

Légionnelles dans les réseaux d'eau – Analyse quantitative selon ISO 11731

Les légionnelles sont des bactéries qui peuvent conduire au développement de la "maladie des légionnaires", infection pulmonaire potentiellement mortelle. La maladie n'est pas transmise d'humain à humain mais peut être provoquée suite à une inhalation de gouttelettes d'eau contenant des légionnelles.

Comme les légionnelles se développent de préférence dans l'eau tiède (25-45°C), les installations comme les piscines, les bains à remous, les climatiseurs et les douches peuvent présenter un risque d'infection.

Pour évaluer le risque d'une infection avec légionnelles, l'analyse bactériologique est effectuée comme stipulé par la norme ISO 11731. Avec cette analyse seulement les légionnelles fertiles (alors certainement vivantes) sont comptés.

L'Office fédéral de la santé publique (OFSP) établit des valeurs seuil pour les concentrations de légionnelles dans des environnements et situations différents (documents mis à jour régulièrement). Des concentrations dépassant ces valeurs seuil indiquent différents niveaux de risque de Légionellose. Cette approche fait référence à la norme internationale ISO 11731 qui propose un dépistage de légionnelles en culture, méthode mettant en évidence les bactéries vivantes et capables de se reproduire. Il est donc impératif de prendre en considération ces faits dans la comparaison des résultats d'analyse avec les valeurs seuils ainsi que lors de l'évaluation des risques.

Analyse quantitative selon ISO 11731-1:

Cinq différentes cultures sélectives

Dans les circuits d'eau, qui présentent des conditions particulièrement favorables à la prolifération des légionnelles, se trouvent généralement d'autres bactéries en concentrations également élevées. Détecter les légionnelles dans toute cette diversité de microbes nécessite une méthode sélective. A cette fin, la norme ISO 11731-1 propose différentes techniques de sélection qui, soit détruisent, soit suppriment le développement d'autres microbes que les légionnelles.

L'analyse quantitative de légionnelles dans un échantillon d'eau se base donc sur cinq

cultures parallèles qui combinent différentes stratégies de sélection:

- addition de substances antibiotiques dans le milieu de culture
- traitement acide de l'échantillon avant la mise en culture
- combinaison d'antibiotiques et traitement acide
- traitement thermique de l'échantillon avant la mise en culture
- combinaison d'antibiotiques et traitement thermique

En fonction de la condition de l'échantillon original, les uns ou les autres techniques de sélection donnent de meilleurs résultats. C'est surtout quand il s'agit d'endroits échantillonnés pour la première fois ou d'échantillons de condition inconnue que l'exécution complète de cette méthode est capitale pour l'évaluation du risque de résultats faux ou de variances autour de la meilleure estimation du nombre de cellules.

Meilleur taux de récupération grâce à la centrifugation

La norme ISO 11731-1 propose une concentration de l'échantillon, soit par filtration, soit par centrifugation. Selon des études récentes basées sur des analyses parallèles et des étalons certifiés, la centrifugation semble permettre d'atteindre un meilleur taux de récupération que la filtration.

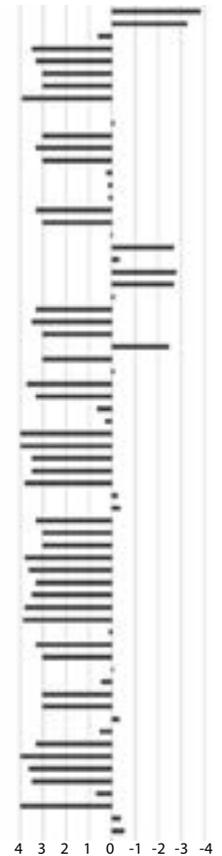
Afin d'assurer une identification fiable des légionnelles capables de reproduction, un échantillon d'eau doit être concentré de manière optimale. Une concentration excessive, par exemple par une filtration de grands volumes de 100 mL ou même d'1 L, a pour résultat une sensibilité apparemment élevée mais est au détriment du taux de récupération ; le prix de la concentration d'un échantillon est la perte de cellules. Pour permettre une comparaison des résultats d'analyse avec les valeurs seuils proposés par le OFSP pour les circuits d'eau chaude, une concentration des échantillons par 10 est nécessaire et suffisante.

Dans une série de mesures avec 67 échantillons nous avons enrichi tous les échantillons une fois par centrifugation et une fois par filtration avec une membrane. Nous avons trouvé généralement une concentration (en UFC/L) augmentée avec la préparation par centrifugation en comparaison avec

la filtration. Les résultats sont illustrés dans la figure suivante où nous montrons la différence entre les résultats de la préparation avec centrifugation moins les résultats de la filtration avec une membrane.

Figure : La différence des résultats logarithmique entre la préparation par la centrifugation et la préparation par la filtration.

Une barre à côté gauche signifie un rendement plus grand avec la centrifugation et une barre à côté droite signifie un rendement plus grand avec la filtration.



Evaluation préliminaire après cinq jours

Pendant le temps d'incubation de dix jours, comme stipulé par la norme ISO, les cultures sur différents milieux sélectifs sont inspectées tout les deux à quatre jours. Souvent, une évaluation préliminaire au cinquième jour correspond au résultat final. Dans des cas urgents, Bachema peut communiquer cette évaluation préliminaire au client. Le résultat définitif, surtout quand il est négatif (pas de Légionnelles mises en évidence) nécessite le temps d'incubation complet de dix jours.

¹ <http://www.bag.admin.ch/themen/medizin/00682/00684/01084/index.html?lang=fr>