de cations tout en tenant compte de la dureté et de la concentration en sodium inférieure à 150 mg/L (81). Comme nous l'avons montré dans notre étude, il semble qu'il y ait un lien entre la présence de légionelles dans un réseau et la dureté de l'eau. Ainsi, un tel traitement pourrait être particulièrement intéressant lorsqu'il s'agit d'un réseau de distribution d'eau chaude sanitaire nouvellement conçu. Le tartre n'étant pas encore déposé, l'adoucissement permettrait de limiter dès le départ sa formation sous l'effet du chauffage de l'eau en réduisant la quantité d'ions calcium et magnésium dans l'eau. Par ailleurs, les eaux dures sont connues pour limiter l'activité de certains produits détergents et/ou désinfectants et il est alors nécessaire d'adapter les dosages et les temps de contact des produits en fonction de ce paramètre. En adoucissant l'eau, on améliorerait l'action de ces produits.

- Les traitements de lutte contre la corrosion pour les circuits d'eau chaude se font par des procédés d'addition de produits filmogènes à base de polyphosphates et de silicates liquides ou par la mise en place d'anodes solubles en aluminium ou en magnésium (81). En protégeant ainsi les canalisations, la qualité du réseau est préservée malgré l'agressivité des traitements de désinfection et de l'eau adoucie. Pour une bonne efficacité, la mise en œuvre de ces traitements nécessite une maîtrise parfaite de ces techniques.

- Les traitements chimiques de désinfection du réseau sont les seuls traitements permettant de diminuer la présence de micro-organismes lorsque, du fait des matériaux constituant le réseau, il n'est pas possible d'élever la température au-delà de 60°C (cas de l'acier galvanisé). Parmi les désinfectants des réseaux en service, validés par le Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB) et autorisés par la Direction Générale de la Santé (84, 85), figurent:

- le chlore sous forme liquide (eau de Javel NaClO), solide (hypochlorite de calcium $\text{Ca}(\text{ClO})_2$) ou gazeux (dichlore Cl_2). Utilisé à des concentrations trop élevées (1 à 2 mg/L), il devient corrosif pour les canalisations. L'efficacité décroissante quand le pH augmente et la formation de trihalométhanes et de composés organochlorés avec les matières organiques, composés toxiques, limitent la chloration par les hypochlorites. Néanmoins, son emploi facile, son faible coût, son efficacité et son effet rémanent font des hypochlorites le traitement le plus utilisé.

- le dioxyde de chlore (ClO_2). Par son action nettement moins corrosive et son effet davantage rémanent, il est à l'heure actuelle un traitement intéressant puisque de nouveaux procédés d'obtention par électrolyse, moins dangereux que le mélange acide chlorhydrique/nitrate de sodium, sont proposés. Néanmoins, son coût important, la maîtrise difficile de la technique et la formation de chlorite, sous-produit hématotoxique, limitent son utilisation.

- l'ozone. Oxydant très puissant, il a une action désinfectante intéressante mais ses propriétés très corrosives et sa toxicité imposent un suivi rigoureux de la concentration en ozone dissous. Enfin, l'absence d'effet rémanent, sa production complexe et son coût limitent aujourd'hui son utilisation.

- le rayonnement ultra-violet a une efficacité réduite au courant d'eau qui passe sous les rayons et il n'affecte pas le reste du circuit. Son action est donc extrêmement limitée et inadaptée pour des réseaux de grande taille d'eau chaude sanitaire.

Les autres traitements tels que le peroxyde d'hydrogène sont autorisés uniquement sur des réseaux hors service et n'ont donc pas d'utilisation possible dans le réseau d'un établissement de santé de grande taille pour lequel un arrêt de fonctionnement semble impossible.

Le traitement chimique en continu permettrait ainsi de limiter la mise en œuvre d'un traitement par choc chimique qui impose un rinçage abondant des

canalisations afin de conserver des concentrations résiduelles de désinfectants acceptables vis à vis des matériaux et de la qualité de l'eau chaude sanitaire.

➤ Puisque les traitements préventifs ou curatifs dans les grands réseaux, reposant sur la désinfection chimique, ont des limites maintenant bien connues, le maintien à 60°C de l'eau est un moyen efficace pour limiter la présence de légionelles dans l'eau s'il est couplé à la conception d'un réseau adapté (réseaux bouclés).

- la désinfection thermique en continu consiste à maintenir une température suffisante pour réduire la présence de légionelles dans l'eau. En tenant compte de la capacité des installations à assurer une production de chaleur suffisante et de la composition du circuit (matériaux, organes hydrauliques, joints) qui devra supporter ce traitement, il est souhaitable au vue des données de la littérature (44, 45, 46, 48, 57, 86) de maintenir une température de 60°C dans les ballons de production et une température de 50°C à tous les points d'usage. Pour éviter tout risque de brûlures, des mitigeurs devront être installés le plus près possible de l'utilisateur pour pouvoir assurer une température inférieure à 50°C (86).

- le traitement par choc thermique (70°C pendant 30 minutes) est dangereux pour le personnel et les patients et difficile à mettre en œuvre lorsque les installations ne sont pas suffisamment puissantes pour un établissement de taille importante. Ce traitement est peu coûteux et très efficace s'il est bien réalisé. Le problème majeur se situe au niveau de l'état des réseaux de nos établissements de santé pas toujours conçus pour supporter de telles températures.

- La pasteurisation, technique récente, assure le maintien de l'eau chaude sanitaire à 70°C dans les équipements et à 50°C dans tout le réseau par bouclage complet de celui-ci. Elle semble donner d'excellents résultats mais le coût très élevé en limite la mise en place.

Malgré toutes ces mesures, lorsque des concentrations en légionelles trop importantes sont mesurées au niveau d'un réseau, des investigations complémentaires doivent être menées de façon à identifier la raison de cet échec (persistance de bras morts, température de l'eau insuffisamment élevée) afin d'y remédier. Puisque la concentration en légionelles dans l'eau dépend de nombreux paramètres difficiles à maîtriser, des mesures doivent être prises notamment aux niveaux de services dits à haut risque où les patients sont particulièrement fragilisés afin d'améliorer la qualité des soins. On pourra alors installer sur les douches de ces unités des microfiltres terminaux dont le coût est élevé mais l'efficacité absolue.

Concernant les tours aéro-réfrigérantes, installations présentes aussi dans les établissements de santé, elles constituent un milieu particulièrement favorable à la présence des légionelles dans l'eau en circulation et *a fortiori* dans le panache qui s'en échappe. L'éradication des légionelles est très difficile voire impossible mais, en revanche, il est indispensable de limiter leur prolifération et d'éviter leur dissémination dans l'environnement par les aérosols. Ce risque peut donc être réduit en maîtrisant la prolifération de bactéries dans l'eau des tours et en limitant l'émission de gouttelettes d'eau dans l'environnement par des mesures préventives et curatives (76): *"il est souhaitable d'obtenir des températures d'eau chaude supérieure à 45°C à l'intérieur de la tour à partir desquelles Legionella ne prolifère plus mais survit. Certaines installations peuvent être dimensionnées pour des températures d'eau chaude dépassant 60°C, température à partir de laquelle Legionella est détruite en quelques minutes"*.

Le traitement sera ici aussi adapté à la qualité du site et à la qualité de l'eau afin de lutter efficacement contre l'entartrage, la corrosion et la prolifération bactérienne. Il sera constitué entre autres d'inhibiteurs d'entartrage et de corrosion, de biocides en traitement de choc ou continu et de procédés physiques tels que les ultra-violets et la filtration dérivée. Un élément important à prendre en compte dans le traitement de l'eau de tours aéro-réfrigérantes est le phénomène de concentration. Puisque l'évaporation de l'eau entraîne la concentration en sels minéraux dans l'eau de recirculation, des purges de déconcentration et un apport d'eau d'appoint dans le réseau permettent d'éviter la tendance à la corrosion et la formation de dépôt de

précipitation et de favoriser une meilleure efficacité des réactifs chimiques injectés (76).

Enfin, la maîtrise de la qualité de l'eau et du risque "légionelles" passe par une bonne gestion de toutes ces installations. Ainsi, les opérations de maintenance doivent permettre de surveiller la qualité de l'eau distribuée dans l'établissement et de pérenniser les installations de production et de distribution en bon état de fonctionnement.

La température est un indicateur indirect de la présence ou de l'absence de légionelles. C'est pourquoi la zone de température de 20 à 50°C doit être réduite au maximum sur les réseaux collectifs d'eau chaude sanitaire pour en limiter la présence. Pour s'en assurer, une traçabilité par enregistrement régulier de la température en certains points du réseau serait souhaitable: dans le ballon, à la sortie des ballons, au niveau du retour de boucle, au niveau des points d'usage. La surveillance de la température en tout point du réseau permettrait de mettre en évidence les dysfonctionnements des installations (débit des pompes de recirculation, équilibrage des boucles de distribution...) éventuellement liés à des défauts d'entretien. Il faudra d'ailleurs veiller à ce que les canalisations d'eau chaude sanitaire soient correctement calorifugées, indépendamment des canalisations d'eau froide, pour éviter que ces dernières ne soient réchauffées à leur contact (température supérieure à 25°C) ce qui favoriserait la prolifération des légionelles dans le circuit d'eau froide.

D'autre part, afin d'assurer une traçabilité de toutes les opérations d'entretien et de maintenance du réseau d'eau chaude sanitaire, un carnet sanitaire doit être mis en place. La périodicité, la localisation et les objectifs à atteindre pour chaque intervention y seront enregistrés. Les protocoles de maintenance devront par ailleurs être rédigés et validés. Les résultats obtenus (par exemple les mesures de température et de concentration en légionelles) devront être archivés. Ce carnet sanitaire constituera ainsi le référentiel de sécurité sanitaire.

Enfin, des mesures de prévention du risque doivent être prises par le personnel chargé des opérations de maintenance puisque la présence à proximité des tours,

notamment lorsqu'elles sont en fonctionnement, nécessite le port d'un masque adapté de type P3 (76).

Au-delà du problème des établissements de santé, la légionellose est un problème plus général de santé publique. La déclaration obligatoire n'étant pas exhaustive, le nombre de cas de légionelles est sûrement plus important.

Le degré de risque sanitaire lié à une contamination de l'eau dépend de la combinaison de plusieurs facteurs: le niveau de la contamination de l'eau, l'exposition à cette contamination et la vulnérabilité des sujets exposés. Certes les patients hébergés dans les établissements de santé sont plus fragiles et donc plus à risque de se contaminer mais de nombreux patients à risque sont présents en ville (sujets âgés, diabétiques, alcoolo-tabagiques, sujets sous traitement immunosuppresseur, ...). En ce sens, les mesures imposées actuellement surtout aux établissements de santé ne doivent-elles pas être généralisées plus largement aux établissements de collectivité, publics ou privés?

Cependant, cette maladie grave chez les sujets fragilisés ne représente pourtant qu'une faible part des infections nosocomiales alors que les mesures financières et humaines engagées pour limiter le risque de légionellose sont de plus en plus importantes. Doit-on cibler davantage ces mesures sur les lieux et les personnes à risque ou chercher à atteindre le risque infectieux nul?

CONCLUSION

La qualité de l'eau tient donc à la qualité du réseau dont le maintien ne peut être assuré que si une maintenance préventive et curative est parfaitement réalisée. Ainsi, ce problème complexe n'est maîtrisé que si tous les "acteurs de l'eau", services techniques, services utilisateurs, laboratoire de microbiologie et d'hygiène, service d'hygiène hospitalière sont impliqués dans la gestion et l'assurance qualité de ces eaux (85). Ce cadre réglementaire lourd et exigeant, malgré les difficultés d'application, constitue une opportunité à saisir pour engager une démarche d'amélioration de la qualité en matière de gestion des risques liés à l'eau du réseau qui s'intègre dans une démarche générale d'amélioration de la qualité et de la sécurité des soins dispensés aux patients. Cette logique est inscrite dans les fondements et les principes de l'ordonnance n°96-346 du 24 avril 1996 portant sur l'accréditation (29).

Même si les légionelles sont partout présentes dans l'eau et qu'il ne peut être question d'envisager leur éradication totale ni, par conséquent, d'espérer garantir la disparition de tout risque de légionellose en toute circonstance, s'occuper des légionelles revient plus largement à s'occuper de la qualité du réseau d'eau (26) et fait partie des missions des Comités de Lutte contre les Infections Nosocomiales.

REFERENCES

1. Fraser D, Tsai T, Orenstein W, Parkin W, Beecham H et Sharrar R, *Legionnaires'disease: description of an epidemic of pneumonia*. N Engl J Med, 1977. **297**: p. 1189-97.
2. McDade J, Shepard C, Fraser D, Tsai T, Redus M et Dowdle W, *Legionnaires'disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease*. N Engl J Med, 1977. **297**(22): p. 1197-204.
3. Morris G, Patton C et Feeley J, *Isolation of the Legionnaires'disease bacterium from environmental samples*. Ann Intern Med, 1979. **90**: p. 664-6.
4. *Institutional outbreak of pneumonia*. Morbid Mortal Weekly Report, 1965. **14**: p. 265-86.
5. Muder R, Yu V et Fang G, *Community-acquired legionnaires'disease*. Semin Respir Infect, 1989. **4**: p. 32-9.
6. Hanrahan JP, Morse DL, Scharf VB et Debbie JG, *A community hospital outbreak of legionellosis. Transmission by potable hot water*. Am J Epidemiol, 1987. **125**: p. 639-49.
7. Hubert B, Decludt B, Etienne J, Jarraud S et Reyrolle M, *Cas groupés de légionellose à la suite d'un séjour en Turquie*. BEH, 1998. **35**: p. 150-1.
8. Tobin J, Dunnill M et French M, *Legionnaires'disease in a transplant unit: isolation of the causative agent from shower baths*. Lancet, 1980. **2**: p. 118-21.
9. *Cas groupés de légionellose dans le 15ème arrondissement de Paris, août 1999*. BEH, 1999. **41**: p. 173.
10. Astagneau P, Boulanger J, Perronne C et Tricard D, *Rapport de la mission d'expertise sur la maîtrise du risque de légionellose à l'Hôpital Européen Georges Pompidou*. 2001.
11. Boulanger J, Decludt B, Perronne C et Tricard D, *Complément au rapport d'expertise sur la maîtrise de la légionellose à l'Hôpital Européen Georges Pompidou*. 2001, Ministère de l'emploi et de la solidarité, Ministère délégué, Inspection générale des Affaires Sociales.
12. DRASS Aquitaine, DDASS Gironde et Laboratoire Hydrologie Environnement, *Bilan statistique 1999 des analyses d'eau réalisées en Aquitaine sur les établissements recevant du public et les établissements de santé*. 2000.
13. CCLIN Paris-Nord, *Prise en charge du risque "légionelles" dans les établissements de santé. Un état des lieux dans l'interrégion Nord*. 2001, BEH **30**.
14. Nahapetian K, Challemel O, Beurtin D, Dubrou S, Gounon P et Squinazi F, *The intracellular multiplication of legionella pneumophila in protozoa from hospital plumbing systems*. Res Microbiol, 1991. **142**: p. 677-85.
15. Barker J, Brown M, Collier P, Farrell I et Gilbert P, *Relationship between Legionella pneumophila and Acanthamoebae polyphaga: physiological status and susceptibility to chemical inactivation*. Appl Environ Microbiol, 1992. **58**(8): p. 2420-5.
16. Squinazi F, *Eau du réseau dans les établissements de santé: maîtrise des risques infectieux hydriques*. Méd Mal Infect, 2000. **30**: p. 431-40.
17. Mathieu L, Sibille I et Hartemann P, *Ecosystème et biofilm des réseaux de distribution d'eau potable*. Hygienes, 1998. **6**: p. 375-84.
18. Walker J, Bradshaw D, Bennett A, Fulford M, Martin M et Marsh P, *Microbial biofilm formation and contamination of dental unit water systems in general dental practice*. Appl Environ Microbiol, 2000. **66**: p. 3363-7.

19. Décret, *Décret 89-3 du 03 janvier 1989 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles modifié par le décret n°90-330 du 10 avril 1990, par le décret n°91-257 du 7 mars 1991 et par le décret n°95-363 du 5 avril 1995*. JO du 4 janvier 1989, 1989.
20. Stout J et Yu V, *Legionellosis*. N Eng J Med, 1997. **337**: p. 682-7.
21. Berche P, Gaillard J et Simonet M, *Bactériologie: les bactéries des infections humaines*, ed. Médecine-Sciences Flammarion. 1988, Paris.
22. Décret, 1987. *Décret 87-1012 du 11 novembre 1987 relatif aux maladies à déclaration obligatoire*; .
23. Campese C et Decludt B, *Les légionelloses déclarées en France en 1999*. BEH, 2000. **52**: p. 6-11.
24. Decludt B, *Surveillance épidémiologique de la légionellose en France en 2000*. BEH, 2001. **42**.
25. Nardone A, Decludt B, Jarraud S, Reyrolle M, Laurent E, Etienne J *et al.*, *Evaluation the surveillance system for Legionnaires'disease in France in 1998 using capture-recapture methods*. In *Proceedings of the 5th International Conference on Legionella*. 2000. Ulm.
26. CCLIN Sud-Ouest, *Recommandations pour la prévention de la légionellose nosocomiale*. 2001.
27. Graman P, Quinlan G et Rank J, *Nosocomial legionellosis traced to a contaminated ice machine*. Infect Control Hosp Epidemiol, 1997. **18**: p. 637-40.
- relative à l'organisation de la lutte contre les infections nosocomiales dans les
28. Circulaire, 2000. *Circulaire DGS/DHOS/E2 n°645 du 29 décembre 2000 établissements de santé*; Ddlhedlods Direction générale de la Santé.
29. Comité Technique National des Infections Nosocomiales, *100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales*. 1999, . .
30. Alary M, *Risk factors for contamination of domestic hot water systems by legionellae*. Appl Environ Microbiol, 1991. **57**: p. 2360-7.
31. Hoge C et Breiman R, *Advances in the epidemiology and control of legionella infection*. Epidemiol review, 1991.
32. Freney J, Renaud F, Hansen W et Bollet C, *Précis de bactériologie clinique*, ed. ESKA. 2000, Paris.
33. www.Pasteur.fr.
34. www.Merck.de.
35. Bornstein N et Fleurette J, *Les Legionella*. Lyon Pharmaceutique, 1992. **43**(2): p. 101-16.
36. www.edcenter.med.cornell.edu.
37. Pasculle W, *Update on Legionella*. Clinical Microbiology Newsletter, Nov 2000. **22**(13): p. 97-101.
38. Circulaire, 1997. *Circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997 relative à la surveillance et à la prévention de la légionellose et guide d'investigation d'un ou plusieurs cas de légionellose*; Direction générale de la Santé.
39. Norme, 1993. *Norme AFNOR NT 90-431 relative à la recherche et au dénombrement des légionelles et Legionella pneumophila*.
40. Rowbotham T, *Preliminary report on the pathogenicity of Legionella pneumophila for freshwater and soil amoebae*. J Clin Pathol, 1980. **33**: p. 1179-83.

41. Rowbotham T, *Isolation of Legionella pneumophila from clinical specimens via amoebae, and the interaction of those and other isolates with amoebae*. J Clin Pathol, 1983. **36**: p. 978-86.
42. Bard D et Siclet F, *Amibes libres et Santé Publique*, ed. ENSP. 1995, Rennes.
43. Springston, *Legionella lives*. Engeeners, 2000.
44. Rogers J, Dowsett A, Dennis P, Lee J et Keevil C, *Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of Legionella pneumophila in a model potable water system containing complex microbial flora*. Appl Environ Microbiol, 1994. **60**(5): p. 1585-92.
45. Groothuis DG, Veenendaal HR et Dijkstra HL, *Influence of temperature on the number of legionella pneumophila in hot water systems*. J Appl Bact, 1985. **59**: p. 529-6.
46. Rohr U, Weber S et Michel R, *Comparison of free-living amoebae in hot water systems of hospitals with isolates from moist sanitary areas by identifying genera and determining temperature tolerance*. Appl Environ Microbiol, 1998. **64**(5): p. 1822-4.
47. Groupe Eau Santé, *Eaux à usage médical: définitions et interprétations pratiques*, ed. Asta Médica. 1998, Mérignac.
48. Zanetti F, Stampi S et DeLuca G, *Water characteristics associated with the occurrence of Legionella pneumophila in dental units*. Eur J Oral Sci, 2000. **108**: p. 22-8.
49. Sibille I, Sime-Ngandot T et Mathieu L, *Protozoan bacterivory and Escherichia coli survival in drinking water distribution system*. Hygienes, 1998. **64**: p. 197-202.
50. Tyndall R et Domingue E, *Cocultivation of Legionella pneumophila and free-living amoebae*. Appl Environ Microbiol, 1982. **44**(4): p. 954-9.
51. Breiman RF, Fields BS et Sanden GN, *Association of shower use with Legionnaires'disease. Possible role of amoebae*. JAMA, 1990. **263**: p. 2924-6.
52. Srikanth S et Berk S, *Stimulatory effect of cooling tower biocides on amoebae*. Appl Environ Microbiol, 1993. **59**(10): p. 3245-9.
53. Hoebe CJ et Kool J, *Control of legionella in drinking-water systems*. Lancet, 2000. **355**: p. 2093-4.
54. Stout J, Yu V et Best M, *Ecology of Legionella pneumophila within water distribution systems*. Appl Environ Microbiol, 1985. **49**(1): p. 221-8.
55. Tison D et Seidler R, *Legionella incidence and density in potable drinking water supplies*. Appl Environ Microbiol, 1983. **45**(1): p. 337-9.
56. Hsu S, Martin R et Wentworth B, *Isolation of legionella species from drinking water*. Appl Environ Microbiol, 1984. **48**(4): p. 830-2.
57. Farrell I, Barker J, Miles E et Hutchison J, *A field study of survival of Legionella pneumophila in a hospital hot-water system*. Epidemiol Infect, 1990. **104**: p. 381-7.
58. Groupe Eau Santé, *Eaux des établissements de santé: qualité de l'eau des réseaux intérieurs*, ed. Asta Médica. 2000, Mérignac.
59. Ciesielski C, Blaser M et Wang W, *Role of stagnation and obstruction of water flow in isolation of Legionella pneumophila from hospital plumbing*. Appl Environ Microbiol, 1984. **48**: p. 984-7.
60. States S, Conley L et Ceraso M, *Effects of metal on Legionella pneumophila growth in drinking water plumbing systems*. Appl Environ Microbiol, 1985. **50**: p. 1149-54.

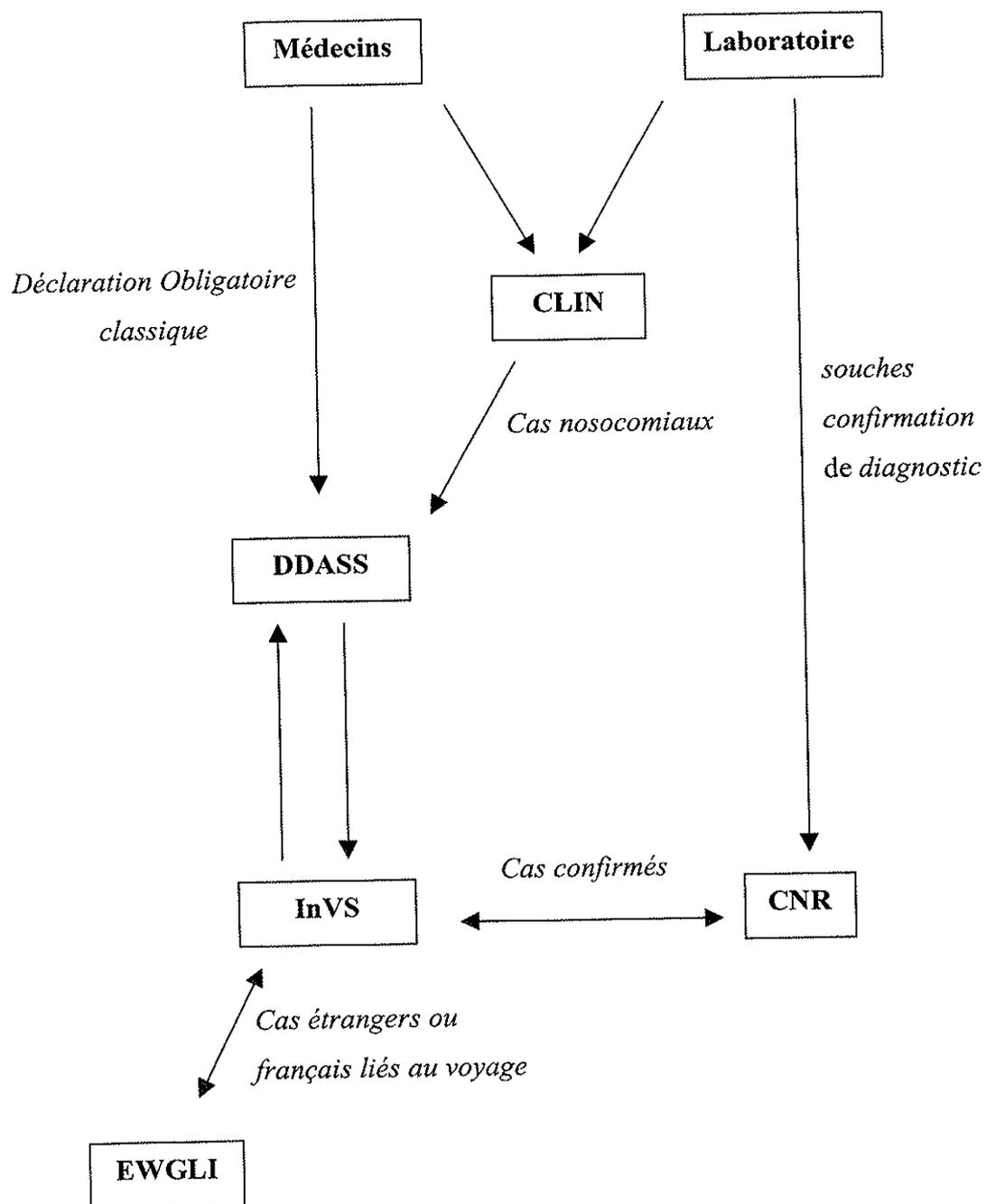
61. Bollin G, Plouffe J, Para M et Hackman B, *Aerosols containing Legionella pneumophila generated by shower heads and hot-water faucets*. Appl Environ Microbiol, 1985. **50**: p. 1128-31.
62. Cabanes P, Dubrou S, Larguier M, Saude I et Festy B, *Les legionella dans l'environnement hydrique sanitaire. Données préliminaires pour une évaluation du risque en France*. Med Mal Inf, 1995. **25**: p. 850-7.
63. *Code de la Santé publique*, ed. Dalloz. 2001, Paris. 2041.
64. Circulaire, 1975. *Circulaire n°429 du 8 avril 1975 relative aux problèmes d'hygiène publique dans les établissements hospitaliers*.
65. Circulaire, 1991. *Circulaire du 31 juillet 1991 relative aux eaux destinées à la consommation humaine*; Direction générale de la santé.
66. Circulaire, 1997. *Circulaire DGS n°97/413 du 30 mai 1997 relative à la microbiologie des eaux destinées à la consommation humaine et au risque parasitaire pour les personnes immunodéprimées*; Direction générale de la Santé.
67. Circulaire, 1989. *Circulaire n°238 du 28 mars 1989 relative à la listériose et à la légionellose*; Direction Générale de la Santé.
68. Décret, *Décret n°88-657 du 6 mai 1988 relatif à l'organisation de la surveillance et de la prévention des infections nosocomiales*. 1988.
69. Circulaire, 1995. *Circulaire DGS/VS/VS2-DH/EO n°17 du 19 avril 1995 relative à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé publics ou privés participants à l'exécution du service public*.
70. Circulaire, 1992. *Circulaire DGS/SDI.D/92 n°513 du 20 juillet 1992 relative à la qualité des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux*; Direction générale de la Santé.
71. Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, *100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales*. 1992.
72. Circulaire, 2000. *Circulaire DGS/VS 4 n°2000-336 du 19 juin 2000 relative à la gestion du risque microbien lié à l'eau minérale dans les établissements thermaux*; Direction générale de la Santé.
73. Circulaire, 1998. *Circulaire DGS n°98/771 du 31 décembre 1998 relative à la mise en oeuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux légionelles dans les installations à risque et dans celles des bâtiments recevant du public*; Direction Générale de la Santé.
74. Arrêté préfectoral, 1999. *Arrêt préfectoral de la ville de Paris du 27 avril 1999*; Paris.
75. Circulaire, 1999. *Circulaire DPPR/SEI/BAMET du 23 avril 1999*.
76. Ministère de l'économie et des finances, Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement et Ministère de l'emploi et de la solidarité, *Guide des bonnes pratiques: Legionella et tours aéroréfrigérantes*. 2001.
77. Patterson WJ, Hay J, Seal D et McLuckie J, *Colonization of transplant unit water supplies with legionella and protozoa: precautions required to reduce the risk of legionellosis*. J Hosp Infect, 1997. **37**: p. 7-17.
78. Barbaree J, Fields B, Feeley J, Gorman G et Martin W, *Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of Legionella pneumophila*. Appl Environ Microbiol, 1986. **51**(2): p. 422-4.

79. Bozue J et Johnson W, *Interaction of Legionella pneumophila with Acanthamoebae castellanii: uptake by coiling phagocytosis and inhibition of phagosome-lysosome fusion*. Inf Immunity, 1996: p. 668-73.
80. Comité Technique Régional de l'Environnement Hospitalier, *L'eau dans les établissements de santé*, ed. DRASS Rhône-Alpes. 1995, Lyon.
81. Direction générale de la santé et Centre scientifique et technique du bâtiment, *Qualité des installations de distribution d'eau destinée à la consommation humaine à l'intérieur des bâtiments. Guide technique n°1 bis*. 1987.
82. Circulaire, 2000. *Circulaire DGS/VS4 n°2000-232 du 27 avril 2000 relative aux matériaux utilisés dans les installations fixes de distribution d'eaux destinées à la consommation humaine relative à la consommation humaine*; Direction Générale de la Santé.
83. Arrêté, 1997. *Arrêté du 29 mai 1997 relatif aux matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'eau destinée à la consommation humaine, modifié par l'arrêté du 24 juin 1998 et par l'arrêté du 13 janvier 2000*; JO n°126 du 1 Juin 1997.
84. Circulaire, 2000. *Circulaire DG5/VS4 n°2000-166 du 28 mars 2000 relative aux produits et procédés de traitement des eaux destinées à la consommation humaine*; Direction générale de la santé.
85. Simon L, Rabaud C, DiMajo P, Blech M et Hartemann P, *Les procédures chimiques de désinfection d'un circuit d'eau à l'hôpital: avantages et inconvénients*. Hygienes, 1998. 6(6): p. 406-11.
86. Hartemann P, *De la température des eaux chaudes sanitaires en milieu hospitalier*. Hygienes, 1998. 6(6): p. 421-4.

ANNEXES

ANNEXE 1

RESEAU DE SURVEILLANCE DE LA LEGIONELLOSE EN FRANCE



ANNEXE 2

questionnaire à retourner à la DDASS de

LÉGIONELLOSE

- Maladie à déclaration obligatoire (décret du 10 juin 1986, modifié en 1987)
- Droit d'accès et de rectification par l'intermédiaire du médecin déclarant (loi du 6 janvier 1978)
- Centralisation des informations à l'Institut de Veille Sanitaire

Modalités de déclaration : **Pneumopathie associée à au moins un des résultats suivants :**

Cas confirmé :

1. isolement de *Legionella spp.* dans un prélèvement clinique
2. augmentation du titre d'anticorps (x4) avec un 2^{ème} titre minimum de 128
3. immunofluorescence directe positive
4. présence d'antigène soluble urinaire

Cas possible :

5. titre d'anticorps élevé (≥ 256)

Caractéristiques du malade :

Initiale du nom : _____ Prénom : _____

Sexe : M F Date de naissance : /___/___/___/ ou Âge : _____

Code postal du domicile : _____ Profession : _____

Signes cliniques :

Date des premiers signes : /___/___/___/ Pneumopathie confirmée radiologiquement : Oui Non

Évolution : Guérison Encore malade Décès Si OUI, date du décès : /___/___/___/

Confirmation du diagnostic :	Pos	Neg	Non effectué	Sérologie	
				1 ^{er} prélèvement	2 ^{ème} prélèvement
Culture	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Date /___/___/___/	Date /___/___/___/
Immunofluorescence directe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Titre 1 : _____	Titre 2 : _____
Antigène soluble urinaire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> En cours <input type="checkbox"/> Non effectué	<input type="checkbox"/> En cours <input type="checkbox"/> Non effectué

Espèce/sérogroupe

L. pneumophila sérogroupe 1 Autre espèce (préciser) : _____

L. pneumophila autre sérogroupe (préciser) : _____ En cours :

Facteurs favorisants

Hémopathie ou cancer Corticothérapie Autres immunosuppresseurs

Tabagisme Diabète Autres, préciser : _____

Exposition à risque (dans les 10 jours précédant les premiers signes de légionellose)

	Oui	Non	Période	Hôpital :
Hôpital	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	du /___/___/___/ au /___/___/___/	Service : _____
Station thermale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	du /___/___/___/ au /___/___/___/	Lieu : _____
Indiquer précisément les lieux (ville, pays) et types d'hébergements (adresse) (si besoin, détails sur une feuille jointe)				
Voyage, hôtel, Camping...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	du /___/___/___/ au /___/___/___/	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	du /___/___/___/ au /___/___/___/	_____
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	du /___/___/___/ au /___/___/___/	_____
Piscine, jacuzzi...	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	préciser : _____	_____
Autre exposition	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	préciser : _____	_____

Notion de cas groupés (cas liés aux mêmes lieux d'exposition dans les 6 derniers mois)

Oui Non, si oui, préciser :

Médecin déclarant

Nom : _____ Date de déclaration : /___/___/___/

Adresse : _____ Signature et tampon : _____

Téléphone : _____

Semaine de déclaration sur Minitel |___|___|
 (partie à remplir par la DDASS) SS AA
 N.B. Si un enquête environnementale a eu lieu, merci de joindre une copie du rapport à cette fiche de déclaration

ANNEXE 3

**SENSIBILITE ET SPECIFICITE DES METHODES DIAGNOSTIQUES
DE LA LEGIONELLOSE (d'après Edelstein, 1993)**

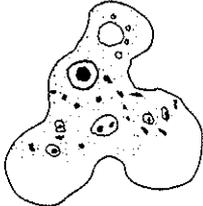
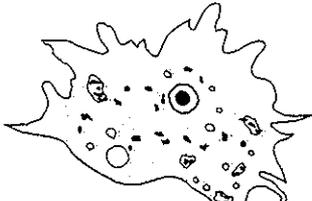
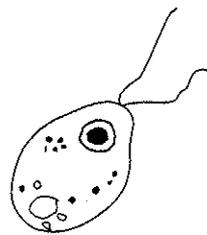
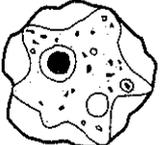
Méthodes	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Culture (sur milieu BCYEα)	-	
Sécrétions bronchiques ou lavage broncho-alvéolaire	80-90	100
Biopsie pulmonaire	90-99	100
Sang	10-30	100
Détection d'antigène de Lp1* dans les urines	80-99	99
Immunofluorescence directe (Lp1*)		
Biopsie pulmonaire	80-90	99
Sécrétions bronchiques ou lavage broncho-alvéolaire	25-75	95-99
Sérologie		
Augmentation du titre	75	95-99
Titre unique élevé	inconnue	50-70

* Lp1: Legionella pneumophila 1

ANNEXE 4

MORPHOLOGIE DE *NAEGLERIA FOWLERI* ET *ACANTHAMOEBA SP.*

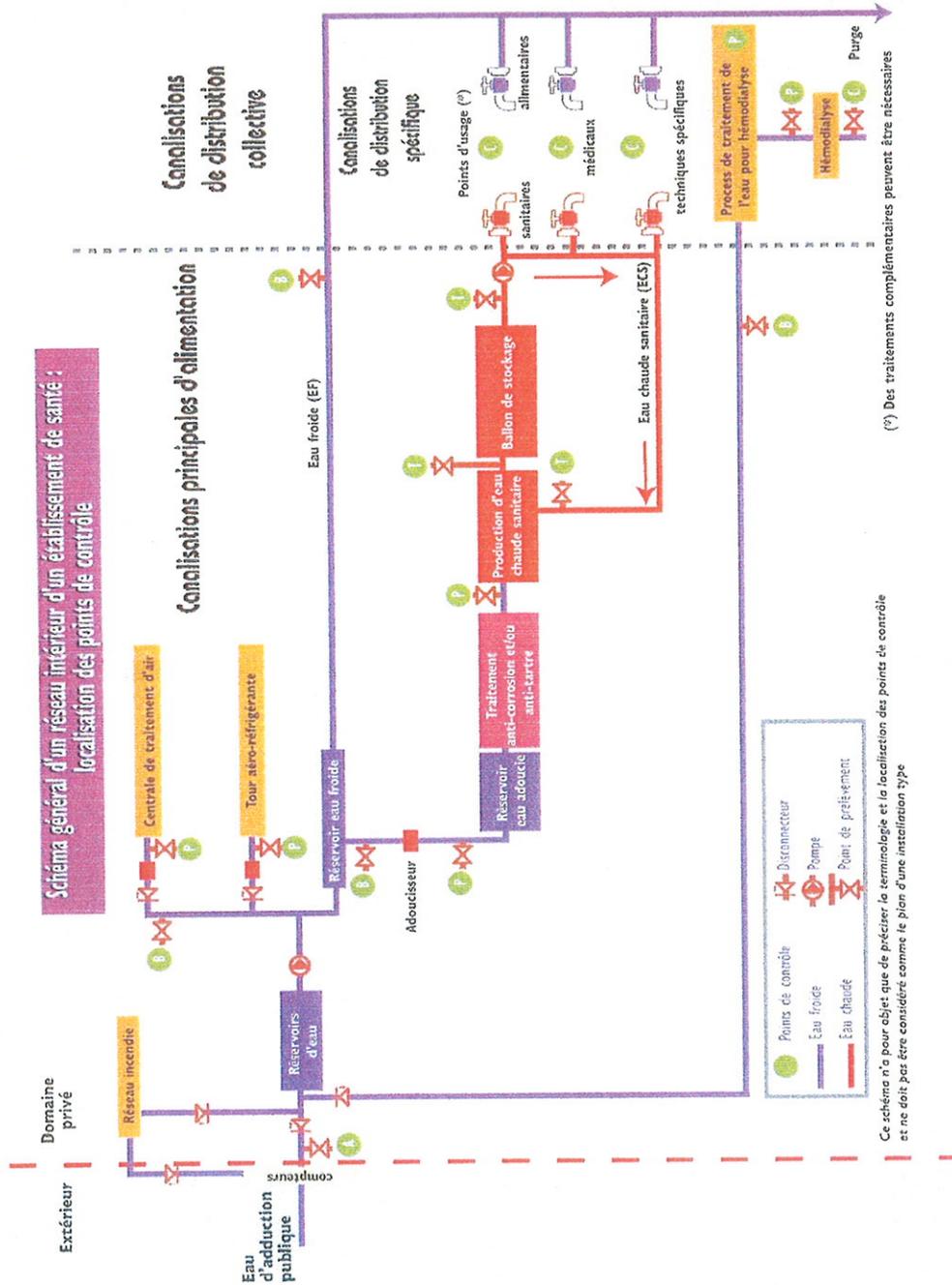
(d'après Bard et Siclet) (42)

	<i>Naegleria fowleri</i>	<i>Acanthamoeba sp.</i>
Forme végétative (trophozoïte)	 15 - 25 µm	 20 - 40 µm
Forme flagellée	 12 - 18 µm	absente
Forme kystique	 10 - 20 µm	 15 - 25 µm

ANNEXE 5

Schéma général d'un réseau d'un établissement de santé:

localisation des points de contrôles (58)



Points à maîtriser:

- A: à l'aval immédiat du compteur
- B: sur le réseau d'eau froide
- C: point d'usage après traitement
- P: à l'aval des traitements

ANNEXE 6

Exigences de la qualité physico-chimique de l'eau chaude sanitaire traitée (58)

Indicateur	Expression du résultat	Niveau maximal admissible	Niveau guide
Température	°C	60	
Dureté totale	Pas de limite inférieure pour les eaux adoucies ayant subi un traitement thermique pour la production d'eau chaude		
Sodium	mg/l	150	
Aluminium	mg/l	0,5	
Zinc	mg/l	5	
Phosphore	mg/l (P ₂ O ₅)	5	
Magnésium	mg/l	50	
Silice	mg/l (SiO ₂)	-	Si traitement par des silicates, augmentation en SiO ₂ <10 mg/l
Chlore résiduel	mg/l		0,1

ANNEXE 7

LISTE DES MALADIES A DECLARATION OBLIGATOIRE

Art.D.11-1. - La liste des maladies mentionnées à l'article L11 devant faire l'objet d'une transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire est la suivante:

Maladies infectieuses:

- botulisme;
- brucellose;
- choléra;
- diphtérie;
- fièvres hémorragiques africaines;
- fièvre jaune;
- fièvre typhoïde et fièvres paratyphoïdes;
- infection aiguë symptomatique par le virus de l'hépatite B;
- infection par le virus de l'immunodéficience humaine, quel que soit le stade;
- légionellose;
- listériose;
- méningite cérébrospinale à méningocoque et méningococcémies;
- paludisme autochtone;
- paludisme d'importation dans les départements d'outre-mer;
- peste;
- poliomyélite antérieure aiguë;
- rage;
- suspicion de maladie de Creutzfeldt-Jacob et d'autres encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles humaines;
- tétanos;
- toxi-infections alimentaires collectives;
- tuberculose;
- typhus exanthématique.

Autres maladies:

- saturnisme chez les enfants mineurs.

ANNEXE 8

Description de l'événement (joindre si nécessaire les documents établis par l'établissement, anonymisés)

.Nombre de cas certains ou probables: | | | | | Dont décédés : | | |

.Date de diagnostic du 1^{er} cas certain ou probable : | | | | | | | | |

.Secteur(s) d'activité(s) concerné(s)⁶ :

- Un secteur, lequel :
- Plusieurs secteurs, lesquels :
- Inconnu

.Procédure(s) de soin(s) concernée(s) : Connue(s) laquelle : Inconnu

.Dispositif médical concerné : Connue, lequel : Inconnu

.Possibilité d'exposition d'autres patients au même risque :

- oui.....si oui combien⁷ | | | | | Si oui, dépistage nécessaire
- non Inconnu

.Si plusieurs établissements sont concernés, lesquels :

.Microorganisme(s) en cause : Connue(s) le(s)quel(s) : Inconnu

.Profil de résistance (si applicable) :

.Site(s) anatomique(s) de l'infection : Unique, lequel Multiples, lesquels :

Investigations réalisées à la date du signalement (joindre si nécessaire les documents établis par l'établissement, anonymisés)

- oui
- non
- en cours

Mesures correctives prises à la date du signalement (joindre si nécessaire les documents établis par l'établissement)

- oui
- non

Mesures correctives à long terme à prévoir : oui non ne sait pas

Evolutivité de l'épisode : maîtrisé évolutif inconnu

Besoin d'expertise extérieure : oui non

Si oui : urgent .qui :

.pour quel motif (investigation, recommandations) :

.type d'expertise pour l'investigation :

- A définir épidémiologique microbiologique audit des pratiques autres :

. expertise pour l'élaboration de recommandations : oui non

si oui, précisez :

Appréciation du praticien en hygiène : Cas certain de signalement Cas possible de signalement

Commentaires :

Fait à Date : Signature:.....

A retourner sans délai à la DDASS et au C.CLIN (Adresses, Tél, Fax) :

⁶ Un secteur peut être une unité d'hospitalisation ou de consultation, un bloc opératoire, un service logistique

⁷ donner une estimation

Fiche 2001 de signalement des Infections Nosocomiales à transmettre sans délai à la DDASS et au CCLIN

Rappel : Selon le décret n° 2001-671 du 26 juillet 2001, certains cas d'infections nosocomiales doivent être signalés conjointement à la DDASS et au C.CLIN de votre inter-région (article R. 711-1-14). L'épisode qui doit être signalé peut être constitué de plusieurs cas d'infections nosocomiales, notamment lorsque les caractéristiques ou modalités de survenue du ou des premiers cas ne permettent pas d'emblée de répondre aux critères énoncés ci-dessous.

• **Etablissement** :

Code FINESS de l'établissement :

Adresse.....

.....

.....

Code postal | | | | |

• **Responsable du signalement (si différent du praticien en hygiène)**

Nom

Fonction

Tél

• **Personne contact (praticien de l'Equipe Opérationnelle d'Hygiène)**

Nom

Fonction

Tél : | | | | | | | | | | | | | | | |

Fax : | | | | | | | | | | | | | | | |

E-mail :

Evénement n°

Nombre de cas :

Date de début du 1^{er} cas | | | | | | | | | | | | | | | |

Motifs de signalement (à cocher obligatoirement)

- 1. infection nosocomiale ayant un caractère rare ou particulier, par rapport aux données épidémiologiques locales, régionales et nationales, du fait :
 - 1.a. de l'**agent pathogène** en cause (sa nature, ses caractéristiques, son profil de résistance aux anti-infectieux)
 - Agent pathogène envoyé au CNR : oui Date | | | | | | | | | | non
 - 1.b. de la **localisation** de l'infection chez la ou les personnes atteintes
 - 1.c. de l'utilisation d'un **dispositif médical**
 - Signalement de matériovigilance fait pour ce cas : oui Date | | | | | | | | | | non
 - 1.d. de procédures ou pratiques pouvant exposer ou avoir **exposé d'autres personnes** au même risque infectieux, lors d'un acte invasif
- 2. décès lié à une infection nosocomiale
- 3. infection nosocomiale suspecte d'être causée par un germe présent dans l'eau ou dans l'air environnant
- 4. maladie devant faire l'objet d'une transmission obligatoire de données individuelles à l'autorité sanitaire (en application de l'article R. 11-2) et dont l'origine nosocomiale peut être suspectée
 - D.O. faite pour cette maladie : oui Date de la DO | | | | | | | | | | non
- aucun des critères précédents n'est rempli :

Justification des critères de signalement (éléments de gravité, potentiel épidémique, caractère exceptionnel):

⁵ plusieurs cases peuvent être cochées

ANNEXE 9

Tableau n°1: Répartition des types de point de prélèvement selon la concentration en légionelles détectable ou non dans les établissements de santé de la région Sud-Ouest, du 1^{er} février au 31 mai 2001

Type de point de prélèvement	Concentration en légionelles		Total
	détectable	non détectable	
	n (%)	n (%)	n (%)
Ballon	20 (18,9)	13 (12,3)	33 (31,2)
Tour aéro-réfrigérante	5 (4,7)	5 (4,7)	10 (9,4)
Douche	25 (23,6)	12 (11,3)	37 (34,9)
Robinet	17 (16,0)	9 (8,5)	26 (24,5)
Total	67 (63,2)	39 (36,8)	106 (100)

Tableau n°2: Répartition des caractéristiques physico-chimiques et parasitologiques des prélèvements selon la concentration en légionelles détectable ou non dans les établissements de santé de la région Sud-Ouest, du 1^{er} février au 31 mai 2001

Caractéristiques physico-chimiques et parasitologiques		Concentration en légionelles		Total
		détectable	non détectable	
		n (%)	n (%)	n (%)
Amibes	absence	9 (8,5)	24 (22,6)	33 (31,1)
	présence	58 (54,7)	15 (14,2)	73 (68,9)
Conductivité	< 500 μ S/cm*	39 (36,8)	31 (29,2)	70 (66,0)
	\geq 500 μ S/cm*	28 (26,4)	8 (7,6)	36 (34,0)
Température	< 50°C**	54 (50,9)	21 (19,8)	75 (70,7)
	\geq 50°C**	13 (12,3)	18 (17,0)	31 (29,3)

*microSiemens par centimètre

**degré Celsius

Tableau n°3: Répartition des caractéristiques physico-chimiques des prélèvements selon la concentration en légionelles détectable ou non dans les établissements de santé de la région Sud-Ouest, du 1er février au 31 mai 2001

Caractéristiques physico-chimiques	Concentration en légionelles				Total	
	détectable		Non détectable		m*	IC**
	m*	IC**	m*	IC**		
Température	39,0	36,3 – 41,8	44,4	39,0 – 49,7	41,0	38,4 – 43,7
Dureté	12,4	11,0 – 13,8	8,6	7,1 – 10,1	11,0	9,9 – 12,1
PH	7,7	7,6 – 7,9	7,8	7,7 – 8,0	7,8	7,7 – 7,9
Conductivité	708	562 - 855	610	390 - 831	673	550 - 796

*moyenne

**IC: intervalle de confiance à 95%

Tableau n°4 : Codage des différentes variables utilisées pour le développement des deux modèles

Variable	Définition	Codage
LEGIO	Concentration en légionelles détectable (supérieure ou égale à 50 UFC/L)	Variable dépendante du modèle <u>logistique</u> 0 = non 1 = oui
LOGLEGIO	Log ₁₀ de la concentration en légionelles	Variable dépendante du modèle <u>linéaire</u> Variable quantitative continue
ETAB	Site du CHU ou établissement de santé où le prélèvement a été effectué	Etablissements de santé codés de 1 à 10 1 = ballon 2 = tour aéro-réfrigérante 3 = douche 4 = robinet
POINT	Point du réseau de distribution d'eau prélevé	0 = non 1 = oui
AMIBES	Présence d'amibes dans le prélèvement	0 = non 1 = oui
TPI	Température du prélèvement supérieure ou égale à 50°C*	0 = non 1 = oui
PH	Mesure du pH (sans unité)	Variable continue
DURETE	Mesure de la dureté (°F**)	Variable continue
CONDI	Conductivité supérieure ou égale à 500 µS/cm***	0 = non 1 = oui

* degré Celsius

** degré Français

*** microSiemens par centimètre

Tableau n°5: Modèle de régression logistique à effet aléatoire obtenu à la fin de la procédure pas à pas descendante et incluant les variables dureté et présence d'amibes

LEGIO	Modèle final de régression logistique à effet aléatoire			
	Coefficient β	OR*	IC à 95% de OR**	p-value***
Dureté	0,149	1,16	1,01 – 1,33	0,031
Présence d'amibes	2,791	16,29	3,81 – 69,74	$<10^{-4}$

*Odds Ratio

**Intervalle de confiance à 95% de l'odds ratio

***Test de Wald

Tableau n°6: Modèle de régression linéaire simple obtenu à la fin de la procédure pas à pas descendante et incluant les variables point de prélèvement, pH et température

LOGLEGIO	Modèle final de régression linéaire simple	
	Coefficient β	p-value*
Tour aéro-réfrigérante	-1,285	0,144
Douche	-0,169	0,637
Robinet	-0,952	0,008
PH	1,089	0,026
Température	-0,949	0,012

*Test F partiel

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples:

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

BON A IMPRIMER N° 348

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME

Les légionelles, bactéries présentes dans l'eau, transmises par des aérosols contaminés et incriminées dans la Maladie des Légionnaires, ont été découvertes à la suite de l'épidémie de Philadelphie en 1976 au cours d'un congrès de l'American Legion. Depuis, de nombreuses études ont été menées afin de mieux connaître ce micro-organisme et de définir les conditions environnementales favorables à sa présence et à sa multiplication. Malgré une meilleure connaissance des légionelles et un cadre réglementaire complet vis à vis de l'eau destinée à la consommation humaine, de la surveillance et de la prévention de la légionellose, la contamination importante des réseaux de distribution d'eau rend difficile la maîtrise du risque "légionelles". Les établissements de santé sont principalement incriminés dans ce problème de santé publique du fait de la population fragilisée qu'ils accueillent et de l'écosystème particulier que constituent leurs vastes réseaux de distribution d'eau chaude sanitaire et leurs tours aérorefrigérantes. Au cours de notre étude réalisée dans différents établissements de santé de la région Sud-Ouest en France, nous avons pu confirmer et démontrer les facteurs physico-chimiques et microbiologiques favorisant la présence de *Legionella* tels que la température entre 20 et 50°C, la présence d'amibes libres, le pH, le type de points de prélèvement et la dureté de l'eau. En tenant compte des connaissances acquises sur les légionelles, des caractéristiques particulières des établissements de santé et de la réglementation française en vigueur, nous avons discuté les conduites à tenir pour gérer au mieux le risque "légionelles" dans ces établissements. Une réflexion sur la conception des réseaux, le choix de matériaux adaptés et l'efficacité des traitements préventifs et curatifs utilisés doivent nous aider à maîtriser au mieux ce risque en maintenant une qualité de l'eau nécessaire pour la démarche de qualité des soins dans laquelle nous nous sommes engagés.

TITRE

Management of "*Legionella*" risk in health establishments

ABSTRACT

Legionella, bacteria present in water, transmitted by contaminated aerosols causes Legionnaires'disease, was discovered following the epidemic of Philadelphia in 1976 during an American Legion Convention. Since then, numerous studies have been carried out to find out more and define environmental conditions conducive to its presence and its reproduction. Despite knowing more about this bacteria and taking into account texts which stipulate certain rules and regulations concerning water intended for the human consumption, the control and the prevention of the legionellosis, the high level of contamination in the distribution network of water makes difficult the control of the risk of *Legionella*. Health establishments are mainly incriminated in this public health problem because of the weakened population whom they welcome, and of the particular ecosystem which is constituted in their vast water-distribution network and their cooling towers. During a study carried out on various health establishments in the southwest region of France, we confirmed and demonstrated the physico-chemical and microbiologic factors such as the temperature between 20°C and 50°C, the presence of free amoebas and the hardness of the water, which favour the presence of *Legionella*. By taking into account knowledge acquired on *Legionella*, particular characteristics of the health establishments and french rules and regulations, we discussed the procedures to be carried out in order to control at best the risk of *Legionella* in these establishments. A reflection in the conception of water-distribution network, the choice of adapted materials and the effectiveness of the preventive and curative measures should help us to control this risk better by ensuring a certain level of water quality, for the quality approach in the care in which we are committed to respect.

DISCIPLINE

Hygiène Hospitalière

MOTS-CLES

légionelles – amibes – eau – réseau - établissements de santé - qualité

Service d'Hygiène Hospitalière, Hôpital Pellegrin, CHU de BORDEAUX