

Année Universitaire : 2010-2011

**Master Sciences et Techniques : CMBA
Chimie des Molécules Bio Actives**



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et
Techniques

Proposition d'une stratégie de surveillance de la
qualité de l'eau dans un établissement de santé

Présenté par:

Melle. CHAHID KSABI Rababe

Encadré par:

- Nom et prénom : Pr. OUMOKHTAR Bouchra
- Nom et prénom : Pr. KHALIL Fouad

Soutenu Le 24 Juin 2011 devant le jury composé de:

- | | |
|---------------------------------------|-------------------|
| - M ^{me} . OUMOKHTAR Bouchra | Encadrante |
| - Mr . FOUAD Khalil | Encadrant |
| - M ^{me} . SQALI Ouafae | Jury |
| - Mr . EL OUALI LALAMI Abdelhakim | Jury |
| - Mr . LAMCHARFI Elhadi | Jury |

Stage effectué au laboratoire de Microbiologie de La Faculté de Médecine et de
Pharmacie de Fès

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Nom et prénom: CHAHID KSABI Rababe

Année Universitaire : 2010/2011

Titre: Proposition d'une stratégie de surveillance de la qualité de l'eau dans un établissement de santé

Résumé

La dégradation de la qualité microbiologique de l'eau dans le réseau intérieur de distribution des établissements de Santé est liée à la prolifération des micro-organismes présents naturellement dans l'eau. Or, l'eau du réseau intérieur est utilisée pour divers usages, alimentaires, sanitaires, médicaux et techniques, qui nécessitent, outre le maintien de la potabilité, une maîtrise permanente de la contamination par des micro-organismes pathogènes opportunistes dans les secteurs à risques.

Dans ce travail, la maîtrise de la qualité de l'eau dans un établissement de santé a consisté à tracer un plan du réseau d'eau, à analyser les risques infectieux hydriques pour les patients en fonction des usages de l'eau et de mettre en place des actions correctives, en cas de dérive par rapport à des niveaux cibles. En outre, 87 prélèvements de différents types d'eau ont été réalisés de Février à Mai 2011 : 53 échantillons d'eau de réseau, 25 d'eau bactériologiquement maîtrisée, 6 prélèvements d'eau chaude sanitaire et 2 échantillons d'eau pour hémodialyse.

En milieu médicalisé, la qualité de l'eau de distribution utilisée pour certaines techniques doit répondre à d'autres critères que la simple potabilité pour assurer une sécurité sanitaire maximale aux patients fragiles et immunodéprimés. Les établissements de santé devraient établir, mettre en œuvre et maintenir une démarche de qualité qui s'appuie sur l'évaluation des risques infectieux hydriques pour les patients et sur un suivi programmé des mesures de prévention de la contamination de l'eau, avec des actions correctives préétablies en cas de dérive.

Mots clés: Surveillance/réseau d'eau/catégories d'eau/qualité/établissement de santé/prévention.

Sommaire

Introduction générale.....	1
<u>Revue bibliographique</u>	
Chapitre I : Conception des installations de distribution d'eau dans un établissement de santé	
I.1.Réseau intérieur d'un établissement de santé.....	2
I.2.Différents traitements de l'eau.....	3
I.3.Actions de maintenance et d'entretien.....	6
I.4.Causes de la dégradation de l'eau.....	7
I.5.Stratégie d'action en cas de dépassement des limites de qualité.....	9
Chapitre II : Risques sanitaires liés à l'eau dans les ES	
II.1.Risques infectieux et parasitaires.....	12
II.2.Risques toxiques.....	13
II.3.Indicateurs de qualité physico-chimiques et bactériologiques de l'eau.....	13
Chapitre III: Typologie de l'eau dans un ES	
III.1.Eau ne subissant aucun traitement dans un ES.....	17
III.2.Eaux spécifiques, traités au sein de l'ES et répondant à des critères définis en fonction des usages.....	19
<u>Matériels et méthodes</u>	
I.Présentation de l'étude.....	23
II.Proposition d'une stratégie de surveillance de la qualité d'eau.....	23
II.1.Plan de masse du CHU de Fès.....	23
II.2.Méthode de prélèvement.....	26
II.3.Analyses physico-chimiques.....	27
II.4.Analyses microbiologiques.....	29
II.5.Identification biochimique des bactéries isolées.....	33
<u>Résultats</u>	
I.Stratégie de surveillance de l'eau du CHU de Fès.....	38
I.1.Plan de surveillance de la qualité de l'eau du CHU de Fès.....	38
I.2.Catégorisation de l'eau du CHU de Fès.....	38
I.3.Points de contrôle et fréquences de prélèvement.....	38
I.4.Stratégie d'action et mesures correctives.....	40
II.Résultats du prélèvement d'eau de réseau au CHU de Fès.....	42
II.1.Eau de réseau.....	42
II.2.Eau bactériologiquement maîtrisée.....	44
II.3.Eau chaude sanitaire.....	44
II.4.Eau pour hémodialyse.....	45
Discussions.....	45
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	48

Liste des tableaux

- Tableau 1 : Typologie des différentes eaux dans un établissement de santé
- Tableau 2 : Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau à usage alimentaire
- Tableau 3 : Paramètres physico-chimiques de l'eau à l'entrée de l'établissement de santé
- Tableau 4 : Paramètres microbiologiques de l'eau bactériologiquement maîtrisée
- Tableau 5 : Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau chaude sanitaire
- Tableau 6 : Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau à hémodialyse
- Tableau 7 : Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau purifiée
- Tableau 8 : Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau hautement purifiée
- Tableau 9 : Services spécialisés du CHU de Fès
- Tableau 10 : Hôpital mère- enfant, Aile G
- Tableau 11 : Nombre et localisation des prélèvements
- Tableau 12 : Différents points de contrôle de types d'eau avec leurs fréquences
- Tableau 13 : Action corrective au point A (analyses microbiologiques et physico-chimiques)
- Tableau 14 : Action corrective au point C (analyses microbiologiques)
- Tableau 15 : Action corrective au point B (analyses microbiologiques et physico-chimiques)
- Tableau 16 : Action corrective pour l'eau chaude sanitaire
- Tableau 17 : Résultats des analyses physico-chimiques pour l'eau du réseau selon la NM

Liste des figures

Figure 1 : Schéma général d'un réseau intérieur d'un ES avec localisation des points de Contrôle

Figure 2 : Schéma d'un adoucisseur

Figure 3 : Adhésion d'une bactéries à un support inerte et formation d'un biofilm

Figure 4 : Schéma de stratégie d'action en cas de dépassement des numérations bactériennes au point d'usage

Figure 5 : Plan de masse de l'ES CHU de Fès

Figure 6 : Schéma de la recherche des legionelles : Eau à analysée (EA)- 1 litre

Figure 7 : Différents aspects de Legionella pneumophila sur BCYE

Figure 8 : Schéma du réseau intérieur du CHU de Fès avec localisation des points de contrôle

Figure 9 : Pourcentage de conformité par Flore bactéries des prélèvements de l'eau de réseau

Figure 10 : Résultats des analyses bactériologiques concernant l'eau bactériologiquement Maitrisée

Liste des abréviations

Bat : Bâtiment

BCYE : Buffered Charcoal Yeast Extract

BOC : Bloc Opératoire de Chirurgie

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CLIN : Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales

EBM : Eau Bactériologiquement Maitrisée

ECS : Eau Chaude Sanitaire

ES : Etablissement de Santé

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

IN : Infection Nosocomiale

NF : Norme Française

NM : Norme Marocaine

NMA : Niveau Maximal Admissible

RT : Réseau Type

UFC : Unité Formant Colonies

URG : Urgence

Références bibliographiques

(1): Les réseaux types sont définis dans le guide technique de conception et de mise en œuvre des réseaux d'eau destinée à la consommation humaine à l'intérieur des bâtiments de 2003.

(2) : Groupe Eau – Santé. Eaux des établissements de santé : qualité de l'eau aux points d'usage, mai 2003.

(3) : Ministère de la santé et des solidarités. L'eau dans les ES. Guide technique, juillet 2005)

(4) : F.Squinazi, Risques infectieux liés à l'eau (ville et hôpital) 2010; 60-595-B-50).

(5) : Groupe Eau – Santé. Eaux des établissements de santé : lexique pratique, septembre 2006.

(6) : Article R.*1321-48 du code de la santé publique.

(7) : La liste des matériaux organiques, ayant une attestation de conformité sanitaire est actualisée régulièrement par la Direction générale de la santé. La liste en date du 1er mars 2003, figure dans la lettre circulaire DGS/SD7A n°867 du 2 juin 2003 relative aux matériaux placés au contact d'eau destinée à la consommation humaine.

(8) : la circulaire du 7mai 1990 (modifiée par la circulaire du 28mars 2000).

(9) : l'article 36 de l'arrêté du 23 juin 1978 relatif aux installations fixes destinées au chauffage et à l'alimentation en eau chaude sanitaire des bâtiments d'habitation, de bureaux ou locaux recevant du public.

(10) : Circulaire n°2002-243 du 22 avril 2002 relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements de santé.

(11) : Fabien Squinazi , **Présentation du nouveau guide ASPEC « La biocontamination – Salles propres, environnements maîtrisés & zones de confinement ».**

(12) : Groupe Eau – Santé. Eaux des établissements pour personnes âgées : maîtrise des risques sanitaires, juin 2008.

(13) : RUDNICK J.R., BECK-SAGUE C.M., ANDERSON R.L., SCHABLE M., MILLER J.M., JARVIS W.R., Gram-negative bacteremia in open-heart-surgery patients traced to probable tap-water contamination of pressure monitoring equipment. *Inf. Contr. & Hosp. Epidemiol*, 1996, 17 : 281-285.

KOLMOS H.J., THUESEN B., NIELSON S.V., LOHMANN M., KRISTOFFERSEN K. et ROSDAHL V.Y., Out-break of infection in a burns unit due to *Pseudomonas aeruginosa* originating from contaminated tubing used for irrigation of patients. *J. of Hosp. Inf.*, 1993, 24 : 11.21.

(14): DE JONCKEERE J.F., Hospital hydrotherapy pools treated with ultra violet light : bacteriological quality and presence of thermophilic *Naegleria*. *J. Hyg.*, 1982, 88 : 205-214.

(15): DAS A.S., MAZUMDER D.N., PAL D. et CHATTOPADHYAY U.K., A study of nosocomial diarrhea in Calcutta. *Ind. J. of Gastroenterol*, 1996, 15, 12 – 13.

PICARD B., ARLET G. et GOULLET P., Origine hydrique d'infections hospitalières à *Aeromonas hydrophila*, *La presse médicale*, 1983, 12, 11 : 700-701.

(16) : Normes marocaines nationales pour le contrôle des eaux de boisson, 01.07.001, 03.7.059 ; 03.07.004 ; 03.7.034 ; 03.7.002

(17) : la circulaire n°429 du 8 avril 1975 relative aux problèmes d'hygiène publique dans les établissements hospitaliers.

(18) : AFNOR. Norme NF T 90-414. Essai des eaux. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants. Méthode générale par filtration sur membrane.

(19) : AFNOR. Norme NF EN26461-2. Qualité de l'eau .Recherche et dénombrement des spores de microorganismes anaérobies sulfito-réducteurs.

- (20) : Floret N, Bertrand X, Thouverez M, Talon D. Infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* : origine exogène ou endogène de la bactérie responsable ? *Pathol Biol* 2009;57(1):9–12.
- (21) : Richet H. Prise en charge d'une épidémie à *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003;544–7.
- (22) : Berthelot P, Grattard F, Mallaval FO, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. Pathologie. épidémiologie des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathol Biol* 2005;53 (6):341–8.
- (23) : C.C. Adjidé a,* , A. De Meyer a, M. Weyer a, O. Obin a, F. Lamory a, C. Lesueur b, L. Trouillet a, M. Biendo a,b, F. Ebb, O. Ganry a. *Stenotrophomonas maltophilia* and *Pseudomonas aeruginosa* water associated microbiologic risk assessment in Amiens' University Centre; 4 novembre 2009.
a Unité d'hygiène et épidémiologie hospitalière, service d'épidémiologie hygiène hospitalière et santé publique, CHU d'Amiens, 1, place Victor-Pauchet, 80054 Amiens cedex 01, France.
b Unité de bactériologie clinique, service de bactériologie, CHU d'Amiens, hôpital Nord, 1, place Victor-Pauchet, 80054 Amiens cedex 01, France.
- (24) : Yves levi ; écologie microbienne des réseaux d'eau potable et risque microbiologique ; exemple *Legionella pneumophila* ; 10 octobre 2001.
- (25) : Gutiérrez F, Masiá M, Rodríguez JC, Mirete C, Soldán B, Padilla S, et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adult patients at the dawn of the 21st century: a prospective study on the Mediterranean coast of Spain. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:788—800.
- (26) : Stout JE, Yu VL. Legionellosis. *N Engl J Med* 1997;337:682—7.
- (27) : Fields BS, Benson RF, Besser RE. Legionella and Legionnaires' disease: 25 years of investigation. *Clin Microbiol Rev* 2002 Jul;15(3):506—26.
- (28) : J.-R. Zahar^a, A. Kouatchet^b: Legionnaires' disease: "Mise au point", 11 février 2008.
a Équipe mobile d'infectiologie, service de microbiologie et d'hygiène, CHU Necker—Enfants-Malades, université René-Descartes Paris-V, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.
b Département de réanimation médicale et médecine hyperbare, CHU d'Angers, université d'Angers, 49035 Angers cedex 09, France.
- (29) : **Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé** Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN, 2002.
- (30) : la directive européenne 98/83/CE relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine.
- (31) : L'article L1321-1 du code de la santé publique.
- (32) : C.CLIN Sud-Est – Janvier 2006
-Numération de la flore aérobie revivifiable à 22°C et 37°C ,la norme EN ISO 6222.
-coliformes totaux et d'*Escherichia coli* (normes AFNOR NFT 90-414 / ISO 9308-1).
-entérocoques (norme AFNOR NFT 90-416 / ISO 7899-2).
- bactéries sulfite-réductrices y compris les spores si les eaux subissent un traitement de filtration (norme AFNOR NF EN 26461).
- (33) : Groupe Eau – Santé. Eaux des établissements de santé : qualité de l'eau des réseaux intérieurs, décembre 2000.
- (34) : Arrêté du ministre de la santé n° 808-02 du 25 hijja 1423 (27 février 2003) fixant les normes techniques des centres d'hémodialyse circulaire ministérielle
- (35) : COFRAC,Recommandations et exigences relatives au prélèvement de l'eau applicables dans le cadre des programmes 100-1 ou 100-2 document 1006, 1999.
- (36) : Recherche de legionella dans l'eau par mis en culture Norme NF T 90- 431 (93), 06/04/2007.

- (37) : Hart T, schers P. (2002) Atlas de poche de microbiologie. 3^{ème} tirage.
- (38) : Murray P.R. (1995). Manual of microbiology. 6th ed. ASM press wachinton DC.
- (39): Standards new Zealand. 2001. DZ8149_Guideline for microbiological surveillance of flexible hollow endoscopes. Wellington, New zetland.
- (40): Stout JE, Yu VL. Legionella in the hospital water supply: a plea for decision making based on evidence-based medicine. Infect Control Hosp Epidemiol 2001;22:670–2.
- (41): Rangel-Frausto MS, Rhomberg P, Hollis RJ, Pfaller MA, Wenzel RP, Helms CM, et al. Persistence of Legionella pneumophila in a hospital's water system: a 13-year survey. Infect Control Hosp Epidemiol 1999;20: 793–797.
- (42) : NF EN ISO 14698-1 (mars 1999). Salles propres et environnements maEtrisCs apparentes - Maitrise de la biocontamination - Partie 1 : Principes generaux.
- (43): Bert F, Maubec E, Bruneau B, Berry P, Lambert-Zechovsky N. Multiresistant Pseudomonas aeruginosa outbreak associated with contaminated tap water in neurosurgery intensive care unit. J Hosp Infect 1998;39 (1):53–62.
- (44): Ferroni A, Nguyen L, Pron B, Quesne G, Brusset MC, Berche P. Outbreak of nosocomial urinary tract infections due to Pseudomonas aeruginosa in a paediatric surgical unit associated with tap water contamination. J Hosp Infect 1998;39(4):301–7.
- (45) : Engelhart S, Krizek L, Glasmacher A, Fischnaller E, Marklein G, Exner M. Pseudomonas aeruginosa outbreak in a haematology-oncology unit associated with contaminated surface cleaning equipment. J Hosp Infect 2002;52:93–8.
- (46): Berthelot P, Grattard F, Mallaval FO, Ros A, Lucht F, Pozzetto B. Pathologie.Epidemiologie des infections nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia et Stenotrophomonas maltophilia. Pathol Biol 2005;53 (6):341–8.
- (47) : A. Lashéras a,* , O. Guisset b, H. Boulestreau a, A.-M. Rogues a, M. Fiore a, S. Szajner a, M.-C. Bezian c, C. Gabinski b, J.-P. Gachie a
a Service d'hygiène hospitalière, hôpital Pellegrin, place Amélie-Raba-Léon, 33076 Bordeaux cedex, France
b Unité de réanimation médicale, hôpital Saint-André, 33076 Bordeaux cedex, France
c Laboratoire de bactériologie, hôpital Saint-André, 33076 Bordeaux cedex, France
Reservoirs and transmission of Pseudomonas aeruginosa in intensive care unit
- (48): NF EN 26461-2 – qualité de l'eau – recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (*clostridia*)).

Introduction générale

L'eau est un élément essentiel au fonctionnement des établissements de santé, mais elle peut constituer une source d'infections graves, en cas de contamination, particulièrement pour les patients les plus fragiles. Plusieurs épidémies ou cas sporadiques d'infections nosocomiales liées à l'utilisation de l'eau du réseau intérieur ont été documentés. Les micro-organismes incriminés proviennent de la flore hydrique ou de la flore hospitalière notamment des bacilles à Gram négatif, coques ou bacilles à Gram positif ou autres bactéries particulières, comme les légionelles et les mycobactéries atypiques.

En milieu médicalisé, la qualité de l'eau de distribution utilisée pour certaines techniques de soins (douches hygiéniques...), pour le rinçage de dispositifs médicaux désinfectés (bronchoscopes...), pour la boisson ou la toilette de patients fragiles (immunodéprimés, brûlés...) doit répondre à d'autres critères que la simple potabilité pour assurer une sécurité sanitaire maximale aux patients.

La maîtrise permanente de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau du réseau intérieur de distribution conduit à établir, à mettre en œuvre et à maintenir une démarche de qualité qui s'appuie sur l'évaluation des risques infectieux hydriques pour les patients et sur un suivi programmé des mesures de prévention de la contamination de l'eau, avec des actions correctives préétablies en cas de dérive.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès. L'objectif a été de proposer une stratégie de surveillance de la qualité des eaux desservies au sein du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès. Ça consiste à faire une catégorisation des types d'eau utilisée à l'hôpital, notifier les principaux services à risques (réanimation, néonatalogie, blocs opératoires...etc), et déterminer des points de contrôles. Pour appliquer cette stratégie, nous avons effectué plusieurs contrôles microbiologiques et physico-chimiques sur les différents types d'eaux provenant de différents services de l'hôpital.

Chapitre I : Conception des installations de

distribution d'eau dans un établissement de santé

La maîtrise de la qualité de l'eau dans un établissement de santé représente une difficulté importante, un souci permanent et une grande responsabilité, du fait de la grande diversité des lieux et des types d'usages médicaux où les risques éventuels sont d'autant plus sensibles qu'un certain nombre de malades, donc d'usagers de l'eau, sont dans un état de fragilité particulière.

I.1. Réseau intérieur d'un établissement de santé

Pour atteindre l'objectif d'une structuration optimale des réseaux, il y a lieu de procéder en trois étapes :

- *Identifier tous les points d'usage ou postes utilisateurs,
- *Déterminer, pour chacun de ces points d'usages ou postes utilisateurs, la qualité de l'eau nécessaire ou exigée en référence à la typologie qui sera présentée dans le chapitre III ;
- *Répartir ces usages sous forme de réseaux spécialisés dénommés "Réseaux Types".

I.1.1. Réseaux types

L'eau du réseau de distribution à l'intérieur d'un établissement de santé ES dessert généralement de nombreux usages : alimentaires, sanitaires, ainsi que les soins ou les actes médicaux [1]. Ces réseaux types sont au nombre de 5 et sont définis comme suit :

- ****les eaux à usage alimentaire (RT1)*** : boisson, préparation des repas, glace alimentaire ...
- ****les eaux à usage sanitaire (RT2)*** : hygiène des patients, entretien des locaux...
- ****les eaux à usage médical (RT3)*** : lavage des mains, lavage des plaies, balnéation, nettoyage et désinfection des matériels médico-chirurgicaux, hémodialyse ...
- ****les eaux à usage technique du bâtiment (RT4)*** : chauffage, lutte anti-incendie, refroidissement des moteurs, traitement de l'air...
- ****les eaux à usage technique spécifique (RT5)*** : stérilisation, laboratoires, automates, blanchisserie, lave-vaisselle ...

I.1.2. plan de surveillance de la qualité de l'eau dans un ES

La nécessité de surveiller la qualité de l'eau délivrée dans l'établissement conduit à déterminer des points de prélèvement. Le contrôle de ces points a des objectifs différents selon leur localisation (**Figure 1**) [2]:

***Point A** : situé à l'aval immédiat du compteur, il rend compte de la qualité de l'eau à l'arrivée de l'établissement et fournit l'analyse de référence

***Points B** : situés sur le réseau d'eau froide, ils sont placés le plus loin possible du point A, en amont des traitements complémentaires éventuels et permettent d'évaluer la dégradation de la qualité de l'eau liée aux réseaux intérieurs de l'établissement

***Points C** : il correspond aux points d'usage de l'eau dans l'établissement et représentent le premier point de contact de l'eau avec le patient ou le personnel soignant ou les dispositifs médicaux. Quand aucun traitement complémentaire n'est nécessaire, un point B peut être assimilé à un point C.

***Points P** (process) : il est nécessaire au contrôle de l'efficacité du process des différents traitements.

***Points T** (traitement thermique) : situés sur le réseau d'eau chaude sanitaire, ils sont spécifiques à la maîtrise des risques liés à la production et au stockage de l'eau chaude.

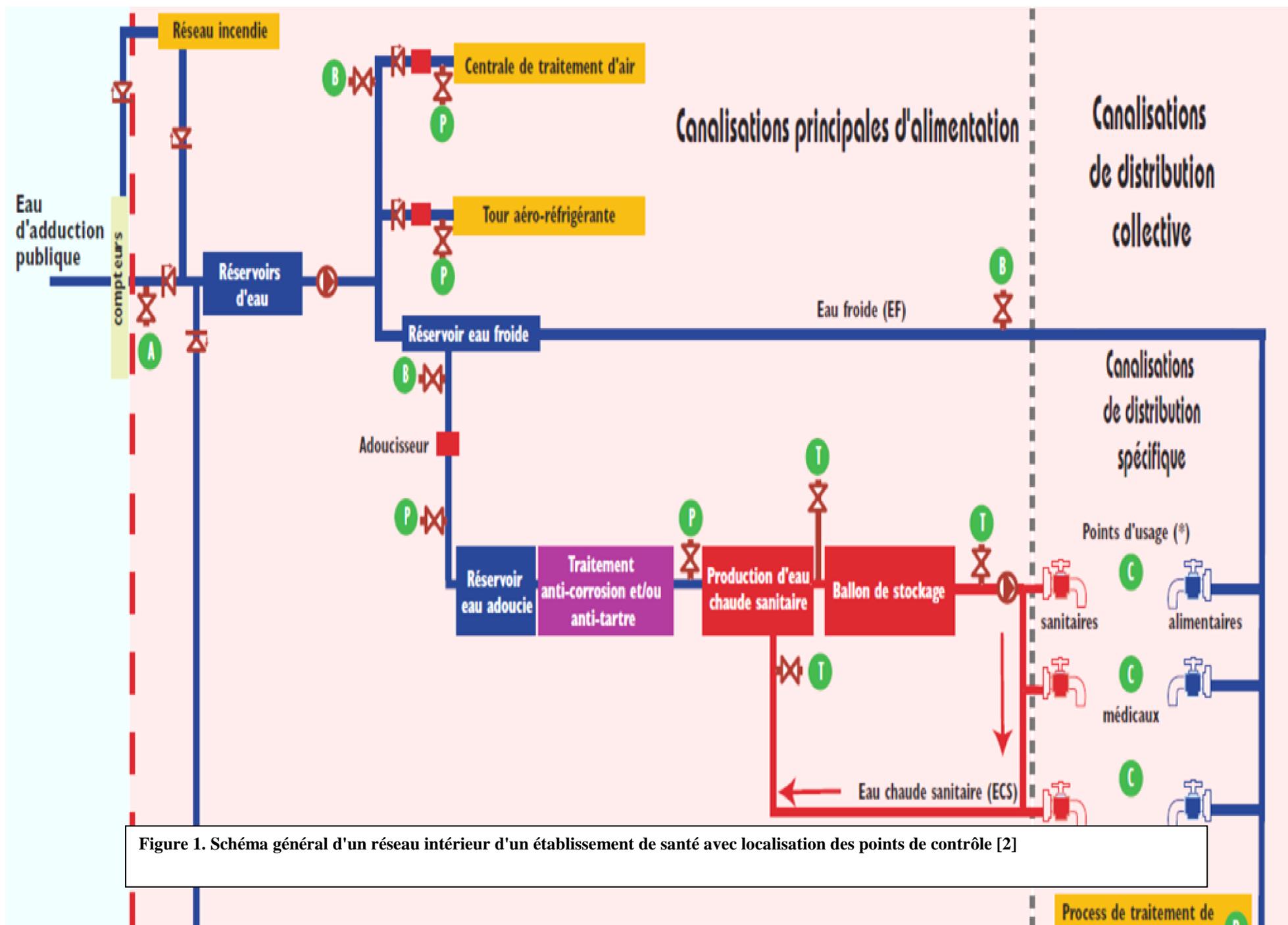
1.2. Différents traitements de l'eau

En fonction de la qualité de l'eau délivrée au compteur, il peut être utile, voire indispensable, d'appliquer des traitements, en particulier sur l'eau à l'entrée de l'ES et aussi à la production d'eau chaude [3].

Les traitements les plus souvent appliqués sont énumérés ci-dessous.

1.2.1. Macrofiltration

Elle consiste à poser des filtres à poche ou à décantation, en aval du compteur général à l'entrée du bâtiment ou sur le réseau alimentant la production d'eau chaude. Ces filtres ont pour fonction de retenir les dépôts de fer ou de tartre apportés par l'eau du réseau [4].



1.2.2. Traitement contre l'entartrage

Le fait d'élever la température entraîne des modifications des paramètres physicochimiques de l'eau, qui peuvent aboutir à la formation de tartre.

L'adoucissement a pour objectif de limiter l'entartrage des canalisations et des équipements de distribution d'eau (dépôt de carbonate de calcium et de magnésium) [5]. Les ions calcium (Ca^{++}) et magnésium (Mg^{++}) sont remplacés par des ions sodium (Na^+).

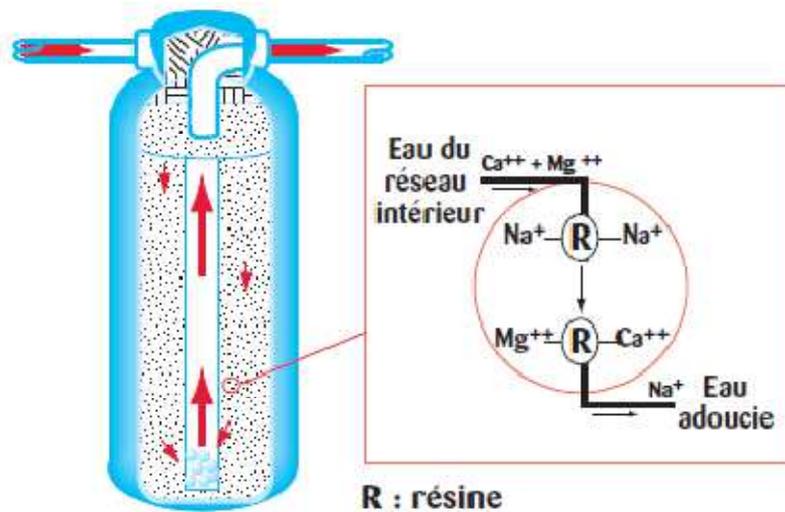


Figure 2. Schéma d'un adoucisseur [5]

1.2.3. Traitement contre la corrosion

Pour lutter contre la corrosion des matériaux dans les réseaux, divers procédés sont envisagés [3]:

- *Utilisation de matériaux peu corrodables par enrichissement des alliages avec des éléments particuliers comme le chrome, le nickel, le titane...etc.
- *Utilisation d'une électrode en amalgame d'aluminium et de magnésium.
- * L'injection de produits filmogènes crée une couche de protection.

1.2.4. Traitements anti-microbiens

Ils doivent être transitoires dans l'attente d'une intervention sur les causes de la dégradation de la qualité de l'eau.



*** Traitements de désinfection curatifs des réseaux**

Les traitements de désinfection curatifs des réseaux comprennent des chocs chimiques (chloration) et/ou chocs thermiques (85°C pendant 30 min). Ils sont mis en œuvre lors de la mise en évidence de fortes concentrations de micro-organismes dans l'eau et/ou en cas d'infections liées à l'eau (légionellose, etc.). Ils doivent rester exceptionnels et de courte durée.

La désinfection est réalisée sur un réseau hors service.. Suite à ce traitement curatif, des actions correctives sont nécessaires pour limiter la recolonisation du réseau notamment : maîtrise des températures, équilibrage des réseaux bouclés, suppression des bras morts, etc. [4].

1.2.5. Filtration terminale de l'eau

La filtration terminale aussi appelé microfiltration sur membrane à 0,22 µm, permet d'obtenir une eau bactériologiquement maîtrisée [4].

***Eau bactériologiquement maîtrisée**

Il existe deux modèles de filtres terminaux :

- *filtres réutilisables un certain nombre de fois, avec membranes amovibles ;
- * filtres non réutilisables, formés d'une capsule jetable ;

L'eau bactériologiquement maîtrisée peut être obtenue par d'autres traitements : hyperchloration dans une bache, chloration permanente par injection automatique de chlore ou traitement thermique [4].

1.3 .Actions de maintenance et d'entretien

Dans cette partie, nous présentons les principales actions de maintenance et d'entretien concernant le réseau d'eau froide et le réseau d'eau chaude.

1.3.1. Réseau d'eau froide

Les installations de distribution d'eau destinée à la consommation humaine doivent être conçues, réalisées et entretenues de manière à empêcher l'introduction ou l'accumulation de micro-



organismes, de parasites ou de substances constituant un danger potentiel pour la santé des personnes ou susceptibles d'être à l'origine d'une dégradation de la qualité de l'eau distribuée destinée à la consommation humaine.

Plusieurs paramètres doivent être respectés [6,7] :

- *Nettoyage, rinçage et désinfection des réseaux et installations
- *Choix des matériaux : l'utilisation des matériaux qui sont compatibles avec la qualité d'eau destinée à la consommation humaine, Les matériaux constitutifs des canalisations sont soit de type métallique (l'acier galvanisé, le cuivre, la fonte), soit de type organique (polychlorure de vinyle, polyéthylène haute densité, polyéthylène basse densité, polypropylène...etc) [7].

1.3.2. Réseau d'eau chaude

Pour limiter les développements microbiens, en particulier des légionelles, dans les installations de production et de distribution de l'eau chaude, il est nécessaire :

- * **d'éviter la stagnation de l'eau ;**
- ***de lutter contre l'entartrage et la corrosion** par une conception et un entretien adaptés à la qualité de l'eau et aux caractéristiques de l'installation [8];
- ***de maîtriser la température de l'eau chaude** dans les installations depuis la production et tout au long du circuit de distribution [9].

1.4. Causes de la dégradation de l'eau

Dans un bâtiment, la qualité de l'eau peut se dégrader à tout moment entre le point d'entrée (compteur général) et les points d'usage. La dégradation de la qualité de l'eau peut être liée à une contamination de l'eau dans un réservoir de stockage ou dans les installations intérieures de production et/ou de distribution.

1.4.1. Stagnation de l'eau

Le développement des micro-organismes est favorisé par la stagnation de l'eau dans les bras morts du réseau, dans les réservoirs de toute nature, dans les fontaines réfrigérées avec réservoir et dans les équipements terminaux [3].



1.4.2. Température de l'eau

La température de l'eau est un facteur important conditionnant la survie et la prolifération de certains germes dans les réseaux d'eau. Par exemple, si les légionelles sont capables de survivre plusieurs mois à des températures basses (moins de 25°C), leur viabilité est réduite à partir de 50°C [10]. Les légionelles prolifèrent lorsque la température de l'eau est comprise entre 25 et 43°C. De nombreuses bactéries telles *Pseudomonas* survivent facilement à ces températures [3].

1.4.3. Corrosion

La corrosion est l'altération des matériaux métalliques constitutifs des canalisations et des appareils, modifiant les paramètres organoleptiques de l'eau (eau rouge, odeur nauséabonde...) et entraînant un enrichissement de l'eau en éléments chimiques indésirables (fer, cuivre, zinc) et toxiques (plomb, chrome, cadmium, nickel), ainsi qu'une prolifération de micro-organismes dans les dépôts qui se forment à l'intérieur des canalisations.

De plus, la corrosion entraîne la détérioration de l'installation, ce qui la rend impropre à sa fonction. Les phénomènes de corrosion peuvent également induire une inactivation des désinfectants en réduisant les oxydants comme le chlore [3,10].

1.4.4. Entartrage

L'entartrage correspond à la formation d'un dépôt à base de calcium et de magnésium dans les canalisations, au niveau de la robinetterie et sur les résistances des chauffe-eau. Ces dépôts peuvent conduire à l'obstruction des équipements. Ils favorisent les développements microbiens et diminuent les échanges thermiques.

Ce problème est accentué avec l'augmentation de la température de l'eau. Quand les eaux sont chauffées, l'équilibre calcocarbonique est fortement déplacé, d'où la formation de dépôts [5].

1.4.5. Retours d'eau polluée

Les phénomènes de retour d'eau polluée peuvent survenir par siphonnage ou refoulement :

- *entre le réseau public et le réseau interne de l'établissement (dépression),
- *entre le réseau interne de l'établissement et un circuit de distribution particulier (dépression ou contre pression) [3].

1.4.6. Prolifération excessive du biofilm

Les facteurs cités en haut (la stagnation, la température, la corrosion,...) favorisent la formation du biofilm.

1.4.6.1. Définition

Un biofilm est un ensemble de micro-organismes associés entre eux et/ou à des surfaces et interfaces, et inclus dans une matrice constituée d'exopolymères bactériens, de matière organique et non organique, ainsi que de macromolécules piégées du milieu environnant [11].

1.4.6.2. Etapes de formation d'un biofilm

La formation d'un biofilm sur une surface s'effectue généralement selon quatre grandes étapes (Fig. 3) :

- * le transport des micro-organismes ;
- * l'adhésion initiale des cellules microbiennes au support ;
- * la consolidation de l'adhésion par la synthèse de composés extracellulaires ;
- * la colonisation du support par multiplication des cellules adhérentes, accompagnée dans certains cas d'une agrégation cellulaire.

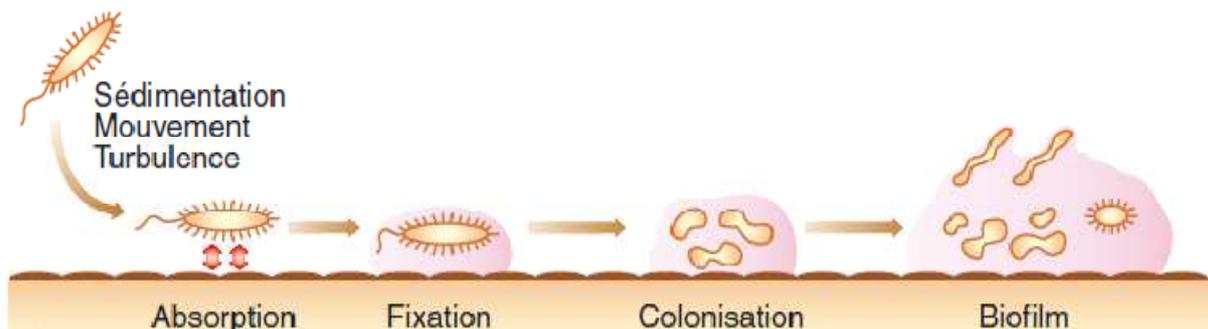


Figure 3. Adhésion d'une bactérie à un support inerte et formation d'un biofilm.

Une fois les étapes de colonisation achevées, le biofilm forme un équilibre dynamique entre les phénomènes qui tendent à en augmenter l'épaisseur, par multiplication des cellules qui le composent ou par agrégation de nouveaux micro-organismes provenant de l'eau circulante, et les phénomènes qui tendent à en réduire l'épaisseur, par des mécanismes d'érosion continue et/ou de dépouillement ponctuel. Ce relargage de micro-organismes est à l'origine de la contamination de l'eau circulante et de la formation d'un biofilm à distance [11].

1.5. Stratégie d'action en cas de dépassement des limites de qualité



Lors des contrôles bactériologiques de l'eau, l'obtention de résultats inférieurs ou égaux à une limite de qualité, une référence de qualité ou à un niveau recommandé témoigne d'une bonne maîtrise du réseau de distribution de l'eau et des points d'usage dans l'établissement [2], en cas de dépassement de ces limites une interdiction d'usage est obligée selon le type d'utilisation.

La figure 4 présente un schéma de stratégie d'action en cas de dépassement des numérations bactériennes au point d'usage critique et non critique, définit comme suit :

-Point d'usage critique : Il est défini par un usage médical de l'eau et/ou un acte de soins à haut risque et/ou un patient à haut risque infectieux.

Le dépassement faible ou élevé d'une référence de qualité ou d'un niveau recommandé, indique une contamination significative de l'eau avec présence non acceptable de micro-organismes indésirables pour l'usage de l'eau concerné, Dans cette situation, l'usage de ce point d'eau est immédiatement interdit et des mesures correctives immédiates sont mises en œuvre : vérification du process, écoulement de l'eau, nettoyage, détartrage et désinfection du point d'usage incriminé...[2].

-Point d'usage non critique : Il est défini par un usage non médical de l'eau et/ou un acte de soins à faible risque et/ou un patient à faible risque infectieux qui ne nécessite pas un process de traitement de l'eau.

Le dépassement élevé des numérations bactériennes peut justifier une interdiction de l'usage de l'eau et demande de mettre en oeuvre des actions correctives immédiates : écoulement de l'eau, nettoyage, détartrage et désinfection du point d'usage incriminé...

Un dépassement faible demande de mettre en oeuvre uniquement ces actions correctives immédiates [2].

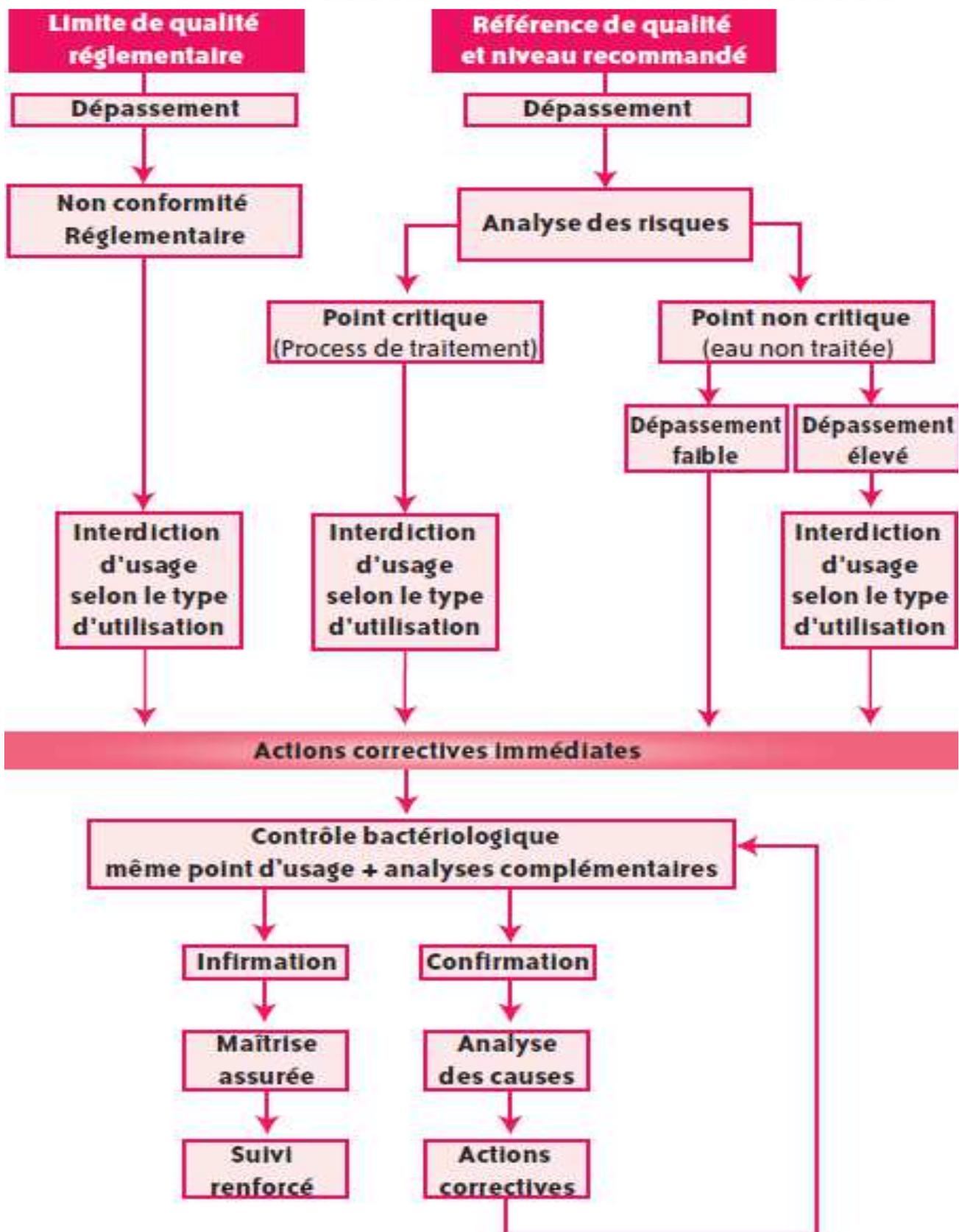




Figure 4. Schéma de Stratégie d'action en cas de dépassement des numérations bactériennes au point d'usage [2]

Chapitre II : Risques sanitaires liés à l'eau dans les établissements de santé

L'eau est un élément essentiel au fonctionnement des établissements de santé, mais elle peut constituer une source d'infections graves, en cas de contamination, particulièrement pour les patients les plus fragiles.

Les principaux risques sanitaires liés à l'utilisation de l'eau dans les établissements de santé sont essentiellement de nature infectieuse et plus rarement toxique.

II.1. Risques infectieux et parasitaires

Les infections liées à une contamination par l'eau ont ainsi des degrés variables de gravité.

II.1.1. Les infections respiratoires

Elles sont liées à l'inhalation d'aérosols contaminés par des bacilles à Gram négatif comme *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces infections respiratoires sont d'autant plus graves qu'elles touchent des personnes fragilisées comme les personnes âgées de plus de 80 ans que parmi les autres groupes d'âge de la population, ou immuno-déprimées, diabète, pathologies chroniques cardiaques et pulmonaires, insuffisance rénale, corticothérapie prolongée, chimiothérapie anticancéreuse, etc [12].

II.1.2. Les infections cutanéomuqueuses

Il peut s'agir d'un contact direct avec de l'eau contaminée, par exemple chez des nouveau-nés ou des brûlés, ou d'une inoculation de micro-organismes par effraction, lors d'un acte chirurgical ou d'un cathétérisme. Les microorganismes incriminés sont le plus souvent des bactéries d'origine hydrique : *Pseudomonas aeruginosa*. Les conséquences de ces infections peuvent être graves avec développement de septicémies, et d'infections ostéo-articulaires [13,14].



II.1.3. Les infections digestives

Elles sont plus souvent dues à des contaminations par les aliments ou à des contaminations inter-humaines (*Shigella*), qu'à une contamination hydrique proprement dite.

Parmi les infections digestives à bactéries d'origine hydrique qu'on peut rencontrer c'est *Pseudomonas aeruginosa* et *Aeromonas hydrophila*...etc, ces bactéries apparaissent plus particulièrement chez des sujets immuno-déprimés et elles sont souvent résistantes aux antibiotiques [15].

II.2. Risque toxique

Le risque toxique se caractérise par la présence dans l'eau de substances chimiques en quantité trop importante.

II.2.1. Risque par ingestion

Certains paramètres peuvent être source d'inquiétude pour les patients, par exemple les nitrates sont souvent cités du fait du retentissement médiatique de leur présence croissante dans les eaux superficielles ou profondes. Une eau conforme à la norme de potabilité (50 mg/L ; NM 03.07.001) ne présente aucun risque pour la santé, et c'est avant tout les nitrites qui présentent un danger pour les enfants (méthémoglobinémie) [3,16].

II.2.2. Risques liés aux autres voies d'exposition

Lors des soins, l'importance du volume d'eau utilisée contribue à moduler l'intensité du risque : c'est le cas, par exemple, pour l'hémodialyse où le sang est en contact avec un volume d'eau de l'ordre de 300 litres par séance. La présence de substances telles que l'aluminium, le cuivre ou le zinc, même en faible concentration, constitue un risque notable pour le patient [3].

II.3. Indicateurs de qualité physico-chimiques et bactériologiques de l'eau

Les indicateurs de qualité sont utilisés pour évaluer la qualité de l'eau estimée à la consommation humaine dans un établissement de santé et qui répondent à des limites de qualité réglementaires (chapitre III).



Selon la législation Marocaine, l'eau d'alimentation humaine ne doit contenir en quantités dangereuses ni micro-organismes, ni substances chimiques nocifs pour la santé, on outre elle doit être aussi agréable à boire que les circonstances le permettent [16].

II.3.1. Indicateurs de qualité physico-chimiques

Les substances chimiques autres que les sels minéraux font l'objet de normes très sévères. Ces substances sont dites "indésirables" ou "toxiques". Elles sont recherchées à l'état de trace (millionième de gramme par litre). Ces normes sont établies sur la base d'une consommation journalière normale, pendant toute la vie

A l'intérieur d'un établissement de santé les indicateurs de qualité chimique qu'il faut respecter pour l'eau de réseau sont comme suit [16,17] :

***Chlore** : selon la NM 03.07.001, la teneur recommandée entre 0,1 et 0,3 mg/l, le risque pour la santé est négligeable et la possibilité de formation de sous produits toxiques est très limitée.

***Nitrate et nitrite** : selon les NM 03.07.001, la teneur recommandée du nitrate est de 50 mg/l et du nitrite 0,5 mg/l. Ce dernier paramètre présente un danger surtout pour les enfants (méthémoglobinémie).

*Aussi la présence de substances telles que **l'aluminium (0,2 mg/l, NM 03.07.001) le cuivre (2 mg/l, NM 03.07.001) le zinc (3 mg/l NM 03.07.001), ou le plomb (10 mg/l, NM 03.07.001)**, même en faible concentration, constitue un risque cancérigène notable pour les consommateurs.

II.3.2. Indicateurs de qualité microbiologiques

II.3.2.1. Flore mésophile aérobie revivable à 22 et 37°C

L'accroissement de la flore mésophile aérobie entre l'eau analysée à l'entrée de l'établissement et l'eau analysée au point d'usage témoigne de la dégradation de la qualité de l'eau du réseau de distribution ou d'une contamination du point d'usage.

La numération de FMAT correspond à une référence de qualité de l'eau selon la norme Marocaine 03.7.001 (FMAT à 22°C : <100 UFC/ ml et FMAT à 37°C : <20 UFC/ ml) [16,18].

II.3.2.2. Coliformes



Les deux groupes de micro-organismes les plus utilisés comme indicateurs de contamination bactérienne sont les coliformes totaux et les coliformes thermotolérants.

***Coliformes totaux**

Le groupe des coliformes totaux comprend toutes les bactéries aérobies et anaérobies facultatives, Gram négatives, non sporulés, cytochrome oxydase négative en forme bâtonnets, qui font fermenter le lactose avec dégagement de gaz en moins de 48H à 35°C.

(Selon la NM 03.7.001, les coliformes totaux : 0 UFC /100ml) [16].

***Coliformes thermotolérants (*E.coli*)**

Le groupe des coliformes thermotolérants comprend la recherche d'*Escherichia.coli* qui se caractérise par la production des gaz en moins de 24H à 44,5°C.

(Selon la NM 03.7.001, E.coli : <0 UFC/100 ml) [16,18].

II.3.2.3. Entérocoques intestinaux

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif, se présentant habituellement sous forme de chaînettes, capables de réduire le chlorure de triphényl le 2,3,5 tétrazolium (TTC) en formazine. Ce sont des pathogènes opportunistes causant des septicémies, infections urinaires, ou abdominales d'origine intestinale. Ils sont la cause de plus de 10 % des [infections nosocomiales](#). (selon la NM 03.7.001, entérocoques intestinaux : 0 UFC/ 100ml) [16].

II.3.2.4. Spores de bactérie sulfito-réductrices

Micro-organismes anaérobies formant des spores de bactéries sulfito-réductrices, forment des colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir) dans le milieu sélectif spécifié. (la NM 03.7.001, les spores de sulfito-réductrices : 0 UFC/ 100ml) [16,19].

II.3.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

***Définition**

P. aeruginosa est un bacille à Gram négatif, aérobie strict, à métabolisme oxydatif, pathogène opportuniste, ubiquitaire dans l'environnement, saprophyte de l'eau, des sols humides, des matières en décomposition et des végétaux.

Il est retrouvé chez les animaux, les humains infectés et dans les solutions contaminées, sur des matériels tels les bronchoscopes mal désinfectés et les nébulisateurs contaminés [20,21].



***Epidémiologie**

P. aeruginosa est à l'origine de 16 % des cas de pneumonie hospitalière et de 12 % des infections urinaires nosocomiales. Il est aussi responsable d'infections telles bactériémies, infections respiratoires basses, notamment chez les sujets ventilés, infections du site opératoire, infections cutanées, et de rares fois, d'endophtalmies.

Il est responsable d'infections nosocomiales sévères pouvant atteindre 70 % de létalité en cas de pneumopathie nosocomiale [22].

***Mode de transmission**

Les modes de transmission de ces micro-organismes sont multiples. Ils impliquent un transfert de contamination, et peuvent être, lorsque l'eau est concernée, d'un robinet contaminé vers un patient ; d'un patient infecté vers un robinet par rétro-contamination et d'une main contaminée à partir d'un patient vers un autre patient [23].

II.3.2.6. Legionella pneumophila

***Définition**

Legionella sp. est un bacille à Gram négatif, aérobic stricte, non sporulé, non acidorésistant, non capsulé, de 0,3-0,9 µm de large sur 2-20 µm de long.

Cette bactérie nécessite pour sa croissance la présence de fer, de l-cystéine, une atmosphère riche en CO₂, un pH à 6,9 et enfin une température de 25 à 43 °C.

Sa croissance est lente nécessitant de 3 à 10 jours dans des milieux spécifiques *buffered charcoal yeast extract* (BCYE) [24].

***Epidémiologie**

Dans une étude épidémiologique récente incluant 493 patients admis pour pneumonie communautaire, *L. pneumophila* représentait 4,3 % des étiologies [25].

La fréquence de cette étiologie était variable selon les différentes tranches d'âge, avec une prédominance dans la tranche 65-74 ans. De même, elle ne représentait que 3 % des pneumonies traitées en ambulatoire et 4,7 % des pneumonies hospitalisées.



Chez les patients hospitalisés, *Legionella* sp. était identifiée comme l'agent causal dans 4,9 % des cas alors qu'elle représentait 7,9 % des cas en réanimation où elle occupait le second rang des agents pathogènes isolés [26].

***Mode de transmission**

L'inhalation et l'instillation directe de gouttelettes contaminées aérosolisées et plus rarement l'aspiration d'eau colonisée sont les deux seuls modes de contamination connus à ce jour. La transmission interhumaine n'a jamais été décrite. Les installations à risques sont généralement ; bassin d'eau chaude, fontaines décoratives, système de climatisation, tour aérorefrigérantes et circuits de distribution d'eau chaude sanitaire alimentant les douches.

Ces derniers types d'installation semblent le plus fréquemment mis en cause lors d'épidémies [27,28].

Chapitre III : Typologie de l'eau dans un établissement de santé

Plusieurs catégories d'eau peuvent être distinguées au sein des établissements de santé en fonction des qualités requises et des usages, le tableau suivant présente les différents types d'eau dans un établissement de santé [29] :

Tableau 1. Typologie des différentes eaux dans un établissement de santé

Eaux froides ne subissant aucun traitement dans l'établissement
Eaux à usage alimentaire
• Eau d'entrée
• Eaux aux points d'usage destinée à la consommation humaine
Eau pour soins standards
Eaux spécifiques, traitées au sein de l'établissement de santé et répondant à des critères définis en fonction des usages
Eaux bactériologiquement maîtrisées
Eau chaude
Eau des piscines de rééducation
Eaux des spas, jacuzzi et douches à jets
Eaux pour hémodialyse
Eau purifiée
Eau hautement purifié
Eau des fontaines réfrigérantes à usage de boisson
Eaux stériles



Eau pour préparations injectables
Eau pour irrigation (eau versable)
Eau potable stérilisée

Remarque : Dans ce chapitre nous traitons juste l'eau utilisée au sein du CHU Fès.

III.1.Eau ne subissant aucun traitement dans l'ES

III.1.1.Définition

Il s'agit des eaux destinées à des usages alimentaires, sanitaires et de soins, provenant du réseau d'adduction publique ou d'un forage privé, et n'ayant subi aucun traitement au sein de l'établissement de santé [30]. En fonction des usages, on distingue deux catégories, les eaux à usage alimentaire et, l'eau pour soins standards.

III.1.2.Eau à usage alimentaire

Les réseaux internes aux établissements de santé peuvent être de longueurs variables et comporter parfois des réservoirs, ce qui peut impliquer des variations de la qualité de l'eau distribuée. C'est pourquoi on distingue deux sous-catégories d'eau : l'eau d'entrée dans l'établissement de santé et l'eau distribuée aux points d'usage [31].

* **L'eau d'entrée** : elle est définie comme celle arrivant à l'entrée de l'établissement.

* **L'eau aux points d'usage** : elle est définie comme celle étant consommée ou utilisée directement ou indirectement par toute personne au sein de l'établissement. Cette définition concerne l'eau froide de chaque robinet intérieur ou extérieur aux bâtiments au sein de l'établissement. Ces eaux sont destinées à des usages alimentaires et sanitaires. Elles comprennent également les eaux mises à disposition des patients (carafe...) [31].

III.1.3.Critères de qualité

L'eau froide du réseau intérieur doit être évaluée selon les exigences de qualité de l'eau destinée à la consommation humaine (caractères organoleptiques, paramètres physico- chimiques et microbiologiques –NM 03 7 001) qui sont nécessaires mais peuvent se révéler insuffisantes pour certains usages dans les établissements de santé. En France, le décret n°89-3 prévoit, pour l'eau destinée à la consommation humaine, les niveaux admissibles regroupés Tableau 2.

Tableau 2 : Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau à usage alimentaire [16,32]

Catégories d'eau	Paramètres microbiologiques	Niveaux exigés ou recommandés	Fréquences des contrôles
-------------------------	------------------------------------	--------------------------------------	---------------------------------



Eau d'entrée	Limites de qualité <ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> • Entérocoques Références de qualité <ul style="list-style-type: none"> • germes aérobies revivifiables à 22°C et 36°C • coliformes • Bactéries sulfito-réductrices 	<ul style="list-style-type: none"> • 0 / 100ml • 0 / 100ml • 100 UFC/ml à 22°C • *20 UFC/ml à 36°C • 0 / 100ml • 0 / 100ml 	Pour l'eau d'entrée et l'eau aux points d'usage : 1 contrôle / 100 lits et par an, avec un minimum de 4 contrôles par an.
Eau aux points d'usage	Indicateurs <ul style="list-style-type: none"> • germes aérobies revivifiables à 22°C et 37°C • coliformes • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 	Niveau cible <ul style="list-style-type: none"> • 100 UFC/ml à 22°C • *20 UFC/ml à 36°C • < 1 UFC / 100ml • < 1 UFC / 100ml 	 Trimestrielle

*selon la NM 03.07.001 : FMAT à 36°C : < 20 UFC/ml, selon la monographie de la pharmacopée européenne : < 10 UFC/ ml

III.1.4. Eaux pour soins standards

Il s'agit de l'eau du réseau de distribution intérieur à l'établissement, utilisée pour les soins des patients sans risque particulier (toilette des patients, lavage des mains du personnel soignant..), ou pour le nettoyage et le rinçage de certains dispositifs médicaux : nettoyage, rinçage intermédiaire de tous les dispositifs médicaux et rinçage terminal des endoscopes en endoscopie digestive haute et basse sauf en cas d'accès à un milieu stérile (29).

Remarque :

-Les critères de qualité des paramètres bactériologiques d'eau aux points d'usages sont les même que l'eau pour soins standards.

-le tableau suivant contient les paramètres physico- chimique selon les normes marocaines et Française de l'eau à l'entrée de l'établissement de santé (eau ne subissant aucun traitement).

Tableau 3 : Paramètres physico- chimiques de l'eau à l'entrée de l'établissement de santé

[16,33]

Paramètres	Expression des résultats	Normes Marocaines (NM)* en VMA	Normes Françaises (NF) en VMA
Odeur	Seuil de perception à 20°C	3	Non décelable
Saveur	Seuil de perception à 20°C	3	Insipide
Couleur	Unité Pt mg/l	20	Incolore
Turbidité	Unité NTU	5	2
Température	°C	acceptable	25



Potentiel hydrogène	Unités pH	6,5<pH<8,5	6,5<pH<9
Conductivité	µS/cm à 20°C	2700	180 à 1000
Aluminium	mg/l	0,2	0,2
Zinc	mg/l	3	5
Fer	mg/l	0,3	0,2
Cuivre	mg/l	2	1
Plomb	µg/l	10	10
Nitrites	NO ₂ : mg/l	0,5	0,5
Nitrates	NO ₃ : mg/l	50	50
Chlore	Cl : mg/l	0,1 à 0,3	0,1 à 0,3

NM* : 03.7.001

III.2. Eaux spécifiques, traitées au sein de l'établissement de santé et répondant à des critères définis en fonction des usages

Il s'agit des eaux destinées à des usages alimentaires, sanitaires et de soins, ayant subi un traitement au sein de l'établissement de santé.

III.2.1. Eaux bactériologiquement maîtrisées

III.2.1.1. Définition

L'eau bactériologiquement maîtrisée, obtenue après traitement, présente une qualité bactériologique supérieure à celle du réseau de distribution. Elle est destinée aux patients les plus vulnérables ainsi que pour des soins au contact des muqueuses ou exposant à un risque infectieux particulier (comme par exemple le rinçage terminal des fibroscopes bronchiques).

Certains filtres sont stérilisables et réutilisables, d'autres sont à usage unique [29].

III.2.1.2. Critères de qualité

Le tableau qui suit présente les critères de qualité de l'eau bactériologiquement maîtrisée.

Tableau 4. Paramètres microbiologiques de l'eau bactériologiquement maîtrisée [32]

Catégories d'eau	Paramètres microbiologiques	Niveaux exigés ou recommandés	Fréquences des contrôles
------------------	-----------------------------	-------------------------------	--------------------------



Eau	Indicateurs	Niveau cible	Niveau d'action	La
bactériologiquement maîtrisée	<ul style="list-style-type: none"> • flore aérobie revivifiable à 22 et à 37 °C • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <p>La surveillance de ces deux paramètres est redondante pour des eaux traitées par microfiltration.</p>	≤ 1 UFC/100 ml	≥ 10 UFC/100 ml	fréquence minimale est trimestrielle.
		< 1 UFC/100 ml	≥ 1 UFC/100 ml	

- * **un niveau cible** : niveau vers lequel l'établissement doit tendre dans des conditions normales de fonctionnement ;
- * **un niveau d'alerte** : niveau, établi par l'utilisateur, qui détecte précocement une dérive potentielle des conditions de fonctionnement et doit entraîner la vérification des résultats et la mise en oeuvre de premières mesures correctives. Le niveau d'alerte peut correspondre à une valeur quantifiée ou à un ensemble de valeurs comprises entre le niveau cible et le niveau d'action ;
- * **un niveau d'action** : niveau qui doit immédiatement déclencher, lorsqu'il est dépassé, la mise en oeuvre de mesures correctives permettant de revenir rapidement sous le niveau d'alerte et de tendre vers le niveau cible.

III.2.2. Eau chaude sanitaire

III.2.2.1. Définition

L'eau chaude subit un ou plusieurs traitements (chauffage et éventuellement adoucissement...); elle est réservée à la toilette des patients, au nettoyage du matériel, à l'entretien des locaux. Bien qu'elle réponde aux critères de potabilité de l'eau, il est déconseillé de l'utiliser pour la préparation de boissons chaudes et de préparations alimentaires. La recherche de *legionella* sp. est défini par la NF : T90-431 [29].

III.2.2.2. Critères de qualité

Le tableau qui suit présente les critères de qualité de l'eau chaude sanitaire.

Tableau 5. Paramètres microbiologiques retenus pour l'eau chaude [32]

Catégories d'eau	Paramètres microbiologiques	Niveaux exigés ou recommandés	Fréquences des contrôles
------------------	-----------------------------	-------------------------------	--------------------------



Eau chaude Sanitaire	Indicateur <i>Legionella pneumophila</i>	Niveau cible : < 1000 UFC / l	Points d'usage: <ul style="list-style-type: none"> • 1 fois / an : points où la perte de charge est la plus importante, 1 ou 2 échantillons • 1 fois / an : points représentatifs du réseau (2 ou 3 échantillons) • 1 fois / semestre : points situés dans des services accueillant en permanence des patients à risque (2 ou 3 échantillons)
		Niveau d'alerte : 1000 UFC / l	
		Niveau d'action : 10 000 UFC / l	

III.2.3. Eau pour hémodialyse

III.2.3.1. Définition

L'eau de dialyse est généralement produite à partir de l'eau du réseau de distribution après avoir subi une filière de traitement.

L'eau pour hémodialyse sert à diluer une solution concentrée d'électrolytes et à dissoudre des sels sous forme de poudre (bicarbonate de sodium) pour la préparation en continu du dialysat. Ce dernier, à un débit de 500ml/min, est en contact avec le sang du malade au travers d'une membrane semi-perméable avant d'être éliminé à l'égout.

Les exigences de qualité d'une eau pour hémodialyse sont définies au Maroc par Arrêté du ministre de la santé n° 808-02 du 25 hijra 1423 (27 février 2003) fixant les normes techniques des centres d'hémodialyse circulaire ministérielle [34].

III.2.3.2. Critères de qualité

Le tableau qui suit présente les critères de qualité de l'eau chaude pour hémodialyse.

Tableau 6 : les paramètres microbiologiques retenus pour l'eau pour hémodialyse [32]

Catégories d'eau	Paramètres microbiologiques	Niveaux exigés ou recommandés	Fréquences des contrôles
Eau pour hémodialyse : hémodialyse conventionnelle, hémofiltration et hémodiafiltration en ligne	hémodialyse conventionnelle : • flore aérobie revivifiable à 22°C • endotoxines	Niveau exigé : • < 100 UFC / ml • < 0,25 UI / ml	Un contrôle/an
	hémofiltration et hémodiafiltration en ligne : • flore aérobie revivifiable à 22°C • endotoxines	Niveau exigé : • < 100 UFC / l • < 0,25 UI / ml	

III.2.4. Eau purifiée

III.2.4.1. Définition



Eau purifiée désigne une eau destinée à la préparation de médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes. Elle est produite à partir d'eau potable par divers procédés : osmose inverse et/ou déminéralisation et/ou distillation. Elle se présente en vrac ou conditionnée en récipient [29].

III.2.4.2. Critères de qualité

Le tableau qui suit présente les critères de qualité de l'eau purifiée.

Tableau 7 : les paramètres microbiologiques retenus pour l'eau purifiée [32]

Catégories d'eau	Paramètres microbiologiques	Niveaux exigés ou recommandés	Fréquences des contrôles
Eau purifiée	<ul style="list-style-type: none">flore aérobie revivifiableendotoxines	Niveau exigé : <ul style="list-style-type: none">≤ 100 UFC / ml$< 0,25$ UI / ml	Le contrôle est à la charge du producteur

III.2.5. Eau hautement purifiée

III.2.5.1. Définition

Elle désigne une eau destinée à la préparation de médicaments lorsqu'une eau d'une qualité biologique élevée est nécessaire, sauf dans les cas où l'emploi de l'eau pour préparation injectable est requis.

L'eau hautement purifiée est obtenue par des procédés appropriés à partir d'une eau destinée à la consommation humaine. Les procédés de production actuels comprennent par exemple l'osmose inverse à double passage, combinée à d'autres techniques appropriées telles que l'ultrafiltration et la désionisation [29].

III.2.5.2. Critères de qualité

Le tableau qui suit présente les critères de qualité de l'eau hautement purifiée.

Tableau 8 : les paramètres microbiologiques pour l'eau hautement purifiée [32]

Catégories d'eau	Paramètres microbiologiques	Niveaux exigés ou recommandés	Fréquences des contrôles
Eau hautement purifiée	<ul style="list-style-type: none">flore aérobie revivifiable	Niveau exigé : ≤ 10 UFC / 100 ml	Le contrôle est à la charge du producteur



Matériels et méthodes

I. Présentation de l'étude

Ce travail a été accompli au laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès. Les analyses physico-chimiques ont été effectuées au laboratoire Régional d'Epidémiologie, et d'hygiène du milieu Fès. Les échantillons d'eau ont été prélevés au Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès, d'une capacité litière de 585 lits.

Ainsi, nous avons réalisé : 86 prélèvements de différents types d'eau, réparti sur une période de 4 mois allant du 1^{er} Février jusqu'au 31 Mai 2011:

- * **n= 86**, dont: *n= 53 prélèvements d'eau de réseau
 - *n= 25 prélèvements d'eau bactériologiquement maîtrisée
 - *n= 6 prélèvements d'eau chaude
 - *n= 2 prélèvements d'eau pour hémodialyse

Objectif principal :

L'objectif principal de ce travail est de proposer une stratégie de surveillance de la qualité de l'eau du réseau à l'intérieur de l'hôpital CHU du Fès.

II. Proposition d'une stratégie de surveillance de la qualité d'eau

Avant de tracer le plan du réseau intérieur du CHU de Fès, une visite des différentes organisations des réseaux de distribution d'eau de chaque service a été nécessaire.

Au début nous avons récupéré un plan de masse de l'établissement, présenté ci-dessous :

II.1. Plan de masse du CHU Fès

A l'aide de ce plan, nous avons déterminé les services à risques et nous avons fait une catégorisation d'eau avec précision des différents points critiques.



Figure 5. Plan de masse de l'établissement de santé CHU du Fès

II.1.1. Les services du CHU Fès

Le CHU de Fès dispose de plusieurs spécialités médicales et chirurgicales, cités ci-dessous :

Tableau 9 : Services spécialisés du CHU de Fès

	Bat A	Aile B	Aile C	Aile D	Aile E	Aile F
Sous sol	Stérilisation	Pharmacie centrale	Buanderie, archives, urgences	Radiologie	Cuisine	Locaux techniques et morgue
Rez de chaussée	Administration Blocs opératoires des urgences	Chirurgie vasculaire 28 lits	urgences et pré-urgences 12 places	Radiologie	Exploration fonctionnelle	Exploration fonct & CIC 14 lits
1 ^{er} étage	Réa 1. 16 lits	Endocrino 14 lits	chirurgie thoracique. 14 lits	Pneumologie 28 lits	Néphrologie 28 lits	Neurologie 28 lits
2 ^{ème} étage	BOC 1	Rhumato. 14 lits	C.C.V 14 lits	Cardiologie 28 lits	Urologie. 28 lits	NCH. 28 lits
3 ^{ème} étage	BOC 2	Traumato 1 28 lits	Chirurgie A 28 lits	Médecine interne 28 lits	Chirurgie B. 28 lits	ORL. 28 lits
4 ^{ème} étage	Réa 2. 14 lits	Traumato 2 28 lits	Gastro-entérologie 28 lits	Hématologie 28 lits	Dermatologie. 28 lits	Ophtalmo 28 lits



Tableau 10 : hôpital mère- enfant, Aile G

Niveau	Axe central	Axe latéral droit	Axe latéral gauche
Sous sol	Locaux techniques et galerie		
RDC	ADMIN. Sce RX	URG GYN& OBST. 12 places	Urgences PED 11 places
1 ^{er} étage	B.O.C Salle de reveil	Gynéco-Obst 1 30 Lits	Gynéco-Obst 2 30 lits
2 ^{ème} étage	Réa Mat. & Ped 18 lits	Chirurgie pédiatrique 1 30 lits	Chirurgie pédiatrique 2 30 lits
3 ^{ème} étage	Réa. Néé 18 lits	Pédiatrie 56 lits	

Nous avons ainsi déterminé 9 services « à risque » dans lesquels un total de 86 échantillons d'eau a été réalisé :

- 19 prélèvements dans les blocs opératoires
- 13 prélèvements dans les blocs opératoires des urgences
- 19 prélèvements dans 4 services de réanimations (réanimation néonatale, adulte...)
- 8 prélèvements dans le service de Médecine interne
- 6 prélèvements dans le service Hématologie
- 1 seul prélèvement en Endoscopie (explorations fonctionnelle)
- 11 prélèvements dans le service Dermatologie
- 2 prélèvements dans les salles d'accouchements
- 5 prélèvements dans le service Néphrologie

II.1.2.Lieu et nombre de prélèvement

Le nombre de prélèvements qui ont été réalisés dans chaque service, sont représentés dans le tableau suivant :



Tableau 11 : nombre et localisation des prélèvements

Type d'eau	service	nombre de prélèvement	Total
Eau de réseau	l'entrée de l'hôpital	1	53
	Blocs opératoires	8	
	Blocs opératoires des urgences	6	
	Réanimation	14	
	Médecine interne	8	
	Hématologie	6	
	endoscopie	1	
	Dermatologie	8	
EBM	Blocs opératoires	11	25
	Blocs opératoires des urgences	7	
	Réanimation	5	
	Salle d'accouchement	2	
Eau chaude	Dermatologie	3	6
	Néphrologie	3	
Eau à hémodialyse	Néphrologie	2	2

II.2.Méthodes de prélèvement

II.2.1.Choix et stérilisation des récipients

Nous avons utilisé des flacons en verre borosilicaté de 500 ml à bouchage émeri.

Avant usage, nous lavons soigneusement ces flacons ainsi que leurs bouchons, nous les rinçons, puis les séchons. Après nous avons ajouté dans les flacons destinés au prélèvement d'eau traitée par le chlore ou ses dérivés 1ml d'une solution N/50 d'hyposulfite de sodium par litre de volume de flacon, puis nous mettons sur les flacons un Ruban indicateur de stérilité. Les flacons sont ensuite stérilisés à l'étuve à 120°C pendant 1 heure [16].

II.2.2.Mode opératoire



Quand nous voulons prélever plusieurs échantillons simultanément au même point, celui qui est destiné à l'analyse bactériologique sera recueilli le premier afin d'écartier le risque d'une contamination du point de prélèvement pendant la collecte des autres échantillons.

Le flacon utilisé demeurera bouché jusqu'au moment du remplissage. Pendant le prélèvement, nous évitons que le bouchon et le col du flacon n'entrent en contact avec quoi que ce soit. Le flacon sera rempli aux 2/3, rinçage préalable et immédiatement rebouché [16,35].

II.2.3. Prélèvement au robinet

II.2.3.1. Eau de réseau

Avant de procéder au prélèvement proprement dit :

- Nous nous lavons les mains avec une solution hydro-alcoolique ou nous mettons des gants.
- Nous flambons le robinet pendant au moins 1 min, en utilisant une lampe à souder portative au gaz butane.
- ouvrir le robinet et laisser couler 3 à 5 min avant de faire le prélèvement. Durant cette attente, il est utile de laisser la lampe allumée, un peu au-dessus du robinet.

Ensuite nous avons:

- retiré le bouchon de l'ouverture du flacon.
- flambé rapidement le bord de goulot, remplir le flacon aux 2/3, flamber à nouveau rapidement le bord de goulot.

Une fois le prélèvement terminé, inscrire sur le flacon le point d'eau et le service.

II.2.3.2. Eau bactériologiquement maîtrisée

Le procédé de prélèvement de l'eau bactériologiquement maîtrisée est le même que celui de l'eau de réseau, sauf que dans ce type d'eau nous n'avons pas flambé le filtre du robinet.

II.3. Analyses physico- chimiques

Pour assurer une bonne qualité de l'eau, la norme exige [16] :

- Conductivité : 2700 $\mu\text{S}/\text{cm}$
- Potentiel hydrogène : entre 6,5 et 8,5
- Nitrates : 50 mg/l
- nitrites : 0,5 mg/l
- Chlore : 0,1 à 0,3 mg/l



-Cuivre : 2 mg/l

II.3.1. Mesure de la conductivité

La conductivité des eaux s'exprime en micro siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$) à 25 °C.

La mesure de la conductivité d'une solution s'effectue en immergeant dans la solution une cellule de mesure comportant deux électrodes de platine. Le conductimètre affiche directement la conductivité [5].

II.3.2. pH mètre

Le pH représente la concentration des ions hydrogènes dans une solution, il est défini comme le logarithme négatif de l'activité de l'ion hydrogène et mesuré à l'aide d'une électrode de verre, dont le potentiel varie en fonction de la concentration des ions hydrogènes. Ce potentiel est mesuré par rapport à une électrode de référence à l'aide d'un potentiomètre à haute impédance communément appelé pH-mètre.

II.3.3. Comparateur colorimétrique

Les analyses (nitrate, nitrite, chlore, et cuivre) sont effectuées à l'aide d'un comparateur colorimétrique (Lovibond) ®.

II.3.3.1. Principe de fonctionnement



Des disques comparateur

Le comparateur est équipé d'un prisme qui permet de voir, côte à côte, la couleur développée dans l'échantillon et celle sur le disque. Un blanc derrière le disque permet de compenser pour les échantillons turbides ou colorés.



Comparateur colorimétrique

Le compartiment à cuves à l'arrière du boîtier est ajustable et permet en quelques secondes d'utiliser des cuves de 1 mm à 40 mm.



II.3.3.2.Méthodes d'analyse

Analyse du Chlore libre :

1. Remplir avec l'échantillon une cuve de 40 mm, jusqu'au trait des 10 ml. Placer cette cuve dans le compartiment gauche du boîtier comparateur et insérer le disque.
2. Dans une deuxième cuve 40 mm, ajouter une petite quantité d'échantillon (environ 1 ml), puis mettre 2 pastilles DPD N°1®. Ecraser les pastilles et remuer pour dissoudre au maximum.
3. Compléter, immédiatement au trait des 10 ml avec l'échantillon et veiller à bien remuer.
4. Placer cette deuxième cuve dans le compartiment droit du boîtier comparateur. Positionnez-vous face à une bonne source de lumière naturelle et tourner le disque, jusqu'à obtenir une correspondance des deux couleurs. Lire la concentration en chlore dans la petite fenêtre en bas à droite du boîtier comparateur.

Analyse du Chlore Total

1. Continuer la procédure ci-dessus en rajoutant à la **deuxième cuve deux pastilles DPD N°3®**. Ecraser les pastilles et bien remuer pour dissoudre. Laisser la couleur se développer totalement pendant deux minutes, puis procéder comme au point 4 ci-dessus.

Analyse des nitrates

Nous avons procédé par la même méthode que le chlore, ce qui diffère c'est le réactif (Nitrate N°1 ensuite nitrate N° 2®) (NM 03.07.001 : NO₃ 50 mg/l).

Analyse des nitrites

Nous avons procédé par la même méthode que le chlore, sauf que nous avons mis le réactif de l'acide sulfanilique®.

Analyse du cuivre

Nous avons procédé par la même méthode que le chlore, juste nous avons mis le réactif de cuivre (Copper zinc ®).

II.4.Analyses microbiologiques

Nous avons utilisé la technique de filtration sur membrane qui présente un avantage de l'utilisation d'un volume important (100 ml) pour définir la concentration et la diversification (quantitative et qualitative) des bactéries présentes sur un filtre. Ce dernier est ensuite mis en culture dans un milieu approprié.

II.4.1.Matériel utilisé pour la filtration

Le matériel utilisé pour la filtration comporte essentiellement :



- entonnoir stérile (250 ml)
- membrane en nitrocellulose de filtration (0,45 μm de porosité)
- support
- levier
- vanne à vide

II.4.2. Mode opératoire

Pour réaliser la filtration, nous avons procédé de la manière suivante :

Avant de commencer toute filtration, nous procédons à la stérilisation de l'appareil de filtration ; pour cela, nous flambons la surface du support pendant 3 à 5 secondes.

Après filtration de 100 ml de l'échantillon d'eau, la membrane filtrante est ensuite déposée sur une boîte de gélose et incubée.

II.4.3. L'eau de réseau

Le contrôle microbiologique de l'eau de réseau est réglementé par la norme marocaine NM 03.7.001. Elle stipule le dénombrement de :

- Flore mésophile aérobie totale à 22°C et 37°C (NI- ISO 6222 "juillet 1999")
- Coliformes totaux à 37°C et Coliformes thermotolérants (*E. coli*) à 44°C (NI-ISO9308-1)
- Entérocoques intestinaux à 37°C (NI- ISO 7899- 2)
- Spores sulfito- réductrices à 37°C (NI- ISO 6461- 2 « juillet 1993 »).

II.4.3.1. Flore mésophile aérobie totale à 22 et 37°C

Pour le comptage des colonies, nous avons déposé 1ml de l'eau du réseau dans un milieu de culture gélosé (PCA : Plat Count Agar) et incubée pendant 72H pour la FMAT à 22°C et 24H pour la FMAT à 37°C, les résultats sont exprimés en UFC/ml (Unité formatrice d'une colonie).



Pour la lecture des résultats, nous avons dénombré toutes les colonies présentes sur les boîtes de PCA à 22°C et 37°C. (NM : FMAT à 22°C : 100 UFC/ 100ml, FMAT à 37°C : 20 UFC/ 100ml [16]).

II.4.3.2. Coliformes totaux à 37°C et thermotolérants à 44°C (E. coli)

Nous avons filtré 100 ml de l'échantillon d'eau à analyser, la membrane filtrante est ensuite déposée sur milieu Tergitol+ TTC, et incubée pendant 24H pour les coliformes totaux à 37°C et les coliformes thermotolérants à 44°C (*E. coli*), les résultats sont exprimés en UFC/ 100 ml.

Pour la lecture des résultats, nous avons dénombré toutes les colonies jaunes orangées sur les boîtes tergitol + TTC à 37°C et à 44°C et procéder à l'identification d'*E. coli*. (NM : 0 UFC/ 100ml [16]).

II.4.3.3. Entérocoques intestinaux à 37°C

Nous avons filtré 100 ml de l'eau de réseau, la membrane filtrante est ensuite déposée sur milieu Slanetz & Bartley, et incubé pendant 24H, les résultats sont exprimés en UFC/ 100 ml. Les colonies suspectes sont rouges, roses ou marron sur les boîtes de Slanetz à 37°C, (NM : 0 UFC/100ml [16]).

II.4.3.4. Spores de bactéries sulfite-réductrices à 37°C

Nous avons chauffé 10 ml de l'eau à analysé à 50°C, on met le tube dans l'eau froide pendant 1 min, ensuite on verse l'eau sur la gélose (SPS), et l'incubée à 37°C pendant 24H, les résultats sont exprimés en UFC/ 10 ml.

Les colonies suspectes sont noires (du à la réduction des sulfites) (NM : 0 UFC/ 10ml [16], NF EN 26461).

***Remarque :** Nous avons complété le contrôle microbiologique de l'eau de réseau par la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* selon les recommandations NF EN 12780 – qualité de l'eau.



Nous avons filtré 100 ml de l'eau de réseau, la membrane filtrante est ensuite déposée sur une gélose sélective *Pseudomona aeruginosa*, et incubée à 37°C pendant 24H, les résultats sont exprimés en UFC/ 100 ml.

Pour la lecture des résultats, nous avons dénombré toutes les colonies vertes. (NF EN 12780 : 0 UFC/ 100ml).

II.4.4.Eau bactériologiquement maîtrisée

Le contrôle microbiologique de l'eau bactériologiquement maîtrisée est réglementé par la norme française. Elle stipule le dénombrement de :

- Flore mésophile aérobie totale à 22°C et 37°C
- *Pseudomonas aeruginosa* à 37°C.

***Remarque :** Pour l'eau bactériologiquement maîtrisée la recherche de la FMAT à 22°C et 37°C se fait par filtration de 100 ml de l'EBM, la membrane filtrante est ensuite déposée sur gélose PCA et incubée à 22°C et 37°C, les résultats sont exprimés en UFC/ 100 ml.

II.4.5.Eau chaude sanitaire

Le contrôle microbiologique de l'eau chaude est réglementé par la norme française. Elle stipule le dénombrement de :- Legionelle à 37°C pendant 3 à 10 jrs dans BCYE

- *Pseudomonas aeruginosa* à 37°C.

II.4.5.1.Recherche de *Legionella pneumophila*

NF T90-431 – recherche et dénombrement des *Legionella spp* et de *Legionella pneumophila*

***Filtration**

Nous avons filtré 1 litre d'eau à analyser sur les rampes en utilisant des membranes filtrantes en polycarbonate de porosité 0,45µm.

Nous avons mis 5 ml d'eau à analyser dans un pot stérile, ensuite la membrane filtrante est déposée dans ce pot stérile contenant les 5 ml d'EA, et vortexer pendant 1min.

Puis nous avons passé le pot dans l'appareil à ultrasons pendant 2min, et vortexer pendant 1min [36].

***Ensemencement**

Nous avons prélevé 1ml dans un tube à hémolyse et chauffer 30 min à 50°C, puis nous avons prélevé 2 ml dans un second tube à hémolyse, ajouter 2ml de tampon acide (HCl 0,2M) et laisser en contact 5 min.

Ensemencer 3 boîtes de gélose BCYE® : -100 µl du filtrat pur.

-200 µl du filtrat mis en contact avec le tampon acide.

-100 µl du filtrat chauffé à 50°C.

Ensemencer 100 µl du filtrat pur sur une gélose au sang.

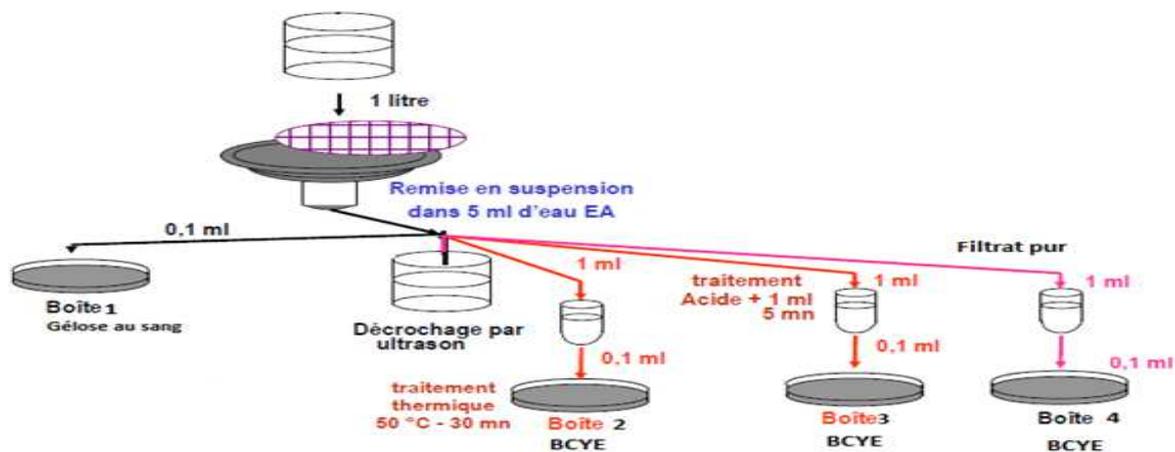


Figure 6. Schéma de la recherche des Legionella : eau à analyser (EA)- 1litre

II.4.5.2.Lecture et identification



Figure 7. Différents aspects de *Legionella pneumophila* sur BCYE

La lecture des boîtes, au moins à trois reprises, à partir de 3 à 4 jours jusqu'à la fin de la période d'incubation, après nous avons compté le nombre de colonies caractéristiques sur chacune des boîtes. (NF T90-431, < 1000 UFC/L, et < 50 UFC/L dans la réanimation)

Les colonies suspectes sont repiquées sur la gélose au sang. Un test d'agglutination au **latex** permet la mise en évidence des sérotypes de *legionella* sp.

II.5. Identification biochimique des bactéries isolées

Les résultats obtenus par le dénombrement de toutes colonies qui ont poussé sur les différents milieux de culture ont été identifiés.

II.5.1. Coloration de Gram

II.5.1.1. Principe

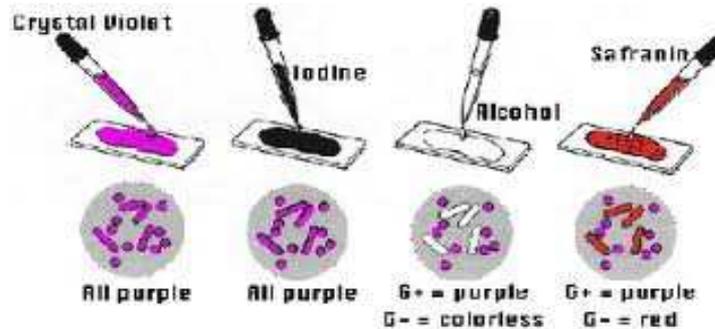
C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer, ainsi les bactéries gram positif gardent la couleur violette, et les bactéries gram négatifs, prennent comme coloration finale le rose de Fuchsine [37].

II.5.1.2. Mode opératoire

Un étalement aussi mince que possible est effectué à l'aide d'une anse sur une lame, celle-ci est séchée puis recouverte totalement avec le violet de gentiane pendant une minute, la lame est ensuite immergée dans le Lugol pendant une minute aussi et soumise à un lavage avec de l'eau distillée.

Une décoloration à l'aide de l'alcool acétone, jusqu'à disparition de la couleur

est ensuite immergée dans le Lugol pendant une minute aussi et soumise à un lavage avec de l'eau distillée. Une décoloration à l'aide de l'alcool acétone, jusqu'à disparition de la couleur violette



pendant 30 secondes suit cette étape de lugol ; ensuite la lame est rincée à l'eau, recouverte de la solution de fuchsine® pendant une minute et rincée de nouveau avec de l'eau puis séchée à l'air ambiant ou à la chaleur sur plaque chauffante [38].

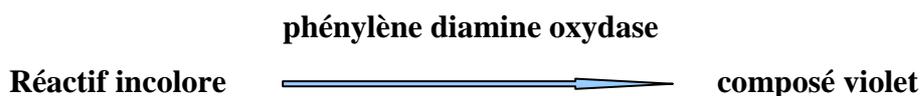
II.5.2. Test oxydase

II.5.2.1. Principe

Ce test permet de mettre en évidence la présence d'une enzyme: la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder le réactif N diméthylène diamine incolore qui libère un composé rose-rouge noircissant à l'air et en présence de l'enzyme phénylène diamine oxydase [37].



Oxydase positive



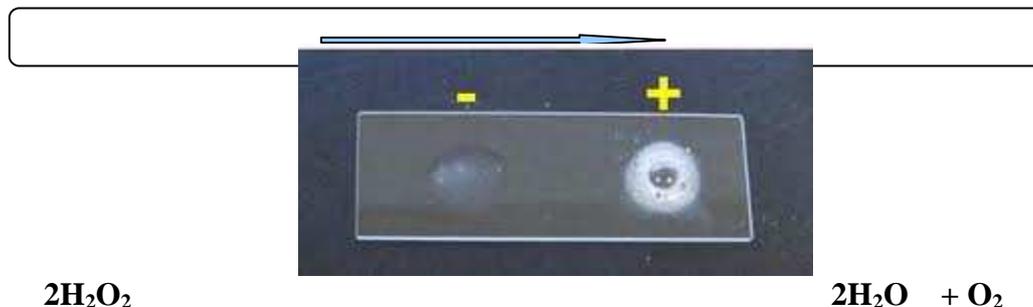
II.5.2.2. Mode opératoire

Un inoculum bactérien est écrasé sur un disque d'oxydase à l'aide d'une pipette Pasteur, le changement de coloration est observé. Une oxydase positive se traduit par une coloration rose sur le disque (ex: *Pseudomonas*). Dans le cas d'une oxydase négative le disque reste incolore (ex: Entérobactéries).

II.5.3. Test catalase

II.5.3.1. Principe

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes. La catalase est une enzyme qui catalyse la réaction suivante:



La plupart des micro-organismes aérobies possèdent une catalase, particulièrement les bacilles Gram négatif. Le test de catalase est donc l'un des importants critères d'orientation et d'identification [39].

II.5.3.2. Mode opératoire

Sur une lame propre et sèche une goutte d'eau oxygénée est déposée, puis additionné d'un inoculum bactérien. L'apparition de bulles indique un dégagement gazeux de dioxygène et la bactérie possède une catalase positive.

II.5.4. Fermentation du glucose

II.5.4.1. Principe

On utilise le milieu Kligler-Hajna pour étudier la fermentation de glucose. La technique particulière d'ensemencement du milieu Kligler-Hajna permet de distinguer les phénomènes selon leur lieu, pente ou culot [37].



***Glucose négatif** : les bactéries alcalinisent le milieu en utilisant les peptones et donnent une coloration rouge sur la pente et le culot.

***glucose positif et lactose négatif** : les bactéries acidifient le milieu dans un premier temps par utilisation du glucose. Ce glucose étant en faible concentration il sera rapidement épuisé. Les bactéries utilisent par la suite les peptones, ce qui conduit à une alcalinisation du milieu, cela se traduit par une coloration jaune du culot et rouge de la pente dans un premier temps, puis par une recoloration du culot par le rouge suite à l'alcalinisation du milieu. Dans le culot l'utilisation de la source de carbone est anaérobie.

***glucose positif et lactose positif** : les bactéries acidifient le milieu, ce qui se traduit par une coloration jaune aussi bien de la pente que du culot. Sur la pente l'utilisation de la source de carbone est aérobie si la capsule est correctement dévissée.

* La présence de thiosulfate de sodium et de fer III dans ce milieu permet de révéler la capacité des bactéries à produire de l' H_2S à partir de thiosulfate. Cette production par formation d'un précipité noir de sulfure de fer [37].

II.5.4.2. Technique

Ce milieu est ensemencé par piqûre centrale du culot et par stries très serrés à la surface de la pente. Après l'ensemencement, la capsule est dévissée partiellement afin de permettre les échanges gazeux. L'incubation est effectuée $37^{\circ}C$ pendant 24 heures.

II.5.5. Test IMVIC (Indode/ Méthyle rouge/ Voges Proskauer/ Citrate)

II.5.5.1. Recherche d'uréase et production d'indole

***Principe**

On utilise le milieu d'Urée-indole. Ce milieu d'identification permettra de rechercher un certain nombre d'enzymes présentes ou non chez les bactéries à identifier.

- Les bactéries qui possèdent une uréase active réaliseront la réaction suivante:



Sous l'action d'une uréase il y a donc alcalinisation du milieu

- Les bactéries dégradent le tryptophane en indole grâce à une tryptophanase selon la réaction



L'addition de réactif de Kovacs se traduit par l'apparition d'un anneau rouge, dû à la réaction entre le noyau indole et une des substances du réactif.

***Technique**

On ensemence avec la culture du germe à étudier et on incube à 37°C pendant 24h à 48h.

II.5.5.2. Test de Vogs Prauskauer (Milieu Clark et Lubs)

*** Principe**

L'acétoine produit par fermentation butanediolique est mise en évidence par le test VP (Vogs Prauskauer).

La fermentation butanediolique conduit à des quantités moins importantes d'acides organiques, une proportion non négligeable du pyruvate étant transformée en produit neutre l'acétoine, en général réduite en butanediol.

La réaction de Vogs Prauskauer (VP) consiste à mettre en évidence par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoine.



***Technique**

On ensemence avec la culture du germe à étudier et on incube à 37°C pendant 24h. Par la suite on prélève deux fois 1ml du milieu et on les traverse dans deux tubes à hémolyse.

- Test de VP: On ajoute 0.5 ml d'alpha naphthol et le même volume de KOH et on incline le tube pour permettre une bonne oxygénation. La formation d'un anneau rouge en surface signifie que la souche est VP positif alors que la formation d'un anneau jaune signifie que la souche est VP négatif.
- Test de RM: On ajoute 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. La coloration du milieu en rouge signifie que la souche est RM positif.

II.5.5.3. Milieu Citrate de Simmons

***Principe**

Le milieu citrate de Simmons est un milieu où le citrate est l'unique source de carbone. L'utilisation de ce substrat pour la plupart des bactéries pouvant le cataboliser, est une utilisation



aérobie. Elle se traduit par une alcalinisation du milieu. Ce milieu se présente sous forme de gélose inclinée en tube.

****Technique***

Ce milieu est ensemencé par une strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir une suspension bactérienne, puis incubé à 37°C pendant 24h. Si l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) vire au bleu donc il y a eu une alcalinisation du milieu et donc la souche et citrate de simmons positive [37].



Résultats

I-Stratégie de surveillance de l'eau du CHU Hassan II de Fès

Le plan de stratégie consiste à établir un plan de surveillance, des points de prélèvements, des fréquences, et les services concernés et enfin de proposer une stratégie d'action.

I.1.Plan de surveillance de la qualité de l'eau du CHU de Fès

Le plan d'échantillonnage vise à obtenir une idée globale sur l'état de contamination des points d'usage et répond à une stratégie fondée sur un objectif précis.

Dans l'objectif d'une évaluation des risques infectieux encourus par les patients, les prélèvements devraient être effectués directement aux points d'usage de l'eau (point C).

La figure 5 présente le schéma du réseau intérieur du CHU Hassan II de Fès avec localisation des points de contrôle.

I.2.Catégorisation de l'eau du CHU de Fès

Nous avons déterminé, la catégorisation de l'eau à l'hôpital CHU Hassan II de Fès, ainsi :

- eau de réseau
- eau bactériologiquement maîtrisée
- eau chaude sanitaire
- eau pour hémodialyse
- eaux stériles (ne sont pas produites à l'hôpital)

I.3.Points de contrôles et fréquences de prélèvement

Plusieurs points de prélèvements ont été déterminés dans différents services. Le tableau 12 résume les catégories d'eau à l'hôpital avec des points de contrôle ainsi que les fréquences de contrôle proposées.

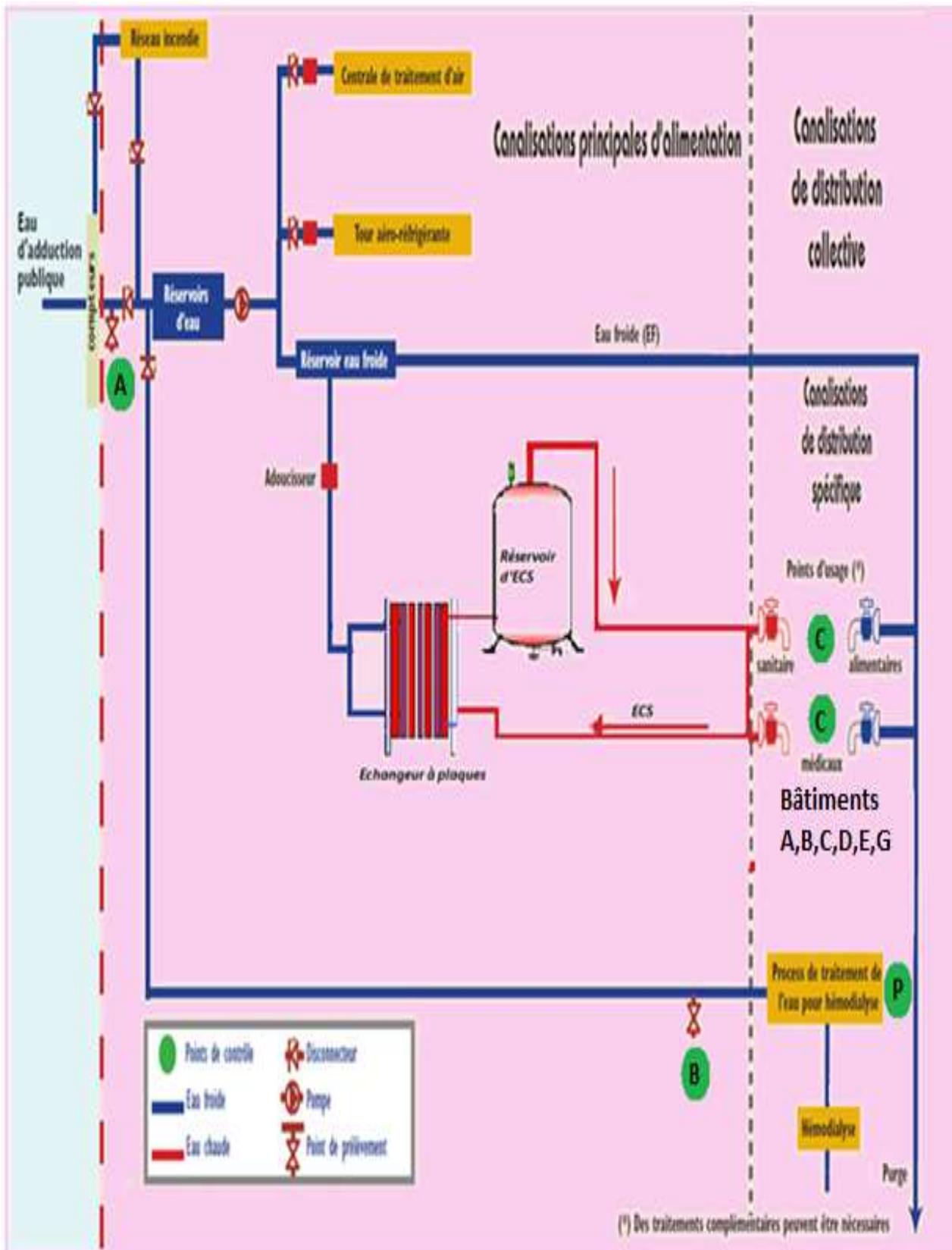




Figure 8: Schéma du réseau intérieur de CHU de Fès avec localisation des points de contrôle

Tableau 12. Différents points de contrôle des types d'eau avec leurs fréquences

Type d'eau	point de contrôle	Nombre de prélèvement	capacité litrière	Fréquence des contrôles
Eau de réseau	Eau d'entrée	1	-	4contrôle/an ou 1contrôle/ 100 lits ou trimestrielle
	Blocs opératoires	8	-	
	Blocs opératoires des urgences	6	-	
	Réanimation (A, B , C, D, G, E)	14	66	
	Hématologie	6	26	
	Endoscopie	1	-	
	Dermatologie	8	28	
	Médecine interne	8	28	
Eau bactériologiquement maîtrisée	Blocs opératoires	11	130	Trimestrielle
	Blocs opératoires des urgences	7	35	
	Réanimation (A1, A2, G0,G3)	5	66	
	Salle d'accouchement	1	4	
Eau chaude sanitaire	Dermatologie	3	28	1 fois/an, et 1 fois/semestre pour les services à risque
	Néphrologie	3	28	
Eau d'hémodialyse	Néphrologie	2	28	Trimestrielle

I.4.Stratégie d'action et mesures correctives



Lors de dépassement d'une limite de qualité, une référence de qualité ou un niveau recommandé, il est nécessaire de pratiquer des mesures correctives.

Le tableau 13 résume les différentes mesures correctives effectuées au point A (Entrée de l'hôpital) qui correspond à une eau de réseau.

Tableau 13. Action corrective au point A (analyses microbiologique et Physico-chimiques)

Type d'analyse	Point de contrôle	Indicateurs	Niveau maximal admissible	Actions correctives
Analyses microbiologiques	Point A	FMAT à 22°C	< 100 UFC/ml	Si dépassement d'un NMA: *analyse de confirmation et un traitement si persistance (Chlorination)
		FMAT à 37°C	< 20UFC/ml	
		P.aeruginosa	0 UFC/ 100ml	
Analyses physico-chimiques	Point A	pH	entre 6,5 et 8,5	Pour que la désinfection de l'eau par le chlore soit efficace, le pH doit être de préférence < 8
		Conductivité	2700	
		Température	Acceptable	
		Chlore libre	entre 0,1 et 0,3	
		Nitrate	< 10 mg/l	
		Nitrite	< 0,05 mg/l	
		Cuivre	< 0,5 mg/l	

En cas de dépassement d'une limite de qualité au niveau du point C qui correspond à l'eau qui se trouve dans différents points d'usage que ça soit une eau de réseau ou eau bactériologiquement maîtrisée, des mesures correctives sont nécessaires. Le tableau 14 représente les mesures correctives concernant le point C, nous devons refaire juste les analyses concernant FMAT 22 et 37°C, et *P.aeruginosa*.

Tableau 14. Action corrective au point C (analyses microbiologiques) EBM

Type d'analyse	Point de contrôle	Indicateurs	Niveau maximal admissible	Actions correctives
Analyses microbiologiques	Point C	FMAT à 22°C	< 100 UFC/100ml	Analyse complémentaire, opération de maintenance et d'entretien, désinfection
		FMAT à 37°C	< 10UFC/100ml	
		P. aeruginosa	0 UFC/ 100ml	



Le tableau 15 résume les mesures correctives au niveau du point B qui se trouve au service de néphrologie de l'eau pour hémodialyse.

Tableau 15. Action corrective au point B (analyses microbiologiques et physico-chimiques)

Type d'analyse	Point de contrôle	Indicateurs	Niveau maximal admissible	Actions correctives
Analyses microbiologiques	Point B	endotoxine	< 0,25 UI/ml	Si dépassement d'un NMA: *analyse de confirmation est nécessaire
		Flore revivifiable à 22°C	100 UFC/ 100ml	
Analyses physico-chimiques	Point B	Conductivité	4 µS/cm	Analyse quotidienne est nécessaire

Pour l'eau chaude sanitaire le tableau 16 résume les différentes actions correctives concernant ce type d'eau.

Tableau 16 : Action corrective pour l'eau chaude sanitaire

Indicateurs	Objectifs de la qualité	Actions correctives
<i>Legionella. sp</i>	<50 UFC/L réanimation Et 1000 UFC/L les autres services hospitaliers	- vérification et réglage des installations (température, pompe, dispositif de traitement anti-microbien ...)
		- détartrage et désinfection des éléments de robinetterie aux points d'usage
		- chasse complète, détartrage et désinfection du réseau (si possible)

II. Résultats des prélèvements d'eau réalisée au CHU de Fès

II.1.Eau de réseau

A fin de pouvoir juger la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de réseau, des échantillons d'eau de réseau ont été prélevés à l'entrée de l'hôpital (point A) et aux différents points d'usage.

II.1.1.Analyses physico- chimiques

Nous avons effectué 9 prélèvements pour les analyses physico-chimiques d'eau de réseau qui correspondaient aux exigences de qualité présenté ci-dessous :

- Nitrates : 50 mg/l
- Nitrites : 0,5 mg/l
- Cuivre : 2mg/l
- Chlore : entre 0,1 et 0,3 mg/l
- Conductivité : 2700 µS/cm à 20°C
- pH : entre 6,5 et 8,5



Le tableau 17 présente les résultats des différents paramètres physico-chimiques de l'eau de réseau selon les normes marocaines [16] à l'entrée de l'hôpital et aussi aux différents points critiques comme les services à risques.

Tableau 17. Résultats des analyses physico- chimiques pour l'eau du réseau Selon la norme Marocaine

	Nitrate mg/l	nitrite mg/l	cuivre mg/l	chlore libre mg/l	pH moyenne	conductivité µs/cm à 20°C
Entrée de l'hôpital	< 10	< 0,05	< 0,5	0,3		
Oncologie FRG	< 10	< 0,05	< 0,5	0,3		
Oncologie FRD	< 10	< 0,05	< 0,5	0,1		
Oncologie Salle de soin	< 10	< 0,05	< 0,5	0,1		
Bloc opératoire Ass1 D1	< 10	< 0,05	< 0,5	0,1	7,754	554
Bloc opératoire ASS2 G1	< 10	< 0,05	< 0,5	0,3		
Dermatologie	< 10	< 0,05	< 0,5	0,1		
Néphrologie	< 10	< 0,05	< 0,5	0,3		
Réanimation	< 10	< 0,05	< 0,5	0,3		

FRG : Fontaine réfrigérante gauche

FRD : Fontaine réfrigérante droite

II.1.2. Analyses microbiologiques

Nous avons réalisé un total de 53 prélèvements d'eau du réseau, dont 50 sont conformes à la norme de potabilité avec absence de *P. aeruginosa* [NF EN 12780, Août 2002]. Les 3 autres provenant d'un seul point d'eau au niveau du service Dermatologie ont enregistré la présence de coliformes totaux et d'*E. coli*. Une analyse supplémentaire a été réalisée pour confirmer le résultat.

Les exigences de qualité de l'eau de réseau sont représentées ci-dessous :

- Flore mésophile revivifiable totale : < 20 UFC/ml à 37°C
- Flore mésophile revivifiable totale < 100 UFC/ ml à 22°C
- Coliformes totaux : 0 UFC/ 100ml à 37°C
- Coliformes thermotolérants (*E.coli*) : 0 UFC/ 100ml à 44°C
- Entérocoques intestinaux : 0 UFC/ 100ml à 37°C
- Spores sulfito- réductrices : 0 UFC/10 ml à 37°C
- *Pseudomonas aeruginosa* : 0 UFC/ 100 ml à 37°C

La figure 6 présente les fréquences des différents types de bactéries et leurs points de distribution.

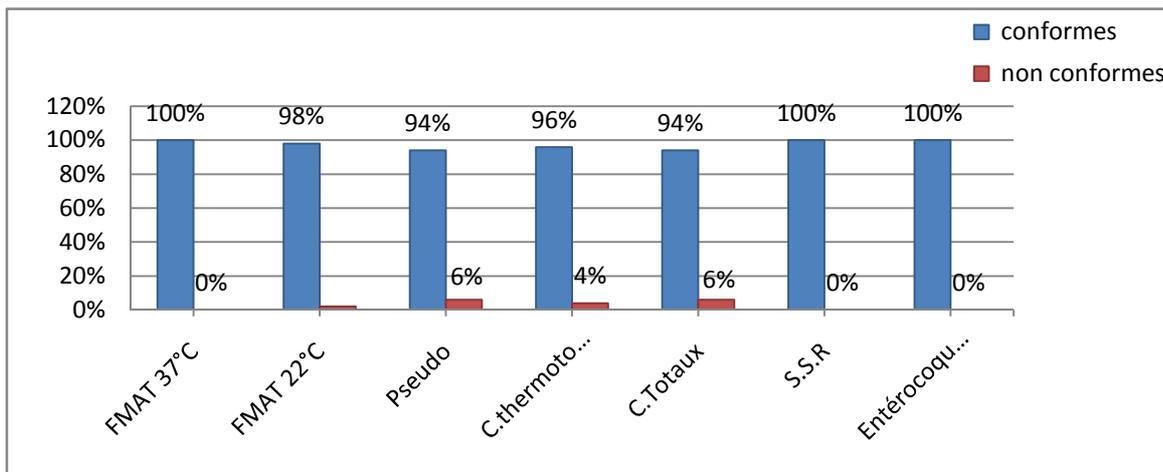


Figure 9 : Pourcentage de conformité par flore analysée des prélèvements de l'eau de réseau

II.2. Eau bactériologiquement maîtrisée

Les exigences de qualité de cette catégorie d'eau correspondent à :

Niveau cible :- flore totale à 37 et 22°C : ≤ 1 UFC/100 ml

- *P. aeruginosa* : < 1 UFC/100 ml

Niveau d'action : - flore totale à 37 et 22°C ≥ 10 UFC/100 ml

- *P. aeruginosa* : ≥ 1 UFC/100 ml

Dans cette catégorie d'eau (EBM), nous avons réalisé 25 prélèvements dont 15 correspondent à un niveau cible, 6 ont enregistré une flore totale à 37 et 22°C entre 2 et 4 UFC/100ml avec absence de *P. aeruginosa*, et 6 prélèvements ont atteint un niveau d'action avec une flore totale ≥ 10 UFC/100 ml et/ou un taux en *P. aeruginosa* : < 1 UFC/100 ml.

Les services concernés sont la réanimation néonatale, les blocs opératoires et la salle d'accouchement.

Le Figure 10 présente les pourcentages de conformité des eaux bactériologiquement maîtrisées analysées. Les critères de qualité sont les suivants :

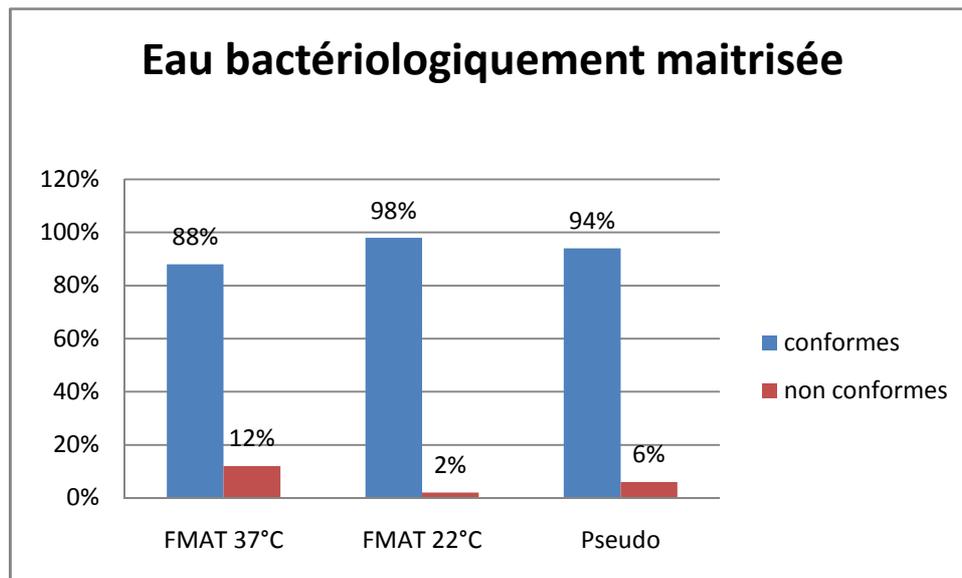


Figure 10 : pourcentage de conformité des eaux bactériologiquement maîtrisées analysées

II.3. Eau chaude sanitaire

Les exigences de qualité de l'eau chaude sanitaire dans les services hospitaliers sont *Legionella pneumophila* <1000 UFC / l et <50UFC/1L dans les services de réanimation. Nous avons réalisé 6 prélèvements d'eau chaude sanitaire dans les services de Dermatologie et Néphrologie, les seuls au CHU qui dispose d'eau chaude sanitaire.

II.4. Eau pour hémodialyse

Deux points de prélèvement doivent être contrôlé dans une centrale de traitement de l'eau pour hémodialyse : A la sortie de l'osmoseur et en départ de boucle.

Dans notre travail, le prélèvement correspondant au départ de boucle n'a pas été réalisé en raison d'un arrêt momentané de la centrale le jour du prélèvement, et nous l'avons remplacé avec un échantillon d'eau prélevé à la sortie de la cuve de stockage.

Les résultats des prélèvements correspondent aux exigences de qualité précisée par l'arrêté de 2003 [34]. L'analyse d'endotoxine n'a pu être malheureusement réalisée.

Discussions



Dans les unités de soins, l'eau du réseau intérieur de distribution est souvent utilisée pour un usage médical. Elle nécessite, outre le maintien de la potabilité, une maîtrise permanente de la contamination par des micro-organismes pathogènes opportunistes (ex : *Pseudomonas aeruginosa*) et un traitement antimicrobien complémentaire. Les contrôles microbiologiques de l'eau à l'entrée de l'établissement, du réseau intérieur et au point d'usage permettent de s'assurer qu'il n'existe pas de dégradation de la qualité de l'eau véhiculée par le réseau de distribution et que la qualité de l'eau utilisée garantit la sécurité sanitaire pour les patients.

La maîtrise permanente de la qualité microbiologique de l'eau du réseau intérieur de distribution conduit à établir, à mettre en œuvre et à maintenir une démarche qualité qui s'appuie sur l'évaluation des risques infectieux hydriques et sur un suivi programmé des mesures de prévention de la contamination de l'eau avec des actions correctives préétablies. En effet dans notre étude, la stratégie de surveillance de l'eau proposée est basée sur la maîtrise de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau distribuée à l'intérieur de l'hôpital, dans les services à risque comme la réanimation et les blocs opératoires. Pour atteindre cet objectif, nous avons tracé un plan de surveillance du réseau d'eau avec détermination des points de contrôle, en précisant les niveaux de qualité requis, les techniques de prélèvement et les modalités d'analyse qui doivent être complétées par la recherche des germes de l'hospitalisme tels que *Pseudomonas* sp. ou *legionella pneumophila*. En effet, plusieurs études ont documenté des infections nosocomiales consécutives à la détection des biofilms formés par des micro-organismes dans le réseau d'eau de l'hôpital [40,41]. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de pathologie nosocomiale sévère dont le taux de létalité peut atteindre 70 % dans les pneumopathies nosocomiales [43-46]. Dans une autre étude [47], 11,5 à 35,2% des points d'eau étaient contaminés par *P.aeruginosa*. Ce niveau de biocontamination nous paraît élevé au regard des taux généralement rapportés.

Le seul point d'usage non conforme était situé dans une salle de bain qui était condamnée (non utilisable) en vue d'un changement de plan. Ce qui mettrait le point hors de danger pour les consommateurs pendant la période des travaux. Une nouvelle analyse devrait être programmée à l'ouverture du nouveau local. En cas de confirmation de l'anomalie, une désinfection au chlore (100 ppm) de la partie incriminée durant 24H à 48H, et un rinçage efficace sont recommandés.

En ce qui concerne l'eau bactériologiquement maîtrisée, *P .aeruginosa* a été isolé dans 6% des échantillons. Pour lutter contre la contamination de ce type d'eau, il est recommandé de tenir un



carnet de suivi de stérilisation des microfiltres utilisés. La périodicité de stérilisation des filtres est déterminée en concertation avec le CLIN de l'établissement.

La maîtrise du risque lié aux légionelles est prioritaire et repose sur la connaissance l'entretien régulier du réseau et les équipements ainsi que sur la surveillance régulière des paramètres physiques (température de l'eau,...) et microbiologiques. Dans certains cas, l'eau froide du réseau peut atteindre une température supérieure à 25°C (mauvaise isolation ou exposition solaire). A ce moment, le risque *Legionella* concerne également ces eaux froides et les mesures préventives spécifiques doivent s'appliquer. Au Maroc, les études de prévalence de *Legionella* restent fragmentaires, en particulier dans les établissements de santé où le risque de légionellose est plus important.



Conclusion

Dans un établissement de santé, le plan du réseau de distribution de l'eau, est un outil indispensable à l'évaluation des risques et à l'identification des points critiques, pour la mise en place d'un plan de surveillance et d'entretien, d'un plan d'échantillonnage et la mise en œuvre de mesures préventives ou curatives adéquates. Il doit être régulièrement tenu à jour, en particulier après chaque modification des installations.

Dans ce travail, nous avons justement essayé de tracer le plan du réseau du CHU Hassan II de Fès. Nous avons également déterminé des points de contrôle ce qui nous a aidé à proposer une stratégie de surveillance de la qualité des différents types d'eau, et de mettre en œuvre des actions correctives en cas de dégradation de cette qualité.