

Préface

**Philippe
Hartemann**

CE GUIDE SUR LA VIGILANCE ENVIRONNEMENTALE et les contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier rédigé par un groupe de travail du C.CLIN Sud-Est s'insère dans un contexte où la demande d'informations par les équipes hospitalières est très importante. Son intérêt est donc fort, à la mesure de l'attente de tous ceux qui souhaitent disposer de renseignements sur les méthodes d'échantillonnage et de prélèvements de l'environnement hospitalier, ainsi que des données qualitatives et quantitatives pour juger de la qualité de l'eau, de l'air, des surfaces, etc. au sein desquels évolue le patient et sont réalisés les soins.

En l'absence de textes officiels, de méthodes ayant fait l'objet d'une normalisation, comme ceci existe par exemple pour l'eau de distribution publique ou les eaux usées en milieu général, et de recommandations, voire de concentrations maximales admissibles pour ces différents milieux, la demande est d'autant plus forte. Que ce soient les équipes soignantes, les membres des cellules opérationnelles d'hygiène, les ingénieurs et les administratifs, mais aussi les juristes, les journalistes et les associations d'usagers, chacun aimerait bien, pour des raisons diverses, se référer à une « norme » garantissant la sécurité des soins.

Si cela était facile, en se reposant sur des connaissances épidémiologiques et des résultats expérimentaux indiscutables, il y a longtemps que ces données existeraient et qu'elles auraient été reprises dans un cortège normatif et une réglementation. L'absence de normes et de réglementations n'est pas liée à l'absence de motivation de ceux qui ont la charge de les édicter ; elle reflète les incertitudes qui règnent dans ce domaine, parfois l'absence de données fiables et donc la prudence qui habite ceux qui connaissent bien ce contexte.

Dans ce cadre il convient donc de se méfier des effets pervers et de ne pas « donner des verges pour se faire battre » avec l'innocence de celui qui veut bien faire. Ainsi la fixation « officielle », par exemple à x UFC/m³, d'une valeur seuil de qualité microbiologique dans l'air d'une salle d'opération

est une véritable bombe à retardement pour tous les acteurs de l'hospitalisation. En effet on ne tardera pas à voir plaider devant les tribunaux la perte de chance pour un patient qui aurait présenté une infection dans les suites opératoires avec un prélèvement ayant donné 11 UFC/m³. Or chaque spécialiste sait très bien, et cela est parfaitement expliqué dans ce guide, que selon l'appareil utilisé pour le prélèvement et la méthode de culture (milieu, température d'incubation, etc.) le résultat peut varier d'un facteur de 5 ou 10 et donc que, 5, 10, 20 voire 50 UFC/m³ sont des chiffres que l'on pourra obtenir avec la même qualité d'air selon la façon dont on travaillera. Si plusieurs experts interviennent dans ce même dossier, chacun produira des résultats différents devant le juge, sauf bien sûr s'ils se mettent d'accord sur une méthodologie commune et dans ce cas il n'y aura que l'incertitude affectant toute analyse. Celle-ci permet d'affirmer que 8 ou 12 UFC/m³ sont des résultats identiques, et qu'il ne faut pas utiliser la valeur de 10 comme un couperet, ainsi que le fera cependant probablement le juge. Évitions ces batailles d'experts qui n'améliorent pas notre crédibilité et renforcent les usagers dans leurs doutes quant à la compétence des équipes et à la sécurité des soins ; évitions de produire de façon précipitée des « normes », ce terme étant hélas utilisé à tort pour désigner la valeur paramétrique d'un seuil alors qu'il correspond à une méthode d'analyse (ex : norme AFNOR) ou à un ensemble réglementaire (ex : norme de potabilité).

Ce guide fournit aux équipes un grand nombre d'informations pertinentes sur les méthodes analytiques que l'on peut recommander, il brosse également un tableau exhaustif des prises de position d'associations ou d'équipes quant à des seuils de qualité pour tel ou tel fluide. Il précise bien qu'il n'y a ni norme analytique ni directives officielles quant à des valeurs seuil de qualité, qui d'ailleurs ne peuvent se concevoir qu'après le préalable d'un consensus sur l'emploi d'une méthode normalisée. Il apporte également une riche information sur la stratégie qui peut être mise en place dans un établissement dans le cadre d'une vigilance environ-

nementale, car l'absence de textes officiels ne doit bien sûr pas entraîner l'inaction des équipes d'hygiène et des services techniques et la négligence de ce problème de la part de l'administration.

Ce suivi de la qualité de l'environnement hospitalier doit reposer sur une démarche d'analyse et de gestion de risque dans le cadre d'une stratégie d'assurance qualité de type HACCP, maintenant bien classique en milieu industriel (analyse des points critiques pour leur maîtrise). Les étapes en sont connues et bien décrites :

- connaissance des dangers : quels sont les micro-organismes ou les produits chimiques toxiques pouvant être présents ;
- analyse des expositions : voies de transmission possibles, concentrations dans le milieu et donc quantité à laquelle le patient serait exposé ;
- évaluation du risque en fonction de la dose minimale infectante selon l'état immunitaire du patient ;
- gestion du risque par fixation de valeurs seuils et mise en place des mesures préventives techniques et d'une stratégie de suivi de qualité.

Cette démarche d'analyse par secteur ou par service, par type de patient, d'acte, de technique ou d'équipement ne peut que conduire à définir des

secteurs ou des activités à plus haut risque que d'autres et donc à définir différentes valeurs seuils, bien différentes dans leur interprétation (même juridique) d'une valeur « couperet ». Ceci est très bien illustré dans le dernier chapitre de ce guide. Même si les données quantitatives consensuelles font encore défaut, la démarche de propositions de valeurs pour un niveau cible, un niveau d'alerte et un niveau d'intervention, ces niveaux pouvant différer selon le risque infectieux de l'activité (risque classique et haut risque par exemple), est maintenant bien ancrée dans les esprits.

Ce n'est pas le moindre mérite de ce guide que de fournir les bases de ce raisonnement à appliquer dans les établissements hospitaliers. Même si certains regretteront de ne pas y trouver les recettes et les « normes » qu'ils souhaiteraient, les autres majoritaires, y trouveront une mine de renseignements, et il convient de féliciter l'équipe pour les avoir réunis et mis en forme.

Ensuite sur le terrain il conviendra à chacun de réfléchir à la meilleure stratégie de suivi et d'étudier l'évolution des résultats dans le temps, à méthodologie analytique constante, plutôt que de chercher à faire des comparaisons inter-établissements, sans grande valeur pour le moment. ■



Introduction

Jacques Fabry

LE GROUPE DE TRAVAIL DU C.CLIN SUD-EST sur la vigilance environnementale s'est attelé à un problème difficile : proposer une « bonne pratique » en matière de contrôle microbiologique de l'environnement hospitalier. La difficulté du sujet pourrait se résumer ainsi :

- les situations où une source environnementale (air, eau, matériels, produits, surfaces, etc.) peut contaminer un patient hospitalisé, puis être à l'origine d'une infection, sont potentiellement nombreuses et variées ; toutefois les « preuves » scientifiques dont on dispose à ce sujet sont relativement lacunaires et concernent surtout des phénomènes épidémiques et des micro-organismes particuliers ;
- l'efficacité épidémiologique des contrôles systématiques de l'environnement hospitalier n'a pas souvent fait l'objet d'évaluations rigoureuses ; toutefois le caractère souvent « épidémiogène » des contaminations environnementales, la sévérité de certaines infections d'origine environnementale, notamment pour des patients immuno-déprimés, et le contexte sécuritaire actuel, plaident en faveur d'une vigilance active et méthodologiquement valide ;
- malgré une réglementation en extension (mais encore souvent imprécise), il y a relativement peu de « normes » formelles qui soient complètement

consensuelles et puissent s'appliquer dans toutes les situations ; de ce fait, c'est au CLIN de chaque établissement d'utiliser au mieux les données scientifiques disponibles pour définir un plan de travail pour une vigilance : (a) active plutôt que réactive, (b) mais ciblée sur des objectifs précis et réfléchis (principalement : investigation de cas suspect ou d'épidémie, validation de matériel ou de procédures, identification de défaillances), et (c) intégrée dans un processus de promotion de qualité hospitalière dont elle est une des composantes essentielles.

Avant l'émergence du principe de précaution comme doctrine de santé publique et outil juridique, les hôpitaux pouvaient adopter les recommandations américaines essentiellement réactives : les contrôles d'environnement sont pour l'essentiel limités à l'investigation des épidémies. Déjà les 100 Recommandations (Edition 1999, N°51) ont proposé une approche plus élargie bien que prudente, et le CLIN y est investi d'une responsabilité précise. En se gardant bien de revenir aux errements des années passées et en gardant à l'esprit le caractère multifactoriel de l'infection nosocomiale, le CLIN devra à l'avenir planifier cette activité, en mesurer l'efficacité et les coûts et l'intégrer dans son programme de travail. Ce guide est une contribution importante à ce nouveau défi de la sécurité à l'hôpital. ■



CHAPITRE 1

Relations entre contamination et environnement hospitalier

**Anne Bertrou
Catherine Chapuis
Joseph Hajjar**

PARMI LES DIFFÉRENTS MAILLONS DE LA CHAÎNE épidémiologique, il est classique de distinguer les micro-organismes, les réservoirs, les modes de transmission, les voies d'entrée et les sujets réceptifs. Mais si le rôle des patients, du personnel et des visiteurs comme réservoirs et vecteurs n'est pas remis en question, le rôle de l'environnement hospitalier dans la diffusion des infections nosocomiales a été fortement controversé. Les questions principales que l'on peut soulever concernent la responsabilité de l'environnement hospitalier dans la genèse des infections nosocomiales et la place de la surveillance en routine de la contamination microbienne de cet environnement dans une stratégie de prévention des infections hospitalières (1, 2).

L'environnement hospitalier

Définition

On regroupe habituellement sous le terme d'environnement hospitalier les éléments suivants : air, eau, surfaces, linge, aliments, dispositifs médicaux, déchets. Dans la suite de cet ouvrage le terme environnement se limitera à l'air, à l'eau et aux surfaces (sols, murs, mobilier, équipement). Ces éléments supportent de nombreux micro-organismes et cette contamination environnementale est très variable qualitativement et quantitativement d'un établissement à l'autre et au sein d'un même établissement en fonction des services, des patients (sains, colonisés, infectés), des soins et des techniques pratiqués.

Les micro-organismes présents dans l'environnement hospitalier

L'environnement hospitalier est colonisé par de nombreux micro-organismes qui constituent parfois de véritables niches écologiques. Cette contamination est diffuse et sa maîtrise, qui entraîne des procédures contraignantes, complexes et coûteuses, n'est le plus souvent que partielle et transitoire.

LES DIFFÉRENTS TYPES DE MICRO-ORGANISMES

- Les bactéries, levures, champignons et pa-

rasites présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés. Ils peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes (peu ou pas pathogènes) qu'aux espèces strictement pathogènes.

La flore saprophyte est composée de *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus non aureus*, *Pseudomonas* et divers bacilles à Gram négatif, levures et champignons contaminants.

La flore commensale est composée de germes d'origine humaine comme par exemple *Enterococcus*, les entérobactéries ou encore *Staphylococcus aureus*.

Certains germes pathogènes peuvent aussi contaminer l'environnement à partir d'un réservoir humain comme les salmonelles, *Clostridium difficile*, etc.

De plus, l'hôpital est un réservoir de germes ayant acquis un caractère propre à l'hôpital, en particulier de résistance aux antibiotiques : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi, *Enterococcus* résistant à la vancomycine ou encore *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la cef-tazidime. L'environnement immédiat des patients porteurs est en général fortement contaminé par ces micro-organismes (3-6).

- **Les virus** contaminent aussi l'environnement (7) le plus souvent à partir des réservoirs humains que constituent les patients et le personnel, mais leur importance est certainement sous-estimée car leur recherche est techniquement difficile à réaliser ou n'est pas généralement effectuée lors de surveillance microbiologique de l'environnement. C'est le cas par exemple en pédiatrie pour les Rotavirus et les Adénovirus.

LA SURVIE DES MICRO-ORGANISMES DANS L'ENVIRONNEMENT

La survie des micro-organismes dans l'environnement est de durée très variable, dépendant de différents facteurs comme la nature du germe, la température, le taux d'humidité, le type de surface et leur degré de salissure, en particulier leur teneur en matières organiques (biofilm). Différents travaux

ont évalué la durée de survie des micro-organismes dans l'environnement (8-10). Par exemple, pour *Enterococcus faecalis*, cette durée varie de 30 minutes sur la membrane d'un stéthoscope à 5 jours sur le dessus d'un plan de travail (11). De même, la survie sur les surfaces d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine peut atteindre une semaine (12, 13). Des staphylocoques dorés résistants à la méticilline peuvent survivre dans l'environnement pendant plus de 7 jours (14). Certains virus (Virus Respiratoire Syncytial, Rotavirus) peuvent également avoir une survie prolongée (15, 16).

Contamination de l'environnement par les micro-organismes

L'EAU

L'eau potable contient naturellement une flore aquatique complexe (légionelles, mycobactéries atypiques, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, protozoaires divers, etc.). A l'intérieur de l'établissement hospitalier ces micro-organismes en quantité faible peuvent proliférer aux niveaux des bras morts, des extrémités des canalisations, des brise-jets des robinets, des pommes de douche, et dans les circuits d'eau chaude (17, 18). Une contamination par voie rétrograde peut survenir au niveau des différents points d'usage et des dispositifs branchés sur le réseau (machines à laver les instruments, trompes à vide, etc.).

L'AIR

L'apport microbien des occupants d'un local et celui des réservoirs inertes (eau, surfaces, déchets) se surajoutent à la flore naturelle de l'air extérieur (microcoques, *Sarcina*, spores des champignons filamenteux, etc.) (19, 20).

Les micro-organismes de l'air sont généralement véhiculés par des supports de taille variable : poussières (10 à 100 µm), gouttelettes et micro-gouttelettes émises par les voies respiratoires humaines ou par aérosolisation (10 à 1 000 µm) et noyaux de condensation (*droplet nuclei*) issus de l'évaporation des gouttelettes (2 à 5 µm). Les plus petites particules, de l'ordre du micron, persistent dans l'atmosphère de manière prolongée car leur vitesse théorique de chute est lente (environ 1 mètre en 8 heures) ; elles peuvent être maintenues en suspension et diffuser à distance de leur point d'émission ; elles peuvent pénétrer profondément dans l'appareil respiratoire et atteindre les alvéoles pulmonaires.

LES SURFACES

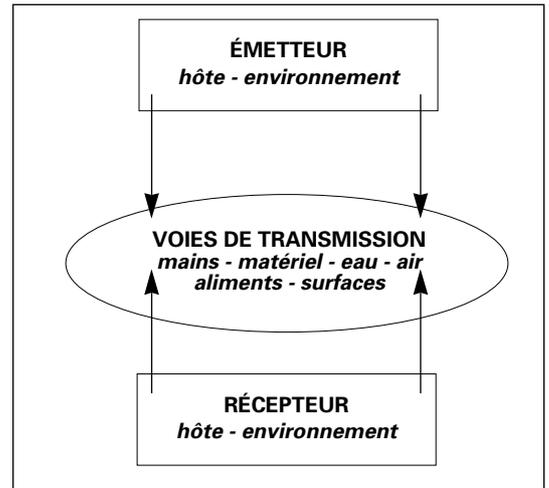
Les surfaces sont contaminées soit par contact, soit par sédimentation des micro-organismes présents dans l'air. La répartition de cette contamination des surfaces se fait le plus souvent de manière hétérogène. L'adhérence des bactéries est possible selon l'état de la surface. Cette adhérence peut s'accompagner de la création d'un biofilm (21). Du fait de conditions de croissance défavorables, certaines bactéries peuvent se miniaturiser (bactéries naines) (22, 23) et sont alors difficiles à mettre

en évidence dans les prélèvements (bactéries viables et non cultivables). D'autres bactéries peuvent prendre une forme sporulée (*Clostridium difficile*) (8).

Place de l'environnement hospitalier dans la chaîne épidémiologique

La chaîne épidémiologique de transmission d'agents infectieux est caractérisée par un réservoir émetteur et un réservoir récepteur reliés par un mode de transmission (Figure 1).

Figure 1 - Chaîne épidémiologique de transmission d'agents infectieux.



L'eau joue fréquemment le rôle de réservoir émetteur et les exemples les plus frappants sont constitués par la présence de *Legionella* dans les réservoirs d'eau chaude ainsi que la colonisation quasi permanente des siphons d'installation sanitaire par *Pseudomonas aeruginosa*. L'eau peut aussi jouer le rôle de transmetteur par la libération de micro-organismes, comme cela se rencontre par exemple avec certains systèmes d'humidification, les douches, les bains bouillonnants ou encore par aérosolisation à partir des siphons et robinets.

L'air est également un mode de transmission classique à partir d'un patient porteur d'une infection respiratoire (tuberculose par exemple). Les *droplet nuclei*, issus de l'évaporation des gouttelettes émises dans l'air par le patient source, vont se transporter à distance et pouvoir pénétrer dans l'appareil respiratoire du sujet receveur.

Enfin, les surfaces du proche environnement du patient constituent un réservoir récepteur secondaire qui, s'il n'est pas maîtrisé, sera responsable de transmission indirecte d'infection.

Les interactions entre les différents éléments de la chaîne épidémiologique sont donc particulièrement complexes car l'hôte et l'environnement sont à la fois émetteurs et récepteurs et leurs composants, réservoirs et voies de transmission (24). De plus, des facteurs liés à l'hôte (âge, immunodépression, procédure invasive, site de l'infection, etc.) et à l'agent infectieux (virulence, taille de l'inoculum, etc.) vont jouer un rôle important dans la survenue d'une éventuelle infection.

Rôle de l'environnement dans la survenue des infections nosocomiales

Environnement et infections nosocomiales épidémiques

Le rôle de l'environnement hospitalier est retrouvé lors d'infections nosocomiales survenant sur un mode épidémique, comme par exemple des épidémies nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* dans un service d'oncologie pédiatrique par l'intermédiaire de jouets utilisés dans le bain (25), ou en relation avec la contamination de réseaux de distribution d'eau par *Legionella* sp (17, 26, 27).

De même, le lien direct entre réservoir environnemental et infection n'est pas discuté dans le cadre des infections à *Aspergillus* sp chez les sujets immunodéprimés (28-30). À titre d'exemple, plusieurs épidémies ont été associées à des travaux de rénovation ou de démolition dans ou à proximité des hôpitaux du fait de l'émission de grandes quantités de spores aspergillaires et de leur accumulation dans les poussières (31).

Environnement et infections nosocomiales endémiques

Le rôle de l'environnement est plus difficile à mettre en évidence dans les infections de type endémique. Un certain nombre de réservoirs hydriques ont été associés à des infections résultant de l'aérosolisation de bactéries contenues dans ces réservoirs comme par exemple *Pseudomonas* dans les robinets et siphons (32, 33) et dans les piscines (34). Le rôle de l'air dans la survenue des infections du site opératoire a essentiellement été étudié dans la chirurgie orthopédique (interventions pour pose de prothèses articulaires) par LIDWELL (35). Cet auteur a démontré, pour ce type d'interventions seulement, une relation entre le nombre d'unités formant colonies et le taux d'infection du site opératoire.

L'environnement inerte est fréquemment retrouvé contaminé à partir de réservoirs vivants : des études évoquent le rôle potentiel de l'environnement dans la survenue d'infection du fait de la contamination des surfaces dans le proche environnement d'un patient infecté ou colonisé (3,

4, 36-38), mais il est beaucoup plus rarement démontré que cet environnement soit directement responsable d'infection. Il faut donc être prudent dans l'interprétation des différentes études publiées.

Évaluation du degré d'implication de l'environnement dans la survenue des infections nosocomiales

L'ASSOCIATION DE DIFFÉRENTS FACTEURS

La présence du micro-organisme dans le réservoir environnemental n'est pas à elle seule une condition suffisante pour impliquer le réservoir dans la survenue d'une infection. L'association de plusieurs facteurs, possédant chacun des niveaux de responsabilité différents, est nécessaire : micro-organisme (type pathogène ou opportuniste, taille de l'inoculum, virulence), voie de transmission (dispositif médical, liquides, air, surfaces), porte d'entrée (procédure invasive ou non), réceptivité de l'hôte (statut immunitaire).

Par exemple, *Mycobacterium xenopi*, micro-organisme habituellement peu pathogène, peut provoquer une infection lors de son introduction dans l'organisme au cours d'un acte invasif, par l'intermédiaire d'un matériel rincé avec une eau contaminée (39).

Enfin, le réservoir peut être extra-hospitalier comme cela a été décrit dans des cas d'infection du site opératoire en rapport avec *Serratia marcescens* présent dans une crème utilisée à domicile par une infirmière portant des ongles artificiels (40).

LES NIVEAUX DE PREUVE

RHAME (41) a proposé 6 niveaux de preuve pour évaluer l'implication d'un réservoir environnemental dans la survenue d'une infection. WEBER (42) reprend cette classification en rajoutant un 7e niveau de preuve :

- I. Survie du micro-organisme après inoculation sur l'objet inanimé
- II. Culture du micro-organisme à partir de l'objet inanimé
- III. Prolifération du micro-organisme sur l'objet inanimé
- IV. Acquisition de l'infection non expliquée par d'autres voies reconnues de transmission

Tableau I - Exemple de réservoirs environnementaux d'agents infectieux et leur degré d'implication dans la survenue d'infections (d'après WEBER) (42).

Réservoir	Micro-organisme	Transmission	Degré d'implication
Humidificateur	<i>Legionella, Pseudomonas</i>	aérienne/droplet	élevé
Antiseptique	<i>Pseudomonas</i>	contact	élevé
Filtre (air)	<i>Aspergillus</i>	aérienne	modéré
Respirateur	<i>Pseudomonas</i>	inhalation	modéré
Thermomètre	<i>Clostridium difficile</i>	contact	bas
Douche	<i>Legionella</i>	aérienne	bas
Tapis	-	-	non démontré
Stéthoscope	<i>Staphylococcus</i>	-	non démontré

Tableau II - Exemple de réservoirs hydriques d'agents infectieux et leur degré d'implication dans la survenue d'infections (d'après WEBER) (42).

Réservoir	Micro-organisme	Transmission	Degré d'implication
Eau potable	<i>Legionella</i> , <i>Pseudomonas</i> Mycobactéries	contact	modéré
Machine à glaçons	<i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>Cryptosporidium</i>	ingestion contact	modéré
Eau de dialyse	B. à Gram négatif	contact/endotoxine	modéré
Eau unité dentaire	<i>Legionella</i> , <i>Pseudomonas</i>	contact	bas
Évier	<i>Pseudomonas</i>	contact/droplet	bas ou non démontré
Sanitaire	B. à Gram négatif	-	non démontré
Fleurs	B. à Gram négatif <i>Aspergillus</i>	-	non démontré

- V. Association entre exposition à l'objet contaminé et infection démontrée par des études cas témoins
- VI. Exposition à l'objet contaminé démontrée par des études prospectives comme la seule cause de relation entre l'exposition et l'infection
- VII. Réduction ou élimination de l'infection transmise obtenue après l'élimination ou la décontamination de l'objet.

À partir de ces critères WEBER a fait une revue des études publiées et a classé les réservoirs environnementaux impliqués dans les épidémies décrites selon quatre degrés d'implication : élevé, modéré, bas ou non démontré (Tableaux I et II). L'implication est élevée pour les travaux extérieurs associés à un système de traitement d'air inadéquat, les humidificateurs et les nébuliseurs, les endoscopes, les antiseptiques ; elle paraît modérée pour les filtres, les aérosols, les respirateurs, les eaux de dialyse, les glaçons ; elle serait basse pour les faux-plafonds, les douches, les thermomètres électroniques. Elle est non démontrée pour les lits fluidisés, les tapis, les fleurs, les animaux, les stéthoscopes, les sanitaires.

Grâce aux techniques actuelles de biologie moléculaire (6), la responsabilité de l'environnement comme source de colonisation et/ou d'infection pourrait être plus facilement établie ainsi que semble le montrer un travail récent dans un service de réanimation concernant le suivi pendant 7 mois de patients ventilés et de leur environnement comme source de contamination et d'infection à *Pseudomonas aeruginosa* (43).

La responsabilité de l'environnement dans la survenue des infections nosocomiales reste souvent difficile à démontrer car on ne sait pas si cette contamination environnementale est la cause ou la conséquence de l'infection (c'est le cas par exemple des siphons). Néanmoins certaines niches écologiques ont été clairement identifiées et la maîtrise de l'environnement hospitalier apparaît comme indispensable dans nos établissements. Cette maîtrise repose sur la mise en œuvre de démarches d'analyse des risques s'appuyant sur la définition de niveaux de qualité requis adaptés à chaque situation. Ceci permet de développer une vigilance environnementale ciblée associant des procédures codifiées et d'éventuels prélèvements microbiologiques de contrôle. ■



CHAPITRE 2

Réalisation des prélèvements et interprétation des résultats

**Stéphanie
Guignement
Michel Perraud**

LES DIFFÉRENTES ÉTAPES DES OPÉRATIONS de prélèvement (prélèvement, acheminement, traitement des échantillons, interprétation des résultats) doivent être effectuées selon une méthodologie rigoureuse et standardisée. Les méthodes de la microbiologie environnementale diffèrent fondamentalement de celles de la microbiologie médicale, par les objectifs, les techniques et l'interprétation. Le laboratoire qui prend en charge le traitement des prélèvements d'environnement doit être rompu à ces techniques et respecter leurs contraintes.

Bonnes pratiques pour la mise en place d'un plan d'échantillonnage

Un échantillon est un élément d'un ensemble cohérent : le plan d'échantillonnage.

Évaluer le travail à réaliser

Définir une politique d'établissement (se référer au chapitre 4).

Planifier les analyses sur une année en fonction des éléments suivants

- quels prélèvements ?
- où ?
- à quelle fréquence ?
- comment ?
- par quel(s) opérateur(s) ?

Évaluer le coût

Observer les précautions générales lors de la réalisation d'un prélèvement

- Opérateur formé à l'hygiène de l'environnement.
- Standardisation : même méthodologie, même opérateur, même méthode de prélèvement, mêmes sites de prélèvement.
- Accès au site, habillement de l'opérateur : en cohérence avec le niveau de biocontamination du site prélevé.

Identifier le prélèvement

Une fiche, validée par le CLIN, accompagnant le prélèvement précisera :

- le site du prélèvement (unité et localisation exacte du point de prélèvement)
- la date et l'heure
- toute information susceptible d'entrer en compte dans l'interprétation du résultat (avant le programme opératoire hors présence humaine, durant l'activité en précisant le nombre de personnes présentes, après la procédure de bionettoyage, identité du filtre en cas d'eau filtrée, etc.)
- les caractéristiques de l'installation contrôlée (eau filtrée ou non, etc.)
- les éventuels problèmes rencontrés lors du prélèvement
- le nom de l'opérateur ayant réalisé le prélèvement
- le contexte (routine, recherche ciblée d'un contaminant, etc.).

Rendre les résultats

- Sur le compte rendu d'analyse doivent figurer :
- l'identification complète du prélèvement
 - les conditions d'incubation et le délai de lecture
 - les résultats obtenus exprimés par unité (volume, masse, surface)
 - l'interprétation (satisfaisants, non satisfaisants, avec référence à une valeur cible, d'alerte ou d'action)
 - la date des résultats
 - le(s) destinataire(s)
 - la signature du biologiste.

Utiliser les résultats

- Au niveau de l'unité d'hygiène et du CLIN.
- Au niveau de l'unité où a été réalisé le prélèvement.
- Conduite à tenir en cas de résultat non satisfaisant : définir localement qui alerter.
- Effectuer un bilan annuel.

L'eau

Prélèvements

Ils doivent être effectués dans un récipient stérile. Si l'eau est chlorée, le récipient doit contenir

20 mg/l de thiosulfate de sodium pour neutraliser le chlore. Selon les objectifs recherchés un prélèvement du 1er et/ou du 2e jet est indiqué.

PRÉLEVEMENT DU 1ER JET

L'objectif est d'évaluer la contamination de l'eau ainsi que la contamination du robinet et de l'extrémité distale de la robinetterie (objectif : évaluer la contamination loco-régionale). Pour l'étude ciblée du point d'usage, on peut aussi réaliser un écouvillonnage de l'orifice.

PRÉLEVEMENT DU 2E JET

L'objectif est d'évaluer la contamination du réseau local.

Il faut alors laisser couler l'eau à grand débit pendant au moins 1 minute et prélever à la volée. Il est difficile de flamber ou de désinfecter des sites de prélèvements non prévus à cet effet bien que cela soit théoriquement conseillé.

Le volume recueilli est fonction des analyses réalisées qui sont décrites dans les tableaux II et IV reprenant les modes opératoires.

Transport

L'acheminement au laboratoire doit se faire rapidement et à +4°C (glacière), sauf en cas de recherche d'un micro-organisme mésophile ou thermophile (température ambiante). L'analyse doit être réalisée dans les 12 heures comme cela est indiqué pour les analyses de potabilité.

Techniques de dénombrement des bactéries

LA TECHNIQUE PAR INCLUSION

Le principe est l'inclusion d'un ml de l'eau à analyser dans une gélose en surfusion qui est coulée en boîte de Pétri. Cette technique s'applique à la détermination de la flore aérobie revivifiable lors de l'analyse de potabilité.

LA TECHNIQUE PAR FILTRATION SUR MEMBRANE

L'eau à analyser est filtrée, à l'aide d'une rampe à filtration, sur une membrane stérile en ester de cellulose de porosité 0,45 ou 0,22 µm. Des bactéries sont retenues à la surface de la membrane. Celle-ci est déposée sur une gélose. Le matériel de filtration utilisé doit être stérile.

La technique par filtration est la plus adaptée au contrôle de l'eau en milieu hospitalier, en notant que des filtres de type différent n'ont pas des performances équivalentes. Elle permet en effet d'analyser de grands volumes d'eau et donc de dénombrer des bactéries présentes en faible concentration.

Eau potable

ANALYSES RÉGLEMENTAIRES DE SURVEILLANCE DE L'EAU POTABLE DISTRIBUÉE PAR UN RÉSEAU COLLECTIF PUBLIC OU PRIVÉ

Les principales analyses à effectuer sont précisées dans le **tableau I**.

Il existe des analyses chimiques plus complètes (C2 et C3) qui, en dehors d'un contexte particulier, ne se justifient pas dans un établissement de soins alimenté par le réseau de distribution d'eau potable de la commune.

Pour les eaux de distribution publique, l'analyse réduite B1 est réalisée sur les eaux à la source (point de puisage avant traitement), l'analyse sommaire B2 sur les eaux du réseau et l'analyse complète B3 sur les eaux à la production après traitement, ou au point de puisage en absence de traitement.

Dans les établissements de soins raccordés au réseau de distribution publique, une analyse de type B2 + C1 est suffisante pour l'eau potable ; pour l'eau des fontaines réfrigérantes, on réalisera une analyse de type B2. Dans la pratique l'analyse C1 n'est jamais faite.

Attention : la conformité aux critères de potabilité n'assure pas une sécurité pour tous les usages. L'eau peut, entre autre, contenir des *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*) ce qui la rend impropre pour certains usages (rincage terminal des endoscopes digestifs par exemple). Selon le contexte, des analyses ciblées, complémentaires de la potabilité ou isolées, sont donc nécessaires.

MODE OPÉRATOIRE RÉGLEMENTAIRE POUR RÉALISER L'ANALYSE DES CRITÈRES MICROBIOLOGIQUES DE POTABILITÉ

Les détails de ce mode opératoire sont donnés dans le **tableau II**.

Tableau I - Analyses réglementaires de surveillance de l'eau potable (extrait du décret n°89-3 du 03/01/1989).

Réduite B1	Analyse bactériologique - Type B		Analyse physico-chimique réduite - Type C1
	Sommaire B2	Complète B3	
<ul style="list-style-type: none"> . Coliformes thermotolérants . Streptocoques fécaux 	<ul style="list-style-type: none"> . Coliformes thermotolérants . Streptocoques fécaux . Dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 22°C et à 37°C 	<ul style="list-style-type: none"> . Coliformes thermotolérants . Streptocoques fécaux . Dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 22°C et à 37°C . Spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices 	<ul style="list-style-type: none"> . Aspect (qualitatif) : odeur, saveur, couleur . Turbidité . pH . Conductivité . Chlore résiduel (désinfection par chloration) ou tout autre paramètre représentatif du traitement de désinfection

EAUX POUR AUTRES USAGES

Les contrôles de la qualité de l'eau à effectuer en fonction de ses autres usages sont résumés dans le tableau proposé par le COTEREHOS de la DRASS Rhône-Alpes (Tableau III) (44).

Pour la numération de la flore aérobie revivable des eaux maîtrisées, le nombre guide étant faible, il est nécessaire d'effectuer une filtration pour récupérer les bactéries dans un volume important d'échantillon.

Tableau II - Techniques d'analyse pour la recherche des critères microbiologiques de potabilité

	Flore aérobie revivable	Coliformes totaux	Coliformes thermotolérants	Streptocoques fécaux	Spores de <i>Clostridium</i>
Volumes testés	inclusion de 1 ml et/ou sa dilution	Filtration 100 ml	Filtration 100 ml	Filtration 100 ml	Filtration 20 ml (après chauffage 10 min à 80°C)
Incubation	22°C → 72h 37°C → 24 à 48 h	37°C 24 à 48 h	44°C 24 à 48 h	37°C 24 à 48 h	37°C 48 h en anaérobiose
Milieu de culture	Gélose PCA	Gélose lactosée au TTC et Tergitol 7	Gélose lactosée au TTC et Tergitol 7	Gélose Slanetz et Bartley	Gélose TSC
Dénombrement	Toutes les colonies présentes	Colonies jaunes orangées avec halo jaune sous-jacent et oxydase (-)	Colonies jaunes orangées avec halo jaune sous-jacent Le cas échéant, identifier les colonies	Colonies rouge, rose ou marron Ensemencement sur gélose biliée à l'esculine pour confirmer les streptocoques du groupe D	Colonies noires caractéristiques

Tableau III - Extrait de « L'eau dans les établissements de santé », COTEREHOS, annexe 2 (44).

Usage	Contrôle
Secteurs protégés Blocs opératoires Unités de soins	Dénombrement de la flore aérobie revivable Dénombrement des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> **
Hémodialyse	Prévu par la pharmacopée : - contrôle microbiologique - dosage d'endotoxines bactériennes - contrôle physicochimique - contrôle toxicologique
Piscine de rééducation et de balnéothérapie*	- contrôles microbiologiques : germes prévus par la réglementation des piscines recevant du public (dont <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>)** - pH et teneur en désinfectant (chlore total, chlore libre)
Eau chaude sanitaire	Recherche de légionelles (circulaire n°98/771 du 31/12/1998)
Climatisation	Recherche de légionelles pour les systèmes à eau stagnante qui devraient être éliminés

* Pour les établissements thermaux, la circulaire DGS/DH n°513 du 20 juillet 1992 exige la recherche de *Legionella*.
** Les techniques proposées pour la recherche de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont reprises dans le tableau IV.

Tableau IV - Techniques proposées pour la recherche de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, et de la flore aérobie revivable des eaux maîtrisées.

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Flore aérobie revivable
Volumes testés	Filtration - 100 ml	Filtration - 100 ml	Filtration - 2 x 100 ml
Incubation	41°C 24 à 48 h	37°C 24 à 48 h	22°C → 72h 37°C → 24 à 48 h
Milieu de culture	Gélose Cétrimide + acide nalidixique	Chapman manité	Gélose PCA
Dénombrement	Colonies ayant une pigmentation verte. Confirmation de l'espèce <i>aeruginosa</i>	Colonies jaunes avec un halo jaune. Caractérisation par catalase et coagulase	Toutes les colonies présentes

Interprétation des résultats

CRITERES DE QUALITÉ DES EAUX DESTINÉES À LA CONSOMMATION HUMAINE, PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES (DÉCRET DU 3 JANVIER 1989)

- L'eau ne doit pas contenir d'organismes pathogènes, en particulier de salmonelles dans 5 litres d'eau prélevée, de staphylocoques pathogènes dans 100 ml d'eau prélevée, de bactériophages fécaux dans 50 ml d'eau prélevée et d'entérovirus dans un volume ramené à 10 litres d'eau prélevée.
- 95 % au moins des échantillons prélevés ne doivent pas contenir de coliformes dans 100 ml d'eau prélevée
- L'eau ne doit pas contenir de coliformes thermotolérants et de streptocoques fécaux dans 100 ml d'eau prélevée.
- L'eau ne doit pas contenir plus d'une spore de bactéries anaérobies sulfitoréductrices par 20 ml d'eau prélevée.
- Lorsque les eaux potables sont livrées sous forme conditionnée, le dénombrement des bactéries aérobies revivifiables, à 37°C et après 24h, doit être inférieur ou égal à 20 par ml d'eau prélevée ; à 22°C et après 72h, il doit être inférieur ou égal à 100 par ml d'eau prélevée.

LE COTEREHOS DÉFINIT DES CRITERES DE QUALITÉ DE NIVEAU 1 ET 2 POUR LES EAUX BACTÉRIOLOGIQUEMENT MAÎTRISÉES (Tableau V).

Ces eaux doivent satisfaire par ailleurs aux critères microbiologiques de potabilité.

Si cette classification en deux niveaux n'est pas remise en cause, certains auteurs critiquent la dénomination d'eau « propre » et d'eau « ultra propre » l'estimant réservée à des critères physico-chimiques et non bactériologiques. D'autre part, elle détermine des niveaux cibles pour chaque catégorie d'usage, mais n'est pas associée à des proposi-

tions en cas de dépassement de ces valeurs.

L'ASPEC (45) définit trois niveaux de contamination microbienne et des propositions d'action pour chaque niveau dont on peut discuter l'application en pratique.

L'air

En milieu hospitalier, la contamination particulière et la contamination biologique (aérobiocontamination) sont les deux paramètres qui peuvent être analysés. La contamination particulière est due aux particules physiques en suspension sans tenir compte des micro-organismes que celles-ci peuvent véhiculer. L'aérobiocontamination est le plus souvent le fait des particules physiques dont certaines servent de support à un ou plusieurs micro-organismes. Elle s'exprime en UFC (Unité Formant Colonie) ou PNC (Particule donnant Naissance à Colonie) par unité de volume, valeur qui ne correspond pas forcément au nombre de micro-organismes.

Contamination particulière et contamination biologique de l'air maîtrisé

CONTAMINATION PARTICULAIRE

L'analyse de la contamination particulière peut être abordée selon 2 approches : l'une statique (classe d'empoussièrement) et l'autre dynamique (cinétique de décontamination).

- La classe de cinétique de décontamination particulière permet d'apprécier la rapidité de l'élimination des particules. Elle est définie, pour une taille de particules (> 0,5 µm), par le temps nécessaire pour réduire de 90 % la contamination particulière initiale avant mise en fonction du système de filtration.

Tableau V - Critères de qualité recommandés par le COTEREHOS.

Qualité	Qualité bactériologiquement maîtrisée Niveau 1 : eau « propre »	Niveau 2 : eau « ultra propre »	Sterile Niveau 3
Recommandations	- Après 24h à 37°C et 72h à 22°C* : ≤ 10 ² UFC/100 ml et - Absence de <i>P. aeruginosa</i> /100 ml	- Après 24h à 37°C et 72h à 22°C* : ≤ 10 UFC/100 ml et - Absence de <i>P. aeruginosa</i> /100 ml	Conforme à la Pharmacopée Européenne
Utilisation	- Office de soins (services cliniques) - Lavage chirurgical des mains - Rinçage des colonoscopes et des gastroscopes	- Secteurs protégés : .Douches des brûlés .Unité de greffes - Rinçage des bronchoscopes	- Rinçage des arthroscopes, coelioscopes... - Humidificateurs d'oxygène - Aérosols
Méthodes d'obtention	- Eau du réseau chlorée à 0,1 mg/l - L'eau du réseau interne peut parfois respecter ces critères de qualité sans traitement complémentaire	Pour respecter en permanence cette qualité dans les secteurs protégés un traitement de l'eau est indispensable : l'eau du réseau sera passée sur une cartouche filtrante (0,2 µm) placée sur le gicleur du robinet.	Eau stérile en flacon versable délivrée par la pharmacie
Procédures de maintenance et d'entretien	- Détartrage périodique des points d'eau - Nettoyage désinfectant quotidien des gicleurs des robinets	Entretien et stérilisation quotidienne des filtres	

* 24h à 37°C et 72h à 22°C signifient la conduite en parallèle de deux analyses.

- La classe d’empoussièrement caractérise le « laisser passer » des batteries de filtres ou les autres apports exogènes. Elle définit le nombre maximal de particules par m³ supérieures à une dimension donnée. Ce nombre varie selon le niveau d’exigence ciblé (différentes normes fournies au chapitre 3).

**CONTAMINATION BIOLOGIQUE
OU AÉROBIOCONTAMINATION**

De la même façon, la contamination biologique était estimée selon 2 paramètres (cinétique de biodécontamination et classe bactériologique) par la norme NF S 90-351 - procédure de réception et de contrôle des salles d’opération - qui est actuellement en cours de révision.

- La cinétique de biodécontamination est définie par le temps nécessaire pour réduire de 90 % une biocontamination initiale avant mise en fonction du système de filtration. L’installation est d’autant plus performante que ce temps est court.
- La classe bactériologique définit le nombre maximal d’unités formant colonies (UFC) selon le niveau d’exigence ciblé par la norme NF S 90-351, en cours de révision (**Tableau VI**). Cette présentation a une valeur limitée en l’absence de précision concernant les méthodes de prélèvement et d’analyse, comme cela est donné pour la propreté particulaire.

Mesurage de la propreté particulaire

PRINCIPE DE MESURAGE

Une pompe de transfert aspire l’air à un débit déterminé de 1 pied cube par minute (28,32 litres/min).

Tableau VI - Classes bactériologiques selon la norme NF S 90 - 351.

Classes bactériologiques	Concentration maximale en UFC/m ³ d’air
B 100	100
B 20	20
B 5	5

L’air aspiré passe dans une cellule virtuelle de mesure au travers d’un faisceau laser généré par une diode. Les particules présentes dans l’échantillon d’air diffusent la lumière émise par le faisceau lumineux. Cette lumière diffusée est collectée et focalisée sur un photo-détecteur. La variation d’intensité lumineuse est convertie en un signal électrique par ce photo-détecteur. Les circuits électroniques du compteur génèrent une impulsion électrique dont l’amplitude est fonction de la taille de la particule détectée. Le compteur compare l’amplitude du signal à des seuils étalonnés et dimensionne ainsi la particule en la classant dans un des canaux.

APPAREILLAGE

- Compteur optique de particules.
- Liste des fabricants d’appareils (non limitative, en annexe 1)
- Contraintes liées à l’appareil
 - Nécessité d’une commande à distance ou d’un délai de comptage.
 - Etalonnage 1 à 2 fois par an.
 - Pour ne pas perturber la laminarité d’un flux, il est conseillé d’utiliser une sonde isocinétique.

MODE OPÉRATOIRE

Il est résumé dans le **tableau VII**.

La norme NF EN ISO 14644-1 fixe à 5 le nombre minimum de points de prélèvements pour une salle d’environ 20 m².

Le volume d’air analysé (grandeur de l’échantillon) doit être choisi en fonction de la classe d’empoussièrement présumée. Il devra être d’autant plus grand que l’empoussièrement est plus faible et permettre un dénombrement de particules égal ou supérieur à 20.

Ces plans d’échantillonnage sont donnés à titre indicatif. On devra réaliser au minimum un prélèvement au niveau du site critique, par exemple de la table d’opération à hauteur de l’emplacement présumé de la plaie opératoire.

QUAND EFFECTUER DES PRÉLEVEMENTS

- À la réception de l’installation.
- En fonctionnement :
 - hors présence humaine, pour mesurer la classe de contamination en statique

Tableau VII - Exemples de plans d’échantillonnage proposés par l’AFNOR et l’ASPEC.

	AFNOR NF S 90-351	ASPEC
Gamme de mesurage	0,5 µm - 5 µm	0,5 µm - 5 µm
Sites de mesurage		
flux turbulent	plan à 1,20 m du niveau du sol 4 points par m ² dans la zone préférentielle	1 point dans l’ambiance du site d’activité 2 points à 1 m du site d’activité 2 points plus éloignés de part et d’autre du site d’activité
flux laminaire	plan à 2 m de la sortie du filtre si flux laminaire horizontal 20 cm en amont de la table d’opération réglée à 1 m de hauteur si flux laminaire vertical 4 points par m ² dans la zone préférentielle	1 point dans l’ambiance du site d’activité 1 point à 1 m du site d’activité

- en présence humaine, pour mesurer la classe de contamination en cours de fonctionnement.
- Après maintenance et travaux.

PRÉCAUTIONS À OBSERVER

Position de l'opérateur par rapport au déplacement d'air : s'il est dans la salle, l'opérateur doit se placer entre l'appareil de mesure et une bouche de reprise, et le plus éloigné possible de l'appareil.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Vérifier que le nombre de particules par m³ d'air mesuré pour chaque gamme ($\geq 0,5 \mu\text{m}$ et $\geq 5 \mu\text{m}$) correspond à la classe d'empoussièremment particulière de l'installation contrôlée. Différentes classes d'empoussièremment sont données par la norme ISO 14644-1 (paragraphe « Normes ISO 14644 » page 161 chapitre 3).

Le mesurage des particules est une mesure absolue. Des résultats obtenus avec des appareils différents, mais de même gamme de sensibilité, peuvent être comparés.

CONDUITE À TENIR EN CAS DE RÉSULTATS NON SATISFAISANTS

Informez le chef de service, le CLIN, et les services techniques chargés de la maintenance.

Mesurage de la propreté bactériologique

Il n'existe pas de corrélation entre le nombre de particules et le nombre de bactéries. Les résultats observés dépendent de multiples paramètres, toute

comparaison est sujette à caution si des appareils différents sont utilisés.

APPAREILLAGE (BIOCOLLECTEUR)

Techniques de mesurage existantes

Les deux méthodes recommandées sont :

- la filtration d'air où l'air à analyser est aspiré par une pompe et passe à travers une membrane filtrante en gélatine qui est ensuite mise en culture, soit directement par application, soit après dissolution en milieu liquide.
- la méthode par impaction où un volume d'air connu est aspiré et impacté sur un milieu gélosé. Il existe plusieurs types d'impacteurs (à centrifugation, à entonnoir, à fente, ou à crible). Ces appareils diffèrent en terme de débit, de vitesse d'impact, de volume d'air prélevé, et certains permettent un recueil des particules en fonction de leur taille.

Les méthodes par sédimentation spontanée privilégient la sédimentation des grosses particules et ne permettent pas d'obtenir un échantillon représentatif des particules en suspension, ni de rapporter le nombre d'UFC à un volume d'air échantillonné.

Le volume d'air analysé (grandeur de l'échantillon) doit être choisi en fonction de la classe bactériologique présumée. Il devra être d'autant plus grand que la biocontamination est plus faible.

La méthode par impaction est la plus utilisée.

Tableau VIII - Exemples de plan d'échantillonnage donnés par l'AFNOR et l'ASPEC.

	AFNOR NF S 90-351	ASPEC
Conditions de prélèvement	Mesurer la classe bactériologique : prélèvement réalisé après fonctionnement de l'ensemble des ventilations d'au moins 3 fois le temps de biodécontamination avec un maximum de temps de 2h	- Etablir une situation de base et vérifier l'efficacité du système de traitement de l'air : hors présence humaine avant toute activité, le matin après nettoyage de la salle la veille et repos pendant la nuit - Mesurer l'aérobiocontamination en situation d'activité : de préférence dans les conditions les plus à risque - Connaître le temps nécessaire pour revenir à la situation de base : après activité
Sites de mesurage	- Flux turbulent : Cinq lieux faisant chacun l'objet de trois prélèvements : .un au niveau de la table d'opération (1 au centre, 2 à chaque extrémité) .deux à l'intérieur de la zone préférentielle (de part et d'autre de la table) .deux à l'extérieur de cette zone (à la périphérie à 1 m des murs) - Flux laminaire : Trois lieux faisant chacun l'objet de trois prélèvements .un au niveau de la table d'opération (1 au centre, 2 à chaque extrémité) .deux à l'extérieur de la zone préférentielle (à la périphérie à 1 m des murs)	- Au niveau de points ayant un impact direct sur le risque de biocontamination : près du site d'activité - Au niveau de points susceptibles d'avoir des répercussions sur le niveau de biocontamination du site d'activité (indicateurs de défaillance du traitement d'air) : soufflage, reprise

Contraintes liées à l'appareil

- Débit d'aspiration ≥ 100 l/min et constant (norme ISO DIS 14698).
- Prélèvement de grands volumes d'air dans un temps permettant d'éviter le dessèchement de la gélose :
 - volume d'air aspiré supérieur à 500 l dans un temps compris entre 5 et 10 min (norme AFNOR NF S 90-351)
 - volume d'air aspiré = 1 m³ (norme ISO DIS 14698).
- Vitesse d'impaction sur la gélose modérée :
 - inférieure à 100 m/s (norme AFNOR NF S 90-351)
 - inférieure à 20 m/s (norme ISO DIS 14698)
- Nécessité d'une commande à distance.

Les anciens appareils dont les spécifications ne correspondent pas aux recommandations actuelles peuvent être utilisés en prenant en compte leur manque de sensibilité, mais cette démarche est très discutable car 0 multiplié par 10, 100 ou 1 000 est toujours égal à 0 !

Lors du choix d'un appareil, il est utile de prendre en compte les facteurs de confort d'utilisation : autonomie, télécommande, retardateur de démarrage, rapidité de la charge de batterie, légèreté, boîte de Pétri standard, facilité de désinfection, etc.

Liste des appareils disponibles (non limitative, annexe 2)**MILIEUX DE CULTURE**

- Flore bactérienne : gélose Plate Count Agar (PCA) ou Trypticase Soja.
- Champignons : Sabouraud glucosé sans antibiotique (la contamination bactérienne étant présumée faible a priori compte tenu d'une installation de maîtrise).
- Des milieux sélectifs peuvent également être utilisés pour rechercher un germe particulier.

MODE OPÉRATOIRE

Il est donné dans le **tableau VIII**.

On peut recommander au minimum un prélèvement au niveau de chacun des points critiques (sites d'activité) et à l'arrivée de l'air dans la salle. Les mesures en présence humaine (situation d'activité) doivent être justifiées par des objectifs spécifiques compte tenu du caractère « perturbateur » de l'opérateur.

TRANSPORT

L'ensemencement étant fait, le transport peut se faire sans urgence dans des délais raisonnables (< 24 h), compte tenu du fait que les micro-organismes sont déjà en contact avec le milieu de culture. Le transport peut se faire à température ambiante.

INCUBATION

- Flore bactérienne aérobie mésophile : 30°C pendant 3 jours minimum.
- Champignons : 25°C pendant 5 jours minimum.

QUAND EFFECTUER LES PRÉLEVEMENTS

- Après maintenance ou intervention sur le système de traitement de l'air.

- Lors de la survenue d'épidémie.
- Dans le cadre d'un système maîtrisé et de situations à haut risque (chirurgie prothétique, chambre en isolement protecteur, etc.).

La périodicité sera envisagée dans les chapitres suivants.

PRÉCAUTIONS À OBSERVER

Position de l'opérateur par rapport au déplacement d'air : s'il est dans la salle, l'opérateur doit se placer entre l'appareil de mesure et une bouche de reprise, et le plus éloigné possible de l'appareil.

LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Il est indispensable, pour comparer des résultats, d'effectuer les mesures avec le même appareil.

- L'étude quantitative est réalisée par numération des colonies sur les milieux de culture et les résultats sont exprimés en UFC par m³ d'air. Classiquement le mesurage de la classe bactériologique vérifie que le nombre d'UFC par m³ d'air mesuré correspond à l'installation contrôlée (AFNOR NF S 90-351, en cours de révision), mais toute interprétation doit être prudente en raison de la disparité des performances des appareils et de l'absence de techniques de référence.
- L'étude qualitative décelant la présence de certaines bactéries peut être interprétée comme indicateur de non qualité et déclencher la mise en place de mesures correctives. Il s'agit par exemple de la présence de *Staphylococcus aureus* ou d'*Escherichia coli* d'origine humaine (indicateurs de mauvaise discipline ou d'une tenue vestimentaire inadaptée), de bactéries aérobies Gram négatif (*Pseudomonas* et germes apparentés, véhiculés par les aérosols), de contaminants fongiques (champignons filamenteux indicateurs d'anomalies de filtration ou de réservoir local).

En situation épidémique on peut rechercher les micro-organismes en cause dans l'environnement.

Remarques :

- les modes opératoires pour le mesurage des cinétiques de décontamination particulière et de biodécontamination sont décrits dans la norme AFNOR NF S 90-351 qui en définit également les classes, actuellement en révision ;

- le suivi de la qualité microbiologique de l'air peut être utilement complétée par le mesurage de la cinétique de décontamination particulière. Indépendamment de l'aspect normatif précédemment cité, l'essai consiste à effectuer une pollution de la salle à tester, la ventilation étant à l'arrêt. On utilise idéalement un générateur d'aérosol mono-dispersé ou à défaut une poire à fumée qui permet d'obtenir en quelques minutes un empoussièrement supérieur à 1 million de particules de 0,5 µm par pied cube. Le point de pollution établi, on remet aussitôt en route l'installation de traitement de l'air et on effectue des prélèvements particuliers chaque minute. Le mesurage prend de 5 à 15 minutes et permet d'établir une courbe de déconta-

mination évaluant la capacité d'épuration. Cette approche dynamique est complémentaire de l'approche statique et permet de s'assurer de la capacité de dépollution de l'enceinte.

Les surfaces

Appareillage

TECHNIQUES DE MESURAGE

Techniques par empreinte sur gélose

- lame gélosée : milieu de culture présent sur une ou deux faces et manche applicateur.
- gélose contact : milieu de culture coulé dans des boîtes spéciales de 25 cm² de surface (Rodac), et réalisant un ménisque convexe qui sera appliqué sur la surface à étudier soit directement par pression de l'opérateur, soit par l'intermédiaire d'un applicateur présentant une pression d'appui et une durée d'application constantes. C'est la technique à préférer en terme de reproductibilité.

Ces deux méthodes permettent une analyse quantitative et qualitative. Les lames et les boîtes sont directement mises en incubation.

Technique par écouvillonnage

La surface est « frottée » avec un écouvillon humide (eau stérile, sérum physiologique, liquide de Stuart modifié) qui est ensuite épuisé dans un milieu de culture (recherche des contaminants bactériens) par agitation ou sonication ou directement ensemençé sur boîte de Pétri (recherche des contaminants fongiques). L'avantage de cette technique est qu'elle permet de contrôler des surfaces inaccessibles par les méthodes par empreinte. Elle ne permet qu'une analyse qualitative ou semi-quantitative.

Technique par brossage, lavage, récupération

Un brossage de la surface à analyser est réalisé à l'intérieur d'un cylindre en présence d'un liquide contenant une enzyme. Les actions mécaniques et enzymatiques combinées permettent de dissocier les amas bactériens. Le liquide de récupération permet une analyse quantitative et qualitative.

Technique par aspersion, récupération

Un liquide, projeté sur la surface à contrôler, se charge en micro-organismes. Le liquide de récupération permet une analyse quantitative et qualitative. Cet appareillage est complexe et ne peut être utilisé que sur des surfaces verticales.

Technique par bioluminescence

Le principe en est le dosage de l'ATP par bioluminescence. Il est surtout utilisé dans le domaine agroalimentaire.

Les deux méthodes les plus couramment utilisées sont les méthodes par empreinte sur gélose et par écouvillonnage qui sont simples à mettre en œuvre. Les procédures décrites par la suite concerneront donc ces deux techniques.

CONTRAINTES LIÉES AUX MÉTHODES DE MESURAGE

- Facteurs limitant ou augmentant le rendement de la collecte : surface rugueuse, produits « fixants » ou tensio-actifs.
- Surface échantillonnée restreinte.

- Contrôle de surfaces peu ou très peu contaminées.
- Numération difficile au-delà de 200 colonies par boîte, mais à ce niveau de contamination, il est rarement utile de faire une numération. Ce niveau correspond en fait à une ambiance non maîtrisée.

LISTE DES FABRICANTS DE MATÉRIELS POUR RÉALISER LE PRÉLEVEMENT (NON LIMITATIVE, ANNEXE 3)

Milieux de culture

- Gélose Trypticase Soja ou Plate Count Agar (PCA) pour les germes totaux.
- Milieux sélectifs pour la recherche de germes particuliers (gélose VRBG pour les entérobactéries).
- Gélose Sabouraud glucosé avec ou sans antibiotiques pour les champignons.

Aux milieux de culture doivent être associées des substances capables de neutraliser les détergents/désinfectants utilisés lors des opérations de nettoyage (Tween 80, lécithine, L-Histidine, etc.).

Mode opératoire

SITES DES PRÉLEVEMENTS

- Au niveau du site d'activité : table d'opération, table d'instrumentation, éclairage opératoire, postes de travail divers en ambiance maîtrisée, etc.
- En des points difficiles d'accès au bionettoyage.

COMMENT RÉALISER LE PRÉLEVEMENT

- Effectuer le prélèvement sur une surface sèche, plane et lisse.

La norme ISO/DIS 14698 recommande une pression de 25 g/cm² pendant 10 secondes pour l'application d'une gélose contact (existence d'applicateurs standardisés).

- Après le prélèvement, nettoyer rapidement la surface pour enlever les traces de gélose (compresse stérile ou propre imbibée de détergent-désinfectant ou d'alcool à 90°).
- Pour la technique par écouvillonnage, frotter l'écouvillon humide sur la surface à contrôler.
- Identifier les prélèvements (localisation de la zone, site du prélèvement, moment, éventuels dysfonctionnements, etc.)

Transport

Il peut se faire à température ambiante, le délai d'acheminement étant de 24 heures maximum.

- Pour les écouvillons, le transport doit être rapide (risque de dessiccation et de mortalité bactérienne). S'il est supérieur à 4 heures, conserver les écouvillons à 4°C.
- Pour les géloses contact, l'ensemencement sur milieu de culture étant fait, les conditions d'acheminement au laboratoire sont moins contraignantes.

Incubation

- Flore bactérienne aérobie mésophile : 30°C pendant 3 jours minimum.
- Champignons : 25°C pendant 5 jours minimum.

Quand effectuer les prélèvements

- Cas groupés d'infection ou situation épidémique franche : recherche de germes en cause sur les surfaces rarement justifiée en première intention.
- Réouverture des services à haut risque après travaux ou intervention contaminante.
- Validation du bionettoyage en cas de modification de la procédure.
- Production pharmaceutique : avant l'activité, hors présence humaine, pour évaluer la contamination initiale et établir une situation de base, et pendant l'activité, pour étudier la recontamination.

Lecture et interprétation des résultats

- L'étude quantitative est réalisée par numération des colonies sur les milieux de culture et les résultats sont exprimés en UFC par boîte contact (25 cm²). Toute interprétation quantitative doit être accompagnée d'une étude du rendement.

- La présence de certaines bactéries doit être considérée comme indice de non qualité et doit déclencher une analyse de la situation et la mise en place de mesures correctives. Il s'agit par exemple de *Pseudomonas*, d'*Acinetobacter*, etc., ou même de *Staphylococcus* lorsque ceux-ci sont retrouvés en nombre critique (le moment de prélèvement entre également en considération).
- En situation épidémique ou en cas de phénomène infectieux imputable à l'environnement (post-opératoire par exemple), on peut rechercher dans l'environnement les micro-organismes en cause.
- La présence de contaminants fongiques sur les surfaces traduit leur présence antérieure dans l'air et doit déclencher un contrôle du système de traitement d'air ou une étude critique de l'introduction de matériel contaminé dans le local (cartons, etc.). ■



CHAPITRE 3

Textes réglementaires et recommandations

**Dominique
Luu-Duc
Marie Christine
Nicolle**

LA MAITRISE DE L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER est une des composantes de la sécurité sanitaire à l'hôpital. Dans le cadre de la vigilance environnementale sont utilisés des contrôles de la maintenance technique des installations et équipements, des contrôles de l'application des procédures et des contrôles microbiologiques de l'environnement. Ces derniers sont parfois mentionnés dans des textes réglementaires, des recommandations émanant d'instances officielles, de sociétés savantes ou de groupes de professionnels qui sont présentés et commentés dans ce chapitre.

L'eau

Plusieurs types d'eau peuvent être distingués au sein de l'hôpital selon leur usage et les exigences de qualité qui s'y rattachent : eaux potables, eaux bactériologiquement maîtrisées, eaux stériles conditionnées, eaux techniques, autres eaux à usage de soins (44, 46).

Critères de potabilité

- En application du Code de la Santé Publique, l'eau de distribution publique destinée à la consommation humaine, doit répondre aux critères de potabilité définis dans le **Décret 89-3 du 3 janvier 1989** (modifié par le décret n° 90-330 du 10 avril 1990, par le décret n° 91257 du 7 mars 1991 et par le décret n° 95-363 du 5 avril 1995) : les exigences de qualité et les programmes d'analyse des échantillons y sont déterminés. Ce décret doit être révisé en 2000 pour application de la directive européenne de 1998.

- La circulaire ministérielle n° 429 - 8 avril 1975, relative aux problèmes d'hygiène publique dans les établissements hospitaliers précise la responsabilité du directeur hospitalier sur le contrôle de la qualité de l'eau de son établissement : « Le gestionnaire de l'établissement hospitalier est tenu de s'assurer que l'eau d'alimentation à l'arrivée de l'établissement est potable en faisant procéder à des analyses régulières » ainsi que l'exige l'article L.19 du code de la santé publique. Le décret n° 89-3 du 3 janvier 1989 abroge le décret n° 61-859

du 1er août 1961 qui fixait à au moins trois par an le nombre de prélèvements, mais il précise la fréquence annuelle des contrôles de potabilité de l'eau pour la population générale et il abroge aussi la circulaire précitée. La nécessité du recours à un laboratoire agréé est précisée pour l'exploitant (organisme distributeur). Une incertitude demeure en ce qui concerne le type de laboratoire (agréé ou non) pour les analyses de potabilité au sein de l'établissement.

À l'intérieur du réseau de distribution de l'établissement, la qualité microbiologique de l'eau est susceptible de se dégrader. Des bactéries opportunistes d'origine hydrique (*Pseudomonas*, mycobactéries, etc.) peuvent proliférer dans les réseaux de distribution. Le législateur mentionne la nécessité de réaliser des contrôles périodiques : « l'eau d'alimentation distribuée aux malades doit faire l'objet à la diligence de l'administration hospitalière de contrôles périodiques. Ces analyses doivent être complétées par la recherche des germes de l'hospitalisme. Les résultats doivent être portés à la connaissance des chefs de service ».

Eaux et Endoscopie

- La circulaire ministérielle DGS/DH - n° 236 - 2 avril 1996, relative aux modalités de désinfection des endoscopes dans les unités de soins, stipule que l'eau du réseau pour le traitement préliminaire des endoscopes, ainsi que pour le rinçage terminal en endoscopie digestive haute et basse non interventionnelle, peut être utilisée « à condition que soient régulièrement (au moins une fois par mois) contrôlées ses qualités microbiologiques et physico-chimiques. Celles-ci doivent être au moins conformes aux critères définis dans le décret 89-3 du 3 janvier 1989 modifié, relatif aux eaux destinées à la consommation humaine ».

Cette circulaire soulève quelques remarques et interrogations concernant :

- la nécessité d'adjoindre systématiquement des contrôles physico-chimiques (qui sont inclus dans les contrôles de potabilité) aux contrôles microbiologiques ; cette attitude est contraignante, coûteuse, et de faible intérêt.

- la nature des contrôles, les critères exclusifs de potabilité pouvant paraître insuffisants pour répondre en toute sécurité à certaines techniques de soins. Le dénombrement de la flore aérobique revivifiable et la recherche de *Pseudomonas aeruginosa*, comme indicateur d'une contamination par des bactéries hydriques responsables d'infections nosocomiales, paraissent souhaitables (44).
- la fréquence élevée des prélèvements si on s'attache à contrôler chaque point d'eau utilisé pour le traitement des endoscopes.

Eaux et lave-endoscopes

- L'annexe à la Lettre Circulaire n° 987262 du 15 juillet 1998 sur les recommandations relatives à l'acquisition et à l'utilisation de machines à laver et désinfecter les endoscopes, prévoit des contrôles sur l'eau d'alimentation de ces machines : « quel que soit le système utilisé, la qualité microbiologique de l'eau d'alimentation de la machine doit être périodiquement contrôlée par l'utilisateur ». Le type d'analyse et la périodicité des contrôles à effectuer ne sont pas indiqués. Un contrôle régulier (par analogie au texte précédent) comportant un dénombrement de la flore aérobique revivifiable et une recherche de *Pseudomonas aeruginosa* peut être proposé. Ce contrôle serait à effectuer de notre point de vue, non seulement sur l'eau d'alimentation, mais aussi sur l'eau résiduelle de la cuve. En effet un des risques est la contamination des circuits internes de la machine ce qui incite à la réalisation de prélèvements réguliers (chapitre 4).

Eau et légionellose

- **La circulaire DGS n° 97/311 - 24 avril 1997**, relative à la surveillance et prévention de la légionellose, fait le point sur les connaissances cliniques, épidémiologiques et préventives sur les légionelloses et précise la conduite à tenir autour de chaque cas.

L'investigation comprend un volet épidémiologique et une enquête environnementale comprenant l'expertise des sources potentielles de contamination dans l'établissement et la recherche de *Legionella* dans l'eau.

Des prélèvements environnementaux seront systématiquement associés dès l'apparition d'un cas de légionellose d'origine nosocomiale ou survenu lors d'une cure thermique.

Les lieux de prélèvements à privilégier sont précisés dans la circulaire :

- en présence d'un cas isolé, des contrôles seront réalisés sur le circuit d'eau chaude sanitaire desservant le service concerné ;
- lors de cas groupés, des prélèvements plus larges seront orientés en fonction d'arguments épidémiologiques, de la structure des réseaux d'eau et de l'identification des points critiques : réseau d'eau chaude sanitaire (ballon d'eau chaude, points d'usage), réseau d'eau froide (si la température est anormalement élevée), eau dans les installations de conditionnement d'air, eau de ruissellement dans les tours aéro-réfrigérantes, etc.

Les modalités de prélèvements et de transport sont détaillées. La recherche et numération des *Legionella* seront effectuées selon la norme AFNOR NT 90-431 ; les souches isolées dans l'environnement et chez le ou les malades seront comparées par des techniques de typage disponibles au CNR (Centre National de Référence). Cette circulaire souligne, pour les réseaux de distribution d'eau chaude sanitaire, qu'il n'existe aucun texte réglementaire fixant une densité maximale de *Legionella* ; mais il est reconnu qu'en dessous d'une densité de 10³ UFC/litre, le risque d'apparition de cas de légionellose est très faible. Cependant, ce risque varie en fonction de l'état immunitaire des personnes exposées et de la densité et durée d'exposition aux aérosols contaminés, et du sérotype. Pour mémoire le seuil actuel de détection est de 50 UFC/litre.

- En ce qui concerne les eaux thermales la **circulaire DGS/SD1D/92 n°513 du 20 juillet 1992** propose de prendre 10² UFC/litre comme valeur de référence non impérative pour débiter un suivi attentif de la situation.

- **Circulaire DGS 98/771 du 31 décembre 1998**, relative à la mise en œuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux légionelles dans les installations à risque et dans celles des bâtiments recevant du public.

Il est demandé aux responsables d'établissements de santé :

- d'assurer un entretien régulier du réseau d'établissement conformément aux indications de la circulaire du 24 avril 1997 et de détenir un dossier régulièrement actualisé comportant : la description des divers réseaux de distribution d'eau, leurs protocoles de maintenance et d'entretien, les résultats des analyses effectuées périodiquement dans le cadre de l'auto-surveillance ou du contrôle sanitaire et les programmes d'amélioration en cas de nécessité,
- de mettre en œuvre une surveillance de la contamination des réseaux par la recherche de légionelles dans les réservoirs, ballons, installations à risque et aux points d'usage. La périodicité et le choix des sites de prélèvements dépendent des résultats observés, de l'usage de ces installations, des facteurs de risque des patients, de la manière dont les patients sont exposés et des difficultés rencontrées pour traiter des épisodes de contamination. « Ces prélèvements doivent être effectués au moins une fois par an dans tous les réservoirs, ballons d'eau et installations à risque, ainsi qu'au niveau de 2 points d'usage par tranche de 100 lits et au minimum 10 points d'usage pour les établissements de moins de 500 lits ».

Cette circulaire recommande également de :

- formaliser les procédures d'utilisation de l'eau pour les soins et pour les dispositifs médicaux,
- rechercher systématiquement une légionellose lors de la survenue d'une pneumopathie chez un patient hospitalisé.

Les établissements ont dû être dotés au 30 juin 1999 des documents décrits ci-dessus.

Eau réfrigérée

• La circulaire DGS/PGE/1D n° 2058 du 30 décembre 1986, relative aux fontaines réfrigérantes rappelle les principales dispositions réglementaires concernant ces installations :

- le raccordement à un réseau de canalisations intérieures alimentées par une eau de distribution publique,
- la production d'une eau satisfaisant aux normes de potabilité,
- les caractéristiques des matériaux utilisés,
- le dispositif avec stockage d'eau évitant la stagnation prolongée,
- le maintien en bon état d'entretien et de fonctionnement.

Les fontaines dites à réservoirs, considérées à risque, doivent faire l'objet d'une attention toute particulière. Les réservoirs doivent être vidangés et nettoyés au moins une fois par mois.

Cette circulaire n'indique pas de prélèvements d'eau à effectuer sur ces fontaines ; néanmoins, les risques de contamination microbiologique par des bactéries psychrophiles (*Yersinia*) sont présents lors de stagnation d'eau et d'entretien insuffisant de ces dispositifs. Le contrôle de potabilité de l'eau (analyse de type B2) pourrait être complété par la recherche de ces germes opportunistes psychrophiles, par exemple de façon trimestrielle (44, 47, 48).

Eau des piscines de rééducation et des établissements de thermalisme

• Il n'existe pas de réglementation particulière concernant la qualité des eaux des piscines de rééducation. En attente d'une législation spécifique pour assurer la sécurité sanitaire de ces équipements, ayant des usages et des usagers particuliers, il est recommandé d'adopter les principes de surveillance des installations ouvertes au public stipulés dans le décret 81-324 du 7 avril 1981 modifié par le décret 91-980 du 20 septembre 1991. Un contrôle microbiologique doit comporter un dé-

nombrement des germes viables, la recherche des indicateurs de contamination humaine : coliformes et coliformes fécaux (thermotolérants), et des germes pathogènes, *Staphylococcus aureus* en particulier. La fréquence des prélèvements est mensuelle ; l'analyse des différents paramètres est variable et déterminée dans le décret 91-980 du 20 septembre 1991.

• Les établissements de thermalisme sont contraints de respecter la circulaire DGS/SD1D n° 513 du 20 juillet 1992 relative à la qualité des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux qui aborde plus particulièrement le contrôle des légionelles.

Eau pour la dilution des concentrés pour hémodialyse

• Les contrôles de l'eau d'hémodialyse sont prévus par la Pharmacopée Européenne - IIIe édition, 1997. Ils sont placés sous la responsabilité du pharmacien de l'établissement.

Selon la pharmacopée, la surveillance microbiologique de cette eau consiste en une numération des germes aérobies viables et des endotoxines bactériennes.

La valeur limite recommandée est de 100 microorganismes par millilitre et la concentration maximale admise en endotoxines bactériennes (mesurée par le test LAL) de 0,25 UI par millilitre.

Eau dans les unités de soins

À l'intérieur du réseau de distribution de l'établissement, la qualité microbiologique de l'eau est susceptible de se dégrader. La nature et la fréquence des contrôles sont à envisager en fonction de l'usage et de la vulnérabilité des patients concernés.

• Le COTEREHOS (44) recommande des contrôles trimestriels au point d'utilisation dans les blocs opératoires, les secteurs protégés, les unités de soins ainsi qu'au niveau des fontaines réfrigérantes.

• « Les 100 Recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosoco-

Tableau I - Propositions de recommandations concernant la fréquence des prélèvements (selon le COTEREHOS et l'ASPEC).

Usages	Fréquence des contrôles	
	COTEREHOS	ASPEC*
Eau potable	3 fois par an à l'arrivée de l'eau dans l'établissement	Mensuelle
Fontaine réfrigérée	Trimestrielle	Mensuelle
Secteurs protégés	Trimestrielle	Mensuelle
Blocs opératoires	- pour tous les postes de lavage des mains des chirurgiens	
Unités de soins	- un point d'eau par secteur protégé - un point d'eau dans 2 offices de soins de service clinique	
Hémodialyse	Mensuelle	
Piscine de rééducation et de balnéothérapie	Contrôle microbiologique mensuel	Circulaires de référence

* pour les zones à haut et très haut risque infectieux.

miales » (49), préconisent des contrôles de la qualité des eaux à usage alimentaire et à usage médical, réalisés selon une périodicité déterminée localement, pour les eaux d'hémodialyse, de biberonnerie, des piscines de rééducation et les eaux utilisées pour le rinçage des dispositifs médicaux, etc.

- L'ANAES, dans son manuel d'accréditation des hôpitaux (50), prévoit dans « la maîtrise du risque infectieux lié à l'environnement » l'élaboration de procédures concernant la maintenance et le contrôle de la qualité de l'eau dans ses différentes utilisations (eau potable, eau pour hémodialyse, eau pour entretien du matériel, etc.).

En l'absence de recommandations officielles, l'attitude intermédiaire des propositions du COTEREHOS (**Tableau I**) semble en pratique la plus acceptable, par rapport à une position minimaliste dangereuse (pas de contrôles) et à une position maximaliste difficilement applicable (ASPEC)(45).

L'air

Les contrôles de la qualité microbiologique de l'air (51) doivent s'inscrire dans une démarche globale de maîtrise des risques de contamination liés aux micro-organismes présents dans l'air. Afin d'éviter toute dérive, il est important de considérer que la maîtrise du risque infectieux lié à l'air n'est qu'une des composantes d'un programme de prévention des infections nosocomiales. On comprend alors que l'analyse de risques est un préalable indispensable à la mise en œuvre des mesures pour prévenir les risques de contamination liés aux micro-organismes présents dans l'air. Les mesures seront alors adaptées, maîtrisables et des contrôles organisés pourront être mis en place. L'interprétation des résultats sera alors d'une aide précieuse dans le cadre de l'évaluation du bon fonctionnement des systèmes de maîtrise mis en œuvre et des éventuelles mesures correctives.

L'infection la plus connue liée à l'air est certainement l'aspergillose pulmonaire invasive due au champignon filamenteux *Aspergillus fumigatus* atteignant les patients agranulocytaires (52). Pour prévenir les infections liées à l'air, l'intérêt de traitements d'air sophistiqués, type flux laminaire, a été démontré lors de la pose de prothèses articulaires (35).

Réglementation concernant la qualité de l'air dans les établissements de santé

ARTICLES R 232-5-1 ET 5 À 7 DU CODE DU TRAVAIL CONCERNANT LA POSSIBILITÉ DE POLLUTION SPÉCIFIQUE DES LOCAUX

Ce type de pollution est défini comme ayant une origine non liée à la présence humaine et on définit les polluants qu'elle engendre comme substances dangereuses ou gênantes émises sous forme de gaz, vapeurs (glutaraldéhyde), aérosols solides ou liquides ou micro-organismes potentiellement pathogènes

- Les débits d'air neuf, mais aussi d'air extrait, devront être calculés et modulés de façon qu'aucune

substance nuisible à la santé ne puisse rester présente dans les locaux à des concentrations supérieures aux valeurs limites d'exposition édictées par le Ministère de la Santé, si toutefois celles-ci existent pour les polluants considérés.

CIRCULAIRE DGS/VS2 - DH/EM1/E01 N° 97672 DU 20 OCTOBRE 1997 RELATIVE À LA STÉRILISATION DES DISPOSITIFS MÉDICAUX DANS LES ÉTABLISSEMENTS DE SANTÉ

- Cette circulaire précise la nécessité d'évaluer, maîtriser et surveiller les conditions entourant le procédé de stérilisation notamment la qualité de l'air.

Recommandations concernant la qualité de l'air et son contrôle dans les établissements de santé

TEXTES CONCERNANT LE TRAITEMENT ET LA PRÉVENTION DE LA TUBERCULOSE

Ce document (53) précise plusieurs points :

- Si le risque est modéré ou important, la mise en dépression des chambres où les patients suspects ou atteints de tuberculose bacillifère sont hospitalisés est à envisager.

- Un seuil de renouvellement horaire de 6 mouvements par heure est habituellement recommandé.

- La mise en dépression des chambres doit être évaluée régulièrement, en l'absence du malade, à l'aide d'un fumigène. Un manomètre du type tube incliné, disposé à l'extérieur de la chambre, peut également être installé pour témoigner du bon fonctionnement de l'installation.

MANUEL D'ACCREDITATION DES ÉTABLISSEMENTS DE SANTÉ, ANAES, FÉVRIER 1999 (50)

- La référence 9 du chapitre « Surveillance, Prévention et Contrôle du risque infectieux » demande à ce que le risque infectieux lié à l'environnement soit maîtrisé. C'est à l'établissement de développer les réponses pour atteindre cet objectif. Le critère SPI.9.a. est une des propositions pour valider la référence. Il précise la mise en œuvre de procédures concernant « la maintenance et le contrôle de la qualité de l'air dans les secteurs bénéficiant d'un système de ventilation contrôlée ».

CENT RECOMMANDATIONS POUR LA SURVEILLANCE ET LA PRÉVENTION DES INFECTIONS NOSOCOMIALES, CTIN, 1999 (49)

- La recommandation 50, portant sur l'hygiène générale de l'établissement, rappelle l'importance du contrôle du fonctionnement et la maintenance des installations de traitement de l'air : conditionnement d'air, flux laminaires, enceintes protégées, etc., en particulier dans les services à haut risque infectieux

- La recommandation 51, portant sur les contrôles d'environnement précise que ces contrôles sont effectués et interprétés par du personnel compétent, selon des techniques appropriées et un plan d'analyse défini. Ils sont principalement réalisés pour rechercher la source d'un problème infectieux. Toutefois certains contrôles, dont les contrôles de la qualité microbiologique de

l'air dans les zones ou enceintes protégées (flux laminaires ou autres, système de filtration), sont réalisés en routine et le CLIN s'assure de leur réalisation et prend connaissance de leurs résultats.

- La recommandation 65, portant sur l'environnement du bloc opératoire recommande « de filtrer et climatiser l'air du bloc opératoire, et d'assurer un taux de renouvellement de l'air adapté. Dans le cas de la chirurgie orthopédique propre, le traitement de l'air par flux laminaire ou autres techniques comparables a fait la preuve de son efficacité. Des contrôles réguliers permettent de vérifier le bon fonctionnement des installations de traitement de l'air ».

ÉTABLISSEMENT DE SANTÉ. CONTROLES DE L'ENVIRONNEMENT DANS LES ZONES À HAUT ET TRÈS HAUT RISQUE INFECTIEUX, ASPEC, 1999 (45)

Ce document s'appuie sur la norme ISO/DIS 14698-1 décrivant les principes généraux de la maîtrise de la biocontamination dans les salles propres et environnements contrôlés apparentés. Les objectifs des contrôles proposés sont de déterminer les sources, vecteurs et mécanismes de transfert dans le cadre de la recherche d'agents infectieux en zones à risque et d'établir un historique des résultats des mesurages. L'ASPEC propose dans les secteurs à haut risque et à très haut risque infectieux des « valeurs guides ». Le **tableau II** présente les valeurs hors activité.

En activité, l'ASPEC précise que des variations ponctuelles peuvent être tolérées sans dépasser une puissance de 10 par rapport aux taux bactériens définis pour les niveaux cibles.

Normes concernant la maîtrise de l'aéro-biocontamination des environnements maîtrisés

NORMES ISO 14644 - SALLES PROPRES ET ENVIRONNEMENTS MAÎTRISÉS APPARENTÉS (54)

Il s'agit d'une série de normes ISO concernant les salles propres et les environnements maîtrisés apparentés. Elle permet de concevoir de manière cohérente les approches et les obligations depuis les critères de classification (**Tableau III**) jusqu'à ceux de construction et d'exploitation des salles propres, et des opérations liées aux procédés exploités dans les salles propres. A ce jour, sept parties sont prévues (**Tableau IVa**).

NORMES ISO 14698 - SALLES PROPRES ET ENVIRONNEMENTS MAÎTRISÉS APPARENTÉS - MAÎTRISE DE LA BIOCONTAMINATION (55)

Il s'agit d'une série de normes ISO concernant les salles propres et les environnements maîtrisés apparentés. Elle traite de la maîtrise de la biocontamination. Elle décrit les principes généraux et la méthodologie de base pour évaluer et maîtriser la biocontamination dans les salles propres et environnements maîtrisés apparentés, les méthodes d'analyse et de mesurage de la biocontamination, enfin, les méthodes d'évaluation et d'interprétation des données de biocontamination. A ce jour, huit parties sont prévues (**Tableau IVb**).

Tableau II - « Valeurs guide » en fonction des zones à risque (ASPEC).

	Zone à haut risque		Zone à très haut risque	
	Bactéries UFC/m ³	Moisissures UFC/m ³	Bactéries UFC/m ³	Moisissures UFC/m ³
Niveau d'action	500	1	10	1
Niveau d'alerte	100	1	5	1
Niveau cible	10	< 1	< 1	< 1

Tableau III - Critères de classification de norme ISO 14644-1 et correspondance des classifications avec d'autres normes.

Federal standard 209D - 1988	Federal standard 209 E - 1992	NF X44 - 101 1981	ISO 14644-1 1998
			1
			2
1	M 1,5		3
10	M 2,5		4
100	M 3,5	4 000	5
1 000	M 4,5	40 000	6
10 000	M 5,5	400 000	7
100 000	M 6,5	4 000 000	8
1 000 000			9

NORME FRANÇAISE NF S 90-351 - DÉCEMBRE 1987.

- Titre : Matériel médico-chirurgical. Procédures de réception et de contrôle des salles d'opérations. Qualité de l'air.

- Cette norme précise les procédures de réception des salles d'opérations sur la base de leur classification en fonction des propretés particulaire et bactériologique de l'air de ces salles et des cinétiques de décontamination particulaire et de bio-décontamination associées.

- La parution de la norme 14644-1 a rendu cette norme S 90-351 obsolète. Un programme français concernant les zones à risque de biocontamination dans les établissements de santé est actuellement en cours permettant de réviser cette norme et d'élargir son champ.

De ces normes, il ressort, que dans le cadre de la maîtrise de la qualité de l'air, le contrôle de plusieurs paramètres est à réaliser dont :

- les facteurs climatiques (température, humidité relative),
- le traitement d'air (vitesse, débit, taux de brassage, taux de renouvellement d'air, surpression, intégrité des filtres),
- l'empoussièremement,
- l'aérobiocontamination.

Ces contrôles sont à effectuer non seulement à réception mais aussi tout au long de l'exploitation de l'installation. Enfin, ces contrôles sont à réaliser par du personnel spécialisé, avec du matériel adapté et selon une méthodologie normalisée et reproductible.

Tableau IVa - Technologie des salles propres - Programme de normalisation ISO/TC 209/CEN/TC 243 (mise à jour décembre 1999).

Indice de classement français	Indice de la norme à remplacer	Indice ISO/CEN	Titre	Date cible de publication
X 44-101	X 44-101 (06/81) X 44-102 (03/83) partiellement	ISO/FDIS 14644-1	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – <i>Partie 1</i> : Classification de la propreté de l'air	1999 – 12
X 44-102	-	ISO/DIS 14644-2	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – <i>Partie 2</i> : Spécifications pour les essais et le contrôle afin de prouver la conformité continue avec l'ISO 14644-1	2000 – 09
X 44-103	-	ISO/DIS 14644-3	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – <i>Partie 3</i> : Métrologie et méthodes d'essais	2002 – 03
X 44-100	XP ENV 1631 (X 44-100) (12-96)	ISO/DIS 14644-4	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – <i>Partie 4</i> : Conception et construction	2000 – 09
X 44-105	-	ISO/WD 14644-5	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – <i>Partie 5</i> : Exploitation d'installations de salles propres	2001 – 06
X 44-104	-	ISO/NP 14702	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – Termes et définitions	2002 – 09
X 44-106	-	ISO/NP 14644-7	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – <i>Partie 7</i> : Dispositifs à propreté renforcée (Mini-environnements et isolateurs)	2002 – 03
X 44-107	-	ISO/NWI 1511	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – Mini-environnements et isolateurs, dispositifs de transfert	-
NWI	<i>New Work Item</i> = Nouveau sujet de travail			
NP	<i>New Proposal</i> = Nouvelle proposition			
WD	<i>Working Draft</i> = Document de travail élaboré par un groupe de travail			
CD	<i>Committee Draft</i> = Document de comité, issu du groupe de travail et soumis à l'enquête par le comité au niveau de ses membres			
DIS	<i>Draft International Standard</i> = Projet de norme internationale soumis à l'enquête des 6 mois auprès de tous les comités membres de l'ISO, par le secrétariat central à Genève			
FDIS	<i>Final Draft International Standard</i> = Projet de norme internationale soumis par le secrétariat central de l'ISO à une enquête de deux mois au cours de laquelle il n'est plus possible de formuler des commentaires d'ordre technique			
EP	<i>Enquête Probatoire</i> = Procédure d'instruction au niveau français en vue de déterminer le vote du comité membre français et à terme de reprendre le document dans la collection des normes françaises			

Tableau V - « Valeurs guides »* hors activité, après nettoyage (adapté de l'ASPEC).

	Zone à haut risque		Zone à très haut risque	
	Bactéries UFC/boîte	Moisissures UFC/boîte	Bactéries UFC/boîte	Moisissures UFC/boîte
Niveau d'action	25	1	10	1
Niveau d'alerte	10	1	5	1
Niveau cible	5	<1	<1	<1

* exprimées en nombre de colonies par boîte contact.

Surfaces

Peu de preuves sont apportées par la littérature sur les conséquences infectieuses d'une contamination microbienne de l'environnement d'un patient. Il est plausible qu'un environnement contaminé puisse, à partir de fautes d'asepsie, servir de relais. Les surfaces, notamment les surfaces horizontales, rugueuses, électrostatiques, etc., sont propices à un empoussièrément et donc à une prolifération microbienne.

Lors de la surveillance de la contamination fongique en hématologie, le contrôle des surfaces trouve une place privilégiée. En effet la contamination aérienne est fugace (notion de « nuage as-

pergillaire » avec dépôt rapide des spores sur différents supports). C'est pourquoi, si les prélèvements d'air permettent d'apprécier une situation instantanée, les contrôles de surfaces révèlent mieux les anomalies survenues dans les heures ou les jours précédents, notamment dans les endroits difficilement accessibles au bionettoyage (56, 57).

Il existe peu de textes réglementaires sur le contrôle microbiologique des surfaces.

- La circulaire DGS/VS2 – DH/EM1/EO1/97-672 du 20 octobre 1997 relative à la stérilisation des dispositifs médicaux dans les établissements recommande des contrôles de surface en stérilisation.

Tableau IVb - Technologie des salles propres - Programme de normalisation ISO/TC 209/CEN/TC 243 (mise à jour décembre 1999).

Indice de classement français	Indice de la norme à remplacer	Indice ISO/CEN	Titre	Date cible de publication
X 44-110	-	ISO/DIS 14698-1	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – Maîtrise de la biocontamination <i>Partie 1 : Principes généraux</i>	2001 – 03
X 44-111	-	ISO/DIS 14698-2	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – Maîtrise de la biocontamination <i>Partie 2 : Evaluation et interprétation des données de biocontamination</i>	2001 – 03
X 44-112	-	ISO/DIS 14698-3	Salles propres et environnements contrôlés apparentés – Maîtrise de la biocontamination <i>Partie 3 : Méthodologie de mesurage de l'efficacité de procédés de nettoyage et (ou) de désinfection des surfaces inertes portant des souillures humides biocontaminées ou des biofilms</i>	2001 – 06
X 44-113	-	ISO/WD 14698-4	Salles propres et environnements contrôlés apparentés, Biocontamination <i>Partie 4 : Méthodes d'analyses et de mesures des contaminants biologiques dans l'air des zones à risque</i>	-
X 44-114	-	ISO/WD 14698-5	Salles propres et environnements contrôlés apparentés, Biocontamination <i>Partie 5 : Méthodes d'analyses et de mesures des contaminants biologiques dans les liquides des zones à risque</i>	-
X 44-115	-	ISO/WD 14698-6	Salles propres et environnements contrôlés apparentés, Biocontamination <i>Partie 6 : Evaluation et interprétation de la mesure des données du suivi de contamination microbienne des zones à risque</i>	-
X 44-116	-	ISO/NP 14698-7	Salles propres et environnements contrôlés apparentés, Biocontamination <i>Partie 7 : Principes de validation de procédés de nettoyage et de désinfection des surfaces</i>	-
X 44-117	-	ISO/NP 14698-8	Salles propres et environnements contrôlés apparentés, Biocontamination <i>Partie 8 : Exigences pour les systèmes d'échantillonnage de l'air dans les cas spéciaux</i>	-

Note : Au niveau européen, l'équivalent du DIS est le prEN (projet de norme européenne), enquête dite des 6 mois, et l'équivalent du FDIS est le *Formal Vote* (vote formel), d'une durée de deux mois (sans commentaire technique)

• **Les 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales** préconisent des contrôles des surfaces en secteurs protégés.

Aucun de ces deux textes ne donne de précision sur le type de contrôles (visuels ou prélèvements microbiologiques !) et leur périodicité.

• L'ASPEC (45) définit des « valeurs guides » dans les secteurs à haut risque et à très haut risque infectieux. Le **tableau V** présente les valeurs hors activité, après nettoyage.

Cependant, la surveillance microbiologique des surfaces permet essentiellement de vérifier l'efficacité de nouvelles procédures de bionettoyage. L'évaluation de leur bonne application doit être réalisée par des audits de pratiques dont l'intérêt est indiscutable. Le contrôle de résultats des prélèvements de surfaces est un constat a posteriori, tandis que le contrôle des différents processus par de tels audits a un objectif préventif (chapitre 4). ■



CHAPITRE 4

Stratégie de mise en place dans un établissement

Jean-Charles Cêtre
Joseph Hajjar
Marie-Christine Nicolle

L'OBJECTIF DE CE CHAPITRE est de dégager une attitude pragmatique concernant la surveillance de l'environnement ou comment bien cibler les contrôles microbiologiques de l'environnement pour en tirer des informations pertinentes entre l'attitude minimaliste comme celle des CDC et l'attitude maximaliste de certains.

Place des contrôles microbiologiques dans la vigilance environnementale

La vigilance environnementale

Elle pourrait être un des aspects de la sécurité sanitaire à l'hôpital au même titre que les autres vigilances (pharmacovigilance, matériovigilance, hémovigilance, etc.). Elle nécessite une démarche d'analyse du risque permettant de répondre aux questions suivantes : quel est le risque infectieux ? Où se situe-t-il ? Comment peut-on le prévenir ou le réduire ? Cette démarche implique un raisonnement en plusieurs étapes : reconnaître le risque, en évaluer les conséquences, déterminer les moyens possibles de prévention, préciser le degré de vigilance à adopter et en particulier la qualité de l'information nécessaire à la prise de décision pour la maîtrise du risque.

Il faut donc entreprendre, de manière graduelle, une démarche d'analyse par secteur ou service,

par type de patient, par type d'acte, de technique, ou d'équipement. Ceci permet de déterminer les secteurs, les patients ou les gestes à haut risque infectieux pour lesquels on définit un niveau de qualité microbiologique requis à partir d'un degré de contamination initiale donnée (Tableau I).

Les contrôles microbiologiques

Dans le cadre de la vigilance environnementale, les prélèvements microbiologiques font partie d'un arsenal qui comprend également le contrôle des produits, des matériels et installations ainsi que des procédures pour obtenir et prouver une qualité environnementale déterminée, soit dans le cadre d'une réglementation, soit en dehors d'une réglementation.

Politique de la vigilance environnementale

En présence d'une réglementation

Les obligations résultant de textes officiels et de recommandations provenant de groupes de professionnels ont été précisées ; encore faut-il à chaque échelon local édicter les mesures concrètes d'accompagnement et de mise en application de ces textes, ce qui ne va pas sans obstacles. Il suffit de considérer la difficulté de mise en application de la circulaire sur le contrôle de l'eau de rin-

Tableau I - Niveaux de qualité requis de l'environnement (le tableau peut être rempli lors de la démarche d'analyse des risques).

Environnement (type/situation)	Patient	Acte	Maîtrise (technique)	Qualité requise	Contrôle (fréquence)	Qualité obtenue
Air Hématologie	Immuno-déprimé	Invasif	Flux laminaire	<...particules/m ³ < ...colonies/m ³ Absence d' <i>Aspergillus</i>	.../an	n particules/m ³ n colonies/m ³ n <i>Aspergillus</i>
Surfaces Bloc opératoire						
Fontaine réfrigérée Services hôpital						
Stéthoscope Réanimation						

çage des endoscopes ou encore celle plus récente sur les légionelloses pour se persuader que les textes ne règlent pas tous les aspects. La responsabilité du CLIN est grande pour déterminer le programme pratique d'application de cette réglementation.

En l'absence de réglementation

Quels points surveiller, selon quelles techniques, à quel rythme et quelle interprétation des résultats ? L'objectif est d'importance car il s'agit de prendre une « longueur d'avance » sur la survenue de conséquences en relation avec des contaminations de l'environnement, tout en ne tombant pas dans le travers d'une surveillance « tous azimuts », très coûteuse. Les adeptes des prélèvements d'environnement présentent des arguments favorables à leur prise de position, mais on peut s'interroger sur l'existence de preuves ou de données publiées sur les hypothèses qui sont à la base de ces attitudes. Comme le souligne C. RUEF (58) « La question est de savoir comment l'hygiène hospitalière moderne peut trouver sa voie entre l'expérience et la tradition locale et comment aborder le problème de manière moderne, en se basant sur des faits ». Il s'agit donc d'appliquer dans notre domaine les principes de la médecine factuelle ou « *Evidence Based Medicine* ». Si l'on applique ces principes à notre problématique, force est de constater que la preuve rationnelle de cette activité fait partiellement défaut !

LES CAUSES MULTIFACTORIELLES DU RISQUE INFECTIEUX

Nous avons vu que l'environnement se comporte comme un réservoir de micro-organismes et qu'il est difficile d'établir une relation de causalité entre ce réservoir et la survenue d'infections nosocomiales.

DES NIVEAUX DE CONTAMINATION DIFFICILES À ÉTABLIR

Nous vivons dans un environnement peuplé de micro-organismes (pour mémoire nous hébergeons plus de germes que de cellules eucaryotes) et il n'y a donc rien d'étonnant à les retrouver lors de prélèvements ! Il convient de préciser les situations où une maîtrise des contaminations est nécessaire. Dans ce cas, il est logique de contrôler les niveaux de contamination (aspect quantitatif) ou de réfuter la présence de telle ou telle espèce microbienne, par exemple absence de *Pseudomonas aeruginosa* (aspect qualitatif). En l'absence d'une maîtrise, les prélèvements systématiques sont contestables : à quoi bon contrôler quelque chose sur lequel nous n'avons aucune influence ?

Un obstacle vient du fait que les niveaux acceptables de contamination sont difficiles à établir. Ils existent dans certaines situations (par exemple pour les eaux d'hémodialyse), mais ce n'est pas souvent la règle. Il suffit de voir les différents débats qui animent les hygiénistes à propos des différentes classifications de l'eau utilisée dans les secteurs de soins pour s'en convaincre (59) !

Stratégie des contrôles

Selon nous, les contrôles microbiologiques de l'environnement peuvent faire partie d'une stratégie de maîtrise de la qualité, mais dans certaines situations et à certaines conditions. Deux contextes sont à envisager :

- en situation épidémique
- en situation endémique.

En situation épidémique

Le fait que certaines épidémies d'infections nosocomiales trouvent leur origine dans une contamination de l'environnement a souligné l'intérêt des enquêtes microbiologiques dans ces situations.

L'apport des contrôles d'environnement est indispensable pour identifier de potentiels réservoirs de micro-organismes en relation avec l'épidémie en cours d'investigation. Bien entendu la politique de prélèvements nécessite l'élaboration d'une stratégie en partant par exemple de l'environnement immédiat et proche du ou des patients impliqués et en étendant ensuite le périmètre des éléments prélevés en cas de tentatives d'isolement infructueuses. On procède ainsi par cercles concentriques, allant du plus à risque au moins à risque.

La connaissance de l'écologie microbienne permet de mieux orienter l'enquête lors de contaminations en série et de mettre en place les mesures adaptées de prévention. Ces prélèvements sont ciblés en fonction du micro-organisme en cause et tiennent compte de sa nature, de ses réservoirs habituels (de son écologie) et des modes de transmission ; il s'agit de prélèvements orientés sur les sources ou réservoirs présumés de l'épidémie. Ils peuvent concerner parfois des surfaces, plus souvent l'air, l'eau, des solutions ou préparations ou encore des dispositifs médicaux ou autres matériels. Ils viennent en complément de prélèvements concernant les personnels ou les malades.

Bien entendu l'investigation d'une épidémie ne doit pas se limiter à la seule enquête microbiologique : la prise en compte des données cliniques et des pratiques de soins est essentielle. La connaissance des scénarios d'épidémies antérieures est précieuse pour cibler efficacement les sites de prélèvement (60). Si une enquête cas-témoin peut-être réalisée, elle permettra de mieux délimiter le champ d'investigation, en indiquant avec plus de pertinence les éléments à prélever (40).

L'isolement de micro-organismes chez les patients et dans l'environnement permettra leur comparaison par typage qui fait de plus en plus appel à des techniques de biologie moléculaire. Cette approche permet de confirmer la présence éventuelle d'une même souche chez les patients et dans l'environnement et sa cartographie. L'identification du ou des réservoirs permettra de juguler cette épidémie. En revanche la mise en évidence de souches multiples est plus en faveur de défaillances dans les procédés. Il est donc essentiel dès la suspicion d'une épidémie nosocomiale de conserver les souches microbiennes isolées dès le début de l'in-

vestigation chez les patients et dans l'environnement. Cette surveillance sera maintenue sur le lieu de l'épidémie pendant quelque temps. Par la suite, il faudra s'assurer que la maîtrise des réservoirs identifiés s'accompagne de l'arrêt de l'épidémie. En dehors de ces situations épidémiques, les contrôles d'environnement s'inscrivent dans une autre logique.

En temps normal, en situation endémique

Il s'agit alors d'activités, de prélèvements dits « de routine ».

QUELS OBJECTIFS ?

Classiquement 3 objectifs sont évoqués.

- Connaître l'écologie et la cartographie microbiennes.
- Réaliser des contrôles microbiologiques dans le cadre de la validation de nouveaux protocoles, par exemple pour le bionettoyage, ou après une intervention, par exemple une opération de maintenance sur une centrale de traitement d'air.
- Contrôler la maîtrise d'un environnement protégé.

Seuls les 2 derniers objectifs nous paraissent pertinents. L'analyse exhaustive, en routine de l'environnement non maîtrisé est d'un rapport coût-efficacité médiocre. Les autres stratégies de prévention sont plus adaptées à la prévention des infections, qu'il s'agisse de l'élaboration - application de protocoles, d'évaluation des procédures ou de la surveillance des infections nosocomiales.

Donc, non à des contrôles de l'environnement sans discernement, oui à des contrôles ciblés et dans le cadre d'une stratégie globale de prévention des infections nosocomiales.

QUELS INDICATEURS ?

Deux attitudes coexistent : l'une classique recourt à l'utilisation d'indicateurs de résultats. Il s'agit d'un constat a posteriori ou contrôle final à objectif correctif, par exemple mesurage de l'aérobiocontamination dans une salle d'opération (c'est le contrôle qualité) (Figure 1).

L'autre plus novatrice s'intéresse à la qualité des différentes étapes d'un processus mis en œuvre

Figure 1 – Contrôle qualité : indicateur de résultat.

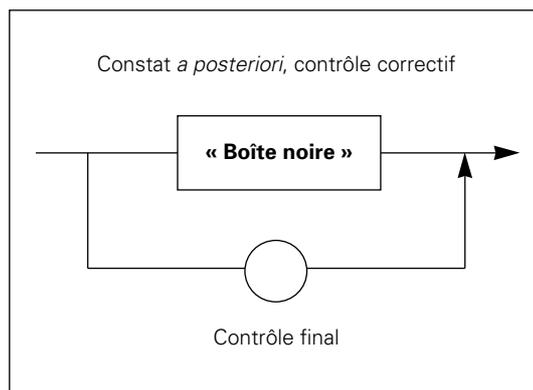
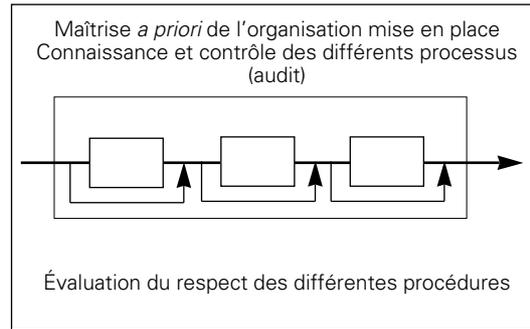


Figure 2 - Assurance qualité : maîtrise du processus.



pour une activité donnée. Elle recourt aux indicateurs de processus qui permettent de s'assurer du respect des différentes procédures mises en place. Par exemple contrôle des paramètres physiques d'une installation de traitement d'air (débit, vitesse, surpression) ou, pour l'eau, maintenance du réseau de distribution (canalisation, ballons, robinetterie, etc.), élimination des bras morts. L'objectif est ici préventif, on va agir avant l'obtention d'un résultat final défavorable. Cette approche permet ainsi d'agir avant la survenue des contaminations (c'est l'assurance qualité) (Figure 2).

QUELLE DÉMARCHE VIS-À-VIS DES PRÉLEVEMENTS MICROBIOLOGIQUES ?

Tout d'abord il importe de rappeler les obligations qui s'imposent à tout établissement de santé en dehors d'activités ou de patients à risques spécifiques ; en plus des textes réglementaires régissant les règles de sécurité des collectivités, ces obligations concernent :

- la salubrité des locaux,
- la potabilité de l'eau,
- l'hygiène alimentaire.

Ensuite, il convient d'appliquer une démarche cohérente associant successivement les contrôles des procédés et les contrôles des résultats.

Contrôles des procédés

Le contrôle d'un procédé consiste à s'assurer de la bonne réalisation de ses différentes étapes. Cette démarche s'apparente à celle développée pour la stérilisation : le bon fonctionnement de l'autoclave est validé en particulier par les paramètres temps, pression et température et non par un contrôle microbiologique final (libération paramétrique de la charge). C'est cette approche qu'il convient de développer pour l'environnement.

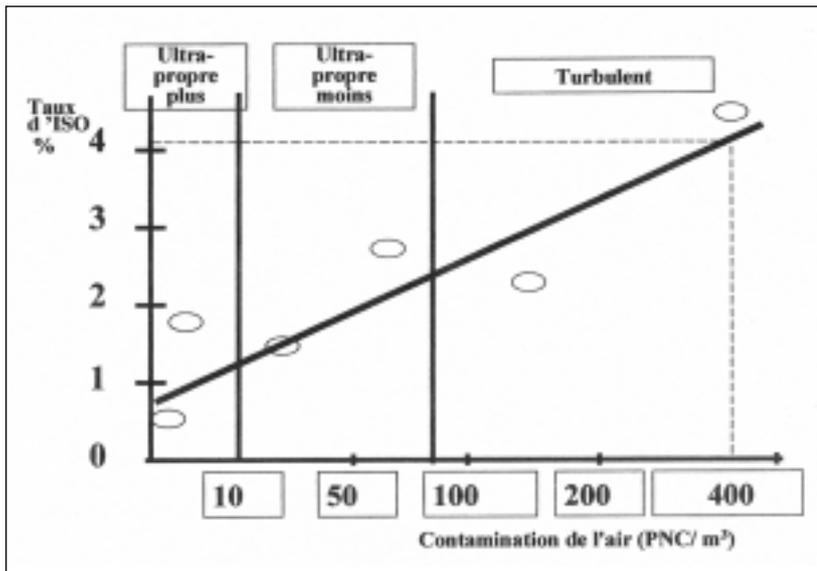
Contrôles des résultats

a) Évaluer les risques microbiologiques pour « un patient, un geste, un environnement »

La première étape consiste à recenser les situations à risque (chirurgie, réanimation, onco-hématologie, brûlés, greffe et transplantation, etc.).

Pour chaque situation il est indispensable de cibler l'élément (ou les éléments) de l'environnement (points critiques) pouvant directement concourir au risque infectieux (l'air pour les patients immunodéprimés ou les opérés) ou indirectement par l'intermédiaire du personnel médical ou soignant (eau de lavage des mains) ou du matériel (eau de rin-

Schéma 1 - Incidence de l'infection du site opératoire et niveau d'aérobiocontamination.



çage des dispositifs médicaux). Certains auteurs ou groupes professionnels proposent de classer les locaux hospitaliers en 4 niveaux de risque et déterminent ensuite des tableaux à double entrée comportant une grande variété de niveaux de risque, jusqu'à 16! (61).

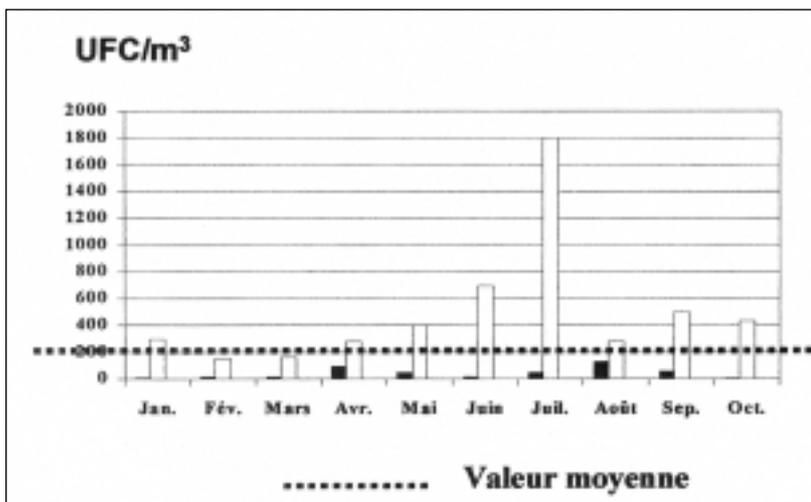
b) Évaluer la maîtrise des points critiques

La deuxième étape recherche l'existence d'un dispositif de maîtrise sur l'élément environnemental concerné (air, eau, etc.), c'est-à-dire un dispositif qui permet de réduire un risque de contamination (filtre pour l'air ou l'eau, renouvellement de l'air, surpression, etc.).

- En l'absence d'un tel dispositif, les prélèvements n'ont pas d'intérêt. À la rigueur, ils peuvent servir à déterminer un point initial, mais leur suivi dans le temps aura un faible intérêt en l'absence de moyens de maîtrise.

- Si ce ou ces dispositifs de maîtrise sont présents, ils permettent d'obtenir un niveau attendu

Schéma 2 - Suivi mensuel de l'aérobiocontamination - Graphiques de contrôles.



et acceptable de contamination microbienne. Trois situations sont alors envisageables :

- On dispose de niveaux cibles ou niveaux de référence fournis par la réglementation ou la pharmacopée. Ils doivent alors être utilisés et appliqués (par exemple moins de 100 UFC/ml pour l'eau servant à la préparation des solutés d'hémodialyse).

- Il y a des niveaux cibles fournis par des recommandations d'organismes officiels ou des sociétés savantes. Il est de la responsabilité de l'établissement, aidé par les instances compétentes (service d'hygiène, CLIN, service de bactériologie, pharmacie, services techniques, etc.) de définir le choix et la mise en application de ces valeurs. Par exemple les recommandations du COTEREHOS concernant l'eau, tout en observant que le niveau requis peut paraître difficile à atteindre dans certaines situations, telle que l'eau pour le lavage des mains des chirurgiens : moins d'une UFC/ml alors que la tolérance pour les eaux pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse est 100 fois plus grande !

- Il n'existe aucun niveau cible. L'objectif des prélèvements, notamment pour l'air, sera de suivre le niveau de contamination dans le temps en établissant des graphiques de contrôle et de suivi des points retenus dans le plan d'échantillonnage (hors et en présence humaine). Il s'agit de vérifier par des contrôles périodiques l'efficacité des systèmes de maîtrise de la biocontamination. Initialement les prélèvements seront rapprochés, par exemple mensuellement, puis s'espaceront une fois obtenues une tendance et une relative stabilité dans les niveaux observés. Une difficulté réside dans l'appréciation des limites de la valeur d'un paramètre, autrement dit dans l'évaluation de ce qui sépare l'acceptable de l'inacceptable. L'analyse et l'interprétation des résultats se feront selon 2 niveaux qui entraînent des réponses différenciées et adaptées.

- Le niveau cible, ou niveau de contamination acceptable, est défini par les utilisateurs (équipe chirurgicale, soignants, etc.) en fonction de leurs objectifs. C'est un « feu vert » qui témoigne d'un niveau de contamination tolérable. Cet aspect souligne l'intérêt de l'implication des équipes dès la conception ou la rénovation des équipements pour définir des niveaux attendus de contamination. Par exemple, en chirurgie orthopédique les travaux de LIDWELL permettent d'établir le seuil de l'aérobiocontamination à un niveau inférieur à 10 UFC/m³ (62) (Schéma 1). Cette méthode permet de suivre en interne les variations éventuelles par rapport à un niveau établi localement et fonction des techniques de prélèvements et méthodes d'exploitation au laboratoire propres à chaque établissement, en l'absence de normalisation.

La succession des contrôles répétés en des points identiques et selon une même méthodologie (même appareillage, même mode opératoire,

mêmes effectifs présents) permet d'établir le niveau moyen de contamination observée. Bien entendu le niveau acceptable et ses fluctuations tolérables s'observent dans un contexte de respect des paramètres physiques (surpression, perte de charge des filtres, etc.), chimiques (chloration de l'eau adéquate, etc.) et de l'application des procédures ou opérations de maintenance. On attachera également une attention particulière à la qualité des comportements et au respect des pratiques de soins. En somme, il faut s'assurer auparavant qu'il n'y a pas de dysfonctionnement qui pourrait entacher la valeur des mesures. Il serait utopique de définir des niveaux cibles en l'absence de ces nécessaires ingrédients de bon fonctionnement technique (Schéma 2).

- **Le niveau de dysfonctionnement** indique un écart inacceptable entre le niveau de contamination observée et le niveau attendu. Il doit entraîner une investigation afin d'analyser les causes et mettre en œuvre une ou des actions correctrices (« feu orange »). La démarche de gestion des risques consiste donc à identifier, évaluer et réduire les écarts observés par rapport au référentiel préalablement défini. Le constat d'une dérive par rapport aux conditions habituelles nécessite de renforcer les mesures de maîtrise, c'est-à-dire les bonnes pratiques et leur conformité. Dans un premier temps les prélèvements sont à nouveau réalisés et si les valeurs à ne pas dépasser sont encore observées, on procède, dans un second temps, aux vérifications de l'installation, en révisant les points critiques potentiellement défaillants. En ce qui concerne l'environnement, les situations imposant l'arrêt d'utilisation du dispositif défaillant sont exceptionnelles (« feu rouge »).

c) Mettre en place les mesures correctrices

Elles sont modulées en fonction des résultats observés. Chaque structure, en fonction du « bruit de fond » de ses patients, de ses gestes à risque détermine pour chaque série d'indicateurs (eau, air, etc.) ses exigences et établit son propre référentiel. Elle établit une stratégie ciblée sur des points critiques, en effectuant des prélèvements sur des points représentatifs et en utilisant des techniques de prélèvements et d'analyse validées pour l'environnement. Elle étudie l'évolution quantitative et éventuellement qualitative dans le temps de la contamination de tel ou tel milieu, en utilisant toujours les mêmes techniques. Comme le souligne HARTEMANN (63) « la surveillance du linge, de l'air, de l'eau, des surfaces, des savons et autres produits reposera sur des méthodes plus ou moins empiriques, rendant toute comparaison inter-établissements vaine ainsi que la proposition de classes de contamination. Pour l'air, selon l'appareil, le milieu de culture et la technique d'incubation utilisés, le résultat quantitatif pourra varier facilement d'un facteur 5 à 10. C'est pourquoi les propositions de définition de classe de contamination n'ont aucun intérêt pratique si elles ne s'accompagnent pas d'une méthodologie de référence, ce qui n'a jamais été le cas jusqu'à présent ». La comparaison des

données inter-établissements est donc à considérer avec beaucoup de précautions sauf à utiliser des méthodes normalisées ou standardisées lorsqu'elles existent.

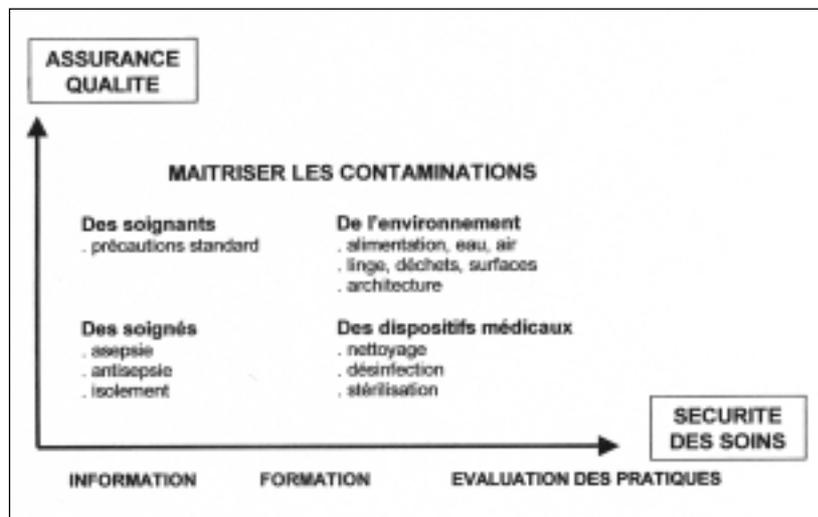
Conclusion

Cette démarche s'apparente à celle développée en hygiène alimentaire sous le nom de HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) ou ADPCM (Analyse Des Points Critiques pour leur Maîtrise). « Cette méthode d'analyse et de prévention des défaillances potentielles permet de fiabiliser un système en identifiant les risques et leurs conséquences, puis en y remédiant ». Au lieu de contrôler des performances, on vérifie l'application correcte des procédures.

La maîtrise des risques liés à l'environnement s'inscrit dans le concept de stratégie globale de prévention des infections nosocomiales (Figure 3). Cette maîtrise intervient en complément de la maîtrise des contaminations chez le patient, les personnels et les dispositifs médicaux.

La vigilance environnementale est un enjeu d'amélioration de la qualité des soins, de sécurité sanitaire et de meilleure réponse aux critères d'accreditation dans les références relatives à la surveillance, la prévention et le contrôle du risque infectieux du chapitre « Qualité et Prévention ». La référence 9 précise que les contrôles de la qualité de l'eau sont assurés en fonction des diverses utilisations de l'eau et ceux de l'air en fonction des secteurs bénéficiant d'un système de ventilation contrôlée. Les contrôles microbiologiques ne constituent qu'un des éléments de preuve de l'efficacité de cette maîtrise. Cette logique implique de manière transversale tous les acteurs des établissements de soins et souligne leur nécessaire sensibilisation à ces aspects et leur formation pour que ces éléments soient pris en compte et qu'ainsi « la seule partie utile de la médecine soit l'hygiène. » (JEAN-JACQUES ROUSSEAU, 1769). ■

Figure 3 - Stratégie globale de maîtrise des contaminations.



Bibliographie

- 1- TALON D. The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. *J Hosp Infect* 1999 ; 43(1): 13-7.
- 2- VESLEY D, STREIFEL A. Environmental services. In : Mayhall C. *Hospital epidemiology and infection control*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1996, 818-823.
- 3- BOYCE JM, MERMEL LA, ZERVOS MJ, RICE LB, POTTER-BYNOE G, GIORGIO C, *et al*. Controlling vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995 ; 16(11): 634-7.
- 4- BOYCE JM, POTTER-BYNOE G, CHENEVERT C, KING T. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ; 18(9): 622-7.
- 5- RUTALA WA, KATZ EB, SHERERTZ RJ, SARUBBI FA, JR. Environmental study of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic in a burn unit. *J Clin Microbiol* 1983; 18(3): 683-8.
- 6- GRATARD F, POZZETTO B. Marqueurs moléculaires en quête de bactéries nosocomiales épidémiques. *HygièneS* 1999 ; 7(4): 371-7.
- 7- GREEN J, WRIGHT PA, GALLIMORE CI, MITCHELL O, MORGAN-CAPNER P, BROWN DW. The role of environmental contamination with small round structured viruses in a hospital outbreak investigated by reverse-transcriptase polymerase chain reaction assay. *J Hosp Infect* 1998 ; 39(1): 39-45.
- 8- FEKETY R, KIM KH, BROWN D, BATTIS DH, CUDMORE M, SILVA J, JR. Epidemiology of antibiotic-associated colitis ; isolation of *Clostridium difficile* from the hospital environment. *Am J Med* 1981 ; 70(4): 906-8.
- 9- GETCHELL-WHITE SI, DONOWITZ LG, GROSCHEL DH. The inanimate environment of an intensive care unit as a potential source of nosocomial bacteria: evidence for long survival of *Acinetobacter calcoaceticus*. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1989 ; 10(9): 402-7.
- 10- MULLIGAN ME, MURRAY-LEISURE KA, RIBNER BS, STANDIFORD HC, JOHN JF, KORVICK JA, *et al*. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. *Am J Med* 1993 ; 94(3): 313-28.
- 11- WEBER DJ, RUTALA WA. Role of environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci [editorial]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ; 18(5): 306-9.
- 12- BONILLA HF, ZERVOS MJ, KAUFFMAN CA. Long-term survival of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on a contaminated surface [letter]. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1996 ; 17(12): 770-2.
- 13- NOSKIN GA, STOSOR V, COOPER I, PETERSON LR. Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995 ; 16(10): 577-81.
- 14- FARRINGTON M, BRENWALD N, HAINES D, WALPOLE E. Resistance to desiccation and skin fatty acids in outbreak strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 1992 ; 36(1): 56-60.
- 15- HALL CB, DOUGLAS RG JR, GEIMAN JM. Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1980 ; 141(1): 98-102.
- 16- SATTAR SA, LLOYD-EVANS N, SPRINGTHORPE VS, NAIR RC. Institutional outbreaks of rotavirus diarrhoea : potential role of fomites and environmental surfaces as vehicles for virus transmission. *J Hyg (Lond)* 1986 ; 96(2): 277-89.
- 17- STOUT JE, YU VL. Legionellosis. *N Engl J Med* 1997 ; 337(10): 682-7.
- 18- RIOU F. Le point sur l'épidémiologie et la prévention des légionelloses en milieu hospitalier. *HygièneS* 1993 ; 3: 22-34.
- 19- EICKHOFF TC. Airborne nosocomial infection : a contemporary perspective. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994 ; 15(10): 663-72.
- 20- SOUINAZI F, FESTY B. Contamination de l'air et des surfaces en milieu hospitalier. *Revue Française de Santé Publique* 1985 ; 30: 50-5.
- 21- CARPENTIER B, CERF O. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *J Appl Bacteriol* 1993 ; 75(6): 499-511.
- 22- MONTFORT P, BALEUX B. Bactéries viables non cutivables : réalité et conséquences. *Bull Soc Fr Microbiol* 1999 ; 14: 201-7.

- 23- PELMONT J. Croissance et mutations. In: J Pelmont. Bactéries et environnement. 1993, 272-295.
- 24- EMORI TG, GAYNES RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin Microbiol Rev 1993 ; 6(4): 428-42.
- 25- BUTTERY JP, ALABASTER SJ, HEINE RG, SCOTT SM, CRUTCHFIELD RA, BIGHAM A, *et al.* Multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a pediatric oncology ward related to bath toys. Pediatr Infect Dis J 1998 ; 17(6): 509-13.
- 26- BERTHELOT P, GRATTARD F, ROS A, LUCHT F, POZZETTO B. Nosocomial legionellosis outbreak over a three-years period: investigation and control. Clin Microbiol Infect 1998 ; 4: 385-91.
- 27- GOETZ AM, STOUT JE, JACOBS SL, FISHER MA, PONZER RE, DRENNING S, *et al.* Nosocomial legionnaire's disease discovered in community hospitals following cultures of the water system: seek and ye shall find. Am J Infect Control 1998 ; 26(1): 8-11.
- 28- ARNOW PM, SADIGH M, COSTAS C, WEIL D, CHUDY R. Endemic and epidemic aspergillosis associated with in-hospital replication of *Aspergillus* organisms. J Infect Dis 1991 ; 164(5): 998-1002.
- 29- HUMPHREYS H, JOHNSON EM, WARNOCK DW, WILLATTS SM, WINTER RJ, SPELLER DC. An outbreak of aspergillosis in a general ITU. J Hosp Infect 1991 ; 18(3): 167-77.
- 30- NOLARD N. Les liens entre les risques d'aspergillose et la contamination de l'environnement. Pathol Biol 1994 ; 42: 706-10.
- 31- PERRAUD M, PIENS MA, NICOLOYANNIS N, GIRARD P, SEPETJAN M, GARIN JP. Invasive nosocomial pulmonary aspergillosis : risk factors and hospital building works. Epidemiol Infect 1987 ; 99(2): 407-12.
- 32- GRUNDMANN H, KROPEC A, HARTUNG D, BERNER R, DASCHNER F. *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit : reservoirs and ecology of the nosocomial pathogen. J Infect Dis 1993 ; 168(4): 943-7.
- 33- WILSON M, NELSON R, PHILIPS L, BOAK R. New source of *Pseudomonas aeruginosa* in a nursery. JAMA 1961 ; 175(6): 1146-8.
- 34- MCGUCKIN MB, THORPE RJ, ABRUTYN E. Hydrotherapy : an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* wound infections related to Hubbard tank treatments. Arch Phys Med Rehabil 1981 ; 62(6): 283-5.
- 35- LIDWELL OM, LOWBURY EJ, WHYTE W, BLOWERS R, STANLEY SJ, LOWE D. Effect of ultraclean air in operating rooms on deep sepsis in the joint after total hip or knee replacement : a randomised study. Br Med J 1982 ; 285(6334): 10-4.
- 36- Blythe D, Keenlyside D, Dawson SJ, Galloway A. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [letter]. J Hosp Infect 1998 ; 38 (1) : 67-9.
- 37- SANDERSON PJ, ALSHAFI KM. Environmental contamination by organisms causing urinary tract infection. J Hosp Infect 1995 ; 29(4): 301-3.
- 38- WRIGHT IM, ORR H, PORTER C. Stethoscope contamination in the neonatal intensive care unit. J Hosp Infect 1995 ; 29(1): 65-8.
- 39- DESPLACES N, PICARDEAU M, DINH V. Spinal infection due to *Mycobacterium xenopi* after discectomies. In : ICAAC, San Francisco, 1995, J162.
- 40- PASSARO DJ, WARING L, ARMSTRONG R, BOLDING F, BOUVIER B, ROSENBERG J, *et al.* Postoperative *Serratia marcescens* wound infections traced to an out-of-hospital source. J Infect Dis 1997 ; 175(4): 992-5.
- 41- RHAME F. The inanimate environment. In : Bennett J, Brachman P. Hospital infections (4th ed). Lippincott-Raven, Philadelphia, 1998, 299-324.
- 42- WEBER DJ, RUTALA WA. Environmental issues and nosocomial infections. In : Wenzel RP. Prevention and control of nosocomial infections (3rd ed). Williams & Wilkins, Baltimore, 1997, 491-514.
- 43- BERTHELOT P, GRATTARD F, MAHUL P. Exogenous and endogenous contamination of mechanically ventilated patients by *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*. In : CIPI, Nice, 1998, S804.
- 44- COTEREHOS (COMITÉ TECHNIQUE RÉGIONAL DE L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER). L'eau dans les établissements de santé. DRASS Rhône-Alpes, Lyon, 1995.
- 45- ASPEC (ASSOCIATION POUR LA PRÉVENTION ET L'ÉTUDE DE LA CONTAMINATION). Etablissements de santé. Contrôles de l'environnement dans les zones à hauts et très hauts risques infectieux. ASPEC, Paris, 1999.
- 46- ANONYME. Eau et établissements de soins. HygièneS 1998 ; 6(6).
- 47- BRÜCKER G. L'eau en milieu hospitalier. In : Brücker G. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 1998, 40-47.
- 48- HARTEMANN P. Maîtrise des risques infectieux liés à l'air et à l'eau en milieu hospitalier. Rev Prat 1998 ; 48(14): 1547-51.
- 49- CTIN (COMITÉ TECHNIQUE NATIONAL DES INFECTIONS NOSOCOMIALES). 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales (2e éd). Ministère de l'emploi et de la solidarité, secrétariat d'état à la santé et à l'action sociale, Paris, 1999.
- 50- ANAES (AGENCE NATIONALE D'ACCREDITATION ET D'ÉVALUATION EN SANTÉ). Manuel d'accréditation des établissements de santé. ANAES, Paris, 1999.
- 51- UNICLIMA (UNION INTERSYNDICALE DES CONSTRUCTEURS DE MATÉRIEL AÉRAULIQUE, THERMIQUE, THERMODYNAMIQUE ET FRIGORIFIQUE). Traitement de l'air en milieu hospitalier: Separ, Paris, 1997.
- 52- KLIMOWSKI LL, ROTSTEIN C, CUMMINGS KM. Incidence of nosocomial aspergillosis in patients with leukemia over a twenty-year period. Infect Control Hosp Epidemiol 1989 ; 10(7): 299-305.
- 53- ANONYME. Tuberculose : traitement et prévention de la tuberculose. La place des mesures environnementales. Synthèse et recommandations des groupes de travail du conseil supérieur d'hygiène publique de France (1995-1996). Bull Epidémiol Hebdo 1997; numéro spécial.
- 54- THEBAULT H. La norme ISO 14644-1 : classification de la propreté de l'air. Salles propres et maîtrise de la contamination, 1998 ; 1: 30-33.

- 55- SQUINAZI F. Biocontamination : le tournant décisif de la normalisation. Salles propres et maîtrise de la contamination 1998 ; 1: 24-27.
- 56- LENTINO JR, ROSENKRANZ MA, MICHAELS JA, KURUP VP, ROSE HD, RYTEL MW. Nosocomial aspergillosis : a retrospective review of airborne disease secondary to road construction and contaminated air conditioners. Am J Epidemiol 1982 ; 116(3): 430-7.
- 57- KENNEDY HF, MICHIE JR, RICHARDSON MD. Air sampling for *Aspergillus* sp during building activity in a paediatric hospital ward [letter]. J Hosp Infect 1995 ; 31(4): 322-5.
- 58- RUEF J. [Editorial]. Swiss-noso 1999 ; 4(4): 41.
- 59- MANQUAT G. Eau et établissement de soins [lettre à la rédaction]. HygièneS 1999 ; 7(4): 359.
- 60- CETRE JC, BARATIN D, TISSOT GUERRAZ F, NICOLLE MC, REVERDY E, PARVAZ P, *et al.* Septicémies nosocomiales et pseudo-bactériémies à *Serratia marcescens*. Presse Med 1988 ; 17(24): 1255-8.
- 61- SQUINAZI F. Les zones à risques des établissements de santé. Salles propres et maîtrise de la contamination 1999 ; 3: 44-6.
- 62- LIDWELL OM. Air, antibiotics and sepsis in replacement joints. J Hosp Infect 1988 ; 11(C): 18-40.
- 63- HARTEMANN P. La quantification des micro-organismes environnementaux : les pièges à éviter. In: 21es journées régionales d'hygiène hospitalière, Strasbourg, 1998, 92-99.



Glossaire

Aérobiocontamination

Contamination aéroportée par la présence dans l'air ambiant de micro-organismes vivants, véhiculés ou non par des particules.

Assurance de la qualité

Ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour donner la confiance appropriée en ce qu'un produit ou service satisfait aux exigences données relatives à la qualité (NF EN ISO 8402).

Bactérie opportuniste

Bactérie normalement commensale ou saprophyte mais devenue pathogène à l'occasion d'une déficience des défenses immunitaires de l'organisme infecté.

Biocontamination

Contamination de matériaux, appareils, personnels, surfaces, fluides, gaz et/ou air par des particules viables (NF EN 1631-1).

Biofilm

Ensemble de micro-organismes immobilisés sur une surface solide et englobés dans un gel de polymère d'origine microbienne.

Coliformes

Groupe de bactéries aérobies et éventuellement anaérobies à Gram négatifs, non sporulées, fermentant le lactose, hôtes typiques du gros intestin de l'homme et des animaux (FD ISO 6107).

Coliformes thermotolérants

Organismes coliformes qui peuvent se développer et avoir les mêmes propriétés fermentaires et biochimiques à 44°C que celles qu'ils ont à 37°C (FD ISO 6107).

Contrôle de la qualité

Opération de maîtrise de la qualité à un stade donné du processus considéré, qui a pour but de déterminer si les résultats obtenus à ce stade sont conformes aux exigences spécifiées (NF EN ISO 8402).

Eaux bactériologiquement maîtrisées

Eaux destinées aux soins parmi lesquelles on distinguera deux niveaux de qualité : eau « propre » et eau « ultra-propre » (COTEREHOS).

Eau potable

Eau destinée à l'alimentation humaine répondant à la norme de potabilité définie par la réglementation en vigueur (code de santé publique).

Eau stérile conditionnée

Eau exempte de micro-organisme vivant, répondant aux normes de la pharmacopée. On distingue l'eau purifiée stérile et l'eau stérilisée pour préparation injectable.

Eaux techniques

Ce sont l'eau chaude sanitaire, l'eau de la climatisation, l'eau pour la production de glace.

Environnement maîtrisé

Zone définie où les sources de biocontamination sont maîtrisées à l'aide de moyens spécifiés

Flore aérobie revivifiable à 37°C

Bactéries, levures et moisissures se développant en aérobiose à 37°C ± 1°C après 24 heures sur des milieux non spécifiques (NF T 90-401).

Flore commensale

Les bactéries qui composent cette flore ne peuvent vivre qu'au contact ou à proximité de l'homme, dont elles sont étroitement tributaires. Ces bactéries représentent la flore dite résidente non pathogène présente à l'état physiologique. Toutefois, ces espèces bactériennes, à l'occasion de circonstances favorables, peuvent devenir des pathogènes opportunistes.

Flore saprophyte

Les bactéries qui composent cette flore appartiennent à l'environnement et ont un comportement strictement indépendant de l'homme.

Micro-organismes psychrophiles

Micro-organisme dont la croissance s'effectue à température inférieure à 20°C (FD ISO 6107).

Niveau d'action

Seuil défini par l'utilisateur dans le contexte d'un environnement maîtrisé.

Le dépassement du niveau d'action impose une réaction immédiate avec analyse du phénomène et actions correctrices.

Niveau d'alerte

Seuil défini par l'utilisateur dans le contexte d'un environnement maîtrisé.

Le dépassement du niveau d'alerte impose le contrôle des procédures de maîtrise de l'environnement.

Niveau cible

Niveau ou seuil défini par l'utilisateur à atteindre ou à maintenir dans le contexte d'un environnement microbien maîtrisé.

Particules cultivables

Micro-organismes isolés ou agglomérés, capables de se multiplier pour produire une croissance démontrable dans des conditions de culture établies.

Particules viables, mais non cultivables

Micro-organismes présentant les critères de viabilité mais pas forcément capables de se multiplier sur un milieu de culture.

Point critique maîtrisable

Tout point, procédure ou étape qui peut être maîtrisé afin d'éliminer ou de réduire la probabilité de risque de biocontamination.

Réservoir de micro-organismes

Tout site vivant ou inerte dans lequel un agent infectieux peut survivre et se multiplier, et qui peut être une source de transmission à un autre récepteur.

Salle propre

Salle à l'intérieur de laquelle la concentration des particules en suspension dans l'air est maîtrisée et qui est construite et utilisée de façon à minimiser l'introduction, la production et la rétention de particules à l'intérieur de la pièce et dans laquelle d'autres paramètres pertinents tels que la température, l'humidité et la pression sont maîtrisés comme il convient (ASPEC).

Spores anaérobies sulfitoréductrices

Formes de résistance de micro-organismes se développant en anaérobiose à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ en 24 et/ou en 48 heures sur une gélose viande foie et don-

nant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium.

Streptocoques fécaux

Diverses espèces aérobies et anaérobies facultatives de streptocoques qui possèdent toutes l'antigène du groupe D de Lancefield, hôtes habituels du gros intestin de l'homme et/ou des animaux (leur présence dans l'eau, même en l'absence d'*E.Coli* indique une pollution fécale) (FD ISO 6107).

Zone à risque à biocontamination

Lieu ou espace, géographiquement défini et délimité, dans lequel des sujets, des matériels et/ou des produits sont particulièrement vulnérables à la biocontamination. On détermine ainsi des zones à très haut risque, à haut risque, à risque moyen ou modéré, à risque faible ou négligeable ■

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ANAES	Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation de Santé
ADPCM	Analyse des risques, points critiques pour leur maîtrise
ASPEC	Association pour la prévention et l'étude de la contamination
BEH	Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire
CLIN	Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales
COTEREHOS	Comité Technique Régional de l'Environnement Hospitalier
CTIN	Comité Technique National des Infections Nosocomiales
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point
PNC	Particule donnant naissance à colonie
UFC	Unité formant colonie



Auteurs

Anne BERTRON

Service de biologie
Centre hospitalier « Antoine Gayraud »
CARCASSONNE

Jean Charles CETRE

Unité d'hygiène et d'épidémiologie
Hôpital de la Croix Rousse
LYON

Catherine CHAPUIS

Unité de lutte contre les infections nosocomiales
Centre hospitalier
VIENNE

Stéphanie GUIGNEMENT

C.CLIN Sud-Est
Centre hospitalier Lyon-Sud
PIERRE BENITE

Jacques FABRY

C.CLIN Sud-Est
Centre hospitalier Lyon-Sud
PIERRE BÉNITE

Joseph HAJJAR

Unité de lutte contre les infections nosocomiales
Centre hospitalier
VALENCE

Philippe HARTEMANN

Département environnement et santé publique
INSERM U420
Faculté de médecine
NANCY

Dominique LUU DUC

Unité de lutte contre les infections nosocomiales
Centre hospitalier
CHAMBERY

Marie Christine NICOLLE

Unité d'hygiène et d'épidémiologie
Hôpital de la Croix Rousse
LYON

Michel PERRAUD

Unité d'hygiène et d'épidémiologie
Hôpital Édouard Herriot
LYON

