
UNIVERSITE DE NANTES
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année 2004

Thèse n°

L'EAU, VECTEUR DE GERMES

**EVALUATION DE LA CONTAMINATION DE L'EAU DU CENTRE DE SOINS,
D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DENTAIRE DU C.H.U. DE NANTES**

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement par

DENIS Carole

Née le 29/10/1977

le 8 janvier 2004 devant le jury ci-dessous

Président : Monsieur le Professeur J.A. POUËZAT

Assesseur : Monsieur le Professeur W. BOHNE (directeur)

Assesseur : Monsieur le Docteur G. AMADOR DEL VALLE

Assesseur : Monsieur le Docteur F. BODIC

INTRODUCTION	4
1 LES POPULATIONS DE L'EAU	6
1.1 Les germes en présence	6
1.1.1 Les micro-organismes eucaryotes	6
1.1.1.1 Les algues	6
1.1.1.1.1 Caractères	6
1.1.1.1.2 Classification	7
1.1.1.2 Les protozoaires	8
1.1.1.2.1 Morphologie	8
1.1.1.2.2 Physiologie	8
1.1.1.2.3 Classification	9
1.1.1.3 Les mycètes	10
1.1.2 Virus et bactériophages	11
1.1.2.1 Les virus humains	12
1.1.2.2 Les bactériophages : virus bactériens	12
1.1.3 Les bactéries	13
1.1.3.1 Structure	13
1.1.3.1.1 Les enveloppes	14
1.1.3.1.2 Les flagelles et pili	15
1.1.3.1.3 Le cytoplasme	16
1.1.3.1.4 L'appareil nucléaire	17
1.1.3.1.5 Les spores	17
1.1.3.2 Physiologie	18
1.1.3.2.1 Sources d'énergie	18
1.1.3.2.2 Besoins nutritifs	18
1.1.3.2.3 La température	19
1.1.3.2.4 pH	20
1.1.3.2.5 Matière organique	20
1.2 Les conditions de survie et de multiplication des bactéries en milieu aquatique	21
1.2.1 Vie, survie et mort des bactéries	21
1.2.2 Vie et mort des bactéries	22
1.2.3 Bactéries viables, bactéries cultivables	24
1.2.4 Stress et lésions chez les bactéries	24
1.2.5 L'adhésion	25
1.3 Infections d'origine hydrique	26
1.3.1 Pouvoir pathogène	26
1.3.2 Transmission hydrique	27
1.3.2.1 Réservoirs de germes	27
1.3.2.2 Les individus réceptifs	28
1.3.2.3 Mode de transmission	28
1.3.2.4 Doses infectieuses	28
1.3.3 Epidémiologie	29
1.3.4 Infections bactériennes	29
1.3.4.1 <i>Salmonella</i>	30
1.3.4.2 <i>Shigella</i>	30
1.3.4.3 <i>Escherichia coli</i>	30
1.3.4.4 <i>Yersinia enterocolitica</i>	30
1.3.4.5 <i>Vibrio cholerae</i>	31
1.3.4.6 <i>Campylobacter jejuni</i>	31
1.3.4.7 <i>Legionella</i>	31
1.3.5 Infections virales	32
1.3.5.1 Les hépatites	32
1.3.5.2 Les gastro-entérites virales	32
1.3.6 Infections à protozoaires	33

1.3.6.1	<i>Giardiase</i>	33
1.3.6.2	<i>Cryptosporidiose</i>	33
2	CARACTERISTIQUES DE L'EAU DES UNITS DENTAIRES	34
2.1	La flore de l'eau des units	34
2.1.1	Les germes retrouvés	34
2.1.2	Epidémiologie.....	37
2.1.2.1	Le personnel dentaire	37
2.1.2.2	Les patients.....	38
2.1.2.2.1	Cas d'infection par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39
2.1.2.2.2	<i>Legionella</i>	39
2.1.2.2.3	<i>Mycobacterium</i>	40
2.1.2.2.4	Amibes.....	40
2.2	Le biofilm	43
2.2.1	Formation.....	43
2.2.2	Description.....	43
2.2.3	Contamination.....	44
2.3	Caractéristiques des units	44
2.3.1	La colonisation de surface	45
2.3.2	Le flux laminaire.....	45
2.3.3	Le rapport surface/volume	45
2.4	Origine de la contamination des conduites d'eau des units.....	46
2.4.1	L'eau de distribution	46
2.4.2	Le retour de fluides oraux dans les instruments.....	46
2.4.3	Origine des micro-organismes identifiés dans l'eau des units	46
2.5	Importance de la contamination.....	48
3	LE TRAITEMENT DE L'EAU	49
3.1	Le traitement de l'eau avant sa distribution	49
3.1.1	Les prétraitements.....	49
3.1.2	L'oxydation.....	49
3.1.2.1	Mécanismes d'inactivation des virus.....	50
3.1.2.2	Mécanismes d'inactivation des bactéries	50
3.1.2.3	Mécanismes d'inactivation des protozoaires.....	50
3.1.2.4	Les oxydants utilisés	51
3.1.2.4.1	Le chlore, l'acide hypochloreux et les hypochlorites	51
3.1.2.4.2	La monochloramine.....	51
3.1.2.4.3	Le dioxyde de chlore	51
3.1.2.4.4	L'ozone.....	51
3.1.3	Elimination des micro-organismes par clarification	52
3.1.4	Les traitements biologiques de l'eau.....	52
3.2	Les moyens de traitements de l'eau utilisés en cabinet dentaire.....	53
3.2.1	Faire couler l'eau	53
3.2.2	Nettoyage des units avec des solutions désinfectantes.....	54
3.2.2.1	Les modes de traitements chimiques	54
3.2.2.1.1	Le traitement chimique intermittent	54
3.2.2.1.2	Le traitement chimique continu	54
3.2.2.2	Les agents chimiques.....	55
3.2.2.2.1	L'hypochlorite de sodium.....	55
3.2.2.2.2	Hypochlorite de sodium, glutaraldéhyde, isopropanol	55
	Dans une série d'essais, les auteurs ont étudié la réapparition de la croissance microbienne après le traitement avec l'hypochlorite de sodium, du glutaraldéhyde et de l'isopropanol à 15,3%.....	55

3.2.2.2.3	Listerine® Antiseptic.....	56
3.2.2.2.4	Comparaison Eau de Javel, Cavicide®, Glutaraldéhyde, Listerine®, Peridex®, Sterilex Ultra®	56
3.2.2.2.5	Polyvidone iodée	57
3.2.2.2.6	Le concept IGN 500-Calbénium.....	58
3.2.3	Les valves anti-rétraction.....	58
3.2.4	La filtration	59
3.2.5	Les systèmes à réservoir indépendant.....	59
3.2.6	Les systèmes à eau stérile	60
3.2.7	Les systèmes de traitement automatique.....	60
3.2.8	Les systèmes en développement	60
3.2.8.1	L'utilisation de la lumière UV.....	60
3.2.8.2	Les systèmes autoclavables	61
3.3	L'importance de la maintenance.....	61
3.4	Le contrôle microbiologique au cabinet.....	61
3.5	La recherche spécifique de germes au cabinet	62
4	EVALUATION DE LA CONTAMINATION BACTERIENNE DE L'EAU PROVENANT D'UNITS DENTAIRES AU CENTRE DE SOINS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DENTAIRES DU C.H.U. DE NANTES	63
4.1	Le système de traitement de l'eau du Centre de Soins Dentaires.....	63
4.2	L'évaluation	64
4.2.1	Matériels et méthodes	64
4.2.1.1	Matériel	64
4.2.1.2	Les prélèvements.....	65
4.2.1.3	Le traitement des échantillons.....	65
4.2.1.3.1	Préparation du matériel.....	65
4.2.1.4	Filtration et mise en culture.....	66
4.2.1.4.1	Première mise en culture	66
4.2.1.4.2	Deuxième mise en culture	66
4.2.1.4.3	Troisième mise en culture.....	66
4.2.1.4.4	Quatrième mise en culture.....	67
4.2.2	Lecture	67
4.3	Résultats	67
4.3.1	Résultats de la filtration	67
4.3.2	Résultats des prises de température	73
4.4	Interprétation et discussion	73
4.5	Mesures de prévention au fauteuil	75
	CONCLUSION	77
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	79

INTRODUCTION

« L'eau fait partie du patrimoine commun de la nation, sa protection, sa mise en valeur et le développement de la ressource utilisable, dans le respect des équilibres naturels sont d'intérêt général ». Article 1^{er}- Loi sur l'eau du 3 Janvier 1992.

Partie intégrante de notre vie quotidienne, l'eau est devenue au fil des années une préoccupation majeure de notre société : la protection de la ressource en eau, la préservation des milieux aquatiques, la lutte contre les pollutions, la qualité de l'eau potable....sont autant d'enjeux pour le XXI^e siècle.

Si l'eau est indispensable à l'homme pour sa survie, elle tient également une place prépondérante dans ses activités professionnelles.

Il ressort de la littérature internationale que l'eau se charge de germes durant son trajet vers le consommateur. Son spectre bactérien varie en fonction de la durée du trajet et de la température. Dans des conditions normales et en l'absence de périodes de stagnation, la potabilité de l'eau ne se trouve pas altérée.

Au spectre bactérien du réseau d'eau potable se greffe cependant un spectre spécifique des conduites d'eau des unités dentaires. La nature des conduites, la température de l'eau et la stagnation favorisent la prolifération bactérienne. Il a été démontré que les proportions de prélèvements bactériologiquement positifs entre l'eau des unités dentaires et « l'eau du robinet » variaient de 2 à 1, à 4 à 1 selon les espèces (10), que 72 % des prélèvements effectués à la sortie des seringues air/eau étaient impropres à la consommation (35).

Par conséquent, le cumul des deux spectres, en l'absence de mesures de prévention est susceptible d'engendrer des pathologies chez des patients « fragilisés », notamment chez les personnes âgées ou immunodéprimées.

C'est pourquoi il nous a paru intéressant d'analyser la littérature internationale, de décrire le protocole du traitement de l'eau au Centre de Soins, d'Enseignement et de Recherche

Dentaire du C.H.U. de Nantes et d'en apprécier la qualité, d'évaluer la contamination de l'eau provenant des unités dentaires du Centre de Soins, d'Enseignement et de Recherche dentaires et de proposer des mesures de prévention, au fauteuil.

Pour des raisons budgétaires, nous n'avons pu effectuer qu'une étude quantitative limitée à un nombre restreint de fauteuils.

Notre étude complète l'évaluation de l'aérobiocontamination réalisée en 1994 par le Département de Santé Publique bucco-dentaire de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Nantes, dans le même Centre.

1 LES POPULATIONS DE L'EAU

1.1 Les germes en présence

1.1.1 Les micro-organismes eucaryotes

Les micro-organismes eucaryotes forment un monde immense et très diversifié, pourtant ils ont tous un caractère fondamental commun : la complexité de leur organisation cellulaire liée à l'apparition de nombreux organites intra-cytoplasmiques spécialisés.

La très grande majorité des micro-organismes eucaryotes sont unicellulaires. Les micro-organismes pluricellulaires présentent un autre degré de complexité, caractérisé par une spécialisation cellulaire et une différenciation tissulaire.

Les micro-organismes eucaryotes forment un groupe hétérogène comprenant les animaux et les végétaux (16).

1.1.1.1 Les algues

Ce sont des organismes photosynthétiques très abondants sur toute la surface de la terre. Elles colonisent les eaux douces et marines et constituent le phytoplancton.

Certaines espèces sont capables de se développer dans le sol ou à la surface de végétaux. Elles produisent de l'oxygène et des composés organiques. C'est la raison pour laquelle elles sont très souvent le point de départ de chaînes alimentaires.

1.1.1.1.1 Caractères

La plupart des algues sont unicellulaires et microscopiques, d'autres sont pluricellulaires et forment des filaments de longueur variable ou un thalle, structure en forme de lame aplatie plus ou moins ramifiée.

Leurs caractères sont typiquement végétaux : la cellule algale contient un noyau et des organites propres aux eucaryotes. Elle possède une membrane cellulosique. Elle est douée de photosynthèse grâce à un chloroplaste, organite hautement spécialisé qui renferme les pigments synthétiques. Au cours de la photosynthèse, les algues utilisent le CO₂ pour

synthétiser leurs constituants carbonés, elles produisent de l'oxygène et accumulent l'amidon comme substance de réserve.

Chez la plupart des algues unicellulaires, la reproduction est asexuée. Les cellules filles formées par scissiparité sont libérées à la suite de l'éclatement de la paroi. La reproduction peut aussi être sexuée.

Certaines espèces se limitent à un seul type de multiplication, sexuée ou asexuée, d'autres ont un cycle biologique complexe au cours duquel apparaissent les deux processus.

1.1.1.1.2 Classification

Les algues constituent un ensemble très diversifié qui compte plus de 20000 espèces.

Leur classification repose sur l'habitat (eau douce et/ou marine), la morphologie (uni ou pluricellulaire), la membrane (cellulose/silice/alginate/caragénine), les types de pigments, les substances de réserve (paramylon, chrysolaminarines, amidon, laminarine, mannitol), le nombre de flagelles et leur position.

On distingue donc 6 groupes principaux :

- Les euglénophytes : 450 espèces, unicellulaires, présentes dans les eaux douces et absence de membrane cellulosique.

- Les chrysophytes : 17000 espèces, unicellulaires, comportent des flagelles, les membranes cellulosiques contiennent beaucoup de silice. Les diatomées qui constituent la majeure partie du phytoplancton s'accumulent après leur mort au fond de l'eau pour former des couches sédimentaires de plusieurs mètres d'épaisseur. Cette roche silicieuse très fine est utilisée pour filtrer l'eau des piscines ou dans l'industrie alimentaire pour purifier la bière ou les jus de fruits.

- Les pyrrophytes : appelées « algues brunes », 1000 espèces, unicellulaires, mobiles, comportent une membrane cellulosique, photosynthétiques, pigments caroténoïdes (coloration jaune brun) Ces algues forment en grande partie le phytoplancton des eaux douces et marines. Elles sont bien connues pour leur prolifération soudaine et caractéristique en milieu marin qu'on appelle les marées rouges ou eaux rouges.

- Les chlorophytes : 7000 espèces, eau douce principalement, appelées « algues vertes », unicellulaire (chlamydomonas) ou pluricellulaires.

1.1.1.2 Les protozoaires

Ils constituent un groupe très hétérogène d'organismes eucaryotes. Contrairement aux algues, ils ne sont pas photosynthétiques et sont dépourvus de membrane cellulosique. Ils sont toujours unicellulaires et mobiles. La plupart vivent en milieu aquatique. Quelques espèces sont parasites de l'Homme. Les amibes (*Giardia* et *Cryptosporidium*) peuvent être transmis à l'Homme par l'intermédiaire de l'eau d'alimentation et provoquer des infections épidémiques.

1.1.1.2.1 Morphologie

Les protozoaires ont des formes extrêmement diverses et des tailles qui peuvent varier de 1 à 2000 microns.

La paramécie est un représentant typique des protozoaires et mesure 150 microns de longueur. Il possède une enveloppe mince recouverte de plusieurs centaines de cils qui assurent sa propulsion dans l'eau. A la base du cil qui prend naissance dans le cytoplasme, existe un corpuscule basal, le blépharoplaste qui contrôle le mouvement.

Le cytopharynx est une cavité profonde et a une structure apparentée à une bouche ou cytostome. Les particules alimentaires sont aspirées dans le cytostome puis emprisonnées dans des vacuoles digestives qui assurent leur digestion. Deux vacuoles contractiles assurent l'évacuation de l'eau du cytoplasme pour maintenir l'équilibre. La paramécie possède 2 noyaux : le macronucléus qui régule le métabolisme et le micronucléus qui contrôle la reproduction.

1.1.1.2.2 Physiologie

Les protozoaires se nourrissent de particules organiques en suspension ou de cellules bactériennes par phagocytose. Les conditions de température les plus favorables varient entre

15 et 25 °C, le pH doit être voisin de la neutralité. La reproduction est sexuée ou asexuée le plus fréquemment (par fission).

1.1.1.2.3 Classification

On distingue 4 classes principales différenciées par la nature de l'appareil locomoteur et par les caractéristiques de leur cycle biologique :

- Les flagellés se déplacent grâce à des organites locomoteurs en forme de poils, très allongés appelés flagelles. De nombreuses espèces sont pathogènes pour l'Homme : *Trypanosoma gambiense*, responsable de la maladie du sommeil, *Leishmania donovani*, responsable du kala-azar (leishmaniose viscérale), *Giardia lamblia*, provoque des gastro-entérites rebelles et *Trichomonas vaginalis* qui est un agent d'infections génitales.

- Les rhizopodes ont la particularité de former des pseudopodes qui servent à leur déplacement et à la capture de leurs proies. Certains sont parasites et pathogènes de l'Homme. L'amibe *Entamoeba histolytica* est responsable de la dysenterie amibienne (maladie largement répandue dans les pays tropicaux).

- Les ciliés sont caractérisés par des cils plus courts que les flagelles qui servent à leur déplacement et à la capture de leur nourriture. Certains sont parasites de l'Homme : *Balantidium coli* engendre des maladies de type dysentérique. Ils jouent un rôle particulièrement important dans les communautés biotiques. Ce sont des consommateurs actifs qui se nourrissent d'algues microscopiques et de bactéries, ils sont ensuite la proie d'autres consommateurs.

- Les sporozoaires, ce sont des espèces exclusivement et obligatoirement parasites avec des formes immobiles. Les plus connues en pathologie humaine sont les *Cryptosporidium* qui semblent jouer un rôle dans les gastroentérites transmises par l'eau et les aliments souillés.

1.1.1.3 Les mycètes

Dépourvus de pigments chlorophylliens, ils sont incapables d'effectuer la photosynthèse comme les algues et tirent leur énergie de l'oxydation de composés chimiques organiques. Ils sont dépourvus d'organe de locomotion et possèdent une paroi cellulaire composée de cellulose et de chitine, ce qui les différencie des protozoaires. Ils végètent le plus souvent dans les milieux extérieurs à l'homme sur la matière organique en décomposition. On les appelle alors des saprophytes. Ils peuvent aussi parasiter un hôte, chez l'homme, certaines espèces sont pathogènes. Les mycètes sont caractérisés, avant tout, par une structure mycélienne. Ils sont constitués par des éléments filamenteux : les hyphes, plus ou moins allongés, ramifiés dont l'ensemble connu sous le nom de mycélium peut atteindre plusieurs mètres de longueur. Ces filaments sont de véritables tubes, résistants et protecteurs composés principalement de chitine.

Le mycélium bien que contenant un cytoplasme mobile est lui-même incapable de se déplacer à cause de la rigidité de ses parois. Les mycètes se reproduisent à partir de spores. Arrivés à maturité, les spores se détachent et sont disséminés par le vent, l'eau ou les insectes. Dans des conditions favorables, elles germent, émettent des hyphes simples ou ramifiés qui se développent considérablement pour constituer finalement un mycélium.

Les mécanismes de formation des spores et de reproduction sont très diversifiés et amènent à une classification :

- les phycomycètes ou champignons primitifs. Ces champignons peuvent être aquatiques, végétant sur les débris organiques en décomposition, parasitant d'autres cellules, ils peuvent aussi être terrestres et se composent comme des agents catalytiques actifs des transformations chimiques qui se déroulent dans le sol.
- les ascomycètes ou mycètes supérieurs. Les *Penicillium* représentent un des genres les mieux connus en raison de la fréquence avec laquelle ils contaminent les aliments et aussi parce que certaines espèces sont capables de synthétiser des antibiotiques : les pénicillines.
- les basidiomycètes : les plus connus des basidiomycètes sont les champignons comestibles ou vénéneux.

- les oomycètes : la plupart des espèces sont saprophytes et vivent en milieu aquatique, elles ont besoin d'eau pour le déplacement de leurs spores. Quelques espèces sont parasites, deux sont particulièrement connues, *Phytophthora infestans* responsable du mildiou de la pomme de terre et *Plasmopora viticola* du mildiou de la vigne.

- les deutéromycètes ou « mycètes imparfaits ». La plupart des mycètes pathogènes pour l'homme appartiennent à ce groupe comme *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatidis*. Les mycoses dont ils sont responsables sont généralement bénignes. Par contre chez les malades immunodéprimés ces agents pathogènes peuvent atteindre le système réticulo-endothélial, gagner la circulation sanguine et devenir systémiques.

- les levures : ce sont des mycètes unicellulaires.

1.1.2 Virus et bactériophages

Les virus se distinguent des organismes eucaryotes (algues, protozoaires et mycètes) ou procaryotes (bactéries) par leur structure non cellulaire : on les appelle les acaryotes.

Les virus sont des particules qu'on appelle virions et que Lwoff en 1953 a défini de la façon suivante :

1. le virion ne possède qu'un seul type d'acide nucléique, soit de l'acide ribonucléique (ARN), soit de l'acide désoxyribonucléique (ADN).
2. le virion se reproduit à partir de son seul acide nucléique.
3. le virion est incapable de croître ou de se diviser.
4. le virion ne possède pas les informations génétiques assurant la synthèse des enzymes du métabolisme énergétique.
5. la multiplication des virions implique l'utilisation des structures et de l'énergie de la cellule hôte. Le virion manifeste donc un parasitisme absolu.

En microscopie électronique, les virus apparaissent sous forme cylindrique (variolo), sphérique (grippe), ou encore allongée et rigide (mosaïque du tabac). Leur taille est inférieure à celle des bactéries ; elle varie de 15 nm à 300 nm.

1.1.2.1 Les virus humains

Le virion en tant que particule infectieuse, est constitué d'une molécule d'acide nucléique, associée à des protéines internes et protégée par une coque rigide de nature protéique : la capside. La capside peut être nue ou entourée d'une enveloppe (péplos).

1.1.2.2 Les bactériophages : virus bactériens

Dans une culture de bactéries en milieu liquide, les bactériophages infectent les cellules et produisent un éclaircissement visible de la suspension. Sur un milieu solide gélosé, ensemencé avec une culture de bactéries sensibles, les bactériophages provoquent des plaques de lyse à la surface du tapis bactérien qu'on appelle les plages. Chaque plage correspond à un corpuscule bactériophagique qui, en infectant les bactéries et en se multipliant à leurs dépens détruit localement le film superficiel. En somme, une plage provient d'un seul corpuscule phagique, de la même façon qu'une colonie bactérienne est produite par une bactérie.

Ils ont une architecture analogue aux virus : ils sont constitués d'unités de structure protéiques, entourant et protégeant un acide nucléique ; l'ensemble réalise la capside. Le phage possède toutes les propriétés des virus en particulier le pouvoir infectieux. On distingue les phages à ARN et les phages à ADN. On en démontre actuellement plus de 1700. Les bactériophages accompagnent toujours les bactéries dans les milieux où elles se multiplient. Dans les eaux de rivière (exemple : le Gange) on les a considérés comme responsables des phénomènes d'auto-épuration c'est-à-dire de la destruction des bactéries entériques et du vibron cholérique. La recherche de bactériophages comme marqueurs bactériens ou viraux en milieu aquatique peut se révéler d'un grand intérêt.

- Marqueur bactérien

La présence des bactériophages dans un milieu révèle celle des bactéries qui ont permis leur multiplication. Des bactériophages de l'antigène Vi (récepteur phagique), isolés d'une eau, montrent que cette eau a été probablement contaminée par *Salmonella typhi*, bactérie pourvue de cet antigène. De même la présence de bactériophages actifs sur le groupe *Enterobacteriaceae* et en particulier sur *E. coli*, prouvera que l'échantillon soumis à l'analyse contient des colibacilles, indices d'une pollution organique. Ces tests diagnostiques ont été

appliqués réglementairement en France pour mettre en évidence la contamination fécale des eaux d'alimentation. Ces procédés diagnostiques sont simples, rapides et économiques. Dans le domaine épidémiologique, la lysotypie est un moyen efficace de caractériser les souches à l'intérieur d'une même espèce, les unes très sensibles, sont totalement lysées, d'autres le sont partiellement, d'autres enfin sont résistantes. Grâce à un seul bactériophage on peut donc définir 3 catégories de souches dans l'espèce. En utilisant alors plusieurs bactériophages, le nombre de catégories s'élève. Chaque catégorie ainsi créée est un lysotype.

- Marqueur viral

Les bactériophages peuvent servir de modèle pour étudier la qualité sanitaire de l'eau. Cette donnée est importante, étant donnée l'extension possible des infections virales à partir des eaux d'alimentation.

1.1.3 Les bactéries

Les bactéries sont les plus petits organismes connus, doués de métabolisme et capables de croître et de se diviser aux dépens de substances nutritives. Leur diamètre est habituellement d'environ 1 μm .

1.1.3.1 Structure

La cellule est entourée d'une enveloppe rigide : la paroi qui donne force et résistance. La membrane cytoplasmique est plus mince et délicate. Le cytoplasme est très homogène et contient des ribosomes et parfois des substances de réserve. L'appareil nucléaire se trouve dans le cytoplasme. La paroi, la membrane, le cytoplasme et l'appareil nucléaire représentent les structures essentielles de la cellule bactérienne, elles sont toujours présentes.

D'autres éléments peuvent parfois s'y adjoindre : la capsule, c'est une enveloppe externe, les flagelles et les pili ou fimbriae qui sont plus fins, plus rigides et cassant que les flagelles.

1.1.3.1.1 Les enveloppes

1.1.3.1.1.1 Paroi

La pression osmotique interne, dans la cellule bactérienne, est comprise entre 5 et 20 atmosphères. Pour équilibrer cette énorme pression, la bactérie est pourvue d'un exosquelette rigide et résistant, la paroi, constituée d'un polymère : le peptidoglycane. Il est le composant fondamental de cette paroi et est responsable de la forme et de la rigidité. On distingue 3 formes principales de bactéries : sphériques (les cocci), allongées en bâtonnets (bacilles) ou spiralées (spirilles).

Les différentes structures sont à la base de la coloration de Gram qui distingue les bactéries en deux catégories.

La paroi joue un rôle protecteur contre les variations de pression osmotique de façon mécanique : elle assure le maintien du volume cellulaire et régularise les mouvements d'eau. Les mycobactéries, dont *mycobacterium tuberculosis* est un des représentants bien connu, contiennent dans leur paroi, en plus du peptidoglycane, des acides gras qui leur confèrent des propriétés de résistance, en particulier à l'action des acides et de l'alcool (germes acido-alcolorésistants).

1.1.3.1.1.2 Membrane cytoplasmique

Elle est principalement constituée de phospholipides et de protéines. Les lipides forment une couche bimoléculaire dans laquelle sont incluses des molécules protéiques. Cet arrangement est appelé mosaïque fluide (Mosaïque signifie que la membrane cytoplasmique est composée de différents types de protéines noyées dans le ciment lipidique et fluide suggère que ce n'est pas une structure statique et rigide).

Cette membrane cytoplasmique exerce plusieurs fonctions importantes : elle intervient dans la régulation de la pression osmotique, elle contrôle les échanges cellulaires entre l'intérieur et l'extérieur soit par diffusion soit par l'intermédiaire de pores soit par transport actif, elle peut être le siège d'endocytose (des particules sont englobées par invagination de la membrane), elle est encore le siège de la respiration.

1.1.3.1.1.3 Capsule

De nombreuses bactéries élaborent des substances organiques visqueuses qui entourent leur paroi d'une capsule plus ou moins compacte. Toutes les bactéries ne produisent pas de capsule et chez une même souche la formation est largement influencée par les constituants du milieu où la présence de glucide est primordiale. La capsule est en effet de nature polysaccharidique dans la plupart des bactéries : *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*.

Sans être indispensables à la bactérie, les substances capsulaires sont pourtant le support de propriétés physiologiques et immunologiques importantes.

Les pneumocoques capsulés sont seuls pathogènes. Supports du pouvoir infectieux, les substances capsulaires empêchent les défenses de l'organisme hôte de se manifester en protégeant les bactéries de la phagocytose et semblent exercer un chimiotactisme négatif vis-à-vis des leucocytes.

La production de substances polysaccharidiques est un phénomène fréquent en milieu aquatique. De nombreuses espèces des genres *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Arthrobacter* et *Alcaligenes* produisent des exopolymères polysaccharidiques qui participent à la structure des biofilms dans les réseaux de distribution.

Ces capsules protègent donc les bactéries prédateurs : protozoaires et bactériophages, et ont un rôle important comme facteur de survie contribuant au maintien et à la multiplication des espèces qui les synthétisent.

1.1.3.1.1.4 Appendice

Cette structure est aussi caractéristique des bactéries aquatiques. Ils possèdent à leur extrémité des structures adhésives (crampons) leur permettant de se fixer sur les supports inertes ou sur des particules organiques.

1.1.3.1.2 Les flagelles et pili

De nombreuses espèces bactériennes sont capables de se déplacer en milieu liquide ou semi solide grâce à un appareil locomoteur.

1.1.3.1.2.1 Les flagelles ou cils

Ce sont des organites extrêmement ténus, invisibles au microscope optique. Ils apparaissent sous forme d'organites simples, filamenteux, sinueux, généralement plus longs que la bactérie elle-même, de l'ordre de 6 à 20 μm . Le nombre et la disposition des flagelles à la surface d'une bactérie sont stables et génétiquement déterminés. Les caractères (système d'insertion et ciliature) sont importants pour l'identification des bactéries. Les flagelles sont des protéines qui confèrent à la bactérie des propriétés antigéniques. Exemple : chez les spirochètes, l'appareil locomoteur est constitué d'un ou plusieurs filaments axiaux. Ils sont fixés aux 2 extrémités de la cellule et sont enroulés autour du corps bactérien.

Remarque : un grand nombre de bactéries sont mobiles par glissement sur un support solide ; elles ne possèdent pas d'appareil locomoteur (exemple : les *cytophaga*).

1.1.3.1.2.2 Les pili

On distingue 2 catégories : les pili communs et les pili sexuels. Les pili communs sont distribués en grand nombre autour de la bactérie, ils sont courts (0.2 à 0.5 μm de long), rigides et cassants. Ils sont aussi invisibles au microscope. Ils assurent la fixation des bactéries sur les cellules eucaryotes et jouent ainsi un rôle dans le pouvoir pathogène ; les antigènes piliaires, qui sont protéiques, sont des adhésines.

1.1.3.1.3 Le cytoplasme

C'est un gel qui renferme des ribosomes qui sont eux-mêmes le siège de la synthèse des protéines. Des réserves d'énergie y sont constituées et accumulées sous forme soit d'amidon soit plus fréquemment de glycogène.

1.1.3.1.4 L'appareil nucléaire

L'appareil nucléaire des bactéries n'est pas entouré d'une membrane contrairement à celui de la cellule eucaryote qui est un véritable noyau. L'appareil nucléaire est constitué d'ADN, composé d'unités appelées nucléotides.

Le chromosome bactérien est constitué d'un filament unique, continu et circulaire formé d'une double chaîne d'ADN.

L'ADN se réplique c'est-à-dire qu'il se reproduit lui-même. Par appariement des bases et polymérisation une double chaîne est synthétisée identique à la double hélice parentale.

L'accomplissement du cycle de réplication est immédiatement suivi par la formation d'un septum transversal de division et l'allongement de la cellule. Une invagination de la paroi apparaît, s'accroît et engendre une nouvelle paroi transversale. Les 2 cellules filles se séparent, donnent ainsi naissance à 2 nouvelles bactéries, présentant une anatomie, des propriétés physico-chimiques, une structure totalement identiques à celles de la cellule mère. Le processus dure environ 20 minutes.

L'information génétique est celle qui est transmise de génération en génération et qui permet de perpétuer les caractères propres à l'espèce. Elle est stockée au niveau de l'ADN et la totalité des informations contenues dans la cellule est appelée génotype contrairement au phénotype qui représente l'ensemble des caractères observables.

On peut parfois observer des mutations, ce sont des modifications brusques d'un caractère transmissible héréditairement. Les mutants qui apparaissent soudainement dans une population homogène sont des individus différents, susceptibles de transmettre à leur descendance le caractère qui les distingue du type normal. Les mutations apparaissent spontanément dans une population, ce sont des événements rares.

1.1.3.1.5 Les spores

Certaines bactéries ont le pouvoir de se transformer en petites unités ovales ou sphériques, douées d'une résistance extraordinairement élevée, lorsque le milieu s'épuise en éléments nutritifs. On les appelle les spores. On les trouve chez 3 genres bactériens : les *Bacillus*, les *Clostridium* et les *Sporosarcina*. Leur faculté de résister à certains agents physiques ou chimiques est exceptionnelle, elles survivent après un chauffage de 70 à 80 °C pendant 10 minutes, les plus résistantes survivent à 120°C pendant 5 minutes. Leur résistance est aussi

significative vis-à-vis d'agents physiques comme les rayons UV, les rayons X et les ultrasons. Les bactéries sporulées originaires du sol peuplent aussi les milieux aquatiques.

1.1.3.2 Physiologie

Les bactéries se multiplient à partir des aliments ou nutriments qu'on leur fournit dans les milieux de culture ou qui sont à leur disposition dans leur environnement naturel comme l'eau. Elles ont toutes un certain nombre de besoins communs : de l'eau, une source d'énergie, une source de carbone, une source d'azote et des éléments minéraux. Certaines ont besoin en outre, de composés organiques qu'elles peuvent synthétiser et que l'on appelle des facteurs de croissance. La croissance d'une bactérie cultivée en milieu liquide présente 4 phases principales : une phase de latence, une phase exponentielle, une phase maximale stationnaire et une phase de déclin. Chacune de ces phases a sa propre signification : la première est une phase d'adaptation au milieu, la seconde est la phase physiologique par excellence au cours de laquelle les bactéries se multiplient, la phase stationnaire et la phase de déclin pourraient traduire un taux de mortalité de plus en plus élevé de la population.

1.1.3.2.1 Sources d'énergie

Du point de vue énergétique, on distingue 2 grandes catégories de bactéries : les phototrophes, chez lesquels l'énergie est fournie par la lumière et les chimiotrophes qui tirent cette énergie de l'oxydation de substances chimiques.

1.1.3.2.2 Besoins nutritifs

Pour leur croissance, les bactéries ont besoin d'une source de carbone. Certaines, peuvent utiliser le CO₂ comme source de carbone, sont appelées autotrophes. Les autres, les plus nombreuses, utilisent des composés organiques, ce sont des hétérotrophes.

En associant cette notion à la classification précédente sur les sources d'énergie, on aboutit à une classification physiologique d'une grande précision. De nombreuses bactéries exigent des facteurs de croissance. Ce besoin traduit une dépendance de plus en plus étroite avec le milieu

où elles se développent, ce sont le plus souvent des bactéries parasites de l'homme ou de l'animal qui, en principe, ne devraient pas se développer dans le milieu environnant. Elles le peuvent, pourtant, dans la mesure où ce facteur qui leur manque est synthétisé par d'autres micro-organismes. Le milieu aquatique nous donnera de nombreux exemples de ces phénomènes de symbiose ou de syntropie. Les facteurs de croissance comprennent 3 catégories de substances : les acides aminés, les bases puriques et pyrimidiques et les vitamines. Les bactéries qui exigent des facteurs de croissance sont des auxotrophes et celles qui n'en nécessitent pas sont appelées des prototrophes.

1.1.3.2.3 La température

Les mécanismes vitaux de tous les micro-organismes sont affectés par la température : taux de croissance, besoins nutritionnels, métabolisme.

On classe les bactéries en 3 groupes selon les températures de croissance et on distingue les points de température optimum, minimum et maximum.

	Minimum	Optimum	Maximum
Psychrophiles	- 10 à + 5 °C	+ 10 à + 20 °C	+ 13 à + 25 °C
Mésophiles	+ 10 à + 15 °C	+ 30 à + 40 °C	+ 30 à + 50 °C
Thermophiles	+ 25 à + 45 °C	+ 50 à + 75 °C	+ 75 à + 100 °C

D'après Hasley (16)

Ces exigences de température correspondent à des habitats relativement spécifiques. Les mésophiles comprennent la majorité des espèces pathogènes pour l'homme et l'animal.

Dans les eaux douces des pays tempérés, les populations mésophiles de bactéries et de champignons prédominent en période estivale, pour laisser la place à des populations psychrophiles en hiver. On rencontre les bactéries thermophiles dans les sources thermales mais elles n'ont pas une grande importance écologique.

1.1.3.2.4 pH

A l'opposé des moisissures et des levures qui préfèrent, pour leur développement un pH acide (3 à 6), les bactéries, elles, se multiplient plutôt en milieu neutre ou légèrement alcalin (pH 7 à 7.5). Pour la plupart d'entre elles, ces limites sont assez larges : *E.coli* se multiplie à partir de pH 4.4 et jusqu'à pH 8. D'autres, au contraire, ont une préférence marquée pour les milieux fortement acides ou basiques. Par exemple, les *Lactobacillus* exigent un pH relativement bas voisin de 6. Ces germes sont appelés acidophiles. Inversement, d'autres espèces bactériennes tolèrent ou se développent à des pH élevés. Par exemple, les *Vibrio* se reproduisent au pH optimal de 9. On les appelle des basophiles.

1.1.3.2.5 Matière organique

La croissance bactérienne est dépendante des besoins nutritionnels et, en particulier de la matière organique.

Dans les eaux, le microbisme dépend essentiellement des substances organiques présentes et de l'oxygène disponible. Les composés dégradés les premiers sont les sucres et les protéines, viennent ensuite l'amidon et les graisses, enfin les composés polymériques de poids moléculaire élevé comme la chitine, la cellulose, la lignine.

Les sucres simples (hexoses) sont convertis en glucose par glycolyse puis en acide pyruvique puis oxydés en CO₂ par de nombreuses bactéries (entérobactéries, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas*). En anaérobiose, les processus de fermentation donneront naissance soit à des alcools, soit à des acides (lactique, formique, acétique), ceci par des entérobactéries, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus* ou *Clostridium*.

Les protéines sont utilisées par des micro-organismes protéolytiques particulièrement nombreux dans les eaux : *Pseudomonas*, champignons.

De nombreux polymères constituants végétaux ou animaux sont présents en plus ou moins grande quantité dans les eaux superficielles.

L'amidon représente la principale réserve glucidique des végétaux. De nombreuses espèces bactériennes appartenant aux genres *Bacillus* et *Clostridium* de même que les moisissures des genres *Aspergillus*, *Rhizopus* renferment des amylases.

La cellulose est le constituant essentiel de membranes végétales, les micro-organismes cellulolytiques sont rencontrés dans une grande variété de genres bactériens (*Cytophaga*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Clostridium*) et de moisissures (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*).

La pectine, constituant des membranes cellulaires végétales et principalement des fruits est dégradée par *Clostridium*.

La chitine qui entre dans la composition des carapaces de certains arthropodes est dégradée par de nombreuses espèces bactériennes (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Chromobacterium*).

La lignine, important constituant du bois, est dégradée lentement par les actinomycètes.

Les graisses qui sont élaborées par les plantes et les animaux sont, en conséquence, présentes dans tous les habitats aquatiques ; elles sont hydrolysées en acides gras et glycérol par un grand nombre de bactéries dont les plus actives appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Bacillus*.

Les acides gras résultent du métabolisme des graisses ou proviennent des processus de fermentation. Ils sont dégradés en aérobiose par les bactéries et les champignons.

1.2 Les conditions de survie et de multiplication des bactéries en milieu aquatique

1.2.1 Vie, survie et mort des bactéries

L'état de la cellule bactérienne est un état dynamique qui lui permet de s'adapter aux modifications des facteurs de l'environnement ; lorsque les nutriments sont en excès, elle module la vitesse d'incorporation, lorsqu'ils sont au contraire en quantité limitée, elle modifie

de façon appropriée les voies métaboliques, pour répondre à l'effet de carence. Elle régule les schémas pour maintenir une croissance équilibrée.

Les milieux aquatiques dans lesquels les bactéries évoluent pour se multiplier ou survivre sont oligotrophes c'est-à-dire en présence de nutriments en quantité faible.

Dans les milieux aquatiques (eaux potabilisables c'est-à-dire eaux souterraines, eaux de surface) et les eaux potables distribuées après ou sans traitement, la variété des bactéries rencontrées est infinie.

Si nous nous limitons à celles qui sont étudiées d'un point de vue Santé Publique, on peut distinguer : 1. les pathogènes 2. Les indicateurs de pollution fécale 3. Les bactéries hétérotrophes qui forment des colonies sur des milieux solides appropriés (Heterotrophic Plate Count : HPC).

De ce point de vue, les situations sont multiples :

Certaines bactéries, parasites de l'homme comme *Salmonella typhi* peuvent survivre plus ou moins longtemps mais en aucun cas se multiplier.

D'autres, au contraire, comme les *Legionella* sont des espèces aquaphiles : elles se multiplient abondamment dans l'eau du robinet.

Parmi les indicateurs de contamination fécale, certains comme les *Escherichia coli* particulièrement adaptés au tube digestif de l'homme ou des animaux à sang chaud survivent plus ou moins durablement.

Les bactéries hétérotrophes que l'on comptabilise sous forme de colonies sont pour la plupart des bactéries non identifiables. Elles appartiennent en effet à des espèces et des groupes dont la classification n'est pas suffisamment connue.

1.2.2 Vie et mort des bactéries

La mort bactérienne ne peut être comparée à celle des organismes supérieurs chez lesquels la mort est un phénomène observable directement et qui résulte de l'arrêt de certaines fonctions organiques vitales (arrêt de la respiration, arrêt cardiaque, mort cérébrale).

La vie se manifeste par la croissance mais chez les organismes supérieurs c'est un accroissement ordonné de tous les composants de l'organisme tandis que chez la bactérie, elle aboutit non seulement à une croissance en taille mais aussi à une augmentation du nombre de cellules.

On pourrait considérer que le critère déterminant la vie ou la mort est la faculté pour une bactérie de se diviser ou de se multiplier, mais la réalité est plus complexe car ce critère de culture, qui différencie bactéries mortes et bactéries vivantes ne peut permettre d'interpréter toutes les situations. Dans l'environnement, comme dans les aliments, de même que chez l'homme, les bactéries sont soumises à des carences nutritionnelles, à des agressions, à des atteintes qui les rendent incapables de se multiplier sur un milieu habituellement favorable. Ces facteurs physiques (température, radiation, pression, pH) ou chimiques (carence en composés organiques, antiseptiques, antibiotiques) peuvent conduire la cellule à ralentir son métabolisme. Elles peuvent aussi produire des altérations cellulaires ou moléculaires structurales ou fonctionnelles qui ne sont pas nécessairement fatales car le plus souvent réparables dans certaines conditions. Elles sont dites agressions subléthales.

Ces bactéries, impuissantes à se multiplier, possèdent pourtant toutes leurs capacités, elles sont métaboliquement actives.

A l'inverse, les bactéries mortes sont des cellules totalement dépourvues d'activité métabolique mais possèdent encore une paroi. Il est impossible expérimentalement d'évaluer directement leur nombre dans un échantillon d'eau, on peut y parvenir, indirectement en mesurant le nombre total de cellules et le nombre des autres catégories métaboliquement actives. Elles sont biodégradables et peuvent constituer une large fraction de la biomasse totale par exemple dans les biofilms des réseaux de distribution d'eau potable.

Les bactéries peuvent être tuées de différentes façons, sous l'effet d'agents physiques (chaleur, irradiation, basses températures) ou chimiques y compris les antibiotiques. La mort est obtenue lorsque la bactérie perd son intégrité cellulaire ou subit une altération irréversible de son génome. L'action de ces mêmes agents ne conduit pas toujours à la mort cellulaire, elle peut être subléthale et les lésions produites ne sont pas irréversibles et peuvent être réparées. Cela est le cas, en particulier avec l'ADN du chromosome. Dans d'autres cas, la cellule blessée devient plus sensible à d'autres agressions qu'une cellule en bonne santé et elle pourra être détruite.

L'intégrité cellulaire est préservée et maintenue grâce aux enveloppes, la paroi et la membrane qui sont toutes deux des structures vitales indispensables. Lorsque ces structures sont altérées et rompues, la vie disparaît. Entre les formes vivantes, capables de se multiplier et de former des colonies et les formes sans activité métabolique, il existe vraisemblablement une variété d'états compte tenu de l'état dynamique de la cellule. L'adaptation des bactéries aux conditions spécifiques rencontrées en milieu aquatique se traduit également sur le plan

morphologique. On observe des formes cellulaires arrondies de petite taille, des formes naines et des ultramicrobactéries.

1.2.3 Bactéries viables, bactéries cultivables

Il y a 2 catégories de population en milieu aquatique : les oligotrophes qui ont une croissance lente lorsque les concentrations de nutriments sont basses et les eutrophes qui ne se développent qu'en présence de hautes teneurs en composés nutritifs mais qui peuvent survivre dans les conditions précédentes.

Dans certaines limites de concentration en substrats, on peut observer 2 stratégies de survie pour les bactéries : les unes peuvent croître en présence de faibles concentrations, d'autres deviennent momentanément inactives (non cultivables) mais ont la capacité de survivre.

1.2.4 Stress et lésions chez les bactéries

Les bactéries présentes dans l'eau peuvent avoir subi des lésions, à la suite de l'exposition à des facteurs de stress tels que les agents de désinfection, les métaux lourds naturellement présents ou additionnés, l'irradiation, les antagonistes biologiques et les conditions extrêmes de température et de pH. La privation de nutriments est également une forme de stress. Pour ce qui concerne les eaux de distribution, ce sont les produits de désinfection qui sont le plus souvent en cause, et les agents métalliques, dans une moindre mesure. Ces agressions induisent chez la bactérie des lésions subléthales ou des altérations physiologiques. Ce phénomène est général et concerne tous les micro-organismes présents dans les eaux distribuées.

L'une des principales questions qui se pose à propos des bactéries stressées, concerne le pouvoir pathogène. Est-il maintenu intégralement ? Est-il amoindri ou totalement supprimé ? Certains travaux ont cherché à analyser le mécanisme de stress pour reconnaître les sites d'action au niveau cellulaire. Les bactéries stressées perdent leur pouvoir d'adhésion sur les cellules en culture ou leur pouvoir d'invasion. Il semble d'un point de vue général que les structures membranaires des bactéries soient principalement touchées, ce qui conduit naturellement à une perte de virulence.

Les agressions subléthales des bactéries peuvent avoir des conséquences importantes au plan de la santé publique, car les bactéries stressées ne sont pas cultivables dans les conditions du contrôle bactériologique habituel. Dans ces conditions, il est possible que des bactéries pathogènes subsistent dans l'eau d'alimentation, sans pouvoir être mises en évidence au cours de l'analyse.

1.2.5 L'adhésion

Les bactéries adhèrent fortement et souvent avec une grande spécificité à des surfaces aussi différentes que la muqueuse intestinale ou pulmonaire, une dent ou encore à l'intérieur des canalisations d'eau de distribution où elles constituent un biofilm. L'adhésion des micro-organismes à leur support serait due à un enchevêtrement de fibres polysaccharidiques, partant de la surface bactérienne réalisant un feutrage serré autour des cellules, qu'on appelle glycocalyx. L'adhérence, créée par le glycocalyx, serait responsable des localisations particulières des bactéries dans la plupart des environnements naturels. Dans les milieux comme l'eau, les populations de bactéries « libres » ne constituent qu'une fraction infime de la population totale ; la plupart des micro-organismes, qu'il s'agisse des bactéries, des algues, des champignons ou des protozoaires sont en effet fixés sur des supports organiques (phytoplancton) ou inorganiques (argiles, oxydes métalliques). Si les bactéries propulsées dans un courant d'eau rapide ne se fixaient pas sur un support, elles seraient facilement éliminées bien avant de pouvoir remonter le courant et le flux serait pratiquement stérile. Il n'est donc pas étonnant que les surfaces immergées soient recouvertes de bactéries ou d'associations microbiennes alors que le milieu lui-même n'en contient qu'un faible nombre.

Le glycocalyx peut également servir de réservoir alimentaire, mais surtout il représente une barrière protectrice vis-à-vis des prédateurs bactériens, des protozoaires et même des virus. Enfin, il permet souvent aux bactéries de constituer des associations, des communautés parfaitement organisées et profitables à chacun des participants. Le phénomène d'adhésion met en jeu des facteurs non spécifiques de différents types (liaisons ionique, hydrophobe, hydrogène) entre les macromolécules qui se trouvent à la surface des micro-organismes et celles du support. D'autres facteurs spécifiques, d'ordre stéréochimique (clé-serrure) font intervenir des groupements chimiques complémentaires interactifs.

La colonisation des matériaux immergés par les bactéries grâce à ces mécanismes d'adhésion et leur confluence, due en particulier au glycocalyx, aboutissent à la formation d'un biofilm.

Le phénomène d'adhésion est considéré comme une étape essentielle du pouvoir pathogène des agents infectieux chez l'homme. Il ne fait guère de doute que la plupart des infections naturelles commencent par la fixation de l'agent pathogène, qu'il s'agisse d'une bactérie, d'un virus ou d'un parasite, aux muqueuses des voies respiratoires, uro-génitales ou digestives. Ce processus d'attachement représente un avantage écologique évident car il soustrait l'envahisseur aux mécanismes physiques de défense de l'organisme comme la toux, le flux urinaire, les mouvements péristaltiques intestinaux. Il représenterait donc, du point de vue pathogénèse, une première phase déterminante, indispensable à la poursuite du processus infectieux, c'est-à-dire à la multiplication ou à la colonisation. Les adhésines sont les structures microbiennes comme les pili, qui assureraient un attachement spécifique à leur support tissulaire.

1.3 Infections d'origine hydrique

1.3.1 Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène, c'est-à-dire la propriété que possèdent certains germes de provoquer une maladie, est en effet la résultante de l'action d'un micro-organisme sur l'hôte. Il n'est pas conditionné uniquement par les propriétés de l'agent infectieux. Certains micro-organismes considérés comme de redoutables agents pathogènes (par exemple le bacille diphtérique) peuvent être hébergés par un hôte sans occasionner chez celui-ci le moindre trouble. Ces individus sont appelés porteurs sains. Les micro-organismes virulents peuvent persister chez eux après la guérison clinique d'une maladie, ce sont des porteurs chroniques. Ou bien encore, après leur pénétration chez l'hôte, ils se localisent et végètent au niveau de certains tissus privilégiés sans déclencher aucun symptôme, déterminant une infection inapparente.

D'autres micro-organismes, au contraire, naturellement saprophytes (c'est-à-dire non pathogènes) ou faisant partie des flores normales de l'individu, peuvent, dans certaines conditions où les mécanismes de défense de l'hôte sont diminués, se manifester comme des agents pathogènes. Il est ainsi bien difficile d'opposer bactéries pathogènes et bactéries saprophytes dans la mesure où le pouvoir pathogène n'est que la résultante complexe de l'action d'un micro-organisme et de la réceptivité d'un hôte. Bien que cette distinction soit artificielle, on parle par convention de bactéries pathogènes capables de provoquer des

troubles spécifiques chez l'homme bien portant et de bactéries pathogènes opportunistes pour faire référence à celles qui engendrent des troubles non spécifiques chez un sujet réceptif, immunodéprimé aux défenses amoindries.

La bactérie pathogène est celle qui a le pouvoir de s'implanter, de se multiplier chez l'hôte et de produire des troubles.

La virulence est une notion qui précise l'aspect quantitatif du pouvoir pathogène. La virulence est relative, les infections opportunistes en sont un exemple : une bactérie ou une dose de bactéries déclenche une maladie chez l'individu immunodéficient alors qu'elle en sera incapable chez l'individu en bonne santé. Des modifications mineures dans les mécanismes de défense de l'hôte peuvent engendrer des différences importantes dans la virulence.

1.3.2 Transmission hydrique

La transmission d'une maladie infectieuse fait intervenir un agent infectieux, un sujet réceptif et une voie d'introduction. Dans le cas d'infection d'origine hydrique, les agents responsables qui ont contaminé l'eau proviennent des individus malades, des porteurs sains ou des animaux qu'on appelle communément des réservoirs de germes. Si ces micro-organismes, potentiellement pathogènes, conservent dans l'eau leur viabilité en même temps que toutes leurs propriétés intrinsèques et si leur nombre est suffisant (dose infectieuse), alors l'individu réceptif pourra faire la maladie en absorbant de l'eau contaminée.

1.3.2.1 Réservoirs de germes

L'agent pathogène peut-être porté par l'homme ou l'animal, soit en incubation de maladie, soit au cours de la maladie, soit pendant la période de convalescence, soit encore plus tardivement lorsqu'ils sont porteurs chroniques. Il existe aussi des porteurs sains, c'est-à-dire des individus qui éliminent et disséminent autour d'eux ces micro-organismes dangereux sans faire eux-mêmes de troubles. Il s'agit de maladies inapparentes, c'est-à-dire d'infections asymptomatiques cliniquement mais réelles biologiquement.

Dans le cas des maladies hydriques, les agents contaminateurs proviennent habituellement du tube digestif de l'homme ou de l'animal et sont éliminés principalement par les matières

fécales, éventuellement par les urines (Exemple : *Vibrio cholerae* provenant des selles de l'homme contaminé ou *Salmonella* porté par les animaux domestiques et de basse cour).

1.3.2.2 Les individus réceptifs

Pour qu'une maladie se propage dans une population, il est nécessaire qu'une fraction des individus soit sensible à l'agent infectieux. Contamination ne signifie pas infection et infection n'est pas synonyme de maladie. L'immunité, c'est-à-dire la protection des individus, résulte des moyens que possède l'organisme de reconnaître l'agent infectieux (antigène) puis de répondre à l'agression (réponse immunitaire). La notion d'âge est souvent en rapport avec l'état d'immunité.

1.3.2.3 Mode de transmission

Les agents pathogènes (parasites, bactéries, virus) véhiculés par l'eau d'alimentation se transmettent évidemment par la voie digestive. Mais les eaux, dans leurs diverses utilisations, peuvent provoquer des infections par d'autres voies. Les eaux chaudes sanitaires, favorisant par la température, la multiplication des *Legionella*, peuvent les disperser dans l'atmosphère par les robinets et les pommes de douches ; les aérosols contaminants infectent l'homme par voie respiratoire. La pathologie des baignades est essentiellement oto-rhino-laryngologique (rhinites, otites...) et cutanéomuqueuse (eczéma, mycoses...).

1.3.2.4 Doses infectieuses

La présence de bactéries pathogènes dans une eau d'alimentation est toujours indésirable, mais elle ne signifie pas pour autant que les individus qui absorbent cette eau contaminée seront infectés ou seront malades. Encore faut-il, en effet, que la dose ingérée soit « infectieuse ».

1.3.3 Epidémiologie

Les maladies diarrhéiques demeurent encore aujourd'hui un énorme problème de santé publique dans les pays en voie de développement. Par contre, dans les pays industrialisés comme la France où les mesures d'hygiène se sont développées et chez lesquels un réseau d'eau de distribution a été installé, les grandes épidémies historiques (choléra, dysenterie bacillaire, fièvres typhoïdes) ont disparu. Les infections qui subsistent sont des gastro-entérites épidémiques ou sporadiques. Les agents responsables peuvent être des bactéries mais aussi des virus ou des protozoaires.

La documentation épidémiologique dans le domaine des infections d'origine hydrique, est obtenue presque exclusivement par l'enregistrement des événements épidémiques. En France ce rôle est dévolu à la Direction Générale de la Santé qui rassemble les données en provenance des directions régionales sanitaires et sociales. Les informations sont rares et le bulletin épidémiologique hebdomadaire, publié par la DGS relate exceptionnellement les épidémies et n'a pas encore publié de statistiques à ce sujet.

Il convient aussi de s'interroger sur l'importance relative de la morbidité et surtout de la mortalité d'origine hydrique, par rapport aux autres maladies infectieuses et par rapport à toutes les autres causes de mortalité. Aux U.S.A. comme dans tous les pays industrialisés, les premières causes de mortalité sont les maladies cardio-vasculaires et le cancer. Parmi les maladies infectieuses seules les pneumopathies et la grippe sont à prendre en considération. La mortalité due aux infections du tube digestif, toutes origines confondues est infime, le taux imputable aux infections hydriques est négligeable (10 décès par an environ).

1.3.4 Infections bactériennes

Pour déclencher une infection intestinale aiguë, le micro-organisme doit coloniser un des étages du tube digestif. Ce processus de colonisation peut être suffisant pour provoquer des altérations cellulaires ou tissulaires objectivées par des troubles et des signes cliniques.

1.3.4.1 *Salmonella*

Parmi les salmonelloses humaines, on peut distinguer deux groupes essentiels : les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dont la fréquence tend à diminuer dans les pays industrialisés et les gastro-entérites aiguës, beaucoup plus fréquentes. On peut distinguer en outre les septicémies qui surviennent surtout sur un terrain immunodéprimé. La diminution des infections hydriques comme la fièvre typhoïde est spectaculaire dans tous les pays où l'eau est traitée, distribuée et contrôlée. En France, pour citer une épidémie conséquente, il faut remonter à 1954, date à laquelle plus de 150 cas de fièvres typhoïdes furent recensés à Lyon, à la suite d'une contamination de réseau.

1.3.4.2 *Shigella*

Les *Shigella* sont pathogènes uniquement pour l'Homme et les autres primates. Elles sont responsables de la dysenterie bacillaire et de gastro-entérites et diarrhées, engendrées souvent par l'eau et les aliments.

1.3.4.3 *Escherichia coli*

C'est un hôte commun de l'intestin de l'homme et des animaux et il est recherché à ce titre comme germe témoin de contamination fécale dans l'eau et les aliments. Selon les sérotypes en cause, *Escherichia coli* peut être responsable d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées), de méningites néo-natales, d'infections du tractus urinaire ou encore de septicémies.

1.3.4.4 *Yersinia enterocolitica*

Les gastro-entérites à *Yersinia enterocolitica* se caractérisent par des douleurs abdominales qui évoquent un syndrome appendiculaire, de la diarrhée, des vomissements et des nausées qui surviennent de façon inconstante.

1.3.4.5 *Vibrio cholerae*

Cette bactérie est également responsable de diarrhées. Certaines souches sont très largement répandues dans les eaux d'égout, les eaux de surface, les estuaires, les coquillages, certains aliments comme les pommes de terre ou les asperges ; on les considère comme des souches aquicoles adaptées au milieu. *Vibrio cholerae* peut encore être responsable du choléra, caractérisé par une diarrhée qui s'accompagne d'une déshydratation extrême, d'où son caractère de gravité en l'absence de traitement de réhydratation. Le choléra est une maladie « des mains sales » et des eaux polluées.

1.3.4.6 *Campylobacter jejuni*

Dans le genre *Campylobacter*, deux espèces très voisines ; *C. jejuni* et *C. coli*, sont responsables de gastro-entérites chez l'homme. D'après les enquêtes épidémiologiques, dans nos pays, l'espèce serait au second rang des bactéries enteropathogènes, derrière les *Salmonella* mais bien avant les *Shigella* ou les *Yersinia* ; dans certains pays, comme l'Angleterre, elle est la première. Sa fréquence est plus élevée chez les enfants avant deux à trois ans, mais le germe peut infecter les adultes de façon sporadique ou épidémique.

Sous sa forme la plus habituelle, l'entérite à *C. jejuni* se caractérise par de la diarrhée (constante), des douleurs abdominales (fréquentes), de la fièvre (inconstante) et quelquefois des vomissements. Ce sont des bactéries commensales du tube digestif des volailles, que l'on peut isoler fréquemment de la viande de volaille crue, mais aussi du lait cru, de la viande de porc et des eaux de surface contaminées.

1.3.4.7 *Legionella*

La maladie des Légionnaires a été individualisée cliniquement en 1976, à la suite de la fameuse épidémie, survenue à Philadelphie, au cours du 58^e Congrès de l'American Legion. Il s'agit d'une pneumonie extensive grave, accompagnée souvent de signes évocateurs digestifs (diarrhée, douleurs abdominales) et neurologiques (agitation, hallucinations). Les *Legionella* constituent un vaste groupe de bacilles à Gram négatif, dans lequel on reconnaît actuellement 35 espèces dont la principale, *Legionella pneumophila* est responsable de la majorité des cas

de légionelloses. Leur croissance est fortement favorisée par la température, d'où leur prolifération dans les réseaux d'eau chaude sanitaire, dans les tours d'aéro-refroidissement, dans les caissons d'humidification. Les sites contaminés ne sont dangereux que dans la mesure où les *Legionella* peuvent se multiplier. C'est le cas, précisément des caissons d'humidification, des systèmes de traitement d'air et des tours aéro-refroidissantes où les températures rencontrées sont voisines de la température idéale de croissance de *Legionella* et à partir desquels sont générés des aérosols contaminants. En ce qui concerne les réseaux d'eau de distribution potable, si les *Legionella* peuvent être présentes, il y a peu de risque pour le consommateur compte tenu de leur taux très faible et que la contamination se propage par voie aérienne et non digestive. Le problème est tout autre pour la distribution d'eau chaude sanitaire. La multiplication des *Legionella* y est assurée par la température. Les douches et les robinets peuvent créer des aérosols contaminés. Le problème est surtout préoccupant au niveau des services hospitaliers à risque notamment chez les immunodéprimés, particulièrement réceptifs.

1.3.5 Infections virales

1.3.5.1 Les hépatites

Les hépatites virales peuvent être engendrées par 5 familles de virus (hépatites A, B, C, D, E). Parmi celles-ci, les hépatites A et E sont transmises par voie digestive, les trois autres étant dues à des contaminations parentérales. Le rôle de l'eau polluée et des coquillages dans la transmission de ces infections a été largement démontré. L'hépatite à virus A est transmise par cycle fécal oral, le réservoir étant presque exclusivement humain. La très grande majorité des infections sont asymptomatiques. L'hépatite E se caractérise par un ictère et une forte mortalité chez la femme enceinte. Elle reste bénigne chez les autres patients et n'évolue jamais vers la chronicité.

1.3.5.2 Les gastro-entérites virales

Les infections liées aux eaux de boisson sont essentiellement des gastro-entérites ou des diarrhées, dont beaucoup d'origine inconnue. Certaines sont d'étiologie virale. On peut schématiquement, distinguer deux types épidémiques distincts de gastro-entérites infectieuses

d'origine virale, correspondant à deux groupes de virus : le premier groupe est celui des Rotavirus, le second celui des virus de Norwalk. Les gastro-entérites à Rotavirus sont actuellement largement décrites et l'on considère qu'elles représentent la grande majorité des épidémies de gastro-entérites de la petite enfance ; elles peuvent affecter également les adultes. Elles se présentent sous forme de diarrhée sévère, persistante, durant 5 à 8 jours, accompagnée de fièvre et de vomissements et quelquefois de déshydratation nécessitant une hospitalisation. D'autres virus pourraient aussi intervenir dans certaines épidémies : *Astrovirus*, *Coronavirus*, *Calicivirus*, *Entérovirus*, *Adénovirus* et *Réovirus*.

1.3.6 Infections à protozoaires

1.3.6.1 *Giardiase*

Plusieurs épidémies sont survenues aux Etats-Unis et seraient dues à la consommation d'eaux de surface considérées comme excellentes et donc qui n'ont pas subi de traitement physico-chimique. La contamination a surtout touché les touristes, les campeurs et les randonneurs...

1.3.6.2 *Cryptosporidiose*

Les *Cryptosporidium* sont associés aux maladies diarrhéiques dans toutes les parties du monde, à des taux qui rivalisent avec ceux des *Campylobacter*, *Shigella*, *Escherichia coli* et *Giardia*. La maladie est caractérisée par une diarrhée aqueuse, des phénomènes de malabsorption des graisses et des hydrates de carbone peuvent se présenter particulièrement au cours du SIDA, car les infections à *Cryptosporidium* ont été souvent décrites chez les immunodéprimés et de ce fait ont attiré l'attention de la communauté médicale.

2 CARACTERISTIQUES DE L'EAU DES UNITS DENTAIRES

La contamination microbienne de l'eau délivrée par les unités dentaires est reconnue depuis 40 ans, 1963, date du premier rapport publié sur ce problème et révélé par Blake (9) dans le *British Dental Journal*. Depuis, plusieurs études ont confirmé l'ampleur de la contamination, sa large survenue et envisagé les moyens de prévention.

2.1 La flore de l'eau des unités

Les microbes existent dans les conduites d'eau des unités sous deux formes, la forme planctonique, ce sont les germes libres dans l'eau et la forme sessile, où les germes sont attachés sur les parois internes des conduites, c'est ce que l'on appelle le biofilm.

2.1.1 Les germes retrouvés

L'éventail des organismes retrouvés inclut des organismes humains pathogènes primaires et opportunistes. La plupart des microbes détectés ont une très faible pathogénicité ou sont des germes pathogènes opportunistes qui peuvent causer des infections seulement sur des personnes ayant une immunité affaiblie. Les micro-organismes les plus fréquemment rencontrés sont les bactéries, on peut également identifier des champignons, des protozoaires et des algues.

Les bactéries qui vivent dans l'eau sont pour la plupart d'entre elles, hétérotrophes (c'est-à-dire qu'elles se nourrissent de composés organiques), mésophiles (leur température de vie optimale se situe entre 30 et 40 °C), et Gram négatif; de la même variété qui survivent en petit nombre dans l'eau de l'alimentation générale. Les espèces *Pseudomonas* prédominent dans la plupart des échantillons.

J.F. Williams, a identifié 16 types bactériens différents dans ses prélèvements d'eau provenant d'instruments et notamment 9 espèces de *Pseudomonas* et 4 espèces de *Staphylococcus*. Il a également mis en évidence des champignons (*Penicillium*, *Cladosporium*), ainsi que des amibes (36).

Les bactéries retrouvées diffèrent d'un unit à l'autre ; le prélèvement d'eau sur plusieurs units dans un même centre de soins met en évidence des espèces différentes pour chaque. Même si l'on identifie très souvent les espèces *Staphylococcus*, *Xanthomonas* et *Pseudomonas*, la présence d'un type ou d'une espèce bactérienne n'est jamais systématique (23).

Parmi ces agents infectieux de l'eau, certaines espèces bactériennes sont préoccupantes : *Pseudomonas aeruginosa*, les mycobactéries non tuberculeuses et les *Legionella* et plus particulièrement *L. pneumophila*. Ce sont des agents infectieux nosocomiaux répandus (28,34).

Aucun virus n'a jamais été identifié dans l'eau d'unit. Les virus ne sont pas capables de proliférer dans l'eau ou dans le biofilm. Néanmoins, la présence de germes pathogènes bactériens humains dans l'eau expose à une contamination virale dérivée puisque des virions peuvent adhérer à des éléments du biofilm (36).

Les bactéries isolées de l'eau provenant d'units dentaires (25, 35, 36)

Achromobacter xyloxidans

Acinetobacter sp.

Actinomyces sp.

Alcaligenes denitrificans

Bacillus sp.

Bacillus subtilis

Bacteroides sp.

Caulobacter sp.

Flavobacterium indologenes

Flavobacterium sp.

Fusobacterium sp.

Klebsiella pneumoniae

Lactobacillus sp.

Legionella pneumophila

Legionella sp.

Methylobacterium mesophilica

Micrococcus luteus
Moraxella sp.
Mycobacterium avium
Mycobacterium gordonae
Norcardia sp.
Ochromobacterium anthropi
Pasteurella hemolytica
Pasteurella sp.
Peptostreptococcus sp.
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas acidovorans
Pseudomonas cepacia
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas posimobilis
Pseudomonas pickettii
Pseudomonas stutzeri
Pseudomonas testosteroni
Pseudomonas vesicularis
Salmonella typhimurium
Serratia marcescens
Streptococcus sp.
Staphylococcus aureus
Staphylococcus saprophyticus
Staphylococcus capitis
Staphylococcus warneri
Staphylococcus sp.
Veillonella alkalescens
Xanthomonas maltophilia

Les champignons isolés dans l'eau d'units dentaires (25,36)

Alternaria sp.

Cephalosporium sp.

Cladosporium sp.

Penicillium sp.

Scopulariopsis sp.

Les protozoaires isolés dans l'eau d'units dentaires (25,36)

Acanthamoeba sp.

Cryptosporidium sp.

Giardia sp.

Microsporidium sp.

Naegleria sp.

2.1.2 Épidémiologie

Il est difficile d'établir un lien entre une infection et l'exposition à de l'eau contaminée d'unit dentaire pour une raison simple : le traitement dentaire est ambulatoire (1).

Les problèmes engendrés par la mauvaise qualité de l'eau des units affectent aussi bien les patients que le personnel soignant.

2.1.2.1 Le personnel dentaire

Des études ont mis au jour les éventuels risques associés à l'exposition chronique du personnel dentaire (chirurgiens dentistes et assistantes) à l'eau contaminée de l'unit. Une étude faite en 1974 a mis en évidence la possibilité que les bactéries provenant de l'aérosol créé par l'eau contaminée des instruments rotatifs pouvaient coloniser la muqueuse nasale des soignants. Dans cette étude 14 dentistes sur 30 étaient concernés et parmi les 14, chez 9 d'entre eux, on a retrouvé les espèces *Pseudomonas* également isolées dans les units. Cependant aucune manifestation clinique n'a fait suite à cette contamination (12).

D'autres études ont montré de plus forts taux d'anticorps anti-*Legionella* parmi le personnel dentaire par rapport à la population générale. Cela serait dû également à l'exposition chronique aux aérosols contaminés (1). Un seul cas a été relevé dans un article décrivant la prévalence de la contamination par *Legionella* dans l'eau d'unit où Atlas et Williams (1995) ont mentionné le cas d'un dentiste de 65 ans, décédé à la suite d'une pneumonie du légionnaire. Plusieurs espèces de *Legionella* ont été isolées chez lui et dans son cabinet mais les auteurs n'ont pas été capables d'établir une conclusion sur la source de cette infection (3). Cela montre que l'exposition à de forts taux de germes *Legionella* n'est pas suffisante pour provoquer une pneumonie chez un sujet en bonne santé ; l'hôte se défend correctement et l'infection ne peut être découverte que par la mesure du taux d'anticorps.

2.1.2.2 Les patients

Il existe plusieurs façons par lesquelles les micro-organismes d'origine hydrique peuvent provoquer une infection chez le patient subissant une intervention dentaire : la diffusion hémotogène, le contact (buccal ou conjonctival) avec la muqueuse locale, l'ingestion et l'inhalation (5).

Bien que la majorité des micro-organismes du biofilm provenant de l'alimentation générale en eau ne pose aucun risque de maladie pour les patients en bonne santé, les personnes ayant des déficiences immunitaires ont plus de risques d'être infectés par ces mêmes micro-organismes. Avec le vieillissement de la population, un nombre plus important de personnes entre dans la catégorie des immunodéprimés, cela est dû d'une part au vieillissement des fonctions physiologiques et d'autre part à la prise fréquente de médicaments qui eux-mêmes diminuent les défenses immunitaires. A ce type de population, s'ajoutent les femmes enceintes, les fumeurs, les patients atteints par un virus (VIH, SIDA, Hépatites), les patients qui prennent un traitement immunodépresseur (transplantés), un traitement cytotoxique, les patients subissant une radiothérapie et enfin les patients ayant une immunodéficience congénitale ou acquise. Mis à part les deux cas d'infection du Centre dentaire de Liverpool (20), il n'y a eu aucun cas publié d'infection directement liée à l'exposition de l'eau contaminée d'unit suite à un soin dentaire.

2.1.2.2.1 Cas d'infection par *Pseudomonas aeruginosa*

Deux cas d'infections à *Pseudomonas aeruginosa* ont été rapportés en 1987 dans le service dentaire de l'Hôpital de Liverpool. Les deux patients infectés étaient immunodéprimés, le premier âgé de 56 ans avait subi une hémiglossectomie suite à un carcinome 2 ans auparavant et une thérapie cytotoxique 2 mois avant le soin dentaire en question ; le second patient âgé de 63 ans, avait été traité par radiothérapie et thérapie antimétabolique pour récurrence d'un carcinome du sein. Ces patients sont revenus 3 à 5 jours après un soin dentaire simple avec des douleurs et une tuméfaction au niveau de la zone traitée. Le pus de la tuméfaction collectée a été aspiré, analysé et *Pseudomonas aeruginosa* a été identifié. Des prélèvements d'eau sur les turbines des unités concernées ont été effectués et également analysés, ils ont révélé les mêmes souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Des recherches ont été entreprises après la découverte de ces 2 cas, la concordance du type de *P. aeruginosa* de l'eau et des lésions laisse peu de place au doute sur le fait qu'il y ait eu contamination croisée. Les recherches n'ont pas trouvé de cas d'infection chez des patients immunocompétents (20). (*Pseudomonas* est un germe commensal)

Pseudomonas aeruginosa est également associé à un grand nombre d'infections opportunistes en causant des infections urinaires ou des infections sur des plaies et a parfois été la cause de pneumonies chez des patients hospitalisés et de septicémies sur des grands brûlés (25,26).

Barbeau J. (8) a également noté que les unités contaminées par *Pseudomonas aeruginosa* montraient un nombre de bactéries significativement supérieur par rapport aux autres unités.

Une autre espèce de *Pseudomonas*, *P. cepacia* est un important germe pathogène respiratoire pour les patients atteints de fibrose kystique (25).

2.1.2.2.2 *Legionella*

Legionella est une bactérie Gram négatif, agent causal de la maladie du légionnaire et de la fièvre de Pontiac. Cette bactérie se développe comme un parasite intracellulaire des protozoaires et principalement des amibes or, la concentration des amibes libres dans l'eau de l'unité serait 300 fois plus élevée que celle mesurée dans l'eau du robinet (6). La principale

voie de transmission se fait par inhalation d'aérosols contaminés mais des cas d'infections directes à travers des plaies ont été rapportés. La survenue de légionelloses a lieu le plus souvent en milieu hospitalier. Elle est liée à l'exposition à une source contaminée qui peut être les douches, les fontaines de décoration, l'eau de condensation des systèmes de climatisation ou bien encore de l'aérosol septique créé par les instruments rotatifs du fauteuil dentaire. *Legionella pneumophila* est l'espèce la plus fréquemment impliquée dans les cas de légionellose. Le risque de contamination par *Legionella* n'implique encore que les personnes immunodéprimées et les patients ayant une maladie pulmonaire. Les facteurs de risque qui augmentent la susceptibilité sont le tabagisme, la pré-existence d'une maladie respiratoire et l'âge (26, 34).

2.1.2.2.3 *Mycobacterium*

Les espèces *Mycobacterium* sont associées à des maladies pulmonaires par inhalation de gouttelettes contaminées formées par aérosol et à des infections opportunistes par contact de l'eau avec une plaie (26). Les malades du SIDA en phase avancée sont particulièrement vulnérables aux infections disséminées avec ces mycobactéries non tuberculeuses. Les symptômes sont : une perte de poids, de la fièvre, diarrhée, anémie, malaise. Parfois l'infection demeure asymptomatique (7).

2.1.2.2.4 Amibes

La plupart des recherches sur l'eau des unités dentaires ont porté sur la contamination bactérienne mais les champignons et les protozoaires sont aussi présents et peuvent avoir des conséquences sur la santé. Par exemple *Cladosporidium* est un champignon aquatique que l'on trouve dans les lignes d'eau des unités et qui a été associé à des hypersensibilités pulmonaires (26).

Il est reconnu que les acanthamibes peuvent causer des ulcérations cornéennes lorsqu'elles parviennent à infecter l'épithélium de la cornée. Les kératites à *Acanthamoeba* sont toutefois des infections rares qui se trouvent principalement chez les porteurs de lentilles (7).

De façon assez contradictoire beaucoup d'études ont pour objet la quantification et l'identification des germes de l'eau d'unit et le risque potentiel de leur présence pour l'homme mais très peu de rapports évoquent des cas d'infections révélées.

Tableau récapitulatif des germes, de leur pathogénicité et des infections qu'ils peuvent engendrer (36)

Germes	Pathogénicité	Manifestation
Bactéries		
<i>Achromobacter</i>	Faible	Abcès
<i>Acinetobacter</i>	Opportuniste	Septicémie/ infection de plaie
<i>Actinomyces</i>	Pathogène primaire	Maladie parodontale
<i>Alcaligenes</i>	Opportuniste	Abcès/ septicémie
<i>Bacillus</i>	Faible	
<i>Bacteroïdes</i>	Pathogène primaire	Maladie parodontale/ abcès
<i>Caulobacter</i>	Opportuniste	
<i>Flavobacterium</i>	Opportuniste/faible	Méningite/ bactériémie
<i>Fusobacterium</i>	Faible	Abcès
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Opportuniste	Pneumonie
<i>Lactobacillus</i>	Pathogène primaire	Caries
<i>Legionella</i>	Pathogène primaire	Maladie du légionnaire
<i>Micrococcus</i>	Faible	
<i>Moraxella</i>	Opportuniste ?	Infect° respiratoires/septicémies/endocardite
<i>Mycobacterium avium</i>	Opportuniste	Maladie chronique du poumon
<i>Nocardia sp.</i>	Faible	Pneumonie chronique
<i>Ochromobacterium</i>	Faible	
<i>Pasteurella sp.</i>	Opportuniste	Infect° de plaies/ infect° respi. chroniques
<i>Peptostreptococcus</i>	?	Maladie parodontale
<i>Proteus vulgaris</i>	?	Infections du tractus urinaire
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Opportuniste	Septicémies/abcès/infect° plaies et respi.
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Opportuniste	Pneumonies/ otites/ infect° de plaies
<i>Salmonella typhimurium</i>	Pathogène primaire	Diarrhées/ septicémies
<i>Streptococcus sp.</i>	Pathogène primaire	Infect° respi./ endocardites/ méningites
<i>Xanthomonas</i>	Faible	Infect° tractus urinaire/ infect° de plaies
Champignons		
<i>Penicillium</i>	Rare/opport./allergique	Réactions allergiques respiratoires
<i>Cladosporidium</i>	Rare/opport./allergique	Réactions allergiques respiratoires
<i>Alternaria</i>	Rare/opport./allergique	Réactions allergiques respiratoires
<i>Scopulariopsis</i>	Rare/opport./allergique	Réactions allergiques respiratoires
Protozoaires		
<i>Acanthamoeba</i>	Opportuniste	Conjonctivites/ méningites
<i>Cryptosporidium</i>	Opportuniste	Infect° gastrointestinales/ déshydrat° sévères
<i>Microsporidium</i>	Opportuniste	Infections gastrointestinales
<i>Giardia</i>	Opportuniste	diarrhée

D'après Williams (36).

2.2 Le biofilm

2.2.1 Formation

(1, 14, 25, 26, 31, 32, 36)

Omniprésent dans l'environnement aquatique, le biofilm est un complexe, une masse hétérogène microbienne attachée à des surfaces solides baignées dans des fluides. Au début de la formation d'un biofilm, il y a principalement des bactéries puis une architecture complexe s'organise. Progressivement et en peu de temps, des micro-organismes planctoniques possédant les structures d'attachement nécessaires (fimbriae) s'attachent aux surfaces des conduites initialisant l'adhésion mais de façon réversible. Ces micro-organismes secrètent alors des polysaccharides, l'adhésion devient permanente. Cette fine couche de polysaccharides est appelée glycocalyx, elle protège les organismes à l'intérieur de la dessiccation, des agressions chimiques ou physiques. Les micro-organismes se multiplient dans cet environnement privilégié et forment des micro-colonies adhérentes qui confluent pour former un biofilm continu. S'ajoutent par inclusion d'autres bactéries, champignons et protozoaires. Le processus de formation est identique à celui de la plaque dentaire.

Des unités dentaires mis en service depuis 2 semaines montrent des microcolonies de bactéries adhérentes et en 6 mois les micro-colonies ont formé un biofilm organisé et continu.

2.2.2 Description

L'observation au microscope électronique à balayage ne montre pas de pénétration bactérienne dans la paroi même.

Les différents types bactériens ne sont pas uniformément et homogènement distribués dans la matrice mais tentent de s'associer en groupe ou micro-colonies. On observe différents types morphologiques : des formes en bâtonnets, en filaments et en virgule sont le plus souvent rencontrées. On peut également observer des bactéries mobiles.

L'observation microscopique met en évidence la présence de champignons, d'algues et d'amibes dans le stroma du biofilm (6, 14, 35).

Les relations entre les organismes du biofilm sont symbiotiques, certaines espèces procurent des facteurs dont a besoin une autre espèce. Certaines espèces communiquent et s'agrègent avec d'autres, cette co-agrégation aurait un rôle important dans le développement du biofilm (11). En fonction des conditions de l'environnement, ces signaux chimiques peuvent initialiser la formation d'une couche de limon ou commander la déstructuration du biofilm. Les biofilms procurent ainsi un environnement propice à la prolifération d'une grande variété de microbes incluant : bactéries, champignons, algues et protozoaires. Ces biofilms peuvent atteindre 30 à 50 μm d'épaisseur.

En comparaison avec le plancton, les microbes sessiles ont plusieurs avantages pour augmenter leur survie :

- rétention : les organismes qui servent au biofilm sont retenus
- nutrition : les nutriments organiques et inorganiques sont accrochés par la matrice
- résistance : la formation du biofilm confère une résistance aux substances antimicrobiennes. Cette protection est apportée par le glycocalyx.

2.2.3 Contamination

Le biofilm mature est alors une source continue de contamination de l'eau qui circule dans les conduites puisque des micro-organismes isolés ou plus souvent en amas se détachent. Quand l'eau s'écoule dans les conduites recouvertes de biofilm, elle collecte les bactéries qui s'y détachent (1).

2.3 Caractéristiques des units

Qu'est-ce qui favorise une si forte colonisation microbienne de l'eau dans les units dentaires ? La réponse repose sur la convergence de phénomènes biologiques, physiques et géométriques (26).

2.3.1 La colonisation de surface

Beaucoup de matériaux utilisés pour apporter l'eau aux instruments rotatifs et à la seringue air/eau fournissent un substrat excellent pour l'attachement initial des bactéries et la prolifération du biofilm. En plus, la plupart des eaux traitées contiennent des minéraux (principalement des carbonates de calcium) qui sont déposés sur les parois. Des molécules organiques se concentrent sur ces surfaces et cela permet l'adhésion des bactéries en suspension dans l'eau apportée par l'alimentation générale. Ensuite, les cellules individuelles attachées se multiplient pour former des micro-colonies qui confluent pour former un film continu de bactéries protégé par le glycocalyx.

2.3.2 Le flux laminaire

Les fluides qui passent à travers des tubes étroits forment un modèle caractéristique hydrodynamique appelé flux laminaire. Proche des surfaces, des forces de frottement ralentissent le mouvement des fluides, d'ailleurs, au niveau de la surface, le flux est nul, cela crée un environnement propice à la formation du biofilm. Dans le système à flux laminaire, les biofilms peuvent proliférer avec un risque minimum d'être disloqué. C'est une des raisons pour laquelle faire couler l'eau peut éliminer les micro-organismes en suspension mais ne permet pas d'éliminer les biofilms.

2.3.3 Le rapport surface/volume

Géométriquement, cela explique pourquoi l'eau des unités est plus contaminée que l'eau du robinet puisque les biofilms sont aussi présents dans les lignes d'eau des robinets et que les principes hydrodynamiques sont les mêmes. Comme le diamètre des conduites diminue, une surface de plus en plus large devient disponible pour la colonisation. Le volume total dans la plupart des unités est inférieur à 100 ml. Pour contenir le même volume d'eau, il y a beaucoup plus de surface pour des tubes très fins comme ceux des unités que pour des lignes d'eau habituelles.

Germes	Origine
Bactéries	
<i>Achromobacter</i>	Eau
<i>Acinetobacter</i>	Eau
<i>Actinomyces</i>	Bouche
<i>Alcaligenes</i>	Eau
<i>Bacillus</i>	Eau
<i>Bacteroides</i>	Bouche
<i>Caulobacter</i>	Eau
<i>Flavobacterium</i>	Bouche
<i>Fusobacterium</i>	Bouche
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Eau
<i>Lactobacillus</i>	Bouche
<i>Legionella</i>	Eau
<i>Micrococcus</i>	Eau
<i>Mycobacterium avium</i>	Eau
<i>Nocardia sp.</i>	Bouche
<i>Ochromobacterium</i>	Eau
<i>Pasteurella sp.</i>	Eau
<i>Peptostreptococcus</i>	Bouche
<i>Proteus vulgaris</i>	Eau
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eau
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Eau
<i>Salmonella typhimurium</i>	Mains oral/fécal
<i>Streptococcus sp.</i>	Bouche
<i>Xanthomonas</i>	Eau
Champignons	
<i>Penicillium</i>	Eau
<i>Cladosporidium</i>	Eau
<i>Alternaria</i>	Eau
<i>Scopulariopsis</i>	Eau
Protozoaires	
<i>Acanthamoeba</i>	Eau
<i>Cryptosporidium</i>	Eau
<i>Microsporidium</i>	Eau
<i>Giardia</i>	Eau

2.5 Importance de la contamination

Pour quantifier les germes dans l'eau, la mesure standard utilisée est le CFU (Colony Forming Units). Cette unité représente une colonie qui pousse sur un support solide. 1 CFU= 1 cellule ou plusieurs cellules bactériennes qui se rassemblent.

La quantification des germes de l'eau diffère énormément d'une étude à l'autre et encore d'un prélèvement à l'autre dans une même étude.

Dans l'étude menée par J.F. Williams aux Etats-Unis (35), 72 % des échantillons d'eau d'units contenaient plus de 500 CFU/ml c'est-à-dire dépassant le standard de qualité fixé par l'U.S.Army. La moyenne obtenue pour les prélèvements effectués sur les seringues air/eau était de 49700 CFU/ml. Celle des instruments rotatifs atteignait 72500 CFU/ml. Par contre la plupart des prélèvements effectués sur les robinets n'a montré aucune croissance même après des incubations prolongées.

Dans l'étude de E.J. Fitzgibbon à l'hôpital de Liverpool (15), sur 300 prélèvements d'eau, 45 avaient plus de 500 CFU/ml et 30 plus de 2000 CFU/ml.

Enfin dans l'étude de T.F. Meiller (22) les auteurs ont trouvé 10^5 CFU/ml dans l'eau circulant dans l'unit.

Sachant qu'aux Etats-Unis, le standard établi pour la qualité des eaux d'alimentation est de 500 CFU/ml (29), on se rend compte sans difficulté de l'importance de la contamination de l'eau circulant et s'écoulant des units.

Remarque : ce standard est de 200 CFU/ml en Europe et de 100 CFU/ml au Japon.

La contamination microbienne de l'eau des units paraît très répandue. Les organismes peuplant les lignes d'eau sont nombreux mais pour l'instant il n'y a aucune évidence qu'il existe un risque réel de santé publique. Néanmoins, l'objectif du contrôle de l'infection est de minimiser le risque de contact avec des agents pathogènes potentiels et de créer un environnement de travail sans danger ni pour les patients, ni pour les soignants.

3 LE TRAITEMENT DE L'EAU

3.1 Le traitement de l'eau avant sa distribution

Le traitement de l'eau de distribution est un long processus comprenant 4 grandes étapes : les prétraitements, l'oxydation, l'élimination des micro-organismes par clarification et les traitements biologiques (16).

3.1.1 Les prétraitements

Les prétraitements sont de 2 ordres :

- Ceux appliqués à l'eau de la ressource, en amont de l'usine de traitement ; ils sont soit préventifs, donc destinés à lutter contre les causes des détériorations de la qualité de l'eau brute, soit curatifs et par conséquent s'attaquant aux détériorations elles-mêmes.
- Ceux appliqués à l'entrée de l'usine et qui servent à améliorer la qualité de l'eau avant son traitement. Ils peuvent également permettre, comme le stockage, de constituer une réserve de sécurité en cas de pollution accidentelle de l'eau de la ressource.

3.1.2 L'oxydation

Les oxydants sont utilisés, en tête et en cours de traitement pour améliorer la biodégradabilité de certaines molécules organiques, pour éliminer certains micropolluants (toxiques ou responsables de goûts et d'odeurs) et certains indésirables (coloration de l'eau, fer...) et comme barrière désinfectante.

En fin de traitement ils servent au maintien de la qualité microbiologique dans l'eau de distribution.

Les propriétés désinfectantes des principaux oxydants, chlore, chloramine, dioxyde de chlore et ozone sont connues depuis la fin du XIXe siècle. Le but exclusif des oxydants, au départ, a été de détruire ou d'inactiver les micro-organismes et, parmi eux, l'attention était principalement focalisée sur les bactéries, ils n'étaient pas appelés à l'époque, oxydants, mais désinfectants. Ce n'est que vers les années 1950, que leur rôle dans l'oxydation de certaines matières de l'eau (minérales mais surtout organiques) a été reconnu et utilisé parallèlement à leurs propriétés désinfectantes.

3.1.2.1 Mécanismes d'inactivation des virus

Au niveau de la capside, on observe l'augmentation de la perméabilité par modification de ses protéines. L'action des oxydants a également pour conséquence la baisse du pouvoir infectant sur les cellules et la diminution du pouvoir de fixation des virions sur les cellules ; la modification de l'acide nucléique semble être la transformation dont les conséquences sont les plus importantes pour l'inactivation du virus.

3.1.2.2 Mécanismes d'inactivation des bactéries

Les sites d'action des désinfectants vis-à-vis des bactéries sont de 3 ordres : la membrane cytoplasmique, les enzymes intervenant dans le cycle respiratoire et ceux intervenant dans la synthèse protéique et enfin les acides nucléiques. On observe aussi une action sur les adhésines, la chloration à doses subléthales d'*Escherichia coli* diminue les possibilités d'adhérence de cette bactérie à la muqueuse intestinale et donc de colonisation et de démarrage de la maladie. Par contre, l'inhibition éventuelle de l'adhérence des bactéries sur des supports inertes (formations de biofilms) par action des oxydants n'a pas fait l'objet de publications. La membrane cytoplasmique est la cible privilégiée des désinfections à concentrations faible ou modérée. Il en résulte une augmentation de la perméabilité cellulaire et une perte de constituants cellulaires par migration. On a aussi noté l'inhibition de la synthèse protéique et à plus forte dose l'ozone modifie la structure des acides nucléiques.

3.1.2.3 Mécanismes d'inactivation des protozoaires

Les phénomènes sont peu connus car ils n'ont que très rarement été étudiés, les seules études publiées concernent l'ozone. L'ozone provoque la rupture très rapide des membranes d'amibes.

3.1.2.4 Les oxydants utilisés

Les oxydants couramment utilisés dans la désinfection de l'eau sont de deux sortes :

- les oxydants chlorés : le chlore et ses dérivés, la monochloramine et le dioxyde de chlore.
- L'ozone

3.1.2.4.1 Le chlore, l'acide hypochloreux et les hypochlorites

Le chlore est, de nos jours, le plus employé de tous les oxydants utilisés en désinfection. La modicité de son coût, sa simplicité d'emploi et sa rémanence dans les réseaux de distribution, sont les arguments principaux en faveur de son utilisation. Il reste le désinfectant privilégié en contrôle final de la qualité microbiologique.

3.1.2.4.2 La monochloramine

Elle est formée par action du chlore en solution dans l'eau sur l'ammoniaque. Son pouvoir désinfectant est nettement plus faible que celui du chlore. Elle est peu utilisée en Europe.

3.1.2.4.3 Le dioxyde de chlore

Son pouvoir désinfectant est voisin de celui de l'acide hypochloreux vis-à-vis des bactéries et des virus et beaucoup plus important envers les protozoaires. Mais malgré ses supériorités, il n'a pas détrôné le chlore ; la cause principale en est la toxicité du chlorite, sous-produit inévitable.

3.1.2.4.4 L'ozone

C'est un oxydant et désinfectant puissant qui connaît depuis une quinzaine d'années un formidable essor. L'ozone est le désinfectant le plus puissant vis-à-vis des micro-organismes de l'eau, tant bactéries que virus et protozoaires. Des concentrations aussi faibles que quelques microgrammes par litre sont capables d'inactiver les bactéries à Gram négatif et en

quelques minutes ! Les bactéries à Gram positif, surtout lorsqu'elles sont sporulées, sont notablement plus résistantes, mais ce phénomène est observé avec tous les désinfectants.

Sur les particules virales isolées, l'efficacité de l'ozone est du même ordre de grandeur pour les bactéries à Gram négatif. Les particules virales agrégées ont, par contre, une résistance à l'ozone qui se rapproche de celle des bactéries sporulées. L'ozone possède le pouvoir désinfectant le plus marqué sur les parasites, c'est le désinfectant idéal contre les protozoaires tels que *Giardia* et *Cryptosporidium*.

L'ozone, de par son très fort pouvoir oxydant est un désinfectant extrêmement puissant, le plus efficace de tous ceux industriellement utilisés.

3.1.3 Elimination des micro-organismes par clarification

On appelle clarification, l'ensemble des opérations permettant d'éliminer les matières en suspension contenues dans une eau à potabiliser. Tous les éléments, solubles ou non, liés à ces matières en suspension, par adsorption, complexation, seront éliminés conjointement.

Cela passe par un procédé de coagulation-floculation-décantation (neutralisation des charges négatives des particules, agrégation et décantation). Ensuite, l'eau subit une filtration sur un milieu granulaire fin (terre de diatomées) puis une microfiltration (diamètres de pores de 500 nm), une ultrafiltration (diamètres de pores de 10 nm) et enfin une nanofiltration qui permet l'élimination de molécules de 250 daltons.

3.1.4 Les traitements biologiques de l'eau

Le métabolisme de certains groupes bactériens peut être mis à profit pour éliminer des molécules ou ions indésirables dans l'eau, comme les composés azotés, le fer, le manganèse ou la matière organique (carbone organique utilisable par les micro-organismes saprophytes hétérotrophes).

3.2 Les moyens de traitements de l'eau utilisés en cabinet dentaire

L'eau de distribution ainsi traitée parvient à l'entrée de l'unit, elle va suivre le système des conduites de l'unit et par conséquent être contaminée par les micro-organismes du biofilm notamment. Quels sont alors les moyens disponibles au cabinet dentaire pour lutter contre cette contamination et éviter de délivrer de l'eau de qualité médiocre pendant les soins ?

3.2.1 Faire couler l'eau

Beaucoup d'auteurs et l'ADA (American Dental Association) ont recommandé de faire couler l'eau sur chaque ligne alimentant les instruments (turbine, contre-angle, détartreur, seringue air/eau) au début de chaque journée de soin pour libérer l'eau et l'air qui ont stagné pendant au moins la nuit et plus s'il y a eu un week-end ou même plusieurs jours sans utilisation (28). Selon J.F. Williams (35), faire couler l'eau pendant 2 minutes (c'est long !), produirait une diminution du nombre de colonies par ml, réduisant les concentrations par 3. Dans aucun cas, néanmoins, cela mènerait à des concentrations nulles. Cela s'explique par le fait que la couche d'eau directement en contact avec le biofilm est stationnaire, un flux continu d'eau ne fait rien pour désorganiser le biofilm (flux laminaire).

Faire couler l'eau qui a stagné dans les conduites améliorerait également sa qualité perceptible c'est-à-dire son odeur et son goût dûs à la contamination microbienne. Enfin, cela reconduirait les concentrations de chlore de cette eau aux taux normaux de l'eau d'alimentation (0.1 à 0.5 ppm).

Même si chasser l'eau peut réduire le nombre de bactéries, ces effets sont éphémères. Les taux de bactéries peuvent rapidement augmenter pendant l'utilisation de l'unit pour arriver au même taux ou l'excéder car des particules de biofilm se détachent.

Dans la majorité des études, le fait de faire couler l'eau n'était jamais suffisant pour atteindre le standard désiré de 200 colonies formant une unité par ml, même en le faisant pendant plusieurs minutes. Il faudrait 20 minutes, ce qui est impraticable en cabinet, pour arriver à un compte de zéro. Il a aussi été montré qu'en 30 minutes, on retrouvait les mêmes concentrations bactériennes qu'avant la purge.

Selon la seconde recommandation, il faut également faire couler l'eau dans les instruments après chaque patient et pendant 20 à 30 secondes pour, cette fois, éliminer les fluides oraux

qui auraient pu pénétrer par rétraction dans les instruments et éviter les contaminations croisées.

Chasser l'eau entre les patients reste utile, chasser l'eau des conduites sans traitement chimique doit rester une mesure transitoire avant que d'autres méthodes efficaces ne soient disponibles (14, 29, 30, 35).

3.2.2 Nettoyage des unités avec des solutions désinfectantes

Une variété de traitements chimiques a été étudiée pour leurs capacités à combattre ou à contrôler le biofilm. L'agent chimique idéal pour le contrôle du biofilm doit être bactéricide mais non toxique ou irritant pour l'homme. Il doit détacher le biofilm et l'empêcher de se reformer et doit protéger les composants de l'unité de la corrosion et de la dégradation. S'il est délivré en continu dans l'eau, il ne doit pas avoir d'effets sur les agents de collage à l'émail et la dentine et enfin, il doit être peu coûteux et facile d'utilisation. Malheureusement cet agent n'existe pas.

3.2.2.1 Les modes de traitements chimiques

3.2.2.1.1 Le traitement chimique intermittent

La pratique courante est de délivrer l'agent et de le laisser en contact dans les conduites de l'unité un certain temps et à une fréquence déterminée. Les agents utilisés sont pour la plupart germicides et ont une action de « choc ». L'avantage majeur du traitement intermittent est que l'agent actif est purgé avant l'utilisation de l'unité. L'inconvénient est que des organismes survivants du biofilm recolonisent le milieu entre les traitements. Les autres inconvénients sont l'exposition du personnel à ces agents chimiques et la détérioration des conduites d'eau de l'unité.

3.2.2.1.2 Le traitement chimique continu

On utilise pour ces traitements des concentrations plus faibles d'agents lytiques ou moins toxiques (biostatiques). Ces produits sont introduits dans l'eau de l'unité utilisée pour les soins. L'avantage est que le potentiel de recolonisation est moindre. Par contre, cela abîme un peu

plus les équipements, le personnel est exposé en permanence à l'aérosol donc à l'agent chimique et l'adhésion des reconstitutions à l'email et la dentine peut être affectés.

3.2.2.2 Les agents chimiques

3.2.2.2.1 L'hypochlorite de sodium

La plupart des chercheurs l'ont utilisé et à différentes concentrations (26). C'est un germicide à large spectre antimicrobien, largement utilisé pour traiter l'eau potable et les eaux de piscine qui a montré des résultats promettant pour l'amélioration de la qualité de l'eau. Le problème avec cet agent désinfectant est qu'il engendre des dérivés potentiellement carcinogènes : les trihalométhanes, formés par la réaction du chlore sur des composés organiques. Cependant, (18) il a été montré que les taux de trihalométhanes ne dépassaient pas les limites imposées.

Le deuxième inconvénient de l'hypochlorite de sodium vient de son pouvoir oxydant : il corrode les composants métalliques et synthétiques de l'unit. Néanmoins ces effets peuvent tout à fait être limités en suivant scrupuleusement les recommandations du fabricant.

Il existe une variante au mode de traitement pour l'hypochlorite de sodium qui consiste (18) à combiner le traitement intermittent et le traitement continu; le traitement intermittent « de choc » ayant pour objectif la déstructuration du biofilm et le traitement continu, celui de conserver une chloration résiduelle de l'eau suffisante.

3.2.2.2.2 Hypochlorite de sodium, glutaraldéhyde, isopropanol

Dans une série d'essais, les auteurs ont étudié la réapparition de la croissance microbienne après le traitement avec l'hypochlorite de sodium, du glutaraldéhyde et de l'isopropanol à 15,3%.

Des sections de tubes pris dans des units ont été coupées puis observées au microscope électronique à balayage avant et après traitement chimique. Des échantillons d'eau et de biofilm provenant de ces tubes ont été prélevés et évalués par culture également avant et après le traitement. Enfin, des tests de concentration minimale inhibitrice ont été pratiqués sur les isolats identifiés en pré et post-traitement pour rechercher d'éventuelles résistances. Les sections de tubes sont laissées au contact des solutions de traitement pendant 15 heures.

Sans traitement, on trouve une moyenne de 10^5 Colonies formant une unité par cm^2 alors qu'après une nuit de traitement avec les 3 solutions, on ne trouve plus de bactéries ni libres, ni dans le biofilm. Des bactéries viables sont de nouveau détectées au bout de 3 jours après le traitement par glutaraldéhyde, 6 jours pour l'isopropanol et 15 jours pour l'hypochlorite de sodium. L'étude au microscope montre qu'après le traitement, la matrice du biofilm persiste. La concentration minimale inhibitrice de la majeure partie des micro-organismes isolés n'a pas été modifiée par ces traitements, il n'y aurait donc pas de développement de résistances des micro-organismes à ces agents chimiques.

L'hypochlorite de sodium, le glutaraldéhyde et l'isopropanol sont efficaces dans l'élimination des bactéries viables libres ou dans le biofilm mais échouent dans le fait d'éliminer la matrice du biofilm. Ils ont également la propriété d'inhiber la réapparition des germes dans les conduites, cependant les temps de recolonisation dépendent de l'agent. Au vu de cette étude l'hypochlorite est l'agent le plus efficace (22).

3.2.2.2.3 Listerine® Antiseptic

La même étude a été menée pour évaluer l'efficacité d'un agent antiseptique oral commercialisé sous le nom de Listerine® Antiseptic (23).

Un traitement de 18 heures avec Listerine® élimine de l'eau et des biofilms toutes les bactéries. Des bactéries viables dans l'eau et les biofilms sont observées à nouveau au bout de 7 jours. Le développement du biofilm semble donc inhibé pendant 7 jours. Les concentrations minimales inhibitrices ne changent pas avant et après le traitement, il n'y a donc pas non plus de développement de résistances des germes à cet agent. Des traitements multiples répétés montrent une inhibition de la réapparition des bactéries viables dans le biofilm tout au long de l'étude ; par contre ils n'agissent encore pas sur la matrice-même du biofilm.

3.2.2.2.4 Comparaison Eau de Javel, Cavicide®, Glutaraldéhyde, Listerine®, Peridex®, Sterilex Ultra®

Cette étude, menée par T. Meiller, a comparé l'efficacité de 6 agents commercialisés sur leur effet bactéricide et leur action sur le biofilm mature. Pour cela, 4 tests microbiologiques ont été utilisés : l'apparition d'une zone d'inhibition créée par l'agent sur un milieu de culture spécifique (agar) contenant des bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, la mesure des

concentrations minimales inhibitrices et bactéricides, le test des dilutions successives et la microscopie électronique pour visualiser la capacité de l'agent à déstructurer et à chasser le biofilm. Les 6 agents étudiés sont : 1. l'eau de Javel ou hypochlorite de sodium ; 2. le Cavicide® (isopropanol) ; 3. le glutaraldéhyde ; 4. Listerine® ; 5. Peridex® (gluconate de chlorhexidine) ; 6. Sterilex Ultra® (peroxyde d'hydrogène, carbonate de sodium et EDTA).

Les résultats ont montré que seuls l'eau de Javel, le glutaraldéhyde et Sterilex Ultra® avaient une zone d'inhibition mesurable ; que Sterilex Ultra® était le plus efficace à la plus faible concentration suivi par l'eau de Javel et le glutaraldéhyde ; que ces 3 mêmes agents étaient encore efficaces après 4 dilutions et qu'enfin l'eau de Javel et Sterilex Ultra® seulement étaient capables de rompre et d'enlever une partie du biofilm. La comparaison de ces tests prouve la supériorité de l'eau de Javel, du glutaraldéhyde et de Sterilex Ultra® sur le Cavicide®, Listerine® et Peridex® (24).

3.2.2.2.5 Polyvidone iodée

Mills, en 1986, a fait l'étude sur la réduction de la contamination microbienne des conduites d'eau de 10 unités dentaires en utilisant la polyvidone iodée à 10%. Les 10 unités étaient toutes contaminées par des bactéries et des champignons à des taux allant de 10^4 à 10^5 colonies formant une unité. L'utilisation d'eau stérile combinée à de la polyvidone iodée introduite dans 5 unités et laissée pendant 12 heures a permis d'empêcher la réapparition de micro-organismes pendant 3 à 14 jours selon les unités. L'utilisation seule d'eau stérile sur les 5 unités témoins s'est révélée inefficace pour réduire les taux de contamination microbienne (27).

Il existe beaucoup d'autres agents chimiques sur le marché, ils utilisent les mêmes composants à des dosages et concentrations différents : éthanol, chlorhexidine, aldéhyde, glutaraldéhyde, phénol, chlore, iode....

Les résultats des comparaisons entre eux diffèrent selon les tests microbiologiques employés.

Beaucoup d'agents chimiques sont actuellement proposés et commercialisés pour lutter contre la contamination microbienne de l'eau et les biofilms, malheureusement aucun n'est largement meilleur. La plupart d'entre eux sont efficaces dans l'élimination des micro-organismes libres ou attachés au biofilm mais aucun ne réussit à éliminer totalement la matrice du biofilm, facteur majeur de l'échec.

Récemment aux Etats Unis, 4 agents chimiques ont reçu l'accord du FDA (Food and Drug Administration) pour être commercialisés comme « nettoyeur des conduites d'eau d'units » (26), ce sont :

- Bio 2000®, un lubrifiant à base de glycérine et contenant du gluconate de chlorhexidine à 0.12% et de l'alcool à 12%, utilisé soit en continu soit de façon intermittente et capable d'éliminer *Pseudomonas aeruginosa*.
- Bioclear®, de l'acide citrique utilisé en continu et capable d'éliminer et de prévenir l'attachement du biofilm.
- Dentacide®, une solution à base d'iode utilisée de façon intermittente qui élimine et prévient l'attachement du biofilm.
- Sterilex Ultra®, c'est une solution à base de peroxyde d'hydrogène, utilisée une fois par semaine qui attaque les biofilms (pas leur matrice).

3.2.2.2.6 Le concept IGN 500-Calbénium

L'IGN (Infection General Neutralizer) est un appareil relié entre l'arrivée d'eau de l'unit et les instruments. Ce système automatisé envoie du Calbénium dilué dans de l'eau du robinet utilisé dans les sprays des instruments et la seringue air/eau. Cette eau traitée est ensuite ionisée par l'IGN 500. Le Calbénium est un composé comprenant de l'EDTA, de la chloramine, un ammonium quaternaire, de l'allantoïne, de l'aspartam, de la menthe et du sorbitol. Le Calbénium serait efficace dans l'élimination du biofilm, du tartre et des micro-organismes de l'eau. L'ionisation permet l'élimination des germes devenus résistants au traitement chimique. L'ionisation est générée par une électrode d'argent. Selon les données du fabricant, ce système paraît très séduisant parce qu'apparemment inégalé, mais aucune comparaison avec d'autres systèmes s'en rapprochant n'est actuellement disponible dans la littérature (2).

3.2.3 Les valves anti-rétraction

Une des sources impliquées de la présence d'espèces bactériennes dans l'eau des units est l'aspiration de fluides venant de la cavité orale des patients, cela proviendrait de la pression négative générée à l'arrêt des instruments rotatifs. Par exemple, (4) à chaque fois que la turbine s'arrête, à peu près 1 ml de fluides oraux est aspiré. Il existe donc pour éviter ce

phénomène, des valves anti-rétraction qui empêchent l'aspiration. Pour être le plus efficace elles doivent être installées le plus près de l'instrument rotatif. Cela réduirait 4000 fois la contamination par cette voie. Comme tous les composants des lignes d'eau, ils peuvent s'obstruer à cause du biofilm. Pour assurer leur fonction mécanique, la maintenance doit être régulière et elles doivent être renouvelées périodiquement. Certains fabricants ont intégré ces valves dans les rotatifs eux-mêmes, ce qui permet d'autoclaver les valves à chaque fois. (29)

3.2.4 La filtration

Bien que très peu d'études existent sur la filtration en dentisterie, l'efficacité des membranes de filtrations pour ôter les bactéries de l'eau ou d'autres fluides est bien établie dans d'autres applications médicales et industrielles.

Avec une durée de vie de 1 à 7 jours, ces filtres sont utilisables universellement sur tous les units. La taille des pores recommandée et la plus fréquemment utilisée est de 0.2 μm . Ils doivent être placés sur chaque ligne d'eau aussi près que possible des instruments et doivent être changés régulièrement en suivant les instructions du fabricant. L'inconvénient des filtres est qu'ils n'ont pas d'effet sur la formation du biofilm qui continue à proliférer dans les segments avant filtration ; de plus ils n'éliminent pas les composés minéraux et organiques ni les endotoxines contenus dans l'eau municipale. Par contre, leur avantage vient du fait qu'ils ne provoquent pas de détérioration des matériaux de l'unit (1, 19, 26, 29).

3.2.5 Les systèmes à réservoir indépendant

C'est un système élaboré pour court-circuiter l'arrivée d'eau de ville. Grâce à ce système, l'eau qui arrive aux instruments provient d'un réservoir indépendant rempli par le praticien avec de l'eau ou des solutions de traitement. L'avantage majeur de ce système est que le praticien choisit la source d'alimentation du fauteuil. On peut purger facilement avec des solutions désinfectantes tout le système et également assécher l'intérieur des surfaces des conduites en faisant couler toute l'eau qui s'y trouve (1,19, 26, 29).

Bien que les conduites soient moins susceptibles de former des biofilms quand elles sont maintenues sèches la nuit, il n'y a pas d'étude qui montre que c'est un moyen de contrôle efficace. Il faut aussi souligner que de l'eau stérile mise dans un réservoir de ce type de système ne peut rester stérile lorsqu'elle traverse les conduites donc ne peut pas être utilisée dans les actes chirurgicaux.

Ces systèmes sont donc capables de délivrer de l'eau de très bonne qualité. Comme toutes les autres solutions, la bonne maintenance des conduites et réservoirs comme le recommande le fabricant assure une performance optimale.

3.2.6 Les systèmes à eau stérile

Ce sont des systèmes utilisés lors de chirurgies, le problème est qu'ils sont coûteux et souvent moins pratiques à utiliser. Pour que le système soit efficace, il doit rester totalement indépendant des lignes d'eau de l'unité et les tubes doivent être changés ou stérilisés après chaque utilisation. Bien qu'ils soient indispensables pour les actes chirurgicaux, ces systèmes ne sont ni pratiques ni nécessaires pour la plupart des autres procédures de soins dentaires (19).

3.2.7 Les systèmes de traitement automatique

Ce sont des systèmes qui introduisent des agents chimiques dans l'eau automatiquement. Cela diminue le risque de ne pas suivre correctement les protocoles. Le système Odyssey I, par exemple, génère un germicide à base d'ozone et d'argent et agit par action électrolytique sur l'eau qui entre. Un autre système commercialisé sous le nom de DentaPure délivre de façon continue 2 à 6 ppm d'iode dans l'eau (26).

3.2.8 Les systèmes en développement

3.2.8.1 L'utilisation de la lumière UV

L'avantage théorique d'un tel procédé est d'éviter l'introduction de produits chimiques dans l'eau de traitement, malheureusement ce n'est pas suffisant pour le contrôle du biofilm, et il est donc utilisé avec l'ozone (1, 29).

3.2.8.2 Les systèmes autoclavables

Pour la prévention de la contamination des lignes d'eau des unités, un assemblage entièrement autoclavable de réservoir d'eau, de tubes en silicone stérilisables entre les patients a été mis au point aux États-Unis. Ce système doit, si les instructions du fabricant sont bien suivies, garder les conduites sans biofilm. S'il y a contamination par les micro-organismes de la peau pendant les manipulations ou les micro-organismes oraux par rétraction, ils seront détruits par autoclavage (29).

3.3 L'importance de la maintenance

Les unités possédant un réservoir indépendant ont montré qu'ils pouvaient fournir de l'eau de très bonne qualité, contenant peu ou pas de bactéries pendant une moyenne d'une semaine. Pour assurer ces performances, il est nécessaire de désinfecter l'unité toutes les semaines et de la façon recommandée par le fabricant. Les échecs (forte contamination de l'eau) viennent du non-respect du protocole de maintenance : mauvaise fréquence de désinfection, protocole opératoire non respecté, remplissage des réservoirs avec de l'eau du robinet. Quand les protocoles ne sont pas suivis, le système d'unité à réservoir indépendant ne sert à rien et on peut s'attendre à trouver une contamination identique à celle des unités standards (33).

3.4 Le contrôle microbiologique au cabinet

L'importance de la contamination serait en partie liée à une mauvaise maintenance. Contrôler la qualité de l'eau des unités dentaires est probablement le moyen le plus efficace pour assurer une conformité avec les protocoles de traitement des fabricants. Plusieurs méthodes existent et sont plus ou moins simples à utiliser et plus ou moins coûteuses. L'utilisation de filtres spécifiques pour compter les colonies est le plus simple pour une utilisation en cabinet et même si cette méthode n'est pas aussi sensible et spécifique que les tests de laboratoire, elle reste très efficace et procure une bonne indication de la colonisation active du biofilm. Avec ces tests, on peut donc faire une évaluation avant le traitement pour connaître l'intervalle idéal entre deux traitements (17).

3.5 La recherche spécifique de germes au cabinet

Il n'est pas indiqué de tester spécifiquement son eau pour rechercher des germes spécifiques comme *Legionella* ou *Pseudomonas* parce que la plupart des traitements ont pour cible tout le biofilm et non pas un organisme en particulier. Un test négatif à un germe difficile à mettre en culture comme *Legionella* peut donner une fausse assurance de la propreté de l'unité. Il n'y a donc pas de raison d'entreprendre un traitement particulier sauf si les autorités locales suspectent une maladie venant de l'eau. Il n'y a pas de recommandations sur la recherche microbiologique en pratique courante (26).

Les procédures de contrôle de l'infection dans les cliniques reposent sur la rupture de la chaîne de l'infection : nombre suffisant de germes pathogènes, hôte susceptible et porte d'entrée. La susceptibilité de l'hôte (patient ou personnel) et la pathogénicité des organismes sont les moyens sur lesquels nous avons le moins de contrôle. Pour cette raison, les efforts doivent continuer à être apportés pour diminuer le nombre de micro-organismes dans cet environnement.

4 EVALUATION DE LA CONTAMINATION BACTERIENNE DE L'EAU PROVENANT D'UNITS DENTAIRES AU CENTRE DE SOINS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DENTAIRES DU C.H.U. DE NANTES

Au regard des publications sur le sujet de la contamination de l'eau des unités dentaires, nous avons voulu connaître son importance au Centre de Soins Dentaires. Pour ce faire, nous avons mené une analyse quantitative de l'eau prélevée sur des unités dentaires de ce centre.

4.1 Le système de traitement de l'eau du Centre de Soins Dentaires

Quelques chiffres :

- La production d'eau du système est de 140 litres/heure.
- Le rejet est de 80 litres/heure.
- La consommation du réseau des unités n'est que de 60 litres/jour (Ce sont les lave-vaisselle de la stérilisation qui consomment le plus).
- Débit maximum instantané 3 litres/minute (180 litres/h).
- Le diamètre des conduites d'eau reliant le système aux fauteuils est de 20 mm.
- La vitesse de l'eau les parcourant est de 2 mètres/seconde.

Le système de traitement de l'eau fournit de l'eau « osmosée », c'est le terme employé par les agents chargés de la maintenance du système et par les laborantins qui pratiquent les contrôles réguliers de l'eau de tout l'hôpital. Ce terme est inapproprié puisque l'osmose est définie comme étant un « phénomène de diffusion qui se produit lorsque deux liquides ou deux solutions de concentrations moléculaire différentes se trouvent séparés par une membrane semi-perméable laissant passer le solvant mais non la substance dissoute » (Petit Robert).

L'eau « osmosée » correspond tout simplement à l'eau qui a subi les étapes suivantes:

- Adoucissement (élimination des sels : fer, calcium)
- Filtration à travers une membrane de 5 µm
- Filtration à travers une membrane de 1 µm
- Filtration avec charbon actif

- Chloration (le taux de chlore est maintenu à 0.38 mg/l)

Cette eau, ainsi traitée, alimente tout le centre de soins (fauteuils, robinets, matériel de stérilisation...)

4.2 L'évaluation

Le but de cette étude était d'évaluer la prolifération bactérienne en fonction de la température de l'eau et de la durée de stagnation dans les conduites d'eau des unités dentaires et de proposer des mesures de prévention.

4.2.1 Matériels et méthodes

4.2.1.1 Matériel

Flacons stériles contenant les prélèvements d'eau à analyser

Rampe Millipore

Flacon de réception

Pince métallique Millipore

Boîte de membranes en nitrocellulose de diamètre de pores 0.45µm Millipore

Kit de filtration à usage unique Millipore Microfil V

Bouchons perforés en caoutchouc

Rateaux à usage unique

Propipette Biohit

Pipettes de 10 ml

Pipettes de 1 ml ou pipette automatique et cones stériles

Boîtes de culture « TS » (3 par échantillon)

Boîtes de culture « pyo » (1 par échantillon)

TS : milieu de culture trypticase soja

Pyo : milieu de culture cétrimide

4.2.1.2 Les prélèvements

Les prélèvements d'eau ont été faits à partir des lignes d'eau des turbines de deux fauteuils situés au 2^e étage (H3 et H4), secteur de soins où les turbines sont plus fréquemment utilisées qu'au premier étage, secteur de prothèse. Les prélèvements ont été collectés dans des flacons stériles (bouchon scellé avant utilisation). Chaque prélèvement contenait 500 ml d'eau.

Les prélèvements ont été effectués sur 4 semaines:

- le lundi matin à 9 heures avant toute utilisation de l'unit, pour obtenir un échantillon représentatif de la charge microbienne accumulée lors de la stagnation de l'eau pendant le week-end (à peu près 45 heures)
- le lundi à 14 heures, après une utilisation de l'unit pendant la matinée de soins (3 heures)
- le mardi à 9 heures avant l'utilisation de l'unit, pour connaître la charge microbienne après une nuit de stagnation (à peu près 13 heures)
- le vendredi à 9 heures pour apprécier si l'utilisation répétée de l'unit réduit le taux de contamination de l'eau. (comparaison avec le mardi matin)

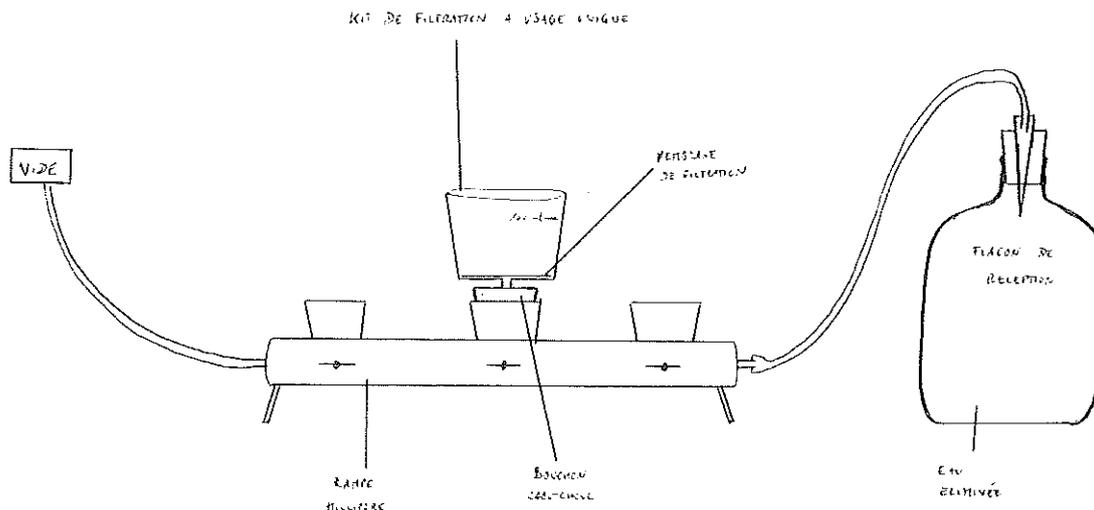
Un échantillon a également été prélevé au niveau de la cuve d'eau, située au sous-sol, qui alimente le Centre de Soins et un second au niveau de la colonne d'eau alimentant tout le 2^e étage.

Les températures d'eau ont été prises lors du dernier prélèvement.

4.2.1.3 Le traitement des échantillons

4.2.1.3.1 Préparation du matériel

- Préparation de la rampe
- Relier le flacon à la rampe par le tuyau prolongé d'une pipette et au vide par le second tuyau
- Disposition sur un poste de la rampe d'un bouchon bleu en caoutchouc et d'un kit de filtration équipé d'une membrane
- Fermeture de tous les robinets de la rampe



4.2.1.4 Filtration et mise en culture

4.2.1.4.1 Première mise en culture

Le flacon est agité et ouvert près de la flamme, prélèvement de 0.1ml d'eau, ils sont déposés à la surface d'une boîte TS et étalés au râteau.

4.2.1.4.2 Deuxième mise en culture

Prélèvement de 10 ml à la propipette. Ces 10 ml sont ensuite versés dans le système de filtration, le robinet est alors ouvert. En fin de filtration, le robinet est refermé, l'entonnoir du système est séparé de son socle et on récupère avec la pince métallique la membrane, enfin on la dépose sur la surface d'une boîte TS.

4.2.1.4.3 Troisième mise en culture

On met en place sur le même système (même prélèvement d'eau) une nouvelle membrane et on refixe l'entonnoir.

On verse alors 100ml selon la graduation de l'entonnoir et on ouvre le robinet pour la filtration. La membrane obtenue est aussi placée sur une boîte TS.

4.2.1.4.4 Quatrième mise en culture

De la même façon, une nouvelle membrane est placée dans le système et l'opération identique (100ml) est pratiquée pour obtenir une membrane qui sera placée cette fois sur la surface d'une boîte de culture pour la recherche de bacilles pyocyaniques.

Il faut ensuite changer de poste sur la rampe pour les manipulations du second échantillon. Quand tous les postes de la rampe ont été utilisés une fois, ils doivent être passés à l'alcool avant une nouvelle utilisation.

Les boîtes sont incubées à 37°C.

4.2.2 Lecture

Une première lecture est faite après 24 heures sur toutes les boîtes.

Les boîtes sont réincubées à 37°C pendant encore 24 heures pour une deuxième lecture.

Enfin, elles sont laissées à température ambiante pour la lecture à 72 heures.

4.3 Résultats

4.3.1 Résultats de la filtration

La lecture s'effectue en comptant le nombre de colonies apparues sur la membrane. Le quadrillage de la membrane facilite l'opération.

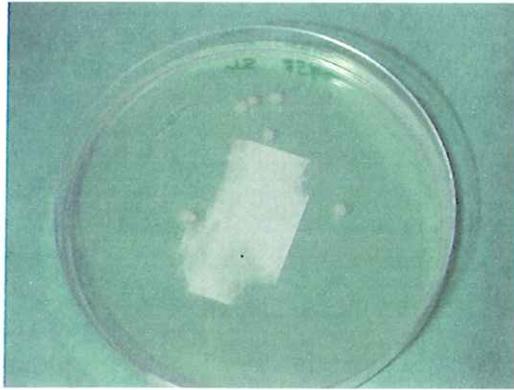
Si elles sont bien individualisées, on peut obtenir un nombre précis.

Quand les colonies recouvrent entièrement la membrane, on considère que leur nombre est approximativement 200.

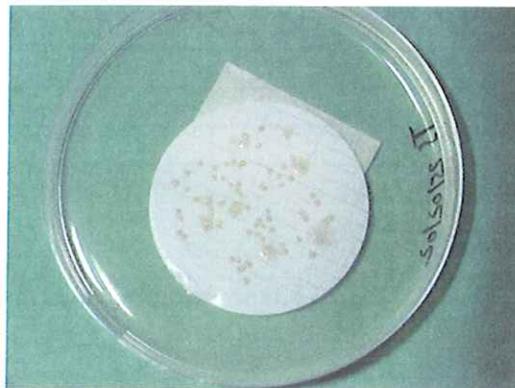
Lorsque les colonies recouvrent la membrane et confluent, on considère qu'elles sont plus de 200 et que l'on a obtenu une « nappe ».

Remarque : les boîtes de prélèvements effectués le vendredi n'ont pu être lues qu'à 72 heures (le lundi suivant).

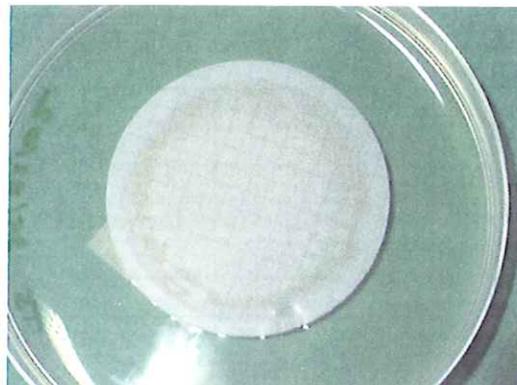
Résultat après 48 heures de la mise en culture de 0.1 ml d'eau pure sur milieu « TS ».



Résultat après mise en culture du filtre Millipore sur milieu « TS » : on peut aisément compter les colonies.



Résultat après mise en culture du filtre Millipore sur milieu « TS » : les colonies ont conflué, on ne peut pas les compter, c'est une « nappe ».



2ème semaine

LUNDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	0	0	0	0
	48 h	115	0	14	0
	72 h	115	0	14	0
H 4	24 h	0	0	0	0
	48 h	nappe	0	230	3
	72 h	nappe	0 (230	3

LUNDI 14 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	0	0	0	0
	48 h	160	0	39	2
	72 h	180	0	46	3
H 4	24 h	0	0	0	0
	48 h	29	0	3	0
	72 h	32	0	4	1

MARDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	0	0	0	0
	48 h	100	0	20	2
	72 h	100 (2 types)	0	21 (3 types)	2
H 4	24 h	0	0	0	14
	48 h	> 200	0	85	20
	72 h	> 200	0	88	20 (2 types)

VENDREDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	-	-	-	-
	48 h	-	-	-	-
	72 h	80	0 (1 non pyo)	9	1
H 4	24 h	-	-	-	-
	48 h	-	-	-	-
	72 h	> 200	0	50	1

3ème semaine

LUNDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	0	0	0	0
	48 h	50	0	4	0
	72 h	50	0	4	0
H 4	24 h	0	0	0	0
	48 h	nappe	0	200	1
	72 h	nappe	0	200	1

LUNDI 14 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H3	24 h	0	0	0	0
	48 h	150	0	30	0
	72 h	150	0	30	0
H 4	24 h	0	0	0	0
	48 h	> 200	0	75	1
	72 h	> 200	0	75	1

MARDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	5 (2 types)	0	0	0
	48 h	17	0	0	0
	72 h	17 (3 types)	0	0	0
H 4	24 h	nappe	0	40	2
	48 h	nappe	0	90	3
	72 h	nappe	0	90	3

VENDREDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	-	-	-	-
	48 h	-	-	-	-
	72 h	nappe	0	100	2
H 4	24 h	-	-	-	-
	48 h	-	-	-	-
	72 h	53	0	8	0

4^{ème} semaine

LUNDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H3	24 h	0	0	0	0
	48 h	76	0	8	0
	72 h	76	0	8	0
H 4	24 h	0	0	0	0
	48 h	nappe	0	nappe	7
	72 h	nappe	0	nappe	7

LUNDI 14 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	0	0	0	0
	48 h	5	0	0	0
	72 h	5	0	0	0
H 4	24 h	1	0	0	0
	48 h	nappe	0	150	1
	72 h	nappe	0	150	1

MARDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	0	0	0	0
	48 h	14	0	2	0
	72 h	16	0	2	0
H 4	24 h	0	0	0	0
	48 h	> 200	0	90	0
	72 h	> 200	0	90	0

VENDREDI 9 heures

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
H 3	24 h	-	-	-	-
	48 h	-	-	-	-
	72 h	39	0	5	0
H 4	24 h	-	-	-	-
	48 h	-	-	-	-
	72 h	> 200	0	40	1

Prélèvements à la cuve (au sous-sol) et au 2^e étage (mardi 14h30)

Site / méthode	Filtration sur membrane 0.45µm				Ensemencement sans filtration
	100 ml			10 ml	0.1 ml pur
	TS		Pyo	TS	TS
Cuve	24 h	0	0	1	0
	48 h	5	0	2	0
	72 h	5	0	2	0
2 ^{ème} étage	24 h	0	0	0	0
	48 h	> 200	0	150	0
	72 h	> 200	0	150	0

4.3.2 Résultats des prises de température

Le jour de la dernière filtration (vendredi 4^e semaine), les températures de l'eau de tous les units ont été prises et se sont révélées très différentes.

Une différence de 5 °C a été observée entre l'eau des 2 units concernés dans l'étude (H3 et H4).

H3 : 26.5°C		H4 : 31.5°C
H5 : 27°C		H6 : 28 °C
H7		H8 : 29°C
H9		H10 : 27°C
	Stérilisation	

4.4 Interprétation et discussion

Dans 7 cas sur 8, il y a une diminution du nombre de colonies comptées entre le lundi 9 heures et le lundi 14 heures. La charge microbienne serait donc plus élevée après une longue période de stagnation (week-end) et diminuerait avec l'écoulement de l'eau pendant l'utilisation de l'unit.

Dans 7 cas sur 8, il y a une diminution du nombre de colonies comptées entre le lundi matin et le mardi matin.

Dans 7 cas sur 8 également, on observe une réduction du nombre de colonies entre le mardi matin et le vendredi matin.

Par contre, entre le lundi après-midi et le mardi matin, les résultats sont très différents, soit le nombre de colonies est plus élevé, soit équivalent, soit plus faible. Ces résultats ne nous permettent donc pas de tirer des conclusions.

La comparaison des résultats obtenus entre le mardi matin et le vendredi matin ne permet pas non plus de formuler des hypothèses : dans 3 cas le nombre de colonies est plus faible le vendredi matin, dans 3 cas il est plus élevé et dans 2 cas il est équivalent.

Avec ces résultats, les seules hypothèses que nous pouvons élaborer sont les suivantes :

- la stagnation de l'eau pendant un week-end dans les conduites est suffisante pour augmenter sa charge microbienne
- l'écoulement d'eau (purge volontaire ou utilisation des instruments avec eau) réduit le nombre de micro-organismes

L'eau de l'unité H4 est beaucoup plus contaminée que celle de l'unité H3 (14 fois sur 16), on observe souvent un nombre de colonies après filtration supérieur à 200, voire des nappes. L'étude n'est pas suffisamment précise (la température n'a été relevée qu'une fois) pour pouvoir en déduire qu'il s'agit de la température, cependant c'est un paramètre qui entre en jeu dans la croissance bactérienne donc dans l'importance de la contamination de l'eau de l'unité.

Les résultats des prélèvements réalisés au niveau de la cuve d'alimentation générale du centre de soins et au 2^e étage avant la distribution aux unités ne sont malheureusement pas non plus exploitables puisque les échantillons n'ont pu être prélevés le même jour que ceux des unités (La présence du responsable de la plomberie du CHU était indispensable). On peut malgré tout noter que le nombre de colonies est très faible au niveau de la cuve d'alimentation située au sous-sol de la faculté et que ce nombre augmente de façon spectaculaire en 3 étages ! (100 ml : on passe de 5 colonies à plus de 200). Plus le trajet est long, plus la prolifération microbienne sera favorisée.

Nous pouvons également souligner que les différences de débits et de diamètres entre les conduites qui alimentent le secteur de soins et ceux des unités eux-mêmes jouent un rôle

considérable : passant d'un débit de 2 mètres par seconde à quelques cm par minute dans l'unit et des conduites de 20 mm à 1 mm de diamètre, la prolifération est multipliée par 40. On se rend compte ainsi que la stagnation et donc la prolifération microbienne a lieu au niveau de l'unit-même.

Il est à noter que dans cette étude, nous ne parlons que de la contamination de l'eau puisque seule l'eau a été évaluée. Cela sous-entend inévitablement que l'unit qui fournit cette eau est contaminé lui-même par le biofilm, mais sa présence n'a pu être observée en raison des moyens matériels et budgétaires évidents qu'il aurait fallu mettre en œuvre (Démonter les units, couper des sections de tube de conduites d'eau, les observer au microscope électronique à balayage...).

Cette étude, menée localement, s'intègre dans le contexte général des publications de santé publique sur le sujet, en soulevant le problème majeur de l'importance de la contamination de l'eau fournie par les fauteuils dentaires. Les conclusions que nous pouvons en tirer sont comparables à celles que nous avons relevées dans la littérature internationale: c'est un problème majeur de santé publique, les taux microbiens observés sont élevés, cependant au Centre de Soins Dentaires comme dans les autres études, aucune manifestation pathologique chez l'homme liée directement à l'eau n'a été documentée.

4.5 Mesures de prévention au fauteuil

Les mesures d'hygiène et d'asepsie restent de mise et contribuent à limiter l'exposition des patients et des praticiens à l'aérosol septique créé par le sprays des instruments rotatifs.

Pour le praticien et ses aides :

- port du masque bucco-nasal, de gants et de lunettes de protection
- vaccinations obligatoires

Pour les patients :

- mise en place de champs opératoires (champ de corps, digue dentaire)
- bain de bouche antiseptique pré-opératoire

A cela, s'ajoutent les mesures retenues dans la littérature :

- Faire couler l'eau des lignes de chaque instrument rotatif et de la seringue air/eau, le matin avant leur utilisation en bouche, pendant 2 minutes (sans l'instrument rotatif en place).
- Faire couler l'eau de chacune de ces lignes avec l'instrument en place après chaque patient.
- Utiliser des systèmes à eau stérile pour toute intervention chirurgicale.
- Procéder à la désinfection de l'unit selon la fréquence et la méthode préconisées par le fabricant.
- S'assurer que l'unit est muni de valves anti-retour.
- Ajouter à l'eau d'irrigation un agent chimique (IGN-CALBENIUM) peut être intéressant.

Cette évaluation avait pour but d'illustrer les résultats publiés dans la littérature internationale. Il serait intéressant de réaliser une étude approfondie au Centre de Soins, d'Enseignement et de Recherche Dentaires du C.H.U. de Nantes qui inclurait :

- la totalité des units dentaires
- un relevé systématique des températures de l'eau à chaque prélèvement
- les durées d'utilisation de chaque unit par vacation et par semaine
- la mesure des temps d'inutilisation (stagnation de l'eau) par vacation et par semaine.

CONCLUSION

La présence de nombreuses espèces bactériennes potentiellement pathogènes dans l'eau distribuée par les usines de traitement et dans celle véhiculée par les conduites des unités dentaires a été décrite par un grand nombre d'études. Leur transmission à l'homme ne fait plus aucun doute.

L'apparition épisodique de légionelloses contractées par l'eau potable, l'eau des piscines ou par les aérosols des installations d'air conditionné sont bien documentées. Elles ne semblent pas constituer un risque sérieux de Santé Publique.

Quant aux effets de contaminations ou d'infections contractées par l'ingestion de l'eau provenant des unités dentaires ou par l'inhalation des aérosols générés par les instruments rotatifs ou ultrasoniques irrigués, la littérature reste muette.

Il existe, par ailleurs, aucune norme concernant la qualité microbiologique de l'eau distribuée au cabinet dentaire.

Notre étude met en évidence une forte augmentation du nombre de germes depuis le réservoir central dont l'eau a été filtrée et désinfectée à l'aide d'une chaîne complète de traitement. Nos résultats montrent que la stagnation et la température sont les déterminants de la multiplication bactérienne dans les conduites de distribution de l'eau du Centre et surtout des unités dentaires.

Ils soulignent l'importance des mesures de prévention recommandées par de nombreux auteurs et institutions professionnelles. Elles visent à éliminer ou inactiver la flore bactérienne en suspension, éliminer le biofilm adhérent et incluent le vidage des conduites d'eau par écoulement, l'utilisation de filtres absolus ou l'adjonction de biocides dans le circuit de distribution.

PERSPECTIVES

Les investigations récentes visent à inactiver les germes des biofilms, à empêcher la fixation des germes pathogènes par compétition bactérienne, à rendre les parois bactéricides ou impropres à la colonisation. L'incorporation de nano-particules d'argent dans les surfaces exposées à la contamination a un effet bactéricide (Institut Fraunhofer, 2001) ; des essais cliniques de grande envergure sont actuellement conduits en Allemagne. L'adjonction de probiotiques dans le circuit d'irrigation pourrait entraîner la colonisation préférentielle et durable des parois par ces bactéries au détriment des autres ; des essais cliniques effectués sur des plaies cutanées sont prometteurs (13). Des modifications de la surface interne des conduites d'eau peuvent la rendre impropre à l'adhésion de particules ou bactéries (Effet Lotus) ; ce procédé a trouvé son application dans l'industrie, depuis 2001 (peintures, tuiles de toit, surfaces vitrées).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ADA COUNCIL OF SCIENTIFIC AFFAIRS

Dental unit waterlines: approaching the year 2000.
J Am Dent Assoc 1999;**130**:1653-1664.

2. AIREL (Laboratoire)

Le concept IGN 500-Calbenium.
Champigny-sur-Marne : Airel, 1995.

3. ATLAS R, WILLIAMS J et HUNTINGTON M.

Legionella contamination of dental unit water.
Appl Environ Microbiol 1995;**61**(4):1208-1213.

4. BAGGA B, MURPHY R, ANDERSON A et PUNWANI I.

Contamination of dental unit cooling water with oral microorganisms and its prevention.
J Am Dent Assoc 1984;**109**(5):712-716.

5. BARBEAU J.

Les films biologiques d'origine hydrique et la dentisterie : la nature changeante du contrôle des infections.
J Can Dent Assoc 2000;**66**:539-541.

6. BARBEAU J et BUHLER T.

Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines.
Res Microbiol 2001;**152**:753-760.

7. BARBEAU J et NADEAU C.

Microbiologie des conduites d'eau dentaires : plus qu'une histoire d'eau?
J Can Dent Assoc 1997;**63**:775-779.

8. BARBEAU J, TANGUAY R, FAUCHER E et coll.

Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units.
Appl Environ Microbiol 1996;**62**:3954-3959.

9. BLAKE G.

The incidence and control of bacterial infection of dental unit and ultrasonic scales.
Br Dent J 1963;**15**:413-416.

10. BORNEFF M.

The occurrence of legionella in dental units and the consequences for practice hygiene.
Zbl Bakt Hyg B 1989;**187**:295-311.

11. BUSWELL C, HERLIHY Y, MARSH P et coll.

Coaggregation amongst aquatic biofilm bacteria.
J Appl Microbiol 1997;**83**:477-484.

12. CLARK A.

Bacterial colonization of dental units and the nasal flora of dental personnel.
Proc R Soc Med 1974;67:1269-1270.

13. COMELLI E, GUGGENHEIM B, STINGELE F et coll.

Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health.
Eur J Oral Sci 2002;110(3):218-224.

14. FAYLE S et POLLARD M.

Decontamination of dental unit water systems: a review of current recommendations.
Br Dent J 1996;181:369-372.

15. FITZGIBBON E, BARTZOKAS C, MARTIN M et coll.

The source, frequency and extent of bacterial contamination of dental unit water systems.
Br Dent J 1984;157:98-101.

16. HASLAY C et LECLERC H.

Microbiologie des eaux d'alimentation.
Paris : Technique et Documentation, 1993.

17. KARPAY R, PLAMONDON T, MILLS S et DOVE B.

Validation of an in-office dental unit water monitoring technique.
J Am Dent Assoc 1998;129:207-211.

18. KARPAY R, PLAMONDON T, MILLS S et DOVE B.

Combining periodic and continuous sodium hypochlorite treatment to control biofilms in dental unit water systems.
J Am Dent Assoc 1999;130:957-965.

19. LEE T, WAKED E, WOLINSKY L et coll.

Controlling biofilm and microbial contamination in dental unit waterlines.
CDA Journal 2001;29:679-684.

20. MARTIN M.

The significance of the bacterial contamination of dental unit water systems.
Br Dent J 1987;163:152-154.

21. MARTIN M.

The air/water syringe: a potential source of microbial contamination.
Br Dent J 1998;184:278-279.

22. MEILLER T, DEPAOLA L, KELLEY J et coll.

Dental unit waterlines: biofilms, disinfection and recurrence.
J Am Dent Assoc 1999;130:65-72.

23. MEILLER T, KELLEY J, BAQUI A et DEPAOLA L.

Disinfection of dental unit waterlines with an oral antiseptic.
J Clin Dent 2000;11:10-15.

-
- 24. MEILLER T, KELLEY J, BAQUI A et DEPAOLA L.**
Laboratory evaluation of anti-biofilm agents for use in dental unit waterlines.
J Clin Dent 2001;**12**:97-103.
- 25. MILLER C.**
Microbes in dental water.
CDA Journal 1996;**24**:47-52.
- 26. MILLS S.**
The dental unit waterline controversy: defusing the myths, defining the solutions.
J Am Dent Assoc 2000;**131**:1427-1441.
- 27. MILLS S, LAUDERDALE P et MAYHEW R.**
Reduction of microbial contamination in dental units with povidone-iodine 10%.
J Am Dent Assoc 1986;**113**(2):280-284.
- 28. MOLINARI J.**
Practical infection control for the 1990s: applying science to government regulations.
J Am Dent Assoc 1994;**125**:1189-1197.
- 29. PANKHURST C et JOHNSON N.**
Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific argument.
Int Dent J 1998;**48**:359-368.
- 30. PETERS E et Mc GAW W.**
Dental unit water contamination.
J Can Dent Assoc 1996;**62**:492-495.
- 31. PUTNINS E, DI GIOVANNI D et BHULLAR A.**
Dental unit waterline contamination and its possible implications during periodontal surgery.
J Periodontol 2001;**72**:393-400.
- 32. SHEARER B.**
Biofilm and the dental office.
J Am Dent Assoc 1996;**127**:181-189.
- 33. WILLIAMS H, KELLEY J, FOLINEO D et coll.**
Assessing microbial contamination in clean water dental units and compliance with disinfection protocol.
J Am Dent Assoc 1994;**125**:1205-1211.
- 34. WILLIAMS H, PASZKO-KOLVA C, SHAHAMAT M et coll.**
Molecular techniques reveal high prevalence of legionella in dental units.
J Am Dent Assoc 1996;**127**:1188-1193.
- 35. WILLIAMS J, JOHNSTON A, JOHNSON B et coll.**
Microbial contamination of dental unit waterlines: prevalence, intensity and microbial characteristics.
J Am Dent Assoc 1993;**124**:59-65.

36. WILLIAMS J, MOLINARI J et ANDREWS N.
Microbial contamination of dental unit waterlines: origins and characteristics.
Compendium 1996;17:538-558.

DENIS (Carole).- L'eau, vecteur de germes. Evaluation de la contamination de l'eau du Centre de Soins, d'Enseignement et de Recherche Dentaires du C.H.U. de Nantes.

- 92f., 30cm.- (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2004)

Résumé

L'évaluation de la contamination bactérienne de l'eau prélevée durant quatre semaines à des jours et heures fixes, sur deux unités dentaires du Centre de Soins, d'Enseignement et de Recherche Dentaires du C.H.U. de Nantes confirme les résultats de la littérature internationale : ses déterminants principaux sont la température et la stagnation dans les conduites.

La contamination de l'eau des unités dentaires constitue un problème de Santé Publique en raison du risque infectieux élevé pour les personnes fragilisées ou immunodéprimées.

Il est, par conséquent, primordial de développer les moyens utiles à l'élimination des micro-organismes présents.

Rubrique de classement : - Santé Publique

Mots-clés : - eau
- équipement dentaire
- contamination matériel

Mots-clés anglais : - water
- dental equipment
- equipment contamination

JURY

- Président : Monsieur le Professeur J.A. POUËZAT
- Assesseurs : Monsieur le Professeur W. BOHNE (directeur)
Monsieur le Docteur G. AMADOR DEL VALLE
Monsieur le Docteur F. BODIC