

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A. MIRA-Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**

# **Microbiologie de l'Environnement Hospitalier**

**Présenté par**

**Dr ZENATI epse BELHADI Karima**

**2019**

## Préambule

Le présent document constitue un résumé des différentes parties qui seront abordés durant l'année, dans le cadre du cours de **Microbiologie de l'Environnement Hospitalier**. Ce document se veut une aide pour l'étudiant qui se trouve ainsi dégagé de la nécessité de prendre constamment des notes et peut se consacrer à la compréhension de la matière enseignée mais, il ne doit en aucun cas être considéré comme suffisant en soi. Il ne saurait donc remplacer la présence et la participation active au cours, qui sont, avec une étude régulière, la clé de voûte de toute réussite.

Il a été conçu de manière assez aérée pour pouvoir être annoté au gré de chacun et doit être utilisé comme un outil destiné à faciliter la compréhension et l'étude du cours. Ce polycopie est destiné aux étudiants de master, en particulier ceux de microbiologie fondamentale et d'écologie microbienne. Il peut faire également l'objet de support de cours pour les étudiants en science infirmière et médecine, ainsi que pour les professionnels de la santé. Ce dernier est une synthèse des travaux personnels et il est structuré en cinq chapitres dont :

**Le premier chapitre intitulé environnement hospitalier** est porté sur la définition de l'environnement, les microorganismes qui le compose et leur mode de transmission ainsi que les facteurs favorisant leurs survies et leurs persistances.

**Le deuxième chapitre intitulé impact de l'environnement hospitalier sur la santé publique** : il porte sur l'identification du ou des dangers microbiologiques potentiels associés à des sources de contaminations (air, eaux, surfaces, linge, matériel médicale...) qui peuvent être à l'origine d'éléments biologiques responsables d'un effet indésirable (développement des infections et transmission des microorganismes).

**Le troisième chapitre intitulé physiopathologies des infectieux liés à l'environnement hospitalier** : Il porte sur les différentes infections contractées en milieux de soins (infection associée au soin, infection nosocomiale), l'identification des facteurs de risques et de leurs conséquences. Il permet également, de mettre l'accent sur les principaux BMR impliqués dans ces infections et d'énumérer les éléments constituant la « chaîne infectante »

**Le quatrième chapitre intitulé hygiène de l'environnement hospitalier** : dans ce chapitre l'étudiant sera capable de définir et d'expliquer ce qu'est l'hygiène hospitalière, son importance dans la rupture de la chaîne de transmission ainsi que les règles d'hygiène de base liées aux personnels, aux locaux et aux mains.

**Le cinquième chapitre intitulé contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier.** IL porte sur la surveillance microbiologique des surfaces, de l'air et de l'eau. Les indications concernant la prise d'échantillon, la méthodologie et les normes utilisables sont illustrées. Le comptage particulaire ne fait pas partie de la surveillance microbiologique *stricto sensu* mais c'est un complément intéressant du contrôle microbiologique de l'air qui permet de dénombrer les particules inertes (viables et non viables) de l'environnement : c'est à ce titre qu'il est inclus dans ce document.

**La conduite à tenir en cas de résultats non conformes est exclue du champ du document car elle doit être adaptée à chaque situation et graduée en fonction du risque évalué.**

## Table des matières

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>I. Environnement hospitalier .....</b>	<b>4</b>
I.1. Définition .....	4
I.2. Les concepts de zone patient et zone de soins .....	4
I.3. Les microorganismes de l'environnement hospitalier .....	5
I.4. Les facteurs influencent la survie des microorganismes dans l'environnement hospitalier	9
I.4.1. Humidité Relative .....	9
I.4.2. Température .....	10
I.4.3. Type de surfaces .....	10
I.4.4. Résistance aux agents antimicrobiens .....	11
I.4.5. Formation de biofilms sur les surfaces .....	11
I.4.6. Prolifération dans les protozoaires .....	13
<b>II. Impact de l'environnement hospitalier sur la santé publique .....</b>	<b>14</b>
II.1. Impacts de l'air .....	14
II.2. Impacts de l'eau.....	16
II.2.1. Type d'eau à l'hôpital .....	16
II.2.2. Contamination de l'eau .....	17
II.2.3. Mécanismes de contamination des circuits d'eau à l'hôpital .....	18
II.2.4. Principales infections nosocomiales bactériennes d'origine hydrique .....	18
II.3. Impact des appareils médicaux .....	21
II.4. Impact du linge .....	21
II.4.1. Linge sale .....	23
II.4.2. Linge propre .....	23
II.4.3. Blanchisserie .....	24
II.5. Impact des surfaces et des objets .....	24

### **III. Risques infectieux liés à l'environnement hospitalier.....27**

III.1. Infections liées aux soins (IAS).....	27
II.2. Les infections nosocomiales .....	28
III.2.1. Origines des infections multiples.....	29
III.2.2. Facteurs favorisant le développement des infections nosocomiales ...	31
III.3. Les microorganismes résistant aux antibiotiques les plus incriminés dans les infections nosocomiales .....	33
III.3.1. Historique de la résistance .....	33
III.3.2. Principales familles d'antibiotiques et leurs modes d'action .....	33
III.3.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	34
III.3.4. Principales bactéries multirésistantes aux antibiotiques dans l'environnement hospitalier .....	34

### **IV. Hygiène de l'environnement hospitalier ..... 42**

IV.1. Définition .....	42
IV.2. Le nettoyage en milieu hospitalier .....	42
IV.2.1. Type de nettoyage .....	42
IV.2.2. Fréquence de nettoyage .....	43
IV.3. Hygiène des surfaces et des locaux .....	44
IV.3.1. Classification des locaux selon le risque infectieux .....	44
IV.3.2. Produits utilisés.....	46
IV.3.3. Technique de nettoyage .....	47
IV.3.4. Désinfections des surfaces .....	48
IV.3.5. Formation du personnel en charge de l'hygiène des locaux .....	48
IV.4. Hygiène des mains .....	49
IV.4.1. Recommandations générales pour le lavage des mains.....	49
IV.4.2. Rôle des mains dans la transmission des pathogènes .....	50
IV.4.3. Hygiène des mains en fonction de l'activité.....	50
IV.4.4. Les indications de l'hygiène des mains .....	54
IV.4.5. Le port des gants et hygiène des mains après utilisation .....	57

<b>V- Contrôles microbiologiques de l'environnement .....</b>	<b>59</b>
V.1. Indications et stratégies de la surveillance microbiologique environnementale .....	59
V.2. Contrôle microbiologique de l'air .....	61
V.2.1. Objectif du contrôle .....	61
V.2.2. Comptage particulaire .....	61
V.2.3. Contrôle microbiologique .....	62
V.3. Contrôle microbiologique de l'eau .....	64
V.3.1. Fréquence des prélèvements .....	65
V.3.2. Réalisation des prélèvements .....	66
V.3.3. Particularités en fonction de la typologie des points de contrôle.....	67
V.3.4. Techniques d'ensemencement (d'après la norme NF EN ISO 8199).....	67
V. 4. Contrôle microbiologique des surfaces .....	69
V.4.1. Méthode de prélèvement.....	70
V.4.2. Fiches de suivi de la qualité des surfaces.....	79
IV.5. Limites aux contrôles microbiologiques d'environnement.....	81

## **Références bibliographiques**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Diversité génétique des gènes de résistance retrouvés dans l'environnement hospitalier .....	36
<b>Tableau II</b> : Classe de propreté particulière la norme NF ISO 14644-1 .....	62
<b>Tableau III</b> : Quelques microorganismes susceptibles d'être présents dans les eaux potables.....	65
<b>Tableau IV</b> : Fréquence des contrôles microbiologiques selon le type d'eau.....	65
<b>Tableau V</b> : Principaux paramètres recherchés pour le contrôle microbiologique de l'eau ...	69
<b>Tableau VI</b> : Proposition de fréquence de prélèvements de surface « au repos » en fonction du niveau de risque .....	70

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Zone patient et environnement de soin .....	5
<b>Figure 2</b> : Zone patient contaminé avec les bactéries les plus fréquemment isolées des surfaces inanimés et d'équipement médical.....	7
<b>Figure 3</b> : Etape de formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien .....	12
<b>Figure 4</b> : Processus de survie des Légionnelles dans les amibes .....	13
<b>Figure 5</b> : Exemples d'objets et de surfaces à contact fréquent se trouvant dans l'environnement des soins .....	25
<b>Figure 6</b> : Les infections d'origine endogène.....	29
<b>Figure 7</b> : Les infections d'origine exogène .....	30
<b>Figure 8</b> : Techniques d'entretien des surfaces .....	47
<b>Figure 9</b> : Le rôle des mains dans la transmission des pathogènes .....	49
<b>Figure 10</b> : Technique de lavage des mains simple au savon et à l'eau .....	51
<b>Figure 11</b> : Technique de désinfection des mains par friction.....	53
<b>Figure 12</b> : Les cinq indications de l'hygiène des mains .....	54
<b>Figure 13</b> : Technique d'utilisation et d'enlèvement des gants .....	57
<b>Figure 14</b> : Risque de contamination des mains par des pathogènes après 45 min de l'usage de gants .....	58
<b>Figure 15</b> : Prélèvement microbiologique de l'air par impaction sur milieu gélosé .....	63
<b>Figure 16</b> : Illustrations de prélèvements d'eau (robinet, douche, piscine) .....	66
<b>Figure 17</b> : Membrane filtrante contenant des colonies après 24 h d'incubation à 37°C .....	68
<b>Figure 18</b> : Prélèvement de surfaces avec la méthode des boîtes Rodac .....	71

<b>Figure 19</b> : Boite contact après incubation et comptage des UFC bactériennes et fongiques.	73
<b>Figure 20</b> : Lames gélosées pliantes double face avec mini étuves .....	74
<b>Figure 21</b> : Interprétation des résultats .....	74
<b>Figure 22</b> : Représentation schématique d'un prélèvement de surface par écouvillonnage ...	75
<b>Figure 23</b> : Prélèvement de surface par ATP-métrie .....	77
<b>Figure 24</b> : Marquage des surfaces par fluorescence .....	78



## Introduction

Un des risques spécifiques de l'hôpital est que, du fait d'une concentration importante de patients fragiles, de personnels et donc, de microorganismes, il y a une possibilité pour les malades mais également les soignants et les visiteurs de contracter une infection pendant leur séjour dans ce lieu de soins. Ces infections contractées à l'hôpital sont appelées infections associées aux soins (IAS) ou infections nosocomiales (IN). Elles sont source de prolongation de séjour, de coût plus élevé pour la collectivité et de souffrance pour le patient et parfois sa famille.

Au sein d'un hôpital, plusieurs sources jouent un rôle dans l'apparition des infections croisées. Outre le patient infecté et/ou colonisé qui constitue la source la plus importante et le prestataire de soins, l'environnement hospitalier peut également être à l'origine de la transmission de microorganismes pathogènes et parfois multirésistants. En effet, dans les établissements de santé, le risque microbiologique lié à l'environnement doit être pris en compte car il est potentiellement pourvoyeur d'infections associées aux soins sous la forme d'infections associées à l'environnement de soins.

Au début du XXI<sup>e</sup> siècle, les maladies infectieuses restent plus que jamais un problème de santé publique. Ces infections sont très souvent favorisées par des conditions d'hygiène défailtantes, le non respect des procédures et des protocoles de soins et de traitements, la fréquence de transferts de patients d'un service à l'autre, la concentration de patients hautement vulnérables dans un même secteur (brulés, soins intensifs, urgences, néonatalogie), l'environnement hospitalier dégradé et le surpeuplement (patients, personnels, visiteurs).

Ces infections sont largement répandues, et touchent aussi bien les pays développés que les pays émergents et en voie de développement et elles figurent parmi les causes majeures de décès et de morbidité parmi les patients. Les raisons de ce succès persistant inattendu sont, entre autres, le développement continu des résistances bactériennes aux antibiotiques et des infections associées aux soins. Ainsi, des mesures adéquates sont nécessaires pour anticiper la contamination croisée entre les individus (patients, visiteurs, personnel) et l'environnement.

Les bactéries multi-résistantes (BMR) sont devenues un enjeu majeur de Santé Publique en ce qu'elles risquent, chez les patients chez qui elles se retrouveraient en situation d'infection, de conduire à une impasse thérapeutique, à tel point que l'OMS estime que ce

fléau est de nature à remettre en question les acquis les plus spectaculaires de la médecine du demi-siècle passé. De nombreuses publications objectivent leur présence dans l'environnement des patients porteurs, et leur persistance dans l'environnement, sous forme végétative ou sporulée, et ce sur des durées, certes variables en fonction du microorganisme, mais allant de plusieurs jours à bien souvent, plusieurs mois

Dans ce contexte, la maîtrise de l'environnement apparaît d'autant plus indispensable et repose, là encore, sur une démarche multidisciplinaire d'analyse des risques et nécessite de prendre en compte la survie des microorganismes pathogènes dans l'eau, l'air ou sur les surfaces. Malgré l'existence d'interventions à faible coût visant la lutte contre les infections, les pratiques standard restent très peu respectées, en particulier dans les pays à revenus faible et intermédiaire. La qualité de la prise en charge et la sécurité des soins qui leur sont administrés requiert une gestion rigoureuse des risques et une coordination des divers intervenants.

La mise en place d'une stratégie de prévention et de surveillance des infections nosocomiales n'aura de sens que si elle améliore l'impact sur le rapport coût-bénéfice car le non respect des mesures de lutte contre les infections peut compromettre chaque gain sanitaire et investissement dans le secteur de la santé. Les pouvoirs publics, les professionnels de santé, l'hygiéniste, l'épidémiologiste et le laboratoire de microbiologie doivent faire converger les efforts pour réduire et ou contrôler l'infection nosocomiale.

Les possibilités actuelles d'amélioration de la sécurité des patients et de la qualité des soins ne doivent pas être négligées. L'heure est à la collaboration. La lutte contre la transmission et la diffusion des microorganismes pathogènes multirésistants exige que l'ensemble des activités de nettoyage et de désinfection des diverses surfaces s'intègrent dans une stratégie globale de prévention et de contrôle des infections, et ce, peu importe à qui revient la responsabilité de ces activités. Cela ne peut être garanti s'il n'y a pas une prise de conscience de l'ampleur et la gravité des infections nosocomiales par les différents acteurs de l'établissement ainsi que le patient lui-même car il est primordial que cette stratégie soit connue de tous afin que chacun y adhère.

Le bon fonctionnement des établissements de santé dépend de plusieurs conditions environnementales, notamment une eau saine et suffisante, un assainissement de base, une bonne gestion des déchets d'activités de soins, des connaissances et une application adaptée de l'hygiène, et une bonne ventilation. En outre, la génération de déchets médicaux infectieux et biologiquement dangereux, l'utilisation (souvent à mauvais escient) de produits chimiques

pour la décontamination ainsi que l'incinération des déchets médicaux peuvent faire des établissements de soins eux-mêmes une source importante de pollution de l'environnement.

## **I. Environnement hospitalier**

### **I.1. Définition**

L'environnement hospitalier est constitué de l'ensemble des éléments liquides, solides ou gazeux qui environnent ou entrent en contact avec les patients, les visiteurs ou le personnel dans une structure hospitalière.

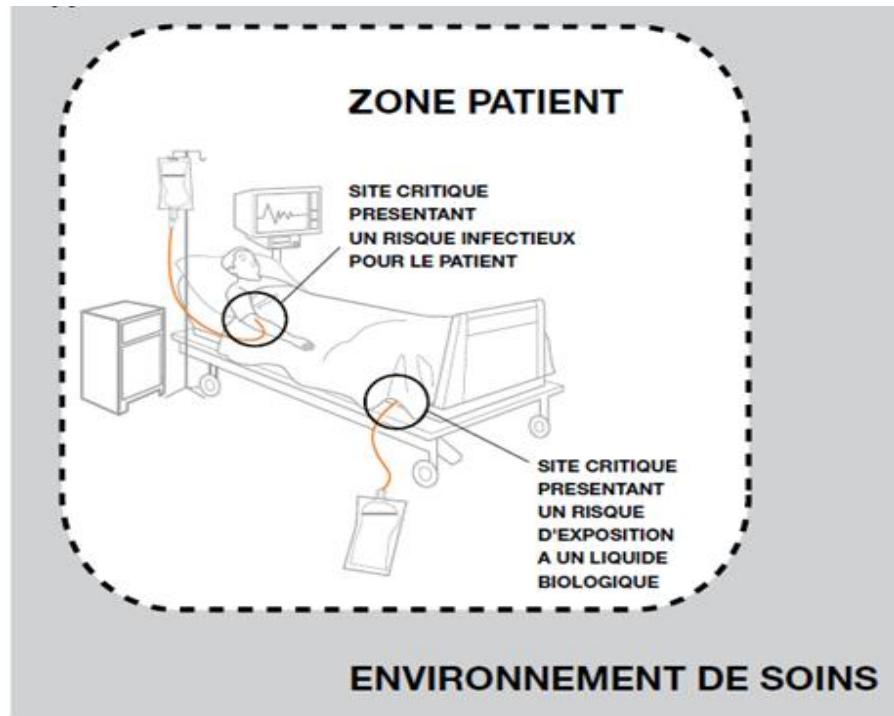
Il regroupe habituellement :

- ✓ L'air : médical ou atmosphérique
- ✓ L'eau : réseau, technique et médicale
- ✓ Les solutés : préparations injectables, solutions d'antiseptiques
- ✓ Les surfaces vivantes : les mains du personnel
- ✓ Les dispositifs médicaux :
- ✓ Le linge : linge de lit, blouse, rideaux, couverture
- ✓ Les aliments
- ✓ Les effluents hospitaliers

### **I.2. Les concepts de zone patient et zone de soins**

Les concepts de zone patient et de zone de soins ont été introduits comme un comportement opératoire centré sur l'utilisateur et visant à améliorer l'observance de l'hygiène des mains. Du point de vue de chaque patient, l'environnement dans lequel il reçoit des soins se compose de deux zones géographiques virtuelles :

- **La zone patient**, comme illustré par la figure 1, n'est pas une zone géographique statique (c'est-à-dire une zone entourant le patient et comprenant son lit ainsi que le mobilier et les équipements qui lui sont associés) mais la zone qui entoure le patient à tout instant. La zone patient englobe le patient, les surfaces et les équipements qui l'entourent (bordure de lit, scope, laiterie, respirateur, moniteur).
- **L'environnement de soins** : correspond à l'ensemble des surfaces d'un établissement de soins, en dehors de la zone d'un patient donné, et comprend tous les autres patients et leurs zones respectives, ainsi que l'environnement commun. L'environnement de soins est caractérisé par la présence de nombreux germes, y compris de germes multirésistants.



**Fig 1 :** Zone patient et environnement de soin

Les surfaces inanimées dans la zone patient sont contaminées par des microorganismes colonisant/infectant les patients de deux manières : soit par leurs l'excrétion directe par les patients ou bien via les mains des travailleurs de la santé. Les objets fortement touchés à proximité immédiate des patients sont fortement contaminés et un taux de contamination plus élevés se produit chez les patients infectés et souffrant de diarrhée contrairement aux patients colonisés. Par contre, la zone de soins peut être contaminée par des bactéries provenant de différentes zones de patients.

### **I.3. Les microorganismes de l'environnement hospitalier**

Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés on retrouve des bactéries, levures, moisissures, virus et parasites et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'Homme.

Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps et d'un établissement à un autre. Au sein du même établissement, elle varie en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées. La variation de la fréquence de contamination de l'environnement hospitalier peut résulter également de la différence entre les

méthodes d'échantillonnage et de culture, des différents taux de contamination pendant les épidémies et des différences dans les pratiques de nettoyage et de désinfection.

Le milieu hospitalier est un lieu contenant un grand nombre de microorganismes d'origine humaine ou environnementale et qui peuvent se définir comme étant des agents pathogènes obligatoires, occasionnels ou opportunistes. Tous les microorganismes ne sont pas susceptibles de provoquer une infection. Plus précisément, les agents pathogènes occasionnels peuvent provoquer des manifestations cliniques dans certaines conditions. Par exemple un *Staphylocoque epidermidis* de la peau peut infecter une blessure ou une plaie.

**a. Les bactéries** : Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients :

- **Des bactéries d'origine humaine** (flore digestive, respiratoire, cutanée) : Ces bactéries sont principalement issues de la flore des patients infectés et/ou colonisés, du personnel et, dans certaines situations, des visiteurs.

Une peau normale est colonisée par des bactéries aérobies, avec un nombre total allant de plus de  $4 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> à  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>. La flore intestinale, principalement les *Enterobacteriaceae*, participent également à la contamination de l'environnement hospitalier en raison de leur caractère commensal. Cette flore constitue un réservoir majeur d'agents pathogènes bactériens communs parmi lesquelles des bactéries multirésistantes aux antibiotiques comme *S. aureus* résistant à la pénicilline, les entérocoques résistants à la vancomycine ou les bacilles à Gram négatif multirésistants.

- **Des bactéries d'origine environnementale** (surface, air, eau, matériel) dont certaines ont de fréquentes résistances naturelles aux antibiotiques, notamment les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila* ou les mycobactéries atypiques.

Lorsque les patients sont colonisés et surtout lorsqu'il existe une infection patente, leur environnement immédiat est en général fortement contaminé par ces microorganismes (Figure 2). Ces derniers peuvent être également retrouvés dans l'environnement éloigné qui comporte l'air, l'eau et les surfaces qui entourent le patient (laiterie, poignée, lavabo, robinet, surfaces humides, ...).



**Fig 2 :** Zone patient contaminée avec les bactéries les plus fréquemment isolées des surfaces inanimées et d'équipement médical (Russotto et al., 2017)

**b. Les champignons :** La présence de champignons en petite quantité est habituelle dans les locaux, et résulte de l'accumulation de spores ou de levures apportées essentiellement par l'air ou l'eau. Ils se retrouvent dans des endroits variés, parfois insoupçonnés, dans les chambres ou les locaux communs, sur les plantes et les fleurs coupées, les cartons et les emballages, les moteurs et grilles d'aération des appareils munis de moteurs, les téléviseurs et rampes électriques, les humidificateurs d'air et les barboteurs à oxygène, etc.

Leur présence en quantité trop importante est souvent la conséquence d'un excès d'humidité (fuite d'eau par exemple) et/ou d'un déficit en nettoyage. Ainsi, des zones moissies, des poussières chargées en spores d'*Aspergillus*, des bords d'évier ou de baignoire ainsi que les becs et filtres de robinets contaminés par des levures ou par *Fusarium* représentent des réservoirs possibles de champignon. Le risque de transmission de patient à patient ou de soignant à patient est bien documenté par plusieurs cas groupés d'infections à *Candida parapsilosis* par exemple, levure commensale de la peau, mais aussi par d'autres espèces. Il résulte généralement d'un manquement aux règles de bases de l'hygiène des mains

Les spores de champignons sont presque toujours présentes dans l'air ambiant mais leur nombre et leur type changent avec le temps, la saison, la localisation géographique et

la présence de sources locales de spores. Les genres *Cladosporium* et *Alrernaria* prédominent durant les jours secs alors que, lors des travaux, *Aspergillus sp.* est retrouvé dans 17,5% à 70% des prélèvements avec une prédominance d'*Aspergillus fumigatus* suivie d'*Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

Les conidies d'*A. fumigatus* par exemple, de petite taille comprise entre 2 et 5 micromètres de diamètre, sont en suspension dans l'air contaminé et peuvent donc atteindre les alvéoles pulmonaires ou les sinus après inhalation. Seule la forme filamenteuse est présente dans le tissu pulmonaire des patients, ainsi la transmission interhumaine de champignons filamenteux n'existe quasiment pas.

La présence possible dans l'eau de champignons microscopiques, sous forme de levures et de champignons filamenteux, est connue. Cette contamination hydrique fongique a longtemps été considérée comme n'étant pas un problème majeur de santé, néanmoins, de rares épidémies à l'hôpital identifiées à *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, ou *Exophiala janselmei* ont été rapportées.

**c. Les virus :** peuvent également être présents et proviennent souvent d'un réservoir humain à localisation rhinopharyngée, pulmonaire ou cutanée pouvant être incriminés dans les infections aéroportées (certains virus responsables d'infections en pédiatrie, comme les rotavirus). Leur importance est certainement sous-estimée car leur recherche est techniquement difficile à réaliser. La survie des virus dans l'environnement est toujours favorisée par l'agrégation virale et les basses températures, par contre le rôle des matières organiques et de l'humidité relative varie.

Les virus lipophiles (VIH, VHB, VHC...) sont sensibles à de nombreux agents chimiques, mais ils peuvent survivre pour de courtes périodes sur des surfaces incorrectement désinfectées. Par contre, les virus nus, sans enveloppe, persistent plus longtemps, mais sont généralement associés à des maladies moins graves.

De même que les autres coronavirus, le SARS-CoV-2 (COV-19) est enveloppé d'une membrane lipidique fragile qui le rend plus vulnérable aux désinfectants que les virus non enveloppés tels que les rotavirus, les norovirus et les poliovirus. De grosses gouttelettes provenant de la toux, des éternuements ou du nez sont projetées sur les surfaces à moins de deux mètres de la personne infectée. Le virus est transmis à une autre personne par contact des mains avec une surface contaminée suivi d'un toucher à la bouche, au nez ou aux yeux.



Des études ont évalué la persistance du virus COVID-19 sur différentes surfaces au laboratoire et hors pratiques de nettoyage et de désinfection. L'une d'entre elles a montré que le virus pouvait demeurer viable un jour entier sur les tissus et le bois, deux jours sur le verre, quatre jours sur l'acier inoxydable et le plastique, et sept jours sur la couche extérieure d'un masque médical. Une autre a révélé que le virus survivait quatre heures sur du cuivre, 24 heures sur du carton et jusqu'à 72 heures sur du plastique et de l'acier inoxydable. Le virus survit également dans une large gamme de valeurs de pH et de températures ambiantes, mais il reste sensible à la chaleur et aux méthodes de désinfection courantes.

**d. Les parasites :** Les formes infectantes de certains parasites sont éliminées en grande quantité dans la nature à partir des hôtes parasités. C'est le cas notamment des kystes d'amibes, de *Giardia intestinalis* ou d'autres parasites. De plus, les amibes libres présentes dans les réseaux d'eau sont susceptibles d'héberger et de favoriser la survie et la multiplication de *Legionella* sp. La viabilité de ces parasites dans les milieux extérieurs est prolongée.

#### **I.4. Les facteurs influencent la survie des microorganismes dans l'environnement hospitalier**

En absence de désinfection régulière, les pathogènes nosocomiaux peuvent vivre pendant de longues périodes (Tableau I) sur des surfaces et des objets, en particulier les bactéries à Gram positif comme *C. difficile*, les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et certains bacilles à Gram négatif comme *Acinetobacter* sp., *E. coli*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* sp. ou *Shigella* sp. Cette survie dépend de différents facteurs comme la nature du germe (sporulation), la température, le taux d'humidité (>70 %), la capacité à former des biofilms, le type de surface et leur degré de salissure, en particulier leur teneur en matières organiques.

##### **I.4.1. Humidité Relative**

La plupart des bactéries à Gram positifs telles qu'*Enterococcus* spp. (ERV), *S. aureus* (SARM) ou *Streptococcus pyogenes* peuvent survivre pendant plusieurs mois sur des surfaces

sèches. Dans l'ensemble, les bactéries à Gram négatifs persistent plus longtemps dans les milieux humides que les bactéries Gram positifs.

De nombreuses espèces à Gram négatif, telles que *Acinetobacter* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, *S. marcescens* ou *Shigella* spp. peuvent survivre sur des surfaces inanimées même pendant des mois. Ces espèces figurent parmi les isollements les plus fréquents chez les patients présentant une infection nosocomiale. Cependant, d'autres bactéries à Gram négatif, telles que *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus vulgaris* ou *Vibrio cholera* ne persistent que plusieurs jours.

L'humidité améliore également la persistance des mycobactéries (*Mycobacterium tuberculosis*), bactéries sporulentes (*Clostridium difficile*), *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* qui peuvent également survivre pendant plusieurs mois sur les surfaces.

#### I.4.2. Température

Les basses températures (4°C à 6°C) améliorent également la persistance de la plupart des espèces bactériennes comme *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, corynebactéries, *E. coli*, *Helicobacter pylori* et *Neisseria gonorrhoeae*.

La survie des virus dans l'environnement est toujours favorisée par l'agrégation virale et les basses températures, par contre le rôle des matières organiques et de l'humidité relative varie. Le génome viral (ADN, ARN) est sensible à la température qui affecte les protéines et les enzymes. Pour la plupart des virus tels que Astrovirus, Adenovirus, Herpes, Hépatite A, une basse température est associée à une persistance prolongée, cependant, une température supérieure à 24°C semble diminuer universellement la survie des virus.

#### I.4.3. Type de surfaces

L'influence du type de matériau sur la persistance est controversée. Certains auteurs ont décrit une persistance plus longue sur le plastique, un avantage de survie sur l'acier et une mort complète des spores de *C. difficile* après 24 à 48 h de contact avec divers alliages de cuivre. Des études suggèrent également qu'un inoculum élevé est associé à une plus longue durée de persistance, en particulier en présence de protéines, de sérum, de crachats et d'expectorations.

L'introduction du cuivre dans la composition de certaines surfaces telles que les robinets d'eau, cuvettes des toilettes, bordures de lit, potence, paillasse de travail a permis une réduction importante du taux de contamination par des pathogènes nosocomiaux. Les bisphénols présentent un large spectre d'activité antimicrobienne. Le triclosan possède une

large gamme d'applications dans les produits de soins personnels (lavage des mains, mousses de douche, désodorisants et dentifrices), de désinfection et comme couvre-sièges, des tables, des chaises et des vêtements.

#### **I.4.4. Résistance aux agents antimicrobiens**

L'émergence de la résistance bactérienne aux biocides n'est pas un phénomène nouveau et elle a été décrite depuis les années 1950, en particulier *vis-à-vis* des biocides cationiques. Récemment, l'émergence d'une résistance bactérienne aux biocides utilisés à de faibles concentrations (Triclosan) a été largement rapportée et la possibilité d'une résistance croisée aux antibiotiques n'est pas négligeable.

La présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides (LPS) et en protéines, avec très peu de phospholipides, d'une endospore bactérienne, d'une capsule ou slimes ainsi qu'une couche de cire (mycobactéries) agissent comme des barrières de perméabilité et sont responsables de la résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens est un facteur important pour une résistance intrinsèque efficace.

Des souches de *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. Sturtii* et *S. marcescens* avec une résistance significativement accrue au chlorhexidine associée à la résistance à plusieurs antibiotiques est principalement due à l'utilisation intensive et à long terme de cette molécule.

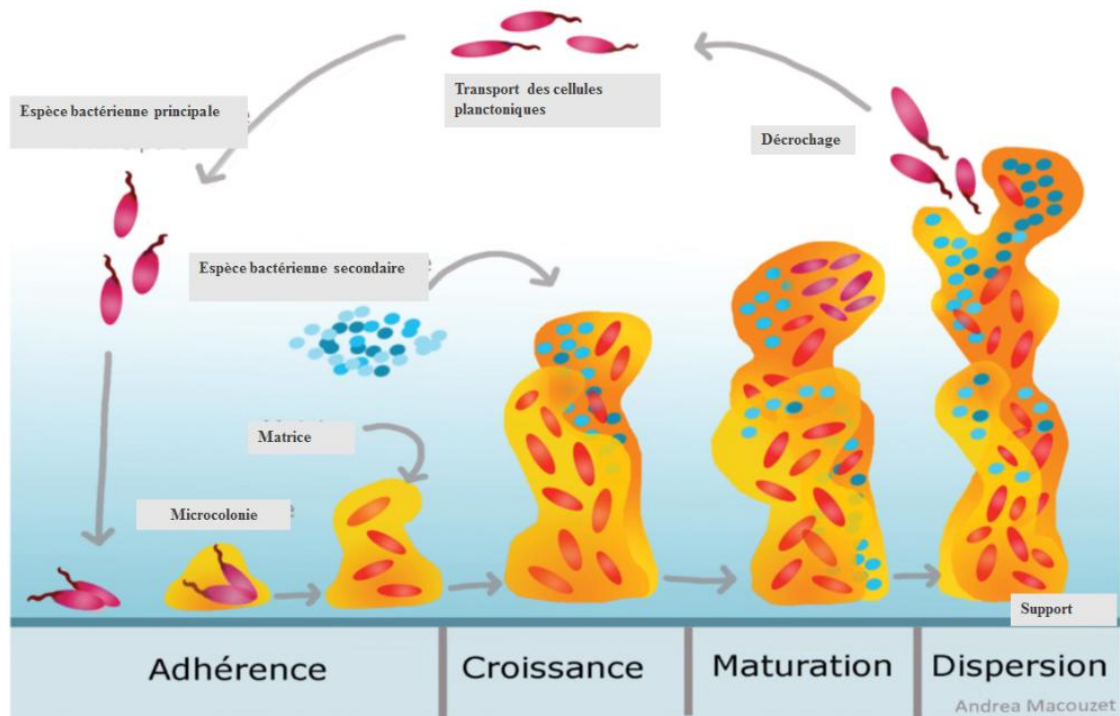
Les virus lipophiles (VIH, VHB, VHC...) sont sensibles à de nombreux agents chimiques, mais ils peuvent survivre pour de courtes périodes sur des surfaces incorrectement désinfectées. Les virus nus, sans enveloppe, persistent plus longtemps, mais sont généralement associés à des maladies moins graves.

#### **I.4.5. Formation de biofilms sur les surfaces**

L'adhésion bactérienne est une situation dans laquelle la bactérie adhère à une surface biotique (cellules de la muqueuse) ou abiotique (prothèse, cathéter, valves cardiaques) par l'intermédiaire par des interactions physico-chimiques. Suite à leur adhésion aux surfaces, les bactéries peuvent proliférer et changer de mode de vie, formant une «communauté bactérienne», appelé biofilm.

Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules microbiennes, le plus souvent hétérogènes, enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface (Figure 3). Cette matrice extracellulaire favorise l'adhésion par sa capacité à lier physiquement les microorganismes à la surface. Les interactions entre la surface et la matrice étant des liaisons

non covalentes (forces électrostatiques, liaisons hydrogènes) d'intensité relativement faible, c'est leur nombre important qui permet la force de cohésion (Hori et Matsumoto, 2010).



**Fig 3:** Etape de formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien (Yannick et al., 2014)

La matrice extracellulaire prend la forme d'un réseau de structure tridimensionnelle complexe, composé d'exopolysaccharides, d'ADN extracellulaire, de protéines et de biosurfactant. L'évolution de cette structure au cours de la formation du biofilm conduit à la création de gradients d'éléments indispensables au métabolisme bactérien, tels que l'oxygène ou les nutriments, ou des déchets qui en sont issus, telles que les toxines. La génération de ces gradients conduit à la formation de niches écologiques appropriées à l'installation et/ou au développement d'espèces ou de sous-populations adaptées à ces micro-environnements spécifiques.

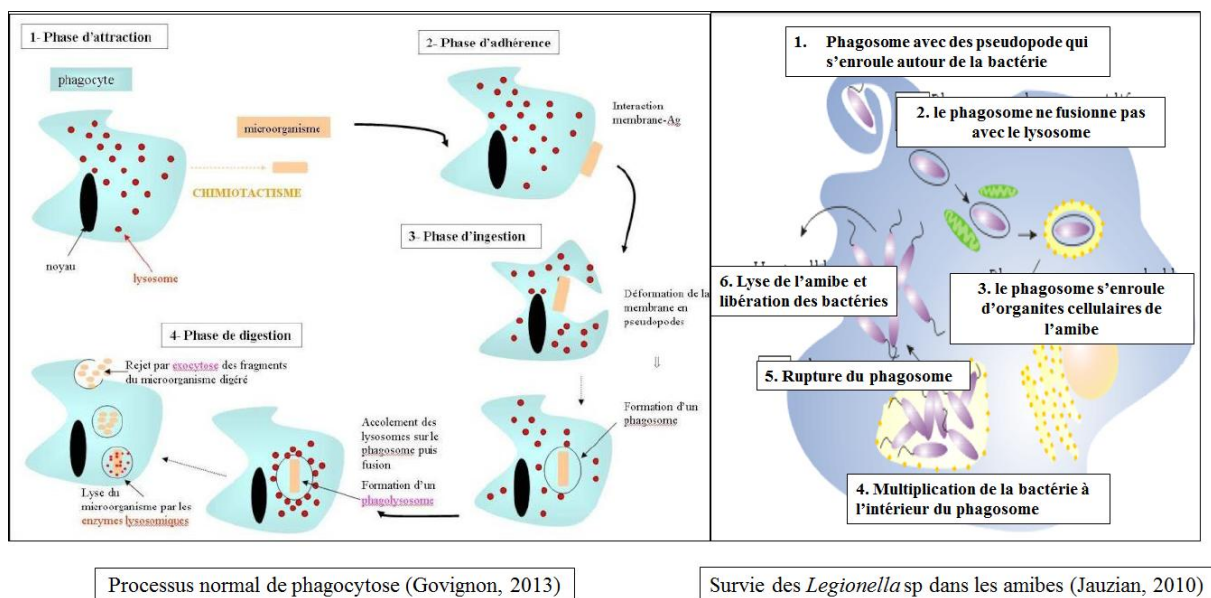
Les biofilms bactériens isolés de divers environnements partagent des caractéristiques communes : (i) les cellules bactériennes sont retenues ensemble par une matrice polymérique composée d'exopolysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques; (ii) le développement du biofilm survient en réponse à des signaux extracellulaires, soit présents dans l'environnement ou produits par les cellules bactériennes; (iii) le biofilm protège les bactéries contre le système immunitaire de l'hôte, la dessiccation et les biocides (antibiotiques et désinfectants).

Différentes stratégies permettent d'inhiber la formation du biofilm. Certaines molécules peuvent interférer avec la formation de biofilm et peuvent ainsi prévenir

l'adhérence initiale du microorganisme, prévenir la croissance microbienne, empêcher la communication entre les cellules bactériennes, inhiber la synthèse de la matrice polymérique ou bien la dégrader. Bien que la plupart de ces produits antibiofilm ne tuent pas les bactéries, elles peuvent toutefois les rendre plus susceptibles à l'action des agents antimicrobiens ou à la réponse immunitaire de l'hôte. La grande majorité de ces produits est toujours au stade expérimental.

#### I.4.6. Prolifération dans les protozoaires

Les protozoaires sont des prédateurs de bactéries. Les amibes des genres *Acanthamoebae* et *Hartmannella* sont connus pour se nourrir des *Legionella* spp. Ces amibes se nourrissent par phagocytose dans le processus normal (à lieu à une température de 22°C) implique l'intériorisation de la bactérie par des pseudopodes, la fusion de la cavité formée, la digestion de la bactérie (phagosome avec des vésicules contenant des enzymes digestive) et l'évacuation des particules non digérées vers le milieu extracellulaire (Figure 4). A 35°C, au cours de la phagocytose, un pseudopode s'enroule autour de la bactérie. L'intériorisation de la bactérie dans l'amibe à lieu, mais il n'y a pas de fusion entre le phagosome formé et les lysosomes (Figure 4). Dans certaines situations, les *Legionella* spp. demeurent à l'intérieur des phagosomes et sont expulsées sous forme de vésicules de taille inhalable avec suffisamment de bactéries pour constituer une dose infectieuse.



**Fig 4 :** Processus de survie des Légionnelles dans les amibes

## **II. Impact de l'environnement hospitalier sur la santé publique**

Avec l'avènement des techniques de typage moléculaire, il a été établi un lien causal entre la présence d'un microorganisme dans l'environnement et l'apparition d'une colonisation ou d'une infection chez un patient.

### **II.1. Impacts de l'air**

L'air ambiant est un vecteur de contamination intra-hospitalier ubiquitaire. Il disperse des particules support de différents microorganismes (bactéries, virus, spores...) pouvant par inhalation être responsables d'infections respiratoires nosocomiales chez des patients fragilisés. Les germes aéroportés peuvent être inhalés, pénétrer directement une plaie ou un instrument ou survivre sur des surfaces avant d'être transmis indirectement aux patients. Certains agents pathogènes risquent en particulier de se répandre via des patients ou des porteurs, de résister à la dessiccation, de survivre dans la poussière ou les gouttelettes, puis d'être diffusés via l'air.

Dans un hôpital, les systèmes de ventilation naturelle et artificielle influencent la qualité de l'air ainsi que le nombre de microorganismes pouvant être présents. Cela concerne les bactéries potentiellement pathogènes comme les streptocoques pyogènes et les staphylocoques dorés mais également pour les spores de moisissures parmi lesquelles *Aspergillus* spp.

La qualité de l'air joue un rôle dans l'apparition d'infections post-opératoires des plaies et l'aspergillose pulmonaire invasive. Le rôle de l'air dans la survenue des infections du site opératoire a essentiellement été étudié dans les interventions de chirurgie orthopédique prothétique. Lidwell a démontré que le niveau de contamination de la plaie opératoire ainsi que le taux d'infection postopératoire en chirurgie orthopédique prothétique étaient liés au niveau de contamination de l'air du bloc opératoire.

L'importance réside dans l'entretien préventif adéquat des systèmes de traitement de l'air. La mise en place dans les blocs de filtration de haut niveau de l'air a permis de diminuer de plus de deux fois le taux d'infections postopératoires (de 3,4% à 1,6%), mais à un niveau moindre que l'utilisation d'une antibioprofylaxie (de 3,4% à 0,8%) ou que l'association d'une filtration et d'une antibioprofylaxie (de 3,4% à 0,7%).

Les champignons responsables d'infections fongiques nosocomiales associés aux travaux (constructionrelated nosocomial infection) Tous les champignons filamenteux peuvent être

retrouvés lors de travaux hospitaliers, en particulier de démolition ou de rénovation. Néanmoins, certains champignons sont retrouvés dans l'air de façon plus fréquente, sans que l'on sache bien s'il s'agit d'une fréquence réellement accrue ou d'une mise en évidence plus facile selon les milieux et la température de culture utilisés pour leur recherche.

C'est *Aspergillus* sp. et en particulier *A. fumigatus* qui est le plus fréquemment associé aux IFI nosocomiales. D'autres *Aspergillus* peuvent aussi être mis en cause dans l'apparition des infections nosocomiales après travaux tels qu'*A. flavus* et *A. niger*. On retrouve ensuite les zygomycoses, et les infections dues à *Scedosporium* sp., *Fusarium* suivi des autres champignons plus rares.

On distingue deux groupes :

- **Les microorganismes de l'air extérieur (flore saprophyte extérieur) :** rarement pathogènes qui varient en quantité et en qualité en fonction du lieu et des conditions atmosphériques. On trouve en majorité des *Bacillus*, des microcoques et des staphylocoques à coagulase (-) mais d'autres espèces peuvent être isolées, comme les bacilles Gram (-) et les microorganismes anaérobies de la flore tellurique (tels *Clostridium perfringens* ou *C. tetani* sous forme de spores). Cette flore de base peut contenir aussi des levures et des champignons.
  
- **Les microorganismes de l'air intérieur hospitalier :** sont souvent le reflet de la flore commensale humaine des patients et des soignants. Les bactéries les plus fréquemment isolées ont une origine cutanée (germes aérobies, comme les Staphylocoques à coagulase (-), les Corynebactéries et *Bacillus*, germes anaérobies comme *Propionibacterium acnes* (cocci anaérobies). La flore d'origine humaine comporte également des bacilles à Gram (-) de la flore intestinale, des streptocoques et des *Corynebacteries* de la flore de l'oropharynx.

**Les principaux germes aéroportés sont les suivants :** *Staphylococcus aureus*, Staphylocoques à coagulase négative (CoNS), *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter* spp., *Mycobacterium tuberculosis* (TB), Norovirus, Virus influenza, Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), Spores de *Clostridium*, *Legionella* spp. Et *Aspergillus* spp.

Les patients infectés ou colonisés par le SARM sont connus pour émettre des SARM dans l'air en association avec une desquamation de l'épithélium. Le taux d'émission moyen de SARM dans l'air par un patient infecté a été estimé à 325 UFC/min voir 19 500 UFC/h.

Lors de la visite dans la chambre d'un patient infecté, le personnel de soin toucherait la peau du patient (à l'exclusion de ses mains), ce qui pourrait transférer les bactéries de la peau du patient à la peau du autre patient. Une étude a révélé que 0,1 à 3 CFU étaient transférés par minute d'un site cutané infecté aux mains d'un travailleur de la santé

## **II.2. Impacts de l'eau**

Les usages de l'eau sont très variés, multipliant ainsi les modes d'exposition des patients au risque de contamination par des microorganismes d'origine hydrique : entre autres l'usage alimentaire, sanitaire, technique (réfrigérateur et des eaux de climatisation), et thérapeutique (eau de dialyse, eau des piscines de baignation, eau rinçage des dispositifs médicaux).

### **II.2.1. Type d'eau à l'hôpital**

Il existe plusieurs types d'eau aux exigences microbiologiques particulières pour des indications particulières :

**a- l'eau de réseau public** : usage alimentaire, hygiène du malade sans risque particulier et du personnel, des locaux, des mains non chirurgicales ainsi que pour le nettoyage et le rinçage de certains dispositif médicaux (sauf en cas d'accès à une cavité stérile). Cette eau ne fait pas l'objet d'un contrôle microbiologique (pas stérile).

Ces eaux doivent ne pas contenir un nombre ou une concentration de microorganismes, de parasites ou de toutes autres substances constituant un danger potentiel pour la santé des personnes et être conformes aux limites de qualité (*Escherichia coli*, coliformes, entérocoques, germes aérobies revivifiables à 22°C et 36°C, bactéries sulfitoréductrices, *P. aeruginosa*) pour la santé du consommateur.

**b- l'eau à utilisation purement technique** : climatisation, installations de refroidissement par pulvérisation d'eau dans un flux d'air, laboratoire et chauffage et ne fait pas l'objet **d'un contrôle microbiologique.**

**c- l'eau bactériologiquement maîtrisée** : Présentant une qualité bactériologique supérieure à celle du réseau de distribution. Elle est destinée aux patients les plus vulnérables, pour des soins au contact des muqueuses ou exposant à un risque infectieux particulier (le rinçage



terminal des fibroscopes bronchiques), l'eau stérile, d'eau de dialyse. Cette eau est microbiologiquement propre (Stérile).

La qualité de cette eau est obtenue soit après traitement chimique (chloration), soit après traitement physique (filtration, ultraviolets,...). Les systèmes de microfiltration au point d'usage (porosité moyenne de 0,2  $\mu\text{m}$ ) peuvent être soit dits à usage unique ou bien stérilisables et réutilisables.

### **II.2.2. Contamination de l'eau**

Les principaux risques sanitaires liés à l'utilisation de l'eau dans les établissements de santé sont essentiellement de nature infectieuse (lié à des microorganismes saprophytes, opportunistes ou pathogènes) et plus rarement toxique. Si la présence de bactéries, de virus et de champignons constitue un risque à court terme, celle de substances toxiques est associée le plus souvent à un risque à moyen et à long terme, hormis le cas des pollutions accidentelles. Cette contamination peut avoir une double origine :

- Elle peut provenir de l'eau du réseau public. En effet, bien que celle-ci soit toujours potable, elle peut cependant, à la suite d'une pollution accidentelle, véhiculer des microorganismes ou des substances chimiques, la rendant alors dangereuse pour certains malades vulnérables.
- Elle peut également être due à une dégradation de la qualité de l'eau à l'intérieur du réseau de distribution de l'établissement qui peut survenir à tout moment entre le lieu de production et le robinet de l'utilisateur. L'eau est en général contaminée par des microorganismes de l'environnement hospitalier au niveau des réservoirs ou dans les réseaux intérieurs de distribution des bâtiments.

Au sein de l'ES, l'eau joue un rôle de réservoir ou de vecteur de microorganismes. Ces microorganismes se multiplient facilement dans les réseaux lorsque les conditions de stockage, de circulation ou de filtration sont défectueuses (bras morts, température de production de l'eau chaude sanitaire insuffisante, entartrage des canalisations, des ballons ou des éléments de robinetterie, systèmes de climatisation défectueux ou mal entretenus). La réalisation de travaux en l'absence d'une désinfection efficace, l'étendue et la complexité des réseaux intérieurs ainsi que la formation d'un biofilm à l'intérieur des canalisations contribuent également à la prolifération de ces derniers.

De plus, l'ensemble des éléments de robinetterie est soumis à un risque de contamination rétrogradé par des bactéries colonisant ou infectant les patients (éclaboussures lors de l'élimination de produits biologiques, du lavage des mains).

### **II.2.3. Mécanismes de contamination des circuits d'eau à l'hôpital**

Dans une canalisation d'eau, les matières organiques dissoutes dans l'eau se déposent sur les parois et forment un film primaire conditionnant, composé de macromolécules nutritives. Les bactéries, apportées en permanence par le flux liquide, entrent en contact avec la paroi grâce aux mouvements, turbulences, faible circulation ou stagnation de l'eau. L'adhésion bactérienne dépend de la nature des matériaux, de l'espèce bactérienne et des conditions environnementales.

Des forces physiques, de type Van der Waals ou électrostatiques, assurent l'adhésion de la première couche bactérienne qui est renforcée par la sécrétion par les bactéries de polymères exocellulaires permettant ainsi de fixer les cellules bactériennes à la paroi. L'apport continu par le flux liquide d'oxygène et de substances nutritives CODB (carbone organique dissous biodégradable par la flore bactérienne du réseau) entraîne la croissance bactérienne sous forme de microcolonies.

### **II.2.4. Les principales infections nosocomiales bactériennes d'origine hydrique**

Le degré de gravité des manifestations pathologiques liées à l'eau est très variable : il va des gastro-entérites plus ou moins graves et de parasitoses (risque fécal en général) à des atteintes cutanées ou pulmonaires parfois fatales. La gravité des infections varie selon :

- **La nature des microorganismes** : certains ont une faible dose minimale infectieuse (virus et parasites entériques) ; il suffit de moins de 1 à 10 UFC pour infecter un individu susceptible alors que d'autres doivent être présents en quantité beaucoup plus importante pour initier l'infection. Ainsi, pour la voie orale, la dose infectieuse minimale rapportée pour la plupart des agents bactériens dépasse 1000 unités formant colonie.
- **Les voies d'exposition** : les principales voies d'exposition sont constituées par l'ingestion (eau et denrée alimentaire). Le contact cutanéomuqueux concerne surtout les eaux, voire les boues utilisées pour les soins (*Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*). L'inhalation d'aérosols contaminés (*Legionella*, *Flavobacterium*, *Actinomyces*, endotoxines bactériennes), l'accès parentéral (dialyse) (*Pseudomonas* et *Aeromonas*...) et l'utilisation de dispositifs médicaux invasifs.

- **L'état immunitaire des patients exposés** : un terrain immunitaire déficient permet plus facilement à un microorganisme d'exprimer sa virulence et aux pathogènes opportunistes de déclencher une infection. La vulnérabilité de certains patients peut être la conséquence d'un syndrome immuno-déficitaire congénital (SCID...) ou acquis (sida, cancer, dénutrition sévère...) ou par immunodépression lors des greffes, des transplantations d'organes ou bien par administration d'immunosuppresseurs.

Dans les hôpitaux, la contamination de l'eau a conduit à de nombreuses pathologies hospitalières, notamment :

**a. Les infections respiratoires**

Elles sont liées à l'inhalation d'aérosols contaminés dues le plus souvent à des bactéries à Gram négatif comme, par exemple, *P. aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter*, et à certaines mycobactéries. Elles sont plus particulièrement susceptibles d'affecter des patients immunodéprimés ou des patients dont les parois des cellules épithéliales bronchiques ont été altérées. Elles peuvent également atteindre les patients ventilés mécaniquement ou ayant eu un lavage bronchoalvéolaire, voire gastrique avec reflux ou une aspiration endotrachéale.

**Epidémies de *Legionella pneumophila*** : Les légionelloses se manifestent sous deux formes cliniques distinctes :

- **La fièvre de Pontiac**, syndrome pseudo-grippal bénin, ne s'accompagnant pas de pneumonie. La durée d'incubation varie de 5 heures à 4 jours (habituellement 24 à 48 heures) et la guérison est habituellement spontanée (2 à 5 jours).

- **La maladie des légionnaires**, pneumopathie aiguë grave à déclaration obligatoire depuis 1987, dont le traitement nécessite l'administration d'antibiotiques adaptés (macrolides, fluoroquinolones). La contamination des personnes exposées se fait essentiellement par inhalation d'eau contaminée diffusée en aérosol (climatisation, douches, aérosols à visée thérapeutique). Ces aérosols atteignent les alvéoles pulmonaires, infestent les macrophages pulmonaires et provoquent leur destruction.

Les facteurs prédisposant à cette maladie sont l'âge croissant, l'alcoolisme, le tabagisme, l'immunodéficience, les affections respiratoires chroniques, maladies rénales chroniques, diabète, transplantation d'organe, greffe de la moelle osseuse, cancéreux.

Les *légielles* sont présentes à l'état naturel dans les eaux douces (lacs et rivières) et les sols humides. A partir du milieu naturel, la bactérie colonise des sites hydriques artificiels lorsque les conditions de son développement sont réunies. Ces bactéries survivent à des températures basses, se multiplient à des températures comprises entre 20 et 45 °C et sont détruites à des températures plus élevées. Sa prolifération peut ainsi être favorisée par les conditions présentes dans différentes installations dites « à risque » telles que les réseaux d'eau chaude, les circuits des tours aéroréfrigérantes, les bains à bulles et les humidificateurs. Les pommeaux de douche ou les robinets qui n'ont pas été utilisés depuis un moment (ce qui permet aux germes de se multiplier dans l'eau stagnante) sont une source fréquente de contamination.

### **b. Les infections à tropisme digestif**

La plupart des microorganismes susceptibles d'être présents dans l'eau et à l'origine d'infections digestives ne sont pas spécifiques au milieu hospitalier. C'est le cas des gastro-entérites et des diarrhées dues à des virus (calicivirus, entérovirus, rotavirus), des bactéries (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria*), des parasites (*Giardialamblia* et *Cryptosporidium parvum*) et à certain virus hépatique liées à l'eau (virus de hépatites A et E).

### **c. Les infections cutanéomuqueuses**

Ces infections, liées à un contact direct avec de l'eau contaminée, peuvent conduire à des septicémies, en particulier en chirurgie à cœur ouvert. Les germes en cause sont *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Mycobacterium*. Plus récemment, on a constaté des pathologies d'origine amibienne, comme des kératoconjunctivites à *Acanthamoeba*, liées au rinçage des lentilles de contact à l'eau du robinet.

### **d. Les infections ostéoarticulaires**

L'inoculation de *Mycobacterium xenopi* au contact de l'os par le biais de matériel de chirurgie endoscopique rincé avec de l'eau en contenant, a provoqué des infections osseuses invalidantes. La mise en évidence de ce mode d'infection lié à un mésusage (eau de qualité non stérile pour le rinçage de matériel à usage chirurgical) a fait prendre conscience de l'existence possible de micro-organismes dans une eau filtrée dans l'établissement, eau par ailleurs

conforme aux critères réglementaires de qualité microbiologique des eaux destinées à la consommation humaine

### **II.3. Impact des appareils médicaux**

Plusieurs travaux ont rapporté le rôle du matériel médical dans la chaîne de transmission des microorganismes. Les fibroscopes sont des véritables vecteurs de la flore endogène d'un patient à un autre. Par cette technique, des bacilles à Gram négatif (entérobactérie, *Pseudomonas*) ou des cocci à Gram positif (*Enterococcus*, *Staphylococcus*) sont responsables d'infections croisées.

En endoscopie gastro-intestinale, les principaux pathogènes à craindre sont les Salmonelles ou les *Pseudomonas*, en bronchoscopie, se surajoutent les mycobactéries d'où l'importance de mettre des protocoles valides pour désinfecter ces appareils.

En réanimation, les risques de pneumopathies liées à la ventilation mécanique sont connus (infections à *Pseudomonas aeruginosa* à *Stenophomonas maltophilia*, à *Acinetobacter baumannii*.....) et nécessitent une lutte précise et continue.

Le petit matériel est également à surveiller et, dans certains cas, le patient hospitalisé doit bénéficier d'une attribution personnelle. Des souches impliquées dans les infections nosocomiales quelles soit d'origine commensale ou bien saprophyte (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, SARM, ERV, *A. baumannii* multirésistants aux antibiotiques) ont été retrouvées sur du matériel contaminé après utilisation par les médecins tel que les stéthoscopes, potence, brassards de pression artérielle, systèmes d'aspiration, compresse, table opératoire, cassettes d'imagerie radiologique, seringue électrique, respirateur, électrocardiogramme, masque à oxygène. Il s'agit soit d'un matériel partagé entre les patients ou du matériel réutilisable imparfaitement désinfecté ou stérilisé.

### **II.4. Impact du linge**

Le linge à l'hôpital est facilement et très rapidement contaminé lorsqu'il est en contact avec le malade. Il peut être contaminant dans son circuit d'évacuation, voire dans son circuit propre lorsqu'il se trouve être accidentellement contaminé. Cette contamination peut être liée : soit à une insuffisance de lavage, soit à une rupture de la chaîne au cours du circuit propre du linge.

La nature du linge hospitalier a beaucoup évolué ces dernières années afin de répondre aux contraintes économiques, aux contraintes liées à la prévention du risque

infectieux et au confort du patient. Le coton cède actuellement la place aux mélanges polyester/coton ou au polyester pur, du fait de la facilité d'entretien de ces derniers et de leur propriété "barrière". On distingue selon la technique de repassage utilisée :

- Le linge plat qui correspond au, grand plat (draps, couvre lit, etc.) et au petit plat (serviette de bain, de table, etc.)
- et le linge en forme comprend les vêtements pour le malade (pyjama, chemise de nuit) et le tenues de personnel (blouse, tunique, pantalon, etc.).

Le linge après utilisation est toujours contaminé soit par des germes saprophytes et commensaux, soit par des germes pathogènes, reflets de l'écosystème du service hospitalier. Ces microorganismes sensibles ou résistants aux antibiotiques, sont détruits par les techniques habituelles de blanchissage. Cette flores est représentée par la :

**a. Flores commensales** : ne sont pas dangereuses pour des sujets normaux, mais elles peuvent être opportuniste, c'est à dire provoquer des infections chez des sujets immunodéprimés.

- Bactéries d'origine cutanée : *Staphylococcus aureus*, Staphylocoque à coagulase négatif, *Corynebacterium sp.*, etc.
- Bactéries d'origine digestive : *Enterococcus sp*, *Eschirichia coli*, *Klebsiella*, etc.
- Bactéries Gram négative à métabolite oxydatif : *Acinetobacter baumannii* et *P. aeruginosa*.
- La présence de bactéries résistantes a été également décrite.

**b. Flores pathogènes** : peuvent se trouver dans les différentes salissures que peut porter le linge hospitalier, les principales souillures et les microorganismes ou virus qu'elles peuvent contenir sont :

- Le sang : virus de SIDA, virus de l'hépatite B, germes responsable d'infection diverse
- Le pus : Staphylocoque dorée, *P. aeruginosa*, Streptocoques hémolytiques A
- L'urine : germes responsables d'infection urinaire (entérobactéries, Staphylocoques, entérocoques, *Pseudomonas*,...)
- Les matières fécales : Salmonelles, Shigelles, autres entérobactérie Vibriion cholérique, parasites (amibes, oxyures, larves de ténia)
- Salive : Bacille de Koch, Pneumocoques, ...

On peut distinguer des infections liées soit au linge sale ou bien au linge propre et qui peuvent touchées les patients hospitalisé, mais également les membres du personnel.

#### **II.4.1. Linge sale**

Le linge sale peut contaminer les mains, la tenue vestimentaire des soignants et l'environnement et participer à la transmission croisée des microorganismes. La diffusion des germes peut se faire au cours des manipulations, soit par aérocontamination, par les mains du personnel, ou bien par contact direct du linge souillé sur une surface.

##### **Exemples de contamination par du linge sale**

- 65% des soignants et 42% du personnel de ménage contaminent leurs blouses (manches et poches) en s'occupant d'un patient porteur de SARM
- Contamination aérienne importante de l'air de la zone de tri du linge sale dans une blanchisserie : l'air contenait plus de 540 UFC/m<sup>3</sup> en activité contre moins de 10 UFC/m<sup>3</sup> au repos.
- Epidémie chez le personnel en blanchisserie liée à *Salmonella hadar* due à la contamination fécale du linge
- Epidémie de gale et de teigne (*Trichophyton tonsurans*) véhiculées par le linge et transmise à aux personnels qui n'ont pas eu de contact direct avec les patients infectés mais plutôt avec du linge sale.

#### **II.4.2. Linge propre**

Dans des conditions normales (traitement, manipulation, stockage), le linge propre contient très peu de microorganismes qui sont en général issus de l'environnement et peu pathogènes (*Bacillus sp.*, *Micrococcus*). Du linge propre contamine par des microorganismes a été rendu responsable d'infections nosocomiales chez des patients fragiles (nouveau-nés) du fait de dysfonctionnements importants sur les procédés de traitement et de conditionnement.

##### **Exemples de contamination par du linge propre**

- Epidémie d'infections à *Streptococcus pyogenes* chez des nouveau-nés pendant trois hivers consécutifs. *Sécheuses à tambour domestiques*
- Infections graves à *Acinetobacter* due à des oreillers à plumes insuffisamment séchés
- Méningites post-opératoires à *Bacillus cereus*, bactérie sporulante résistante à une température insuffisante, se multipliant dans l'enveloppe plastique des draps resté humide ;

- Entérocolites nécrosantes chez des nouveau-nés en maternité. *Portage de Staphylococcus aureus* par un agent de blanchisserie ;
- Apparition de pustules cutanées à Staphylocoques chez des nouveau-nés, transmise par les couches. Portage par les mains et le rhino-pharynx agent de blanchisserie

### **II.4.3. Blanchisserie**

Des infections ont été décrites chez du personnel de blanchisserie ne respectant pas les règles d'hygiène (gants de protection non portés pour manipuler le linge souillé, prise de repas dans la pièce de tri du linge sale,...) : salmonellose mineure, fièvre Q, gale, hépatite A ou hépatite B.

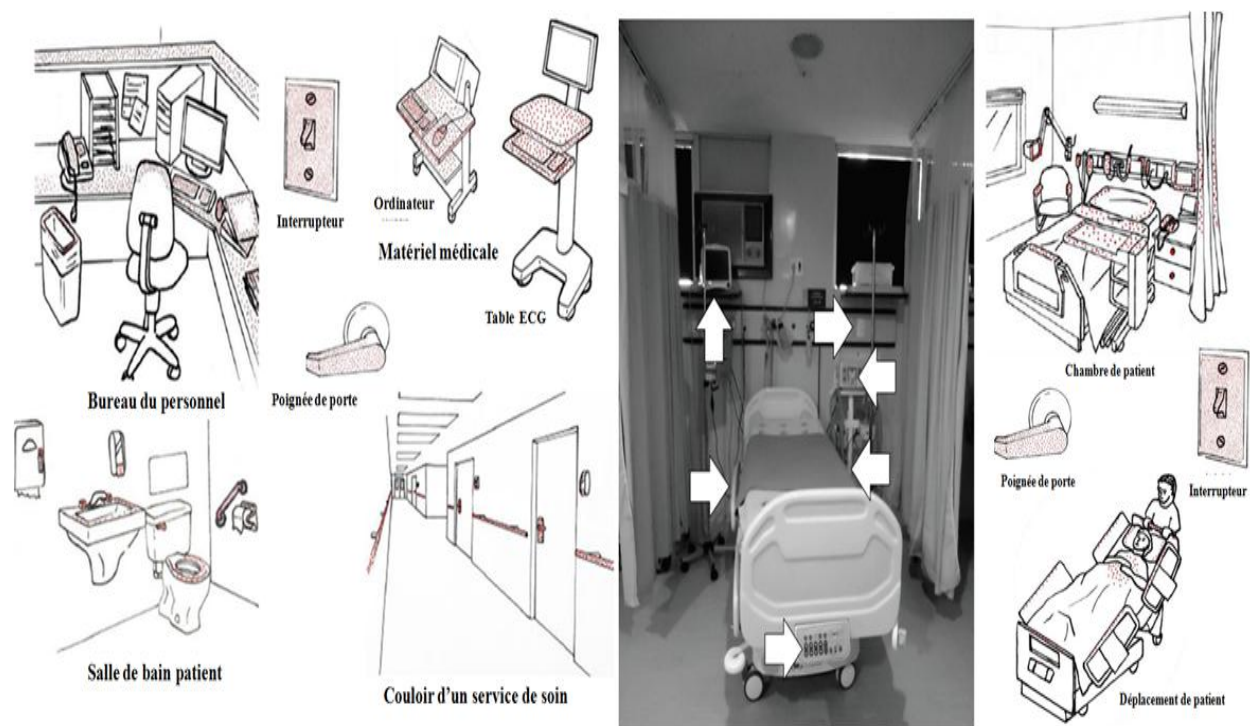
### **II.5. Impact des surfaces et des objets**

Dans les établissements de soins, on entend par surfaces environnementales notamment les meubles et tous les autres objets ou surfaces fixes situées à l'intérieur et à l'extérieur des chambres et des salles de bains tels que tables, chaises, murs, interrupteurs et périphériques d'ordinateur, matériel électronique, éviers et toilettes ainsi que le matériel médical non essentiel (brassards de tensiomètre, stéthoscopes, fauteuils roulants et incubateurs). Hors milieu hospitalier, il s'agit, entre autres, des éviers et des toilettes, des appareils électroniques (écrans tactiles et télécommandes), des meubles et de tous autres objets ou surfaces fixes, tels que comptoirs, rampes d'escalier, sols et murs.

Les surfaces en milieu de soin et plus précisément celles dans l'environnement entourant le patient (zone patient et zone de soins) sont subdivisées en deux catégories distinctes, selon qu'il s'agit de surfaces à contact fréquent ou à contact peu fréquent (Figure 5). Le niveau quantitatif de contamination des surfaces diffère selon le type de surfaces, le service et la politique de nettoyage et de désinfection.

La probabilité de contamination d'une surface, du matériel ou d'une zone de soins dépend aussi des types d'activités menées. Les zones peuvent être réparties en surface à forte contamination par du sang et des liquides biologiques (chambre de naissance, centre des brûlés, unité d'hémodialyse, salle des urgences, salle de bains des patients souffrant de diarrhée ou d'incontinence), surface modérément contaminée (chambre de patient) et des surfaces légèrement contaminées (aires de repos, bibliothèques, bureaux).





**Fig 5 :** Exemples d'objets et de surfaces à contact fréquent se trouvant dans l'environnement des soins

Les surfaces hospitalières sont contaminées par la flore atmosphérique véhiculée par les poussières, et composées de saprophytes (*Bacillus*, sarcines, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, etc.) résistants à la dessiccation. L'émission par l'Homme de gouttelettes de salive, la formation de drôplet nucléé et la dissémination de squames cutanées, entraînent également la présence dans l'air d'une flore d'origine humaine (commensale et/ou potentiellement pathogène) qui vont finir après sédimentation sur les surfaces.

Les milieux secs et empoussiérés (sols, surfaces) peuvent conserver plusieurs jours ou plusieurs semaines durant des microorganismes à Gram (+) comme *S. aureus*, *Streptococcus* ou *Enterococcus*. Certains germes à Gram (-) peuvent persister huit jours, tel : *Acinetobacter*, que l'on peut isoler au niveau des matelas, des dossier de lit, des tablettes, des téléphones, des cafetières, des rebords de fenêtre, des éclairages et des blouses. *P. aeruginosa* résiste mal à la dessiccation (un jour en virant), et *S. maltophilia* encore moins ; ils sont très rarement retrouvés directement sur les surfaces.

La capacité des surfaces contaminées dans la transmission des agents pathogènes nosocomiaux repose sur plusieurs déterminants. Tout d'abord, i) l'agent pathogène doit pouvoir survivre sur les objets et les surfaces dans l'environnement pendant une période

suffisamment longue, tout en conservant sa capacité de virulence ou sa capacité à coloniser un hôte sensible ; ii) si la fréquence ainsi que les niveaux de contamination sont suffisamment élevés pour entraîner une transmission et iii) la capacité des agents pathogènes de rester viables sur diverses surfaces biotiques et abiotiques. De plus, des facteurs liés à l'hôte (âge, statut immunitaire, procédure invasive, site de l'infection) et à l'agent infectieux (virulence, taille de l'inoculum) jouent un rôle important dans la survenue d'une éventuelle infection.

### **III. Risques infectieux liés à l'environnement hospitalier**

#### **III.1. Infections lié aux soins (IAS)**

L'appellation «infections associées aux soins » introduite en 2007 en France par le Comité Technique des Infections Nosocomiales et des Infections Liées aux Soins (CTINILS) est une adaptation à l'évolution internationale des concepts (Parneix, 2010).

Le critère principal définissant une IAS est constitué par la délivrance d'un acte ou d'une prise en charge de soins au sens large (à visée diagnostique, thérapeutique, de dépistage ou de prévention primaire) par un professionnel de santé ou le patient ou son entourage, encadrés par un professionnel de santé. Elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge dans une structure de soin.

Aucune distinction n'est faite quant au lieu où est réalisée la prise en charge ou la délivrance de soins, à la différence de l'infection nosocomiale qui garde son sens de "contracté dans un établissement hospitalier".

Les infections liées aux procédures de soins peuvent être contractées à tout moment pendant les soins, qu'ils soient de longue durée, à domicile ou ambulatoires. Elles touchent un grand nombre de patients et d'agents de santé chaque année et souvent, amplifient les épidémies. Elles peuvent entraîner une prolongation de l'hospitalisation, une incapacité à long terme, une résistance accrue des microorganismes aux antimicrobiens, une charge financière supplémentaire importante pour les systèmes de santé, un coût élevé pour les patients et leur famille et des décès.

En 2017, les quatre types infections les plus fréquentes représentent plus de 80 % de toutes les infections liées aux procédures de soins sont: les infections des voies urinaires (généralement associées aux cathéters), les infections du site opératoire (celles liées à des interventions chirurgicales), les bactériémies (celles liées à la circulation sanguine généralement associée à l'utilisation de dispositifs intra-vasculaires) et les pneumonies (généralement associée à la ventilation mécanique). Les infections de la circulation sanguine et la pneumonie sont moins courantes, mais sont associées à des taux de mortalité beaucoup plus élevés (jusqu'à 50 %).

Le risque de complications infectieuses est accru du fait de l'âge (plus de la moitié des patients infectés ont 65 ans et plus), du terrain (près d'un patient sur 10 présente une immunodépression), mais aussi en fonction des actes médicaux ou chirurgicaux auxquels les patients sont exposés.

Les IAS concernent les patients, malades ou non, mais également les professionnels de santé et les visiteurs. Les agents de santé sont exposés aux nombreux microorganismes présents chez les patients (flambées de fièvre hémorragique Ebola au Soudan, piqûres d'aiguille et transmission du virus de l'hépatite C).

Dans certaines situations épidémiques, ils sont également gravement touchés. L'OMS estime que la charge mondiale de morbidité due à l'exposition professionnelle aux infections par les virus de l'hépatite B et C est d'environ 40 %, et que 4,4 % des infections par le virus de l'hépatite C chez les agents de santé sont attribuables à des blessures percutanées au travail.

Les microorganismes à l'origine des IAS sont des virus, des champignons, des parasites et, plus fréquemment, des bactéries. Aussi bien les microorganismes présents sur la peau ou sur les muqueuses des patients (flores endogènes) que les microorganismes transmis d'un patient à un autre, par le personnel soignant ou par l'environnement du patient (flores exogènes) sont à l'origine des IAS. Dans la plupart des cas, les mains du personnel soignant sont le véhicule de transmission de la source au patient.

La survenue de ces infections est favorisée par de nombreux microorganismes appartenant à la flore hospitalière avec une prépondérance des staphylocoques et des bacilles à Gram négatif. De nombreux virus appartenant à des familles virales distinctes dont les *Retroviridae* et les virus des hépatites sont aussi responsables des IAS. Par ailleurs, il existe également d'autres pathogènes particuliers que sont les prions encore appelés agents transmissibles non conventionnels (ATNC) responsables de certaines IAS (encéphalopathies spongiformes).

### **III.2. Les infections nosocomiales**

Les infections nosocomiales aussi « appelées infections hospitalières » sont des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission du patient. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement.

Les infections survenant plus de 48 heures après l'admission sont habituellement considérées comme nosocomiales. Pour les infections du site opératoire, on considère habituellement comme infection nosocomiale les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou, s'il y a mise en place d'un implant, d'une prothèse ou d'un matériel prothétique dans l'année qui suit l'intervention.

### III.2.1. Origines des infections multiples

Ces infections peuvent être directement liées aux soins dispensés au patient (par exemple l'infection sur cathéter) ou simplement survenir lors de l'hospitalisation, indépendamment de tout acte médical (par exemple une épidémie de grippe). Il existe plusieurs types d'infections nosocomiales relevant de modes de transmission différents :

**a. Les infections d'origine "endogène" :** le malade s'infecte avec ses propres microorganismes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière (Figure 6).

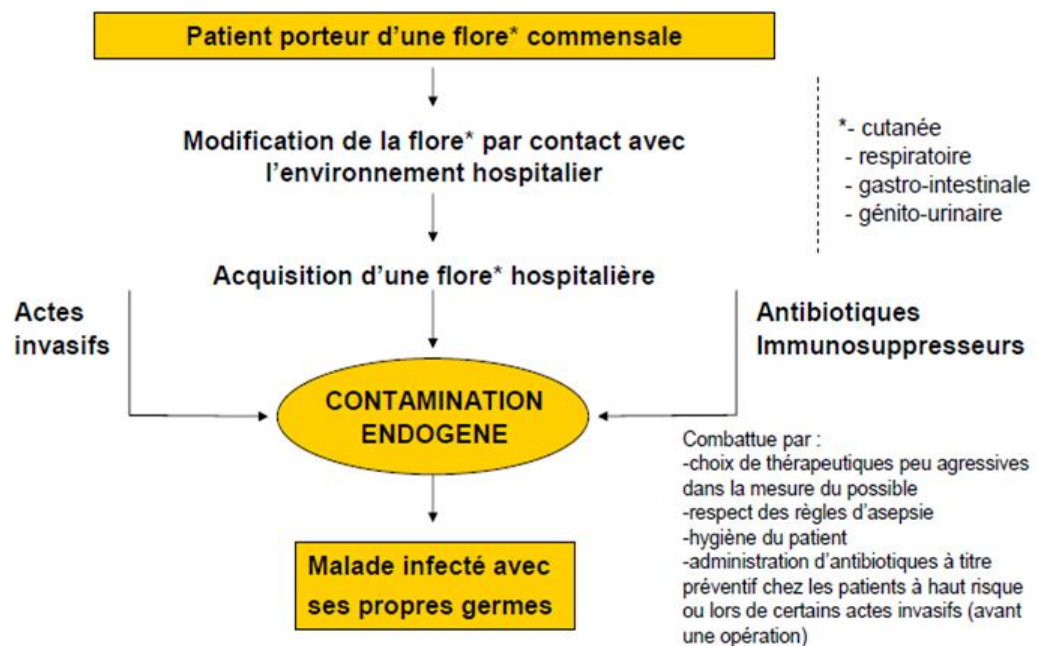


Fig 6 : Les infections d'origine endogène

**b. Les infections d'origine "exogène" :** Les microorganismes ont pour origine les autres malades (transmission croisée entre malades ou par les mains ou matériels des personnels), les personnels ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, équipements, alimentation ...) (Figure 7).

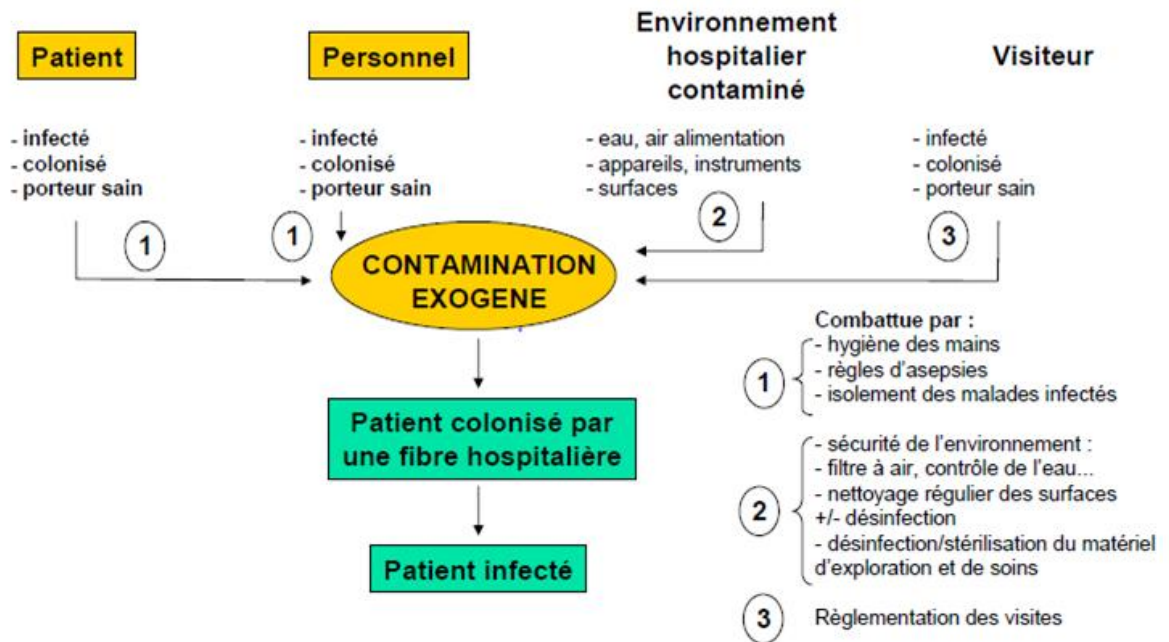


Fig 7 : Les infections d'origine exogène

Les infections nosocomiales les plus fréquentes sont les infections du site opératoire, les infections urinaires et les infections respiratoires basses. Des études ont montrés que la prévalence maximale des infections nosocomiales s'observe dans les unités de soins intensifs et dans les services de chirurgie d'urgence et d'orthopédie. Les taux d'infection sont aussi plus élevés parmi les patients rendus plus vulnérables par l'âge, une maladie sous-jacente ou une chimiothérapie.

Toutefois, il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple :

- ✓ Infections de la peau et des tissus mous : les plaies ouvertes (ulcères, brulures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée.
- ✓ La gastro-entérite est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rotavirus comme principal agent pathogène et le *Clostridium difficile* chez l'adulte.
- ✓ Sinusites, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.
- ✓ Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement.

Les infections nosocomiales peuvent être envisagées en tant qu'endémiques ou épidémiques. Les infections endémiques sont les plus répandues. Les infections épidémiques surviennent lors de flambées de cas (Figure 4), définies par une augmentation inhabituelle d'une infection ou d'un agent infectieux déterminés.

### **III.2.2. Les facteurs favorisant le développement des infections nosocomiales**

Le risque infectieux peut varier en fonction des caractéristiques biologiques des microorganismes ainsi que du milieu dans lequel ces derniers évoluent. Il peut donc varier selon les caractéristiques de l'établissement. Le patient et les caractéristiques des germes infectieux sont les deux paramètres à la base d'un risque potentiel infectieux dans un environnement donné.

Malgré les progrès réalisés en matière de santé publique et de soins hospitaliers, des infections continuent à apparaître chez certains patients hospitalisés et peuvent aussi toucher le personnel de l'établissement. Quel que soit son mode de transmission, la survenue d'une infection nosocomiale dépend de :

**1. D'abord par l'état du malade (dépend de son âge et de ses pathologies) :** Cette notion fait référence à la susceptibilité d'un hôte à développer une infection en présence de bactéries pathogènes. Ils sont particulièrement à risque les personnes âgées, les immunodéprimés (tumeurs malignes, syndrome d'immunodéficience acquise (sida)), les nouveau-nés, en particulier les prématurés, les polytraumatisés et les grands brûlés.

Les patients souffrent d'un mauvais état général dû à une malnutrition, l'obésité, l'alcoolisme, le tabagisme, maladie chronique comme le diabète, la pneumopathie ou l'hypertension artérielle, l'insuffisance rénale sont plus vulnérables aux infections opportunistes.

**2. Certains traitements :** Le traitement que le patient reçoit peut-être lui-même un facteur de risque d'infection (nécessité d'une transfusion, une sonde urinaire, une nutrition parentérale, une ventilation artificielle, cathéter ou la prise de certains médicaments, notamment d'immunosuppresseurs) ainsi que les antibiotiques qui déséquilibrent la flore intestinale et occasionnent la résistance des bactéries. **La réalisation d'intervention chirurgicale, peuvent également ouvrir la voie à l'infection**

**3. La charge environnementale :** La charge environnementale fait essentiellement référence à la quantité et à la diversité des microorganismes présents dans un environnement. Différents paramètres peuvent moduler cette charge :

- La proximité de la source d'émission
- L'adaptation des microorganismes à survivre lorsqu'ils sont exposés à un stress environnemental (exemple : la température ou l'humidité)
- L'achalandage

- L'entretien des lieux

**3. Agents microbiens :** Pendant son séjour à l'hôpital, le patient est exposé à divers agents microbiens. Le contact avec un microorganisme ne signifie pas nécessairement que le patient développera une maladie clinique. La probabilité qu'une exposition conduise à la maladie dépend en partie des caractéristiques du microorganisme en cause, y compris sa résistance aux antibiotiques, de sa virulence intrinsèque et de la quantité du matériel infectieux (inoculum).

Deux aspects liés à la nature du germe infectieux sont à considérer :

- **La capacité de propagation :** C'est la capacité de diffusion d'un germe dans l'environnement à partir d'une source (patient) sans l'apport d'un vecteur externe (exemple : personnel soignant). Ce facteur dépend à la fois de la condition du patient (mobile ou pas) et des caractéristiques physiques (le diamètre, par exemple) du germe concerné. Implicitement, le mode de transmission (gouttelettes, aérosols, contact) d'un germe joue un rôle important dans sa propagation.

Un porteur nasal de SARM, sans infection active, risque de le propager principalement dans les zones avec lesquelles il est en contact direct. Un même patient ayant un rhume accompagné d'une sinusite à SARM, avec des crachats abondants ou des sécrétions nasales abondantes, risque de contaminer plus efficacement son environnement.

Un patient souffrant de gastro-entérite virale sévère peut, par ses vomissements, former des gouttelettes infectieuses pouvant se déposer sur des surfaces distantes. Ces exemples illustrent bien que la capacité de propagation d'un germe peut être variable et modifier l'étendue des zones qui présentent un risque de transmission.

- **La virulence du germe :** Les facteurs de virulence sont des éléments qui participent au développement des caractères pathogènes d'un organisme. La dose nécessaire pour produire une infection en est un exemple. Cette dose varie selon les types de microorganismes. Pour le norovirus, on estime qu'il faut environ 10 à 100 virus alors que pour les bactéries du genre salmonella, environ 15 à 20 bactéries sont nécessaires.
- **La transmission de bactéries résistantes aux antibiotiques :** au sein d'hôpitaux surpeuplés, souvent facilitée par l'insuffisance des précautions de lutte contre les infections.



### **III.3. Les microorganismes résistant aux antibiotiques les plus incriminés dans les infections nosocomiales**

#### **III.3.1. Historique de la résistance**

En 1928, Alexander Fleming découvrait que la croissance bactérienne pouvait être inhibée par la présence d'un champignon filamenteux du genre *Penicillium*. En 1942, la pénicilline fut utilisée pour la première fois dans la prévention des infections à staphylocoques chez les brûlés à Boston. La résistance des staphylocoques *vis-à-vis* de la pénicilline est apparue 15 ans après. En 1959, la méthicilline a été utilisée pour le traitement des infections staphylococciques, un an plus tard les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistantes à la Méthicilline (SARM) sont apparues dans un hôpital en Grande Bretagne.

Actuellement, la résistance bactérienne aux antibiotiques ou antibiorésistance est un phénomène de portée universelle qui n'a cessé d'augmenter de manière progressive au cours de ces dernières années. La diffusion d'un grand nombre de bactéries pathogènes résistantes à plusieurs antimicrobiens a été reconnue par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme un problème sérieux en raison de la fréquence avec laquelle de nouveaux phénotypes de résistance apparaissent parmi les agents pathogènes et même chez les microorganismes commensaux.

#### **III.3.2. Principales familles d'antibiotiques et leurs modes d'action**

A partir de la découverte de la pénicilline, les découvertes de molécules nouvelles se sont succédé. L'abondance de ces dernières a rendu nécessaire leur classification en familles et sous-familles. Toutefois, les antibiotiques ont été classés en fonction de leur mode d'action. On distingue quatre catégories de molécules selon Tandé (2005).

##### **a. Antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne**

- $\beta$ -lactamines
- Glycopéptides
- Fosfomycine

##### **b. Antibiotiques inhibant la synthèse des protéines**

- Aminosides
- Macrolides
- Tétracyclines
- Rifampicine

**c. Antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'acide désoxyribonucléique**

- Quinolones
- Imidazolés
- Sulfamides/triméthoprim

**d. Antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique**

- Polymyxines

**III.3.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques**

A l'heure actuelle, trois grands mécanismes expliquent les phénomènes de résistances aux antibiotiques : une diminution de l'accessibilité pour l'antibiotique à ses cibles (efflux et imperméabilité) ; une production d'enzymes dégradant les antibiotiques ( $\beta$ -lactamases) ; une diminution d'affinité des cibles (PLPs). Ces mécanismes peuvent être associés chez une souche bactérienne expliquant la multi-résistance.

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque du fait de l'accumulation des résistances naturelles et acquises, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre restreint d'antibiotiques habituellement actifs en thérapeutique. L'expression «**patient porteur de BMR**» recouvre toutes les situations où le patient est une source de dissémination potentielle de BMR soit lors d'infection ou d'une colonisation.

Les infections dues aux microorganismes multirésistants présentent un impact négatif sur la morbidité, la mortalité et les dépenses hospitalières. Cet impact est probablement dû à l'augmentation de leur virulence, à l'échec d'une antibiothérapie appropriée, aux facteurs liés à la prédisposition de l'hôte et à la propagation potentielle de clones épidémiques.

**III.3.4. Les principales bactéries multirésistantes aux antibiotiques dans l'environnement hospitalier**

Les espèces appartenant au groupe « ESKAPE » pour *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* et *Enterobacter* spp. sont désignées comme étant les espèces les plus inquiétantes sur le plan de la résistance aux antibiotiques et se retrouvent également dans l'environnement hospitalier

Ces bactéries peuvent être retrouvées dans l'environnement hospitalier, au niveau des individus (patients, personnel soignant) ou de l'environnement inanimé (surfaces, instruments, effluent, filtres, solutés) et recouvrent un ensemble hétérogène aussi bien au

niveau des mécanismes de résistance en cause, des supports génétiques ainsi que du potentiel de dissémination des souches (Tableau I).

#### **III.3.4.1. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)**

Les Staphylocoques ont été découverts dans le pus par Pasteur en 1880. En 1883, Ogston a créé le nom de «Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées. Plus de 50 espèces et sous-espèces ont été décrites au début du 21<sup>ème</sup> siècle dont 17 identifiées chez l'homme.

Il est responsable de diverses maladies, allant d'infections relativement bénignes de la peau et des tissus mous à des bactériémies et des endocardites menaçant le pronostic vital, mais également à des maladies associées aux toxines, telles que le syndrome de choc toxique et l'intoxication alimentaire. La pathogénicité de *S. aureus* est associée à plusieurs facteurs de virulence, incluant des toxines (entérotoxines, exfoliatines,...), des protéines de surface (protéine A) et des enzymes (coagulase, hémolysines,...).

La méthicilline, l'oxacilline et d'autres pénicillines résistantes à l'action de la pénicillase sont introduites dès les débuts des années 1960 pour le traitement des infections causées par les *S. aureus* résistants à la pénicilline (production de pénicillinase). Cependant, au fil du temps des souches résistantes à la méthicilline (SARM) sont apparues et se sont répandues au sein du milieu hospitalier et récemment en communautaire et en élevage.

La résistance à la méthicilline est médiée par le gène chromosomique *mecA*, qui code une protéine de liaison à la pénicilline modifiée (PLP), appelée PLP2a, avec une affinité diminuée pour presque toutes les  $\beta$ -lactames. Cette enzyme est autonome, et peut réaliser à elle seule la synthèse de la paroi bactérienne, même lorsque les quatre autres PLP sont inhibées. Le gène *mecA* est localisé sur un élément génétique appelé Staphylococcal Chromosomal Cassette (SCC).

Semblable au gène *mecA*, *mecC* confère une résistance aux  $\beta$ -lactamines, conduisant au phénotype SARM. La survenue du SARM hébergeant le *mecC* a été décrite chez l'homme, les animaux de compagnie et le bétail dans plusieurs pays européens.

Les glycopeptides (teicoplanine et vancomycine), sont utilisés en alternative aux b-lactamines dans le traitement des infections aux SARM. Cependant, après la description du premier isolat clinique de *S. aureus* présentant une sensibilité réduite aux glycopeptides (vancomycine-intermédiaire *S. aureus* : VISA) au Japon en 1996, ce phénotype a également été signalé dans d'autres pays. Cette résistance est due à des mutations obtenues après transfert conjugatif de l'opéron du gène *vanA* codant pour la résistance à la vancomycine chez les entérocoques résistants aux glycopeptides.

**Tableau I : Diversité génétique des gènes de résistance retrouvés dans l'environnement hospitalier**

Microorganismes	Auteurs	Gènes de résistance	Pays
<b><i>A. baumannii</i></b>	Tsakris et al., 2008	OXA-51-like (OXA-66, OXA-69), OXA-58, VIM-1, VIM-4	Grèce
	Bouguenoun et al., 2016	OXA-23, NDM-1	Algérie
	Bourigault et al., 2013	OXA-23	France
	Royer et al., 2015	OXA-23	Brazil
	Kateete et al., 2016	OXA-23, OXA-24, NDM-1, VIM-like, OXA-51-like	Ouganda
<b><i>S. aureus</i></b>	VELOSO et al. 2019	<i>mecA</i> (MRSA), VISA	Brizil
	Mandal et al., 2015	<i>vanR</i> et <i>vanY</i> (VRSA et VISA), <i>mecA</i> (MRSA)	Inde
	Khairalla et al., 2017	<i>vanA</i> , <i>mecA</i> (MRSA)	Egypte
<b>ERV</b>	Michael and Roberts, 2017	<i>vanA</i>	États-Unis
	Zhang et al., 2018	<i>vanM</i>	Chine
	Correa-Martinez et al., 2020	<i>vanA</i> , <i>vanB</i>	Allemagne
	Kampmeier et al., 2020	<i>vanB</i>	Allemagne
<b><i>P. aeruginosa</i> résistant aux carbapénèmes</b>	Wendel et al., 2015	GIM-1	Grèce
	Amoureux et al., 2017	IMP-19	France
	Mombini et al., 2019	NDM-1 VIM-1 IMP-1	Iran
	Bouguenoun et al., 2016	Mutation au niveau OperD2	Algérie
	Kateete et al., 2016	NDM-1, IMP-like, SPM-like, VIM-like	Ouganda
<b>Entérobactéries productrices de BLSE</b>	Touati et al., 2010	CTXM-15 et CTXM-3	Algérie
	Dziri et al., 2016	CTXM-15, SHV-like	Tunisie
	Poulou et al., 2013	CTXM-15	Grèce
	Bouguenoun et al., 2016	CTXM-15, SHV-98, TEM-141, SHV-12	Algérie
	Bousquet et al., 2017	CTXM-15	France
<b>Entérobactéries productrices de carbapénèmases</b>	Herruzo et al., 2017	VIM et OXA-48	Espagne
	Béatrice Clarivet et al., 2016	OXA-48	France
	Kola et al., 2016	OXA-48	Allemagne
	De Geyte et al., 2017	OXA-48 et NDM	Belgique
	Lerner et al., 2013	KPC	Israël
	Thurlow et al., 2013	KPC	Chicago
	De Giust et al., 2020	KPC	Italie

### **III.3.4.2. Enterocoque résistant à la vancomycine**

Retrouvé dans l'environnement mais également dans la flore digestive commensale de l'être humain ou des animaux, l'entérocoque, Gram positif anaérobe facultatif, reste un pathogène nosocomial fréquent, associé à des infections digestives ou urinaires, mais aussi à des bactériémies et endocardites. Les entérocoques responsables d'infections humaines, sont principalement dues à *Enterococcus faecalis* (80 % à 90 % des cas) et à *Enterococcus faecium* (5 à 10 % des cas) tandis que les autres espèces occasionnellement retrouvées sont *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium* et *Enterococcus hirae*.

Les entérocoques ont développé une variété de mécanismes de résistance à plusieurs antibiotiques comme les aminosides, les b-lactamines, les tétracyclines, les quinolones et la vancomycine (glycopeptide). La résistance à la vancomycine est due aux changements dans la formation du peptidoglycane qui constitue la paroi cellulaire bactérienne. Normalement, la vancomycine se lie à l'extrémité D-Ala-D-Ala des précurseurs protéiques du peptidoglycane. La résistance se développe lorsque cette extrémité est changée en D-Ala-D-lactate de sorte que la vancomycine se lie avec moins d'affinité.

Les premières souches d'entérocoques (*E. faecium* majoritairement) résistantes à la vancomycine (ERV) sont apparues dans le milieu des années 80 pour devenir rapidement endémiques dans certains hôpitaux du monde. Actuellement, Neuf types de résistance aux glycopeptides ont été décrits à ce jour, sur des critères phénotypiques et génotypiques. Huit correspondent à un mécanisme de résistance acquise (VanA, VanB, VanD, VanE, VanG, VanL, VanM et VanN) tandis qu'un seul est une caractéristique intrinsèque d'espèce (VanC chez *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*). Seules les souches portant les gènes *vanA* ou *B* sont associées à des épidémies nosocomiales et plusieurs facteurs de risque d'acquisition ont été identifiés incluant la chirurgie, la dialyse, la présence de cathéters centraux, l'âge ou encore la durée de séjour. Le taux d'acquisition nosocomial de l'ERV est également influencé par l'utilisation d'antibiotiques dans les mois précédents, tels que les carbapénèmes, le céftriaxone et surtout les glycopeptides.

Tout au long des années 1990 et 2000, de multiples épidémies ont frappé les hôpitaux en raison de la transmission de personne à personne. Après excrétion de matière fécale, l'enterocoque résistant à la vancomycine se trouve sur la peau et les muqueuses et

se propage via les surfaces exposées ou contaminées. La colonisation digestive potentiellement rapide des patients hospitalisés, exposés à un voisin de chambre et/ou un environnement contaminé, contribue à constituer des réservoirs occultes propices à la transmission à d'autres patients, par contacts directs ou indirects, via les mains du personnel ou l'environnement.

La capacité de certaines souches ERV, appartenant au complexe clonal CC17, à générer des épidémies nosocomiales a été souvent rapporté. Actuellement, le gène *vanA* a diffusé chez une dizaine de souches de *S. aureus* rapportées aux États-Unis.

### **III.3.4.3. Entérobactéries productrices de BLSE, de céphalosporinases et de carbapénèmases**

La production de b-lactamase est le principal mécanisme de résistance aux b-lactamines chez les *Enterobacteriaceae*. Ces enzymes hautement diversifiées hydrolysent les b-lactames dans l'espace périplasmique, empêchant ainsi l'inhibition des protéines de liaison à la pénicilline. La diversité de ces b-lactamases a entraîné de nombreuses tentatives de classification.

Deux systèmes de classification sont couramment utilisés, établis sur des bases fonctionnelles et moléculaires. Selon la classification d'Ambler, il est possible de définir phylogénétiquement quatre classes de  $\beta$ -lactamases : les classes A, C et D (présence d'une sérine au niveau de leur site actif) et la classe B (métallo-enzymes requièrent un cation divalent, en général le zinc comme cofacteur). La classification fonctionnelle proposée par Bush et collaborateurs *en* 1995, mise à jour par Bush et Jacoby en 2010, est basée sur le spectre de substrat préférentiel des enzymes et sur leur comportement aux inhibiteurs (3 groupes avec plusieurs sous groupes).

Les b-lactamases à spectre étendu (BLSE) appartiennent à la classe A d'Ambler et au groupe (2be) de Bush et Jacoby. Elles confèrent la résistance aux pénicillines, aux C1G, C2G, C3G, l'aztréonam et sont sensibles aux carbapénèmes et aux céphamycines. Elles sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases tels que l'acide clavulanique, sulbactam et tazobactam.

Depuis 1982, des mutations survenues au niveau des  $\beta$ -lactamases à spectre étroit de type TEM-1, TEM-2 et SHV-1 ont été décrites, ce qui a élargi leur spectre d'activité vers

l'hydrolyse des céphalosporines à large spectre. Les enzymes de type CTX-Ms sont des céfotaximases acquises, à médiation plasmidique, issues d'une lignée phylogénétique distincte des BLSE de type TEM et SHV (40% homologie). Bien que les variants dominants de CTX-Ms soient géographiquement différents, ces enzymes ont été rapportées dans différents continents chez les *Enterobacteriaceae*. Cependant, CTX-M-15 et CTX-M-14 sont les variants les plus couramment détectés dans le monde chez les pathogènes d'importance clinique, suivis par CTX-M-2, CTX-M-3 et CTX-M-1.

Les  $\beta$ -lactamases de classe C ou céphalosporinases du groupe 1 (AmpC) peuvent être chromosomiques chez de nombreuses espèces d'entérobactéries (*Citrobacter freundii*, *E. cloacae*, *Serratia marcescens* et *Citrobacter freundii*, ...) ou plasmidiques chez des espèces naturellement dépourvues telle que *K. pneumoniae*.

Les céphalosporinases plasmidiques présentent un phénotype de résistance identique à celui des céphalosporinases naturelles hyperproduites, qui se traduit généralement par une résistance aux C1G, C2G et C3G, associé avec une résistance à l'acide clavulanique, aztréonam et aux céphamycines (céfoxitine et céfotétane) et reste sensible aux carbapénèmes. Toutefois, des AmpC à spectre étendu (chromosomiques ou plasmidiques), peuvent présenter une efficacité catalytique contre les C4G et les carbapénèmes et peuvent entraîner une augmentation des CMI en association avec une imperméabilité.

Les carbapénèmases constituent un groupe hétérogène d'enzymes dont le point commun est d'hydrolyser au moins un des carbapénèmes. Les carbapénèmases décrites chez les entérobactéries appartiennent aux classes A, B, D d'Ambler. Les carbapénèmases sont identifiées de façon croissante chez les entérobactéries dans le monde entier. Les carbapénèmases de type KPC décrites tout d'abord aux États-Unis chez *Klebsiella pneumoniae* ont une diffusion mondiale avec une endémicité marquée également en Grèce. Les carbapénèmases de type métallo-enzymes (VIM, IMP, NDM,...) ont été également décrites dans le monde entier avec une forte prévalence en Europe du Sud et en Asie. Les OXA-48 est l'une des carbapénèmases les plus récemment décrites, structurellement différente des précédentes et essentiellement identifiée dans des pays méditerranéens.

#### **III.3.4.4. La résistance aux carbapénèmes chez *A. baumannii***

L'histoire du genre *Acinetobacter* a débuté avec le microbiologiste néerlandais Martinus Willem Beijerinck qui a isolé en 1911 une souche bactérienne dénommée *Micrococcus calcoaceticus*. Le genre *Acinetobacter* a été proposé par Baumann en 1968 et a

été intégré dans le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology en 1984. Ce genre a subi de nombreux changements taxonomiques et n'a été officiellement désigné qu'en 1986. Il appartient au domaine des Bacteria, phylum des *Proteobacteria*, classe des *Gammaproteobacteria*, ordre des *Pseudomonadales* et classé dans la famille des *Moraxellaceae*.

Cette espèce génère des infections nosocomiales avec une mortalité pouvant atteindre 35% dans les services accueillant des patients fragilisés, notamment les services de soins intensifs et de réanimation. On observe surtout des infections pulmonaires chez des patients sous ventilation assistée, des infections urinaires sur sonde et des infections liées aux cathéters avec le risque de septicémie.

*A. baumannii* est une bactérie à Gram négatif présent dans l'environnement et les muqueuses commensales de l'homme. Il peut survivre pendant de longues périodes sur des surfaces humides ou sèches et résiste à la dessiccation contrairement aux autres bacilles à Gram négatif. Il présente une capacité à interagir avec différents types de surfaces biotiques et abiotiques et peuvent être à l'origine d'infections hospitalières. Ce pathogène pose de réels défis thérapeutiques en raison de sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques.

Différents mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines ont été rapportés et identifiés chez cette espèce et sont liés principalement à la production de  $\beta$ -lactamases. Les souches d'*Acinetobacter* sont naturellement résistantes aux aminopenicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération (céfoxitine) et à l'ertapénème. Cette résistance est due à la synthèse de deux  $\beta$ -lactamases chromosomiques à bas niveau à savoir une céphalosporinase (ADC : *Acinetobacter Derived Cephalosporinase*) constitutive de classe C et une oxacillinase (OXA51/69) de classe D. La résistance intrinsèque est également attribuée à l'imperméabilité de la membrane externe ainsi qu'à l'expression à bas niveau de pompes d'efflux constitutives chez cette espèce (résistance au céfotaxime).

Les carbapénémases de classe D sont de loin les carbapénémases les plus répandues chez *A. baumannii* et peuvent être regroupées en six sous-classes : l'OXA-51 chromosomique et intrinsèque, l'OXA-23-like, l'OXA-24/40-like, l'OXA-58-like, l'OXA-143-like et l'OXA235-like. L'oxacillinase représentée par le cluster d'enzyme OXA-51/OXA-69 peut contribuer à la résistance aux carbapénèmes par l'insertion de la séquence ISAbal dans la région promotrice du gène *bla*<sub>OXA-51/69</sub>.



D'autres carbapénèmases tels que ceux codant pour les métallo- $\beta$ -lactamases (MBL), *bla*-VIM, *bla*-IMP et *bla*-NDM, ou les carbapénèmases de classe A, *bla*-KPC et *bla*-GES-11, sont également observés. Cependant, contrairement aux *Enterobacteriaceae*, elles ne sont pas courantes chez cette espèce. De façon remarquable, des mutations spécifiques ont permis à certaines  $\beta$ -lactamases d'évoluer pour étendre leur spectre soit aux céphalosporines de 4<sup>ème</sup> génération telle que certains variants de type ADC (ADC-33 et ADC-56) d'où le nom ESAC (Extended-Spectrum AmpC) ou bien aux carbapénèmes telle que le variant ADC-68 et le variant GES-14.

### **III.3.5.5. *Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes**

*P. aeruginosa* a été isolé pour la première fois en 1882 par Gessard à partir de pus vert. Il est impliqué dans une variété d'infections acquises à l'hôpital allant de la pneumonie associée à la ventilation aux bactériémies. Il s'agit du quatrième agent pathogène nosocomial le plus souvent isolé, représentant 10% de toutes les infections nosocomiales.

Cette bactérie peut survivre sur des surfaces inanimées sèches de l'environnement hospitalier de 6h à 6 mois. Il contamine fréquemment les équipements de soins et les surfaces du fait de sa résistance inhérente et acquise aux agents antimicrobiens courants, notamment les antibiotiques, les antiseptiques et les désinfectants.

L'acquisition d'une carbapénèmase comme mécanisme de résistance aux carbapénèmes n'est pas le mécanisme le plus répandu chez *P. aeruginosa*. La combinaison de mécanismes de résistances intrinsèques à savoir : la surexpression de la céphalosporinase chromosomique AmpC, la surexpression des systèmes d'efflux et l'altération de la porine OprD2 en sont les principales raisons. Cependant, durant les dernières décennies, on a observé un nombre grandissant de souches de *P. aeruginosa* productrices de carbapénèmases. On retrouve chez *P. aeruginosa* des carbapénèmases de classe A (KPC), sensible aux inhibiteurs (acide clavulanique), des carbapénèmases de classe B (Métallo-Beta-Lactamases ou MBL) qui sont les plus représentées (NDM, VIM) et enfin, des carbapénèmases de classe D (certaines OXA).

## **IV. Hygiène de l'environnement hospitalier**

### **IV.1. Définition**

**Hygiène :** L'hygiène est la science qui étudie les moyens individuels ou collectifs, les principes et les pratiques visant à préserver ou à favoriser la santé.

**Hygiène hospitalière :** C'est l'ensemble des mesures de protection à mettre en œuvre pour lutter contre les risques et les nuisances aux quels sont exposés les malades, le personnel et les visiteurs en milieu hospitalier et en particulier contre le risque infectieux.

**Hygiène de l'environnement hospitalier :** concerne tout ce qui concourt à la prise en charge d'un malade durant son hospitalisation, du holl-d'accueil au bureau des sorties. Cela concerne l'unité d'hospitalisation, l'unité médico-technique (consultation, exploration fonctionnelle, bloc opératoire), les installations assurant l'alimentation, le traitement de la ligne ou celui des déchets. C'est également l'hygiène des soins infirmiers et l'hygiène de toutes les surfaces (sols, murs, table, chariots de transport, chaises).

### **IV.2. Le nettoyage en milieu hospitalier**

Le nettoyage est complètement différent de l'entretien d'un établissement industriel ou autre. Les plus grandes difficultés résident dans i) la présence incontournable du patient au moment des traitements ii) l'encombrement des locaux, iii) l'obligation en matière de résultats visuel et biologique (propreté apparente et microbiologique) et iiiii) la grande variété des locaux (bloc opératoire, service des urgences, la cuisine, le bureau etc.).

Le nettoyage a pour objectif 1) d'assurer un état de propreté en éliminant les salissures adhérentes, 2) d'éviter la transmission croisée des microorganismes entre patients et soignants par le biais du matériel, du mobilier et/ou des surfaces, 3) d'éviter la contamination de l'environnement et 4) de réduire le nombre de microorganismes présents sur les surfaces et les sols.

**IV.2.1. Type de nettoyage :** Deux types de nettoyage peuvent être utilisés, qui, tous deux, sont des procédés de contact utilisant un produit, un textile, et une action mécanique (main ou machine).

**1. Le nettoyage simple :** est une opération d'entretien de maintenance des locaux et des équipements dont l'objectif principal est d'assurer un aspect agréable par l'élimination des salissures (particules, biologiques, liquides...) et un niveau de propreté, de confort et d'hygiène, tout en respectant l'état des surfaces traitées (absence de dégradation).

Cette opération d'élimination avant tout macroscopique dit nettoyage "simple", utilise un produit détergent ne contenant pas d'agent anti-microbien (hormis pour un effet conservateur). Dans les secteurs vulnérables et sensibles, elle est complétée, après l'évacuation des salissures et des produits, par l'application de désinfectants actifs sur les micro-organismes indésirables (bionettoyage).

**2. Bio-nettoyage** : procédé de nettoyage d'une zone à risque, destiné à réduire momentanément la biocontamination d'une surface. Il est obtenu par la combinaison appropriée d'un nettoyage à l'aide d'un détergent, d'une évacuation des produits utilisés et de la salissure à éliminer et de l'application d'un désinfectant.

Le bio-nettoyage s'effectue soit en un seul temps, à l'aide d'un produit détergent désinfectant, soit en 3 temps : détergent, rinçage à l'eau, puis application du désinfectant. Le nettoyage est à réserver aux zones à faible risque biologique, et le bionettoyage est fortement recommandé pour les zones de risque 2, 3, 4.

### **IV.2.2. Fréquence de nettoyage**

Dans les établissements de soins, le nettoyage devrait être effectué de façon régulière et uniforme en vue d'assurer un environnement sûr et salubre. Il se fait habituellement au moins une fois par jour et plus fréquemment si le risque de contamination environnementale est élevé (unités de soins intensifs). Le type et la fréquence du nettoyage de routine dépendent du risque clinique, de la fréquence d'admission et de sortie des patients (du renouvellement du patient), de l'intensité du déplacement des personnes et des caractéristiques de la surface.

Certaines surfaces à contact peu fréquent (planchers, murs, plafonds, miroirs et appuis des fenêtres) peuvent nécessiter seulement un nettoyage et ne nécessitent pas de désinfection. Ces surfaces sont rarement contaminées et plus de 80% de la charge bactérienne sur les planchers peuvent être éliminées uniquement par un nettoyage à base de détergents. Par contre, d'autres surfaces à contact fréquent (téléphones, poignées, robinets d'eau, interrupteurs, claviers, ...) nécessitent un nettoyage plus poussé avec des détergents et une désinfection. Le nettoyage fréquent des surfaces à contact fréquent peut avoir un meilleur avantage que le nettoyage fréquent de la pièce entière.

### IV.3. Hygiène des surfaces et des locaux

Le nettoyage doit prendre en compte : 1) la classification des locaux 2) les caractéristiques des patients 3) la durée moyenne du séjour des patients et leur rotation 4) la formation du personnel et 5) le matériel et les produits disponibles dans l'établissement. **Il dépend du cercle de Sinner.**

Dans les opérations de nettoyage, le résultat final est influencé par 4 facteurs interdépendants, regroupés dans le Cercle de Sinner. Si l'un des facteurs est diminué, on doit obligatoirement compenser cette perte en augmentant un ou plusieurs des autres facteurs. Il comporter obligatoirement quatre facteurs d'égale importance :

- **Premier facteur 25% de chimie** : détergent, décapant, détartrant, lessive, produit vaisselle. Le choix du produit de nettoyage et de son dosage est très important pour l'obtention du résultat final.
- **Deuxième facteur 25% d'action mécanique** : balai de lavage à plat, frottoir, **microfibre, mono brosse**, auto laveuse, nettoyeur haute pression. **l'action mécanique** peut être réalisée manuellement ou au moyen de **matériel** adapté.
- **Troisième facteur 25% de temps d'action** : c'est le temps d'action du produit et de l'opération mécanique. Le facteur "temps d'action" est très souvent négligé alors qu'il est sûrement le plus facile à réaliser.
- **Quatrième facteur 25% de température** : c'est la température à laquelle on effectue le nettoyage, la chaleur augmente la capacité détergente, elle accélère le processus de nettoyage et diminue le besoin d'action mécanique. un **nettoyeur vapeur** répond parfaitement à ce besoin.

Chaque modification d'un paramètre doit être compensée par un ou plusieurs autres facteurs. Les produits d'entretien se différencient suivant leur spécificité d'utilisation, les lieux où ils sont utilisés, le matériel à nettoyer et le type de salissure.

#### IV.3.1. Classification des locaux selon le risque infectieux

En plus des souillures multiples dues aux diverses activités et à l'ensemble de la population (personnel, visiteurs, patients...), l'hôpital est soumis à une pollution systématique et automatique du milieu ambiant par des germes pathogènes provenant de malades non isolés. Les germes peuvent se localiser sur les murs au cas où ceux-ci sont souillés, par les éclaboussures des sangs, de pus, de liquide biologique et par les empreintes digitales.

## IV. Hygiène de l'environnement hospitalier

Un établissement de santé présente une grande diversité de locaux où les exigences de propreté pour les surfaces et les équipements dépendent des critères suivants : activités pratiquées, type de patients et de l'acte médical effectué.

« Une zone à risque de biocontamination est un lieu géographiquement défini et délimité dans lequel les sujets (ou les produits) sont particulièrement vulnérables aux micro-organismes ou particules viables. Cette définition s'applique autant à une salle entière qu'à un micro-environnement ».

En milieu hospitalier, quatre zones à risque de biocontamination peuvent être déterminées et pour chacune de ces zones, le système de maîtrise de la biocontamination et les valeurs acceptables lors des mesures de cette biocontamination sont différents.

- **La zone 1 ou A : pas de contact avec les patients.** La zone n'accueille pas de malades (par exemple administration, bibliothèque) et les exigences d'hygiène sont à rapprocher de celles d'une simple collectivité. Elle nécessite un nettoyage ménager courant.
- **La zone 2 ou B : patients non infectés, ni hautement vulnérables :**
  - Nettoyage par une méthode qui ne soulève pas de poussière.
  - Le balayage à sec et l'aspirateur sont déconseillés.
  - L'emploi d'une solution détergente améliore la qualité du nettoyage.
  - Désinfecter tous les endroits présentant une contamination visible par du sang ou des liquides biologiques avant de les nettoyer.
- **La zone 3 ou C : patients infectés (salles d'isolement).** La zone regroupe des patients plus fragiles dont l'objectif sera d'éviter la propagation des germes.
  - Nettoyer avec une solution détergente/désinfectante et un matériel de nettoyage séparé pour chaque salle.
- **La zone 4 ou D : patients hautement vulnérables (isolement de protection)** ou secteurs protégés tels que blocs opératoires, salles d'accouchement, unités de soins intensifs, services des prématurés, services de traumatologie et unités d'hémodialyse. Les techniques et méthodes de travail tendront à obtenir une ultra-propreté en évitant l'apport de germes extérieurs.
  - Nettoyer avec une solution détergente/désinfectante et un matériel de nettoyage séparé.

**Remarque :** Toutes les surfaces horizontales des zones B, C et D et toutes les toilettes doivent être nettoyées chaque jour.

### **IV.3.2. Produits utilisés**

Les biocides sont couramment utilisés dans les hôpitaux comme antiseptiques et désinfectants pour inhiber ou tuer les bactéries pathogènes et ainsi jouer un rôle important dans la réduction de la dissémination des microorganismes pathogènes dans l'environnement hospitalier. Ils doivent satisfaire les normes AFNOR : Bactéricide, fongicide, virucide, porcidé.

Cependant, il est important de toujours choisir le produit le plus efficace et le moins dommageable pour les patients, le personnel ainsi que pour le matériel. Les produits classiques de nettoyage tels que les ammoniums quaternaires, les désinfectants phénoliques, l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène sont souvent utilisés pour décontaminer les surfaces de l'environnement. Toutefois, ces composés peuvent provoquer de sérieux problèmes tels que l'irritation dermique et respiratoire, l'asthme lié au travail, la bronchite chronique, ainsi que le développement de la résistance aux désinfectants chez les bactéries environnementales.

Les nouveaux désinfectants actuellement disponibles ou en développement comprennent des désinfectants liquides améliorés, à base de peroxyde d'hydrogène, une combinaison d'acide peracétique-peroxyde d'hydrogène, d'eau électrolysée ou de plasma froid (gaz ionisé) à pression atmosphérique.

L'utilisation excessive des biocides dans les hôpitaux a suscité des inquiétudes quant à l'émergence de bactéries résistantes aux désinfectants, mais également une résistance croisée aux antibiotiques. L'utilisation intensive du chlorhexidine dans la prise en charge des infections à long terme a entraîné l'isolement de souches de *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *P. Stuaritii* et *S. marcescens* avec une résistance significativement accrue à la chlorhexidine associée à la résistance à plusieurs antibiotiques.

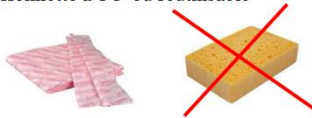
- **Détergent : substance** contenant du savon, qui rend soluble dans l'eau les salissures (comme la graisse) car il comporte des tensioactifs. Propriétés uniquement nettoyantes (propreté macroscopique).
- **Antiseptique** : sont des substances anti-bactériennes non spécifiques agissant globalement au niveau des tissus vivants (propreté microscopique).
- **Désinfectant** : Opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés.

### IV.3.3. Technique de nettoyage

Doit satisfaire aux objectifs définis : non contaminante, efficace et faisable en termes de temps et de coût. La technique de base recommandable, est le nettoyage humide (les techniques de dépoussiérage et de lavage humide, sont représentées dans la figure ci-dessous), mais à condition que le liquide et le matériel de nettoyage ne servent pas eux même de véhicules de germes d'un local à l'autre. Sont à proscrire les méthodes qui utilisent le même matériel et la même solution de nettoyage pour plusieurs locaux, de même que celles produisant des particules aériennes ou liquides (balayage à sec, aspiration sans filtres, lustrage avec des monobrosses).

#### Les techniques de dépoussiérage

Essuyage humide des surfaces avec chiffonnette à UU ou réutilisable



Balayage humide avec balai trapèze et gaze à UU pré-imprégnée ou non



#### Les techniques de lavage



Lavage manuel : Lavage à plat ou balai réservoir

Lavage mécanique : monobrosse, auto laveuse

Fig 8 : Techniques d'entretien des surfaces

### Le nettoyage à la vapeur

La vapeur sous pression a un pouvoir nettoyant très efficace, elle agit comme un tensioactif qui dissout les graisses et nettoie en profondeur. Cette technique associe 2 actions : une action détergente (pression de la vapeur) pour l'élimination des souillures, résidus et biofilms et une action biocide (action thermique de la vapeur) élimination des microorganismes : bactéries, virus, champignons. Le procédé est écologique et non toxique car il n'utilise aucun produit chimique et ne laisse pas de résidu. Il permet d'obtenir un entretien approfondi des surfaces en un seul passage et s'applique dans tous les locaux, à tous les mobiliers, à toutes les surfaces et équipements sanitaires.

### **IV.3.4. Désinfections des surfaces**

Le développement de nouveaux concepts de procédés automatisés de désinfection par voie aérienne ont largement contribué à l'amélioration de la qualité du nettoyage. Ces technologies utilisent l'émission d'une lumière ultraviolette à partir de xénon pulsé ou du peroxyde d'hydrogène.

Des méthodes alternatives pour les désinfectants chimiques ont été proposées pour contrôler la contamination des surfaces, y compris l'utilisation de surfaces "auto-désinfectantes" basées sur l'utilisation de métaux lourds (argent, cuivre), de matériaux imprégnés de germicide, de revêtements antimicrobiens activés par la lumière ou à caractère hydrophile, hydrophobe ou zwitterionique qui semblent être très efficaces contre l'adhésion bactérienne.

### **IV.3.5. Formation du personnel en charge de l'hygiène des locaux**

La formation et la sensibilisation du personnel de nettoyage fait partie intégrante du schéma de la stratégie d'un bon nettoyage hospitalier. Le personnel paramédical (cadres de santé, infirmiers, aides-soignants) bénéficie d'un enseignement dans ce domaine au cours de sa formation initiale. Les agents de service qualifiés et/ou les agents d'entretien spécialisés ne sont pas toujours diplômés dans ce domaine. C'est pourquoi, une formation théorique et pratique doit être dispensée dès l'embauche, à chacun d'entre eux.

Une formation continue de l'ensemble du personnel responsable de l'hygiène des locaux sera également instaurée. Si un prestataire extérieur est en charge de l'entretien des locaux, il faudra s'assurer, conformément au cahier des charges, de la formation des agents et de l'adéquation de leur travail avec les caractéristiques de l'établissement. En plus de la formation, une vaccination contre l'hépatite B et la tuberculose et une surveillance par le médecin du travail (suivi médical, dépistage et prévention des risques et maladies professionnels) est nécessaire.



#### IV.4. Hygiène des mains

Les mains constituent le mode de transmission principal des microorganismes (flore résidente et flore transitoire) et l'hygiène des mains est au cœur des Précautions « Standard » et incontestablement la mesure la plus efficace pour le contrôle des infections. Elle s'applique également aux situations où les «précautions d'isolement» spécifiques sont nécessaires (précautions additionnelles basées sur les modes de transmission : par le contact, par les gouttelettes ou par l'air).

Son importance est soulignée dans l'ensemble des stratégies multimodales d'amélioration de la qualité dont l'objectif est la prévention contre les infections liées aux soins et la dissémination de microorganismes multirésistants.

##### IV.4.1. Recommandations générales pour le lavage des mains

Les actions d'hygiène des mains sont plus efficaces lorsque la peau des mains ne présente aucune lésion, lorsque les ongles sont naturels, courts et non vernis, et lorsque les mains et les avant-bras ne portent aucun bijou (alliance lisse, d'une montre au poignet ou de bracelets) et sont découverts.

La tenue à manche courte est recommandée afin de permettre un mouvement libre des poignets. Le port de bijoux diminue l'efficacité du lavage des mains (et de la friction hydroalcoolique) (Figure 9) et favorise le portage de levures et de bacilles à Gram négatif. Des épidémies ont été associées aux : ongles longs, portant des décorations ou du vernis et ou encore aux faux ongles.

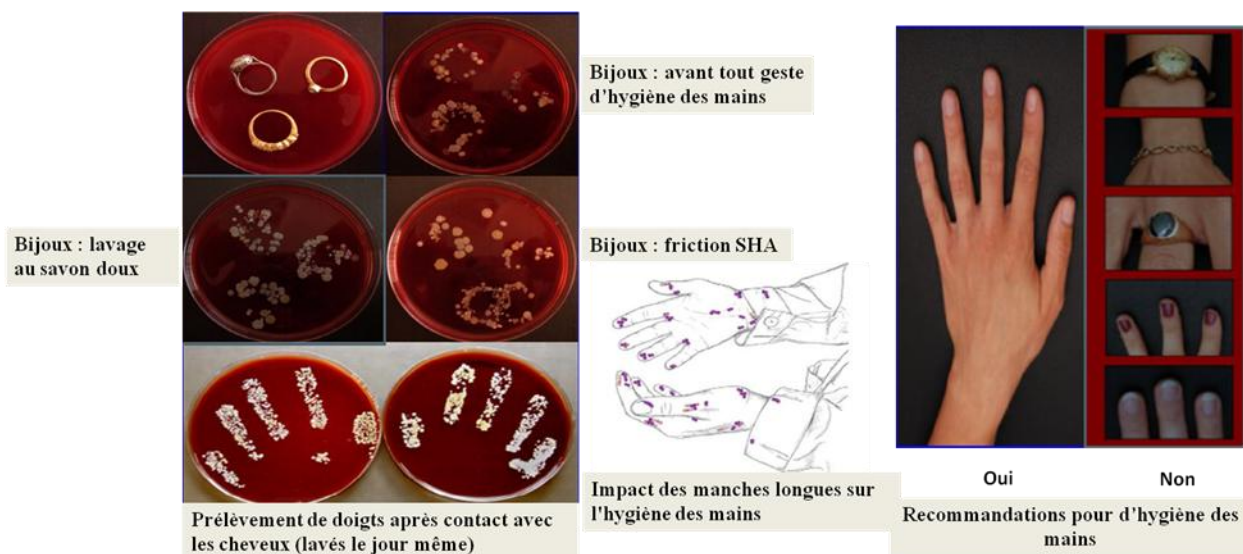


Fig 9 : Le rôle des mains dans la transmission des pathogènes (Hygiène hospitalière, 2012)

### **IV.4.2. Rôle des mains dans la transmission des pathogènes**

C'est Ignaz Semmelweis en 1847 (Semmelweis, 1891) qui apporta sans le savoir, la première preuve épidémiologique de l'intérêt de l'hygiène des mains dans la prévention de la transmission des infections puisque le taux de mortalité des suites des fièvres puerpérales chuta de façon significative lorsqu'il obligea les médecins accoucheurs à se désinfecter les mains avec une solution à 4% de chlorure de chaux avant d'examiner les femmes enceintes.

La compréhension des mécanismes de transmission des microorganismes pendant les soins aux patients est certainement un élément moteur dans l'amélioration de l'observance de l'hygiène des mains qui, comme tout le monde en conviendra, est encore insuffisante. Il faut réunir cinq conditions pour qu'un microorganisme se transmette d'un patient à l'autre :

1. Tout d'abord, les microorganismes doivent être présents sur la peau du patient ou sur les surfaces dans l'entourage immédiat du patient.
2. Ensuite, les microorganismes sont transférés sur les mains du prestataire de soins.
3. Le microorganisme doit aussi être capable de survivre sur les mains du prestataire de soins pendant au moins quelques minutes.
4. Le personnel n'observe pas les recommandations concernant l'hygiène des mains.
5. Enfin, les mains contaminées du prestataire de soins doivent entrer en contact direct avec un autre patient ou avec un objet qui va entrer en contact direct avec le patient.


De nombreux investigateurs ont montré la transmission de pathogènes nosocomiaux comme les *S.aureus* résistants à la méticilline (MRSA), les VRE et les *Clostridium difficile* par les mains nues ou gantées de travailleurs de santé après un contact avec des surfaces contaminées. Cette contamination des mains peut entraîner le transfert de ces agents infectieux à un autre site aussi efficacement que lorsque les mains sont contaminées après un contact avec le patient.

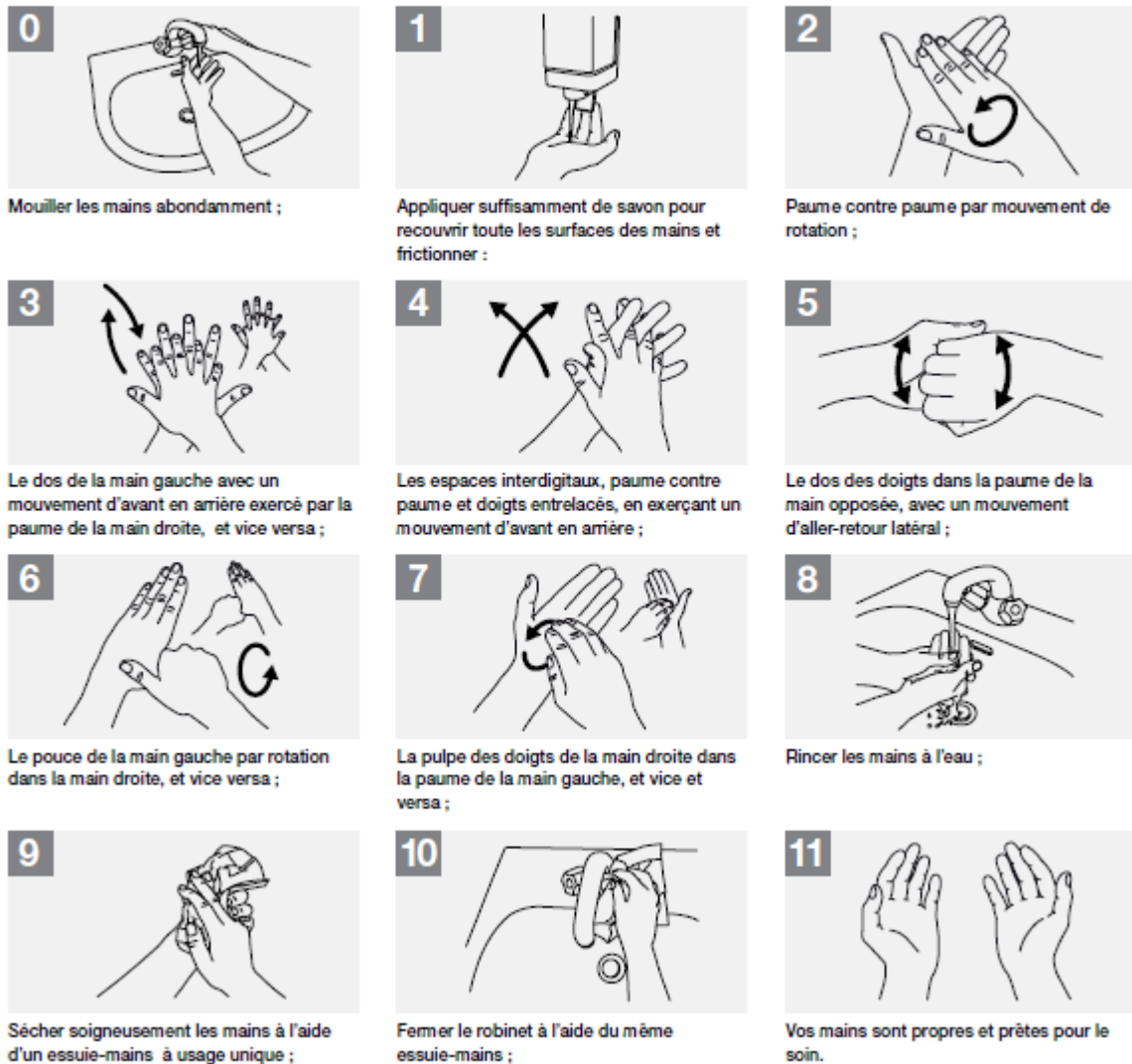
### **IV.4.3. Hygiène des mains en fonction de l'activité**

Il y a plusieurs types de lavage des mains. Il en existe trois connus :

#### **IV.4.3.1. Lavage des mains simple au savon et à l'eau**

Il vise, par effet mécanique à réduire d'au moins 90% le nombre de germes constituant la flore transitoire (Figure 10). Il est recommandé à la prise est à la fin du service, au cours des gestes de la vie courante (repas, passage aux toilettes, après s'être mouché ou coiffé,), lors de soins infirmiers non invasifs, lorsque les mains sont visiblement sales ou souillées (par du sang ou d'autres liquides biologiques), et après le retrait des gants.

 **Durée de la procédure : 40-60 secondes**



**Fig 10 :** Technique de lavage des mains simple au savon et à l'eau

**IV.4.3.2. Lavage hygiénique aux antiseptiques :** il permet l'élimination de la flore transitoire ainsi que la réduction de la flore résidente. On préconise le remplacement du lavage simple des mains par un traitement hygiénique par frictions pour des raisons de contrainte de temps ou l'absence de point d'eau, sous réserve que les mains ne soient ni mouillées, ni souillées, ni poudrées.

Ce type de lavage est recommandé après tout contact avec un patient en isolement septique et avant contact avec un patient en isolement protecteur, avant réalisation d'un geste invasif (cathéter périphérique, sonde urinaire et autres dispositifs analogues), après contact avec un patient infecté ou avec son environnement, entre deux patients, après tout geste potentiellement contaminant, avant réalisation d'une ponction lombaire, articulaire ou autres,

avant manipulation des dispositifs intra-vasculaires, drains pleuraux, chambre d'implantable et en cas de succession de gestes contaminants pour le même patient.

**IV.4.3.3. Lavage chirurgical :** il permet l'élimination de la flore transitoire et une réduction drastique de la flore résidente, de 2 à 3 log de 10. Il assure ainsi une réduction maximale du risque de contamination par contact des mains avec des plaies ou du matériel. Cependant la flore résidente se reconstitue rapidement après ce type de lavage.

Ce type de lavage est recommandé ; avant tout acte chirurgical, d'obstétrique et de radiologie interventionnelle, avant tout geste pour lequel une asepsie de type chirurgical est souhaitée : pose de central, veineux profond ou rachidien, ponction amniotique, biopsie, placement de drain pleural et autres situations analogues.

**Premier temps :** mouiller les mains et avant-bras, Laver les mains et avant-bras (1minute pour chaque côté), Prendre une dose de savon antiseptique et rincer abondamment les mains puis avant-bras, en les maintenant au-dessus du niveau des coudes.

**Deuxième temps :** prendre une brosse stérile ; déposer une dose de savon antiseptique sur la brosse mouillée, se brosser les ongles (30 secondes pour chaque main), rincer les mains et poignets.

**Troisième temps :** prendre une nouvelle dose de savon, savonner les mains et les doigts (1minute), rincer les mains et avant-bras, sécher par tamponnement à l'aide d'un essuie-main stérile.

**La désinfection des mains par friction avec un produit hydro-alcoolique :** La méthode la plus efficace pour une hygiène des mains optimale est la friction des mains avec un produit hydro-alcoolique. Le lavage par friction vise à éliminer la flore cutanée transitoire et réduire la flore cutanée résidente pour éviter la transmission manuportée (Figure 11).


« On appelle **solution hydro-alcoolique** (SHA) toute solution à séchage rapide destinée à l'antiseptie des mains et comportant un ou plusieurs agents antiseptiques dont l'alcool et un ou plusieurs agents émoullissants protecteurs de la peau. Elle s'applique sur des mains propres et sèches par friction jusqu'à séchage spontané à l'air. » (Selon la *Société Française d'Hygiène Hospitalière*).

Selon les *Recommandations de l'OMS pour l'Hygiène des Mains au cours des Soins*, lorsqu'un produit hydro-alcoolique est disponible, il doit être utilisé en première intention

## IV. Hygiène de l'environnement hospitalier

pour la pratique de l'antisepsie des mains de routine. Les produits hydro-alcooliques présentent les avantages immédiats suivants :

- L'élimination de la plupart des germes (y compris des virus),
- La rapidité de la procédure (20 à 30 secondes),
- La disponibilité du produit sur le lieu des soins,
- La tolérance cutanée,
- La non-nécessité d'infrastructures spécifiques (réseau d'alimentation en eau propre, lavabo, savon, essuie-mains).

 **Durée de la procédure : 20-30 secondes**



**Fig 11 :** Technique de désinfection des mains par friction

### IV.4.4. Les indications de l'hygiène des mains

Deux des cinq indications de l'hygiène des mains (Figure 12) s'appliquent **avant** un contact ou une procédure de soins et soulignent la nécessité de prévenir tout risque de transmission microbienne au patient. Par contre, les trois autres s'appliquent **après** un contact ou une exposition à des liquides biologiques et visent à prévenir les risques de transmission microbienne au personnel soignant et dans l'environnement de soins (c'est-à-dire aux autres patients, à leurs environnements respectifs et à l'environnement de soins).

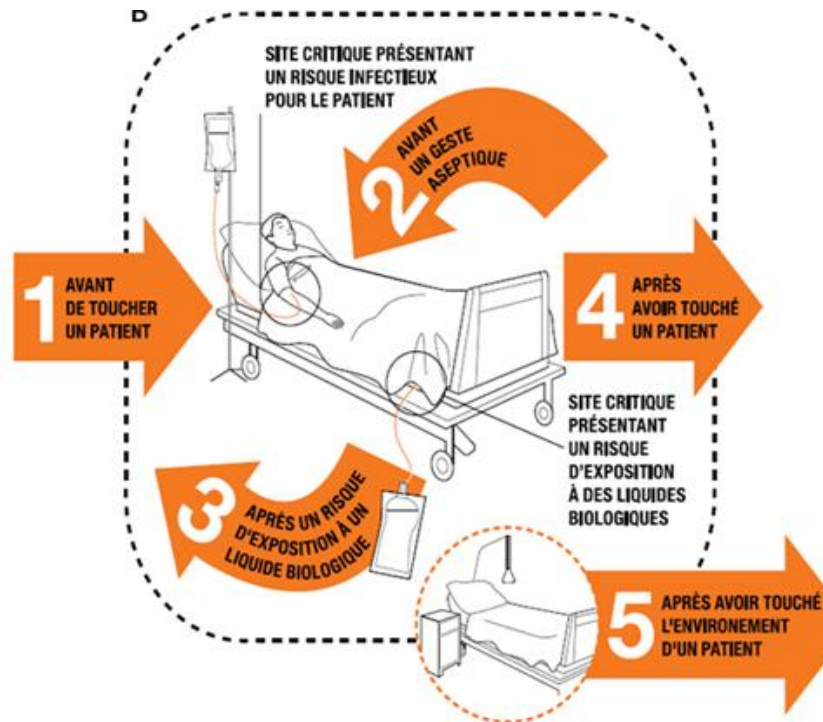


Fig 12: Les cinq indications de l'hygiène des mains

L'hygiène des mains doit être pratiquée lors des indications décrites dans la figure ci-dessous, indépendamment de l'usage des gants :

**1. Avant de toucher un patient :** Pour protéger le patient d'une colonisation par des germes présents sur les mains et, dans certains cas, d'une infection exogène.

#### Situations illustrant l'indication 1 :

- Avant de serrer la main d'un patient ou de caresser/toucher le front d'un enfant, Avant d'assister un patient dans ses activités quotidiennes : aide à la mobilisation, aide à la toilette, à l'habillage, etc. ;
- Avant de dispenser des soins et tout autre traitement non invasif : application d'un masque à oxygène, pratique d'un massage ;

- Avant de réaliser un examen physique non invasif : mesure des pulsations et de la tension artérielle, auscultation des poumons, enregistrement d'ECG.

**2. Avant un geste aseptique :** Pour protéger le patient d'une infection par inoculation de germes, y compris ceux dont il est lui-même porteur. Pratiquer l'hygiène des mains immédiatement avant de toucher un site critique présentant un risque infectieux pour le patient (muqueuse, peau lésée, dispositif médical invasif).

**Situations illustrant l'indication 2 :**

- Avant d'exécuter des soins bucco-dentaires, d'instiller des gouttes oculaires, de réaliser un toucher rectal ou un examen vaginal, un examen ORL (bouche, nez, oreille) avec ou sans instrument, d'introduire un suppositoire, un pessaire ou un stérilet, d'aspirer des mucosités ;
- Avant de faire un pansement de plaie, avec ou sans instrument, d'appliquer une pommade, de réaliser une injection ou une ponction percutanée ;
- Avant d'insérer un dispositif médical invasif (canule nasale, sonde urinaire, sonde naso-gastrique, sonde endotrachéale, cathéter percutané, drains),
- Avant d'ouvrir le circuit d'un dispositif médical invasif (alimentation, administration de médicaments, drainage, aspiration, mesure de pression) ;
- Avant de toucher des aliments, des médicaments, des produits pharmaceutiques, du matériel stérile.

**3. Après un risque d'exposition à un liquide biologique :** Pour protéger le professionnel d'une infection par les germes dont le patient est porteur et pour protéger l'environnement des soins d'une dissémination de ces germes. Pratiquer l'hygiène des mains dès que le geste exposant effectivement ou potentiellement aux liquides biologiques est terminé (et après retrait de gants).

**Situations illustrant l'indication 3 :**

- Après un contact avec une muqueuse ou une peau lésée ;
- Après avoir pratiqué une injection ou une ponction percutanée ; après l'insertion d'un dispositif médical invasif (accès vasculaire, cathéter, sonde, tube, drain, etc.) ; après l'ouverture d'un circuit connecté à un dispositif médical invasif ;
- Après le retrait d'un dispositif médical invasif ;
- Après le retrait de protection absorbante (couche, pansement, gaze, serviette hygiénique, etc.) ;

- Après la manipulation d'un échantillon de matière organique ; après le nettoyage d'excrétions et d'autres liquides biologiques ; après le nettoyage de toute surface contaminée et d'équipement souillé (litière souillée, dentier, instrument médical, urinal, bassin, toilettes, etc.).

**4. Après avoir touché un patient :** Pour protéger le professionnel d'une colonisation avec les germes dont le patient est porteur et pour protéger l'environnement des soins d'une dissémination de ces germes. Pratiquer l'hygiène des mains en quittant le patient et son environnement, après avoir touché le patient.

**Situations illustrant l'indication 4 :**

- Après avoir serré la main d'un patient ou caressé le front d'un enfant ;
- Après avoir assisté un patient dans ses activités quotidiennes (aide à la mobilisation, aide à la toilette, à l'habillage, etc.) ;
- Après avoir dispensé des soins et tout autre traitement non invasif : changement de la literie avec patient alité, application d'un masque à oxygène, pratique d'un massage ;
- Après avoir réalisé un examen clinique non invasif : prise des pulsations et de la tension artérielle, auscultation des poumons, enregistrement d'ECG.

**5. Après contact avec l'environnement du patient :** Pour protéger le professionnel d'une colonisation avec les germes dont le patient est porteur, susceptibles d'être présents sur les surfaces inertes et objets de l'environnement du patient, et pour protéger l'environnement des soins d'une dissémination de ces germes.

Pratiquer l'hygiène des mains en quittant l'environnement du patient, après en avoir touché un objet ou du mobilier, à l'exclusion de tout contact avec le patient.

**Situations illustrant l'indication 5 :**

- Après les tâches d'entretien courant : changement de la literie, avec un patient non alité, relèvement des barrières de lit, nettoyage de la table de nuit ;
- Après les activités relatives aux soins : réglage d'un débit de perfusion, annulation d'alarmes de monitoring ;
- Après tout autre contact non justifié avec les surfaces inertes et objets : s'appuyer contre un lit ou une table de nuit (à éviter, si possible) ;



**IV.4.5. Le port des gants et hygiène des mains après utilisation**

Le port des gants permet de se protéger contre la transmission des maladies virales d'origine sanguine et d'éviter une contamination importante des mains lors de soins septiques, de manipulations d'excréta, de tris de matières sales.

Des gants propres et non stériles sont enfilés avant tout contact potentiel avec du sang, des liquides organiques, des excréta, des plaies exsudatives mais également, lorsque le soignant présente des lésions cutanées ouvertes aux mains.

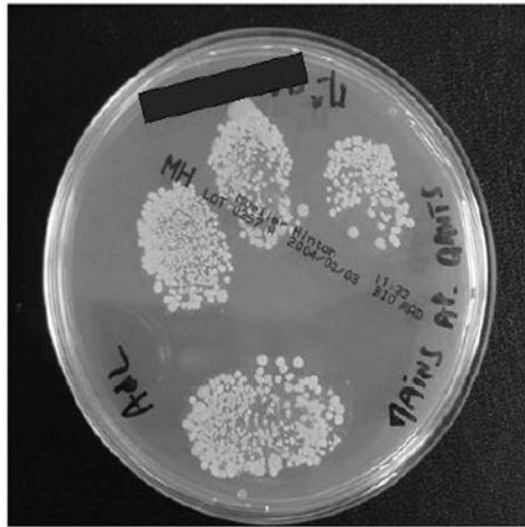
Les gants sont enfilés immédiatement avant le contact et retirés immédiatement après le contact et avant de toucher les surfaces propres de l'environnement du patient (Figure 13). Il s'agit d'une mesure additionnelle qui ne remplace pas la désinfection hydroalcoolique ou le lavage des mains.



**Fig 13 :** Technique d'utilisation et d'enlèvement des gants

L'utilisation de gants n'exclut pas l'hygiène des mains. Certains gants n'adhèrent pas suffisamment et ne sont pas toujours entièrement hermétiques aux microorganismes (Figure 14). Les gants génèrent un milieu chaud et humide entraînant une augmentation de la flore cutanée.

Lors de l'enlèvement des gants, il existe un risque de souillure et de contamination des mains. Après l'usage de gants, il est indiqué de se désinfecter les mains et en cas de souillure par du sang ou des liquides corporels, les mains sont d'abord lavées et ensuite désinfectées.



Mains après gants



Gants

**Fig 14 :** Risque de contamination des mains par des pathogènes après 45 min de l'usage de gants

## V- Contrôle microbiologique de l'environnement

La surveillance biologique de l'environnement hospitalier consiste principalement en des contrôles de surfaces, d'air et d'eau afin de détecter les éventuelles contaminations microbiennes présentes malgré les protocoles de ménage ou les systèmes de ventilation mis en place. Ils peuvent aussi permettre de mettre en évidence un réservoir environnemental de germes saprophytes responsables d'infections opportunistes.

Avant toute mise en place de contrôles environnementaux, il est indispensable de réfléchir à une stratégie de surveillance adaptée à l'établissement de santé. Cette réflexion est capitale pour contenir le budget alloué à cette surveillance tout en ayant des données exploitables et utiles pour participer de manière efficiente à la protection des personnes (patients, personnels, visiteurs...).

La réflexion est propre à chaque établissement en fonction des patients qu'il accueille, des soins effectués, de l'architecture et bien sûr du budget. Pour l'organisation des contrôles de l'environnement, il est recommandé de mettre en place une démarche fondée sur le système HACCP (*hazard analyse critical control point*). Il faut alors déterminer pour chaque paramètre de l'environnement (principalement air et surface) des points critiques mesurables et sur lesquels il est possible d'exercer une action corrective.

Chaque établissement doit alors établir son propre plan d'échantillonnage en ce qui concerne les lieux de prélèvements, le nombre d'échantillon, la date et les horaires des prélèvements, la fréquence de ces prélèvements, en tenant compte du degré de maîtrise de la biocontamination de la zone à risque, du type d'activité et de l'état des patients.

### V.1. Indications et stratégies de la surveillance microbiologique environnementale

La surveillance microbienne de l'environnement peut être utilisée pour détecter la présence d'agents pathogènes nosocomiaux spécifiques et pour évaluer l'efficacité des pratiques de routine de nettoyage et de désinfection.

S'il a été établi l'existence d'une corrélation entre le nombre de bactéries présentes dans l'air d'une salle d'opération et le pourcentage d'infections postopératoires déclarées chez des patients, il est cependant très difficile d'établir au quotidien un parallélisme entre les germes retrouvés dans l'environnement et les germes responsables d'infections. Il est encore plus difficile de prouver que l'absence d'infection est due à un environnement bien contrôlé.

Néanmoins, les techniques de surveillance doivent avoir un pouvoir prédictif positif suffisant autorisant la mise en œuvre immédiate de mesures correctives. De ce fait, les contrôles microbiologiques de d'environnement (prélèvement + analyse et résultats validés) participent à la prévention des infections en :

- Identifiant les risques potentiels grâce à la connaissance de l'écologie environnementale de l'établissement,
- Analysant les risques en fonction de l'écologie, des zones concernées, des activités et des personnes exposées,
- Prenant les mesures adaptées au regard des résultats des contrôles effectués (maintenance, modifications des installations...).

Ils permettent aussi :

- De suivre une démarche qualité en tant qu'indicateurs à condition qu'ils soient judicieusement choisis et constants, au moins pendant une même campagne de surveillance pour établir un historique ;
- D'adapter les points de contrôles en fonction des résultats obtenus pour une meilleure pertinence de la surveillance.

Les techniques et le matériel à utiliser pour effectuer ces contrôles sont en revanche bien décrits dans la norme internationale NF EN ISO 14698 et ses annexes informatives qui traitent de la maîtrise de la biocontamination dans les salles propres et environnements maîtrisés apparentés. Cette norme précise que ces contrôles doivent s'effectuer avant le début d'activité pour établir une contamination de base et pendant l'activité pour vérifier que le niveau de biocontamination reste acceptable. Le contrôle après activité peut servir également pour évaluer les procédures de biodécontamination (ventilation ou bionettoyage)

Plusieurs méthodes d'évaluation permettent de déterminer si l'entretien a été efficace, y compris la méthode traditionnelle de l'observation de l'environnement après le nettoyage (inspection visuelle) ainsi que de nouvelles technologies prometteuses d'évaluation des pratiques de nettoyage de base dans les établissements de soins de santé. L'utilisation des méthodes microbiologiques, UV visible et bioluminescence ont été longtemps incorporées dans un cadre d'évaluation complète car l'inspection visuelle seule ne permet pas de déterminer avec précision le risque d'infection pour les patients.

## **V.2. Contrôle microbiologique de l'air**

Un échantillonnage de l'air peut avoir un sens comme contrôle du bon fonctionnement lors de la mise en service d'installations de ventilation ou après des travaux d'entretien ayant pu entraîner des modifications dans le fonctionnement du système de ventilation. Un échantillonnage de l'air comme partie intégrante de l'assurance qualité du fonctionnement de l'appareillage relève plutôt de la responsabilité de l'installateur. L'analyse doit alors être effectuée par une société indépendante possédant la qualification exigée.

L'hôpital doit toutefois avoir la possibilité de réaliser un échantillonnage bactériologique de l'air en cas d'épisodes épidémiques laissant supposer une transmission par cette voie.

Pour la qualité de l'air, chaque zone de l'hôpital doit être identifiée en fonction du degré de risque pour le patient ou pour l'acte réalisé dans cette zone. Chaque degré de risque conduit à une maîtrise différente de l'aérocontamination et ainsi, suivant ce degré de risque accepté (1, 2, 3 ou 4), il sera choisi un système de maîtrise parmi les trois types existant et offrant des performances différentes devant être maintenues et donc maîtrisées

**V.2.1. Objectif du contrôle :** L'air peut faire l'objet de deux types de contrôles : des contrôles microbiologiques et des contrôles particuliers. Ces derniers sont des contrôles à visée technique qui permettent de déterminer, la classe d'empoussièrement d'une salle et de mettre en évidence une défaillance.

**V.2.2. Comptage particulaire :** Un compteur optique de particules est utilisé pour le comptage des particules de l'air en fonction de leur taille. Le prélèvement est réalisé par aspiration de l'air par une pompe calibrée avec un débit déterminé, et les particules sont mesurées une à une par un faisceau laser.

La sonde du compteur de particule est positionnée vers le haut, à hauteur de l'activité, en suivant le plan d'échantillonnage. L'appareil doit être conforme à la norme ISO 21501-4 (2007) (calibré une fois par an par un service de métrologie spécialisé et utilisé avec un certificat d'étalonnage en cours de validité pour valider une classe ISO, selon les normes ISO 14644-1, 2 et 3 (2006, 2016).

La norme ISO 14644-1 (1999) définit neuf classes ISO de propreté particulaire de l'air selon les dimensions et les concentrations des particules présentes en suspension (Tableau II). Elle fixe les niveaux d'une classification ISO caractérisant la propreté de l'air des salles propres et environnements maîtrisés apparentés comme illustré dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II : Classe de propreté particulaire la norme NF ISO 14644-1**

Classe ISO	Concentration maximale admissible (particules/m <sup>3</sup> d'air) en particules de taille égale ou supérieure à celles données ci-dessous		
	0,1 µm	0,5 µm	5 µm
<b>ISO 1</b>	10		
<b>ISO 2</b>	100	4	
<b>ISO 3</b>	1000	35	
<b>ISO 4</b>	10 000	352	
<b>ISO 5</b>	100 000	3520	29
<b>ISO 6</b>	1 000 000	35 200	293
<b>ISO 7</b>		325 000	2930
<b>ISO 8</b>		35 200 000	29 300
<b>ISO 9</b>			239 000

Le contrôle particulaire est plus facile à mettre en œuvre, plus réactif et fait référence à des normes bien établies qui permettent d'évaluer l'intégrité de la filtration et la maîtrise de la zone à environnement maîtrisé (ZEM). Ces deux types de contrôles sont complémentaires.

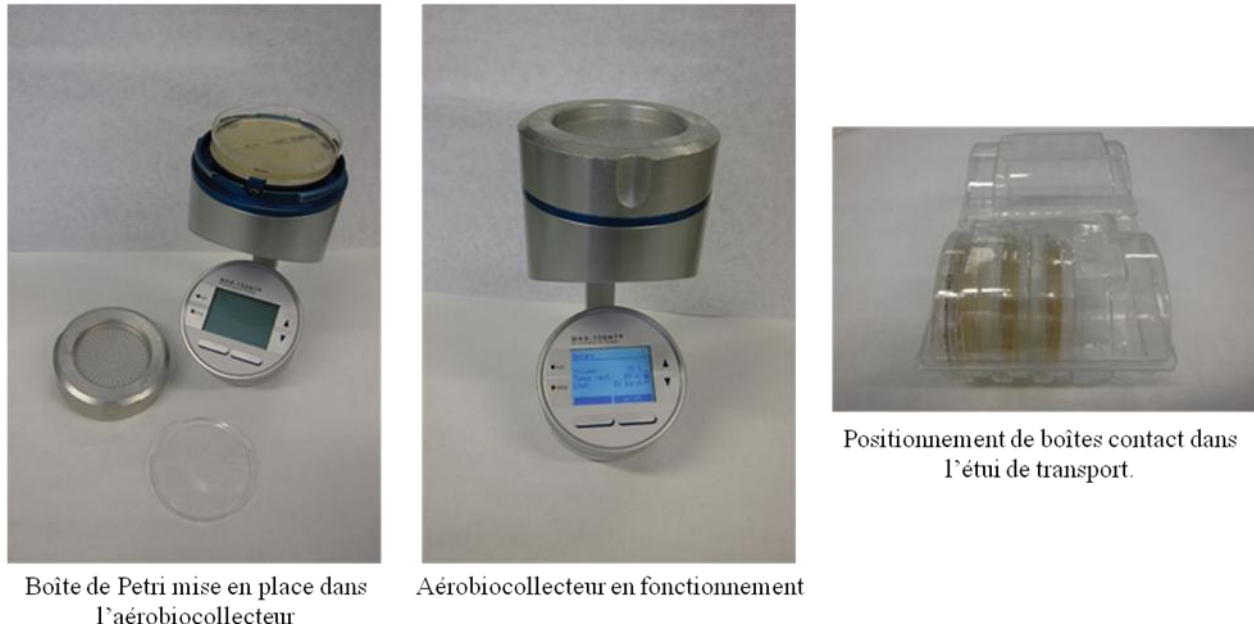
**Interprétation des résultats :** Pour le comptage particulaire, l'appareil restitue immédiatement le nombre de particules d'une taille donnée (0,5 microns par exemple) par mètre cube d'air pour chaque point de prélèvement, et peut éventuellement donner aussi la classe ISO.

**V.2.3. Le contrôle microbiologique :** a pour intérêt de mettre en évidence des microorganismes potentiellement à l'origine de contamination, mais nécessite un délai pour l'obtention des résultats et son interprétation est délicate en l'absence de techniques de références. Il existe deux types de méthode : une par filtration et une par impaction sur milieu gélosé (Figure 15) qui est plus répandue.

La contamination microbiologique de l'air est évaluée de façon active à l'aide d'un aérobiocollecteur dont la fonction est d'aspirer l'air et de récupérer les particules viables qui seront mises en évidence par culture.

Ce dispositif de prélèvement doit être conforme à la norme ISO 14698-1 : il est recommandé de choisir un appareil permettant d'échantillonner un volume important (1 m<sup>3</sup>) avec un débit de 100L/minute en dix minutes (volume suffisant pour mettre en évidence des

microorganismes avec un niveau de contamination faible et pas trop élevé pour éviter le dessèchement de la gélose), avec une vitesse d'impaction permettant de piéger les particules de taille supérieure à 1 micron tout en garantissant leur viabilité (< 20 m/s). Le volume d'air prélevé est fonction de la classe particulaire du local : 1m<sup>3</sup> en classes ISO 5, 6, 7, et 200 à 500 litres en classe ISO 8.



**Fig 15:** Prélèvement microbiologique de l'air par impaction sur milieu gélosé

### Interprétation des résultats :

Pour les contrôles microbiologiques, un dénombrement des colonies bactériennes et fongiques est réalisé sur chaque milieu de culture au terme de la période d'incubation. Les résultats quantitatifs sont exprimés en UFC par volume ou par surface :

- UFC/500 litres ou UFC/m<sup>3</sup>, pour un prélèvement d'air par aéro-biocollecteur ;
- UFC/surface exposée/durée d'exposition, pour un prélèvement d'air par sédimentation ;

L'utilisation de plaques de sédimentation peut, dans certaines situations, être acceptable en raison de la simplicité de la technique et du relativement bon reflet d'une situation réelle. Cette méthode sera principalement utilisée dans des situations cliniques spécifiques lors d'une enquête épidémiologique ou pour des raisons didactiques. La méthode ne mesure pas de concentration en microorganismes dans l'air mais bien le nombre de CFU sédimentées par unité de surface durant le temps d'échantillonnage. La méthode ne convient pas pour l'échantillonnage de spores de moisissures.

Les résultats sont exprimés :

- **en quantitatif :**

- UFC/surface si boîte de sédimentation en précisant la durée de prélèvement,
- UFC/m<sup>3</sup> si prélèvement par impaction,

- **en qualitatif si nécessaire :** identification de microorganismes potentiellement pathogènes.

**Remarque :** Les prélèvements d'air se font de préférence hors présence humaine avec déclenchement retardé ou à distance ; si le préleveur reste présent, il doit se placer près d'une bouche de reprise. Dans une même pièce, les prélèvements d'air sont réalisés en premier, avant les prélèvements de surface.

### V.3. Contrôle microbiologique de l'eau

Le contrôle de la qualité microbiologique de l'eau ne sont réglementés que pour les paramètres de potabilité susceptibles d'affecter la santé de l'homme et pour le paramètre légionnelle. Dans l'établissement de santé, les prélèvements d'eau sont effectués sur les points utilisés à des fins de consommation humaine, sanitaires, de soins et de traitement des dispositifs médicaux (DM).

Les groupes bactériens sont recherchés selon les paramètres microbiologiques décrits par les normes relatives à chaque type d'eau. Ils sont adaptés à la recherche demandée soit :

- Quantifier les microorganismes de la flore aérobie revivifiable (à 37°C et à 22°C) présents dans le prélèvement et isoler un éventuel microorganisme pathogène, l'identifier et le quantifier (les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques fécaux),
- Rechercher et quantifier des microorganismes ciblés (*Legionella*, *Pseudomonas aeruginosa*...) soit dans le cadre réglementaire (potabilité, légionelles...), soit dans le cadre d'une investigation (épidémie suspectée d'être d'origine hydrique...).

Les microorganismes susceptibles d'être présents dans les réseaux de distribution (Tableau III) couvrent une large partie de la classification des êtres vivants, incluant les bactéries, virus, champignons, et organismes pluricellulaire.



**Tableau III : Quelques microorganismes susceptibles d'être présents dans les eaux potables**

Pathogènes potentiels et bactéries indicatrices	Bactéries autochtones	Bactéries de la corrosion	Moisissures et levures
<i>Salmonella</i>	<i>Acinetobacter</i>	Bactéries Sulfato-réductrices	<i>Penicillium</i>
<i>Shigella</i>	<i>Aeromonas</i>	Bactéries du fer	<i>Rhizopus</i>
<i>Enterovirus</i>	<i>Alcaligenes</i>		<i>Mycelium</i>
<i>E. coli</i>	<i>Bacillus</i>		<i>Trichomonas</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Enterobacter</i>		<i>Mucor</i>
<i>Legionella</i>	<i>Flavobacterium</i>		<i>Aspergillus</i>
	<i>Pseudomonas</i>		
	<i>Staphylococcus</i>		
	<i>Corynebacterium</i>		
	<i>Proteus</i>		
	<i>Yersinia</i>		

### V.3.1. Fréquence des prélèvements

Le plan d'échantillonnage doit intégrer des points critiques (a priori ceux où le risque de contamination est majoré) et des points alimentant des patients fragiles et situés dans un environnement propre et facilement accessible. La fréquence des prélèvements (Tableau IV) est :

- Soit fixée par le cadre réglementaire (ex : limites et références de qualité pour l'eau potable, niveaux cibles pour *Legionella*),
- Soit variable en fonction de l'analyse de risque et de l'objectif du prélèvement et/ou des résultats de l'analyse. En aucun cas elle ne sera inférieure à celle fixée par la réglementation quand elle existe.

**Tableau IV : Fréquence des contrôles microbiologiques selon le type d'eau**

Type d'eau	Fréquences des contrôles
<b>Eau destinée à la consommation humaine</b>	
- Eau aux points d'usage	Trimestrielle
- Eau des fontaines réfrigérantes et machines de distribution	Annuelle
<b>Eaux à usage de soin</b>	Trimestrielle
<b>Eaux chaudes</b>	
Services à haut risque	Semestrielle
Autres	Annuelle
<b>Eau de piscine et de rééducation</b>	Mensuelle
<b>Recherche de <i>Legionella pneumophila</i> (douche)</b>	Trimestrielle
<b>Eau pour hémodialyse</b>	Hebdomadaire ou une fois par mois

### V.3.2. Réalisation des prélèvements

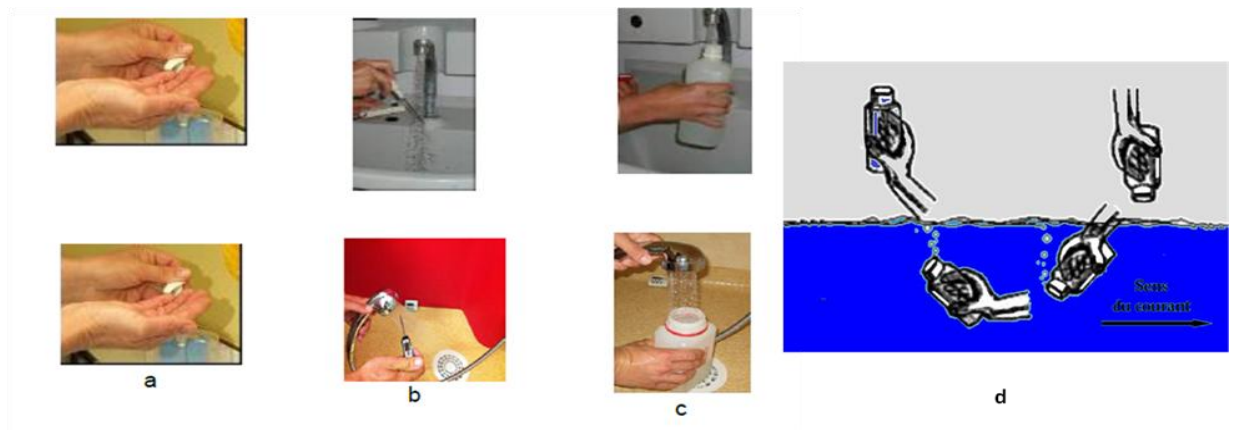
Les prélèvements sont réalisés hors cycle de désinfection des réseaux. **On règle générale :**

**1. Respecter les règles d'hygiène et de sécurité** afférentes au lieu du prélèvement et au prélèvement lui-même (procédure d'accès, habillage, hygiène des mains, désinfection du matériel, ...) :

- réaliser une désinfection des mains par friction (FHA),
- revêtir une tenue conforme au protocole spécifique d'habillage de la zone concernée (ex. : ensemble tunique pantalon, masque chirurgical, charlotte, sabots, ...) ;

**2. Prélever avec précaution**, dans des conditions d'hygiène irréprochables pour le préleveur, le matériel et les flacons (Figure 16) :

- protéger l'échantillon contre les courants d'air et les éclaboussures,
- placer le flacon ouvert dans l'écoulement d'eau et le remplir dans des conditions aseptiques,
- pendant le remplissage, l'intérieur du bouchon du flacon ne doit entrer en contact avec aucun élément (doigts, sol, poche, ...),
- respecter la graduation du flacon (ne pas remplir au-delà de l'épaule pour faciliter l'homogénéisation au moment de la filtration ou de la mise en culture),
- fermer le flacon immédiatement et homogénéiser le contenu par retournement (répartition du neutralisant), ne pas utiliser cet échantillon d'eau pour la mesure de la température ou autre paramètre mesuré sur site.



**Fig 16 :** Illustrations de prélèvements d'eau (robinet, douche, piscine)

a : friction hydro-alcoolique, b : prise de température et rinçage/purge, c : remplissage du flacon, d: prélèvement de piscine

### **V.3.3. Particularités en fonction de la typologie des points de contrôle :**

**1. Eau de piscine :** le prélèvement est effectué en subsurface (entre -10 et -30 cm à l'opposé de l'arrivée d'eau et en sens inverse du flux et à 20 cm du bord et 30 cm de profondeur) :

- avec un flacon stérile à l'intérieur et stérile ou désinfecté à l'extérieur plongé à l'horizontale (canne de prélèvement désinfectée) (figure d) jusqu'à ce que le volume d'eau recueilli soit suffisant tout en gardant un volume d'air dans le flacon pour permettre une agitation correcte avant analyse ;
- transvaser aseptiquement dans un flacon stérile avec neutralisant (thiosulfate de sodium à 3 %).

**2. Eau des fontaines et brumisateurs :** le prélèvement sur un écoulement en continu peut nécessiter l'emploi d'une canne à prélèvement pour positionner le flacon à prélèvement au niveau de l'écoulement d'eau ;

**3. Eau de dialyse :** la réalisation des prélèvements des eaux de dialyse, en particulier sur les appareils d'hémodiafiltration, nécessitent des protocoles d'asepsie rigoureux et éventuellement du consommable dédié (poches de prélèvement stériles, apyrogènes, avec date de péremption contrôlée) afin que les échantillons ne soient pas contaminés avant analyse ;

**4. Eau en stérilisation** (eau de station de traitement de l'eau permettant d'avoir l'eau adoucie et l'eau osmosée) : avant et après adoucisseur, avant et après osmoseur, sortie de cuve avant départ de boucle de distribution.

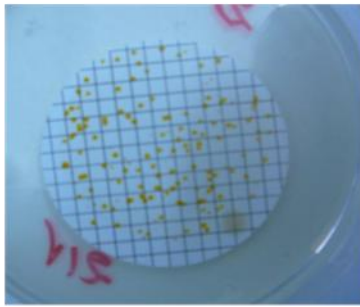
### **V.3.4. Techniques d'ensemencement (d'après la norme NF EN ISO 8199)**

**1. Filtration sur membrane :** filtrer l'échantillon sur une membrane filtrante stérile de composition et de diamètre de pore nominal conforme à la norme utilisée (ex : nitrate de cellulose, 0,45 µm) montée dans un dispositif de filtration positionné de préférence dans un PSM.

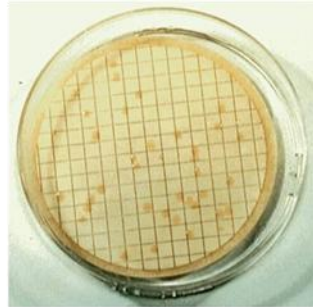
Déposer la membrane (face non filtrante) sur le milieu gélosé contenu dans une boîte de Pétri en veillant à ne pas emprisonner d'air et après incubation, dénombrer les colonies et les identifier si besoin (Figure 17).

**2. Par incorporation en milieu gélosé :** pour chaque ensemencement, faire liquéfier le milieu (45°C) puis déposer au fond d'une boîte de Pétri un volume d'essai n'excédant pas 2 mL et rajouter 15 à 20 mL du milieu liquide et mélanger l'ensemble par rotations lentes.

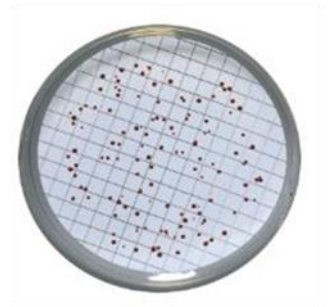
Après incubation, dénombrer les colonies (l'identification est rendue difficile car les colonies sont incluses dans la gélose).



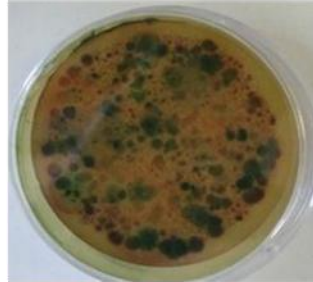
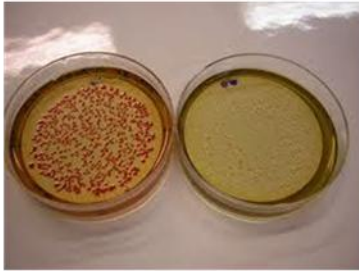
Flore aérobie revivifiable



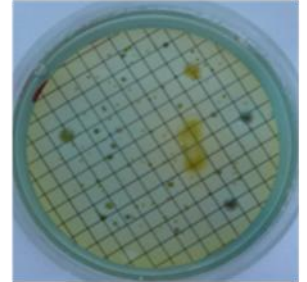
*P. aeruginosa*



Streptocoque fécal



Coliformes totaux



**Fig 17 :** Membrane filtrante contenant des colonies après 24 h d'incubation à 37°C

### Résultats

Les résultats doivent inclure *a minima* : le référentiel (norme...) ou à défaut la technique d'ensemencement, le milieu utilisé, la température et durée d'incubation utilisés. Ils sont rendus en UFC/volume filtré pour chaque température d'incubation. Les principaux paramètres recherchés sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau V : Principaux paramètres recherchés pour le contrôle microbiologique de l'eau**

Type d'eau	Paramètres de contrôle	Niveau exigé
<b>Eau d'entrée</b>	<i>E. coli</i> et entérocoques	0/100ml
	Flore aérobies revivifiables à 22°C et 36°C	100 UFC à 22°C et 10 UFC à 36°C
	Coliformes totaux	0/100ml
	Bactéries sulfito-réductrices	0/100ml
<b>Eau aux points d'usage</b>	Flore aérobie à 22°C et 36°C	Pas de variation par apport à la valeur habituelle
	Coliformes totaux	<1UFC/100ml
<b>Eau pour soins standard</b>	Flore aérobie à 22°C et 36°C	<10 UFC/ml
	Coliformes totaux	≤1UFC/100ml
	<i>P. aeruginosa</i>	<1UFC/100ml
<b>Eau bactériologiquement maîtrisée</b>	Flore aérobie à 22°C	≤1UFC/100ml
	<i>P. aeruginosa</i>	<1UFC/100ml
<b>Eau chaude</b>	Recherche de <i>L. pneumophila</i>	<1000 UFC/ml
<b>Eaux de piscine et de rééducation</b>	Flore aérobie à 36°C	<100 UFC/ml
	Coliformes totaux à 36°C	≤1 UFC/100ml
	<i>P. aeruginosa</i>	<1 UFC/100ml
	<i>S. aureus</i>	≤1 UFC/100ml
<b>Eau des bains remous et douches à rejet</b>	Flore aérobie à 36°C	<100 UFC/ml
	Coliformes totaux à 36°C	≤1 UFC/100ml
	<i>P. aeruginosa</i>	<1 UFC/100ml
	<i>S. aureus</i>	≤1 UFC/100ml
	<i>L. pneumophila</i>	<250 UFC/litres
<b>Eau pour hémodialyse</b>	Flore aérobie à 22°C	≤100 UFC/ml
	Endotoximes	<0.25 UFC/100ml

#### V. 4. Contrôle microbiologique des surfaces

La norme internationale NF EN ISO 14698 partie 1 et partie 2 décrit trois techniques utilisables pour l'analyse de la biocontamination des surfaces : par contact direct à l'aide de boîte contact : méthode qualitative et quantitative, par contact indirect à l'écouvillon : méthode qualitative, par sédimentation : méthode qualitative et quantitative peu sensible.

Il n'y a pas de textes réglementaires spécifiques pour la surveillance microbiologique des surfaces. Il n'est pas indiqué de procéder régulièrement à un échantillonnage bactériologique de routine des surfaces environnementales. Cependant, l'échantillonnage peut s'avérer nécessaire pour : **identifier** une source d'épidémie environnementale ; **confirmer** l'efficacité des procédures de désinfection ou de nettoyage et de **surveiller** l'application des pratiques de nettoyage.

Il n'y a pas de standard en matière de périodicité de prélèvement. En l'absence de fréquences définies par les normes ou les recommandations, les fréquences résumées dans le

tableau ci-dessous sont données à titre indicatif par le groupe de travail. Il convient de les adapter en fonction de l'analyse de risque effectuée au sein de chaque établissement.

Pour les autres secteurs sans indications spécifiques, la fréquence des prélèvements de surfaces sera intégrée dans une démarche qualité et établie en fonction du local et des patients qui y sont hébergés en veillant à éviter l'inflation des analyses.

**Tableau VI : Proposition de fréquence de prélèvements de surface « au repos » en fonction du niveau de risque**

Niveau de risque infectieux	Risque 4	Risque 3	Risque 2	Risque 1
<b>Exemples d'après la norme NF S90-351(2013)</b>	Salle d'opération : - orthopédie avec implant articulaire - Unités protégées (hématologie)	Salle d'opération : - chirurgie digestive, - urologie... Salle d'imagerie interventionnelle	Salle de soins post interventionnels réanimation polyvalente	Salle d'endoscopie Chambre standard d'hospitalisation
<b>Fréquence des prélèvements de surface « en routine »</b>	Trimestrielle à mensuelle	Trimestrielle	Semestrielle à trimestrielle	A définir en fonction des objectifs de l'établissement de santé

#### V.4.1. Méthode de prélèvement

##### V.4.1.1. Prélèvement de surface par empreinte gélosée

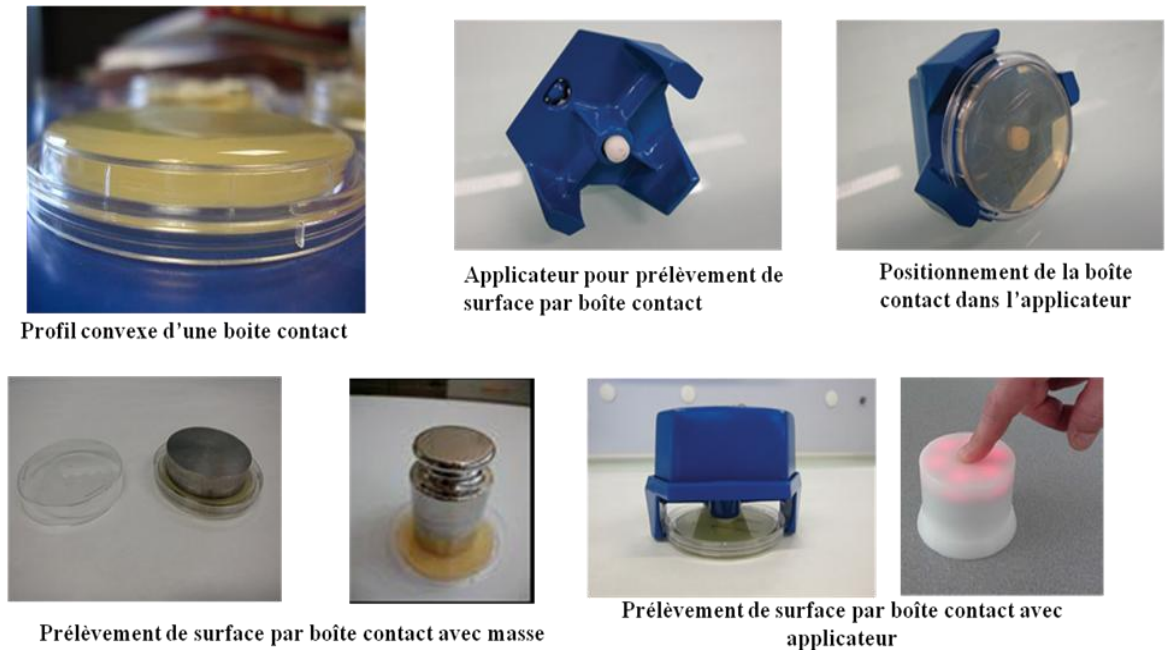
###### a. Application de boîte de type « count tact » ou Rodac

Il existe un projet de Norme Européenne portant la référence française NF EN 1632 - 3, intitulée : Méthodes d'analyse et de mesurage de la biocontamination des surfaces dans les zones à risques. Ce projet a été élaboré par le Comité Technique CEN/TC 243 « Technologie des salles propres ».

Les microorganismes cultivables sont récupérés par l'application standardisée (surface, temps et pression) d'un milieu gélosé convexe dans des boîtes rondes de 25 cm<sup>2</sup> (Figure 18) sur la surface à prélever (NF EN ISO 14698-1 (2004)).

Une pression uniforme et constante est appliquée pendant quelques secondes, par exemple 25g/cm<sup>2</sup> pendant 10 secondes. Elle est obtenue par utilisation d'une masse et d'un chronomètre ou d'un applicateur (Figures 13). Il ne doit y avoir aucun mouvement circulaire

ou linéaire lors du prélèvement. Cette technique est adaptée aux surfaces planes, lisses et sèches, et permet d'obtenir un résultat quantitatif s'il est standardisé.



**Fig 18** : Prélèvement de surfaces avec la méthode des boîtes Rodac

### Les milieux de cultures

Les prélèvements de surfaces peuvent être réalisés avec plusieurs types de milieux de culture sur des boîtes de gélose « contact » pour la détermination de la flore totale sur gélose TSA (trypticase soja agar) ou PCA (plate count agar), mais également pour la recherche spécifique des coliformes, staphylocoques, streptocoques, *Pseudomonas*, entérobactéries, levures et moisissures. Le choix et les conditions d'incubation sont déterminés par le microorganisme recherché.

Les locaux étudiés sont régulièrement désinfectés et des traces d'antiseptiques ou de désinfectants (ammoniums quaternaires dérivés phénoliques, aldéhydes, dérivés halogénés, formol et éthanol) peuvent être récupérées lors des prélèvements. Leur présence dans le milieu de culture au moment de l'incubation inhibe la croissance des microorganismes collectés.

Pour cela, ces milieux de cultures sont additionnés d'un ou de plusieurs neutralisants actifs sur les produits détergent-désinfectants. Les plus courants sont le Tween 80, la lécithine, le thiosulfate de sodium, la L-histidine. Ces neutralisants peuvent eux-mêmes être toxiques pour certains microorganismes. Chaque désinfectant a son ou ses neutralisants spécifiques. Dans le cas du glutaraldéhyde, le neutralisant utilisé est à base de tween plus



lécithine ou histidine (1 à 3 %). Ce neutralisant est intéressant en particulier pour les prélèvements réalisés à l'intérieur des machines à laver les endoscopes.

### **Transport et délai d'acheminement**

Les conditions de transport des échantillons doivent assurer la survie des microorganismes collectés. Au maximum 24 heures à température ambiante et ne pas réfrigérer les échantillons.

De plus, les échantillons doivent être placés dans un conditionnement évitant tout risque de contamination externe (les boîtes prélevées dans une même zone seront regroupées dans un « contenant retour » identifié : date, l'heure, lieu des prélèvements).

### **Température et temps d'incubation :**

- 30 ± 2°C pour la FAR (y compris flore fongique) pendant 5 à 7 jours,
- 22 ± 2°C pour une recherche ciblée de flore fongique pendant 5 à 7 jours.

Dans un contexte d'épidémie dont on soupçonne une origine environnementale, des conditions atmosphériques et des durées d'incubation et des milieux spécifiques peuvent s'avérer nécessaires.

**Interprétation :** Les seuils (cible, alerte et action) sont à définir en fonction des types de locaux et de leur niveau de risque. Il s'agit d'un comptage simple exprimé en nombre d'UFC (unités formant colonie) bactériennes ou fongiques sans identification en routine en dehors d'une recherche ciblée.

### **Lecture des résultats :**

#### **1. Recherche de la flore totale aérobie (FAR) :**

##### **1ère lecture : après 48 à 72 heures d'incubation :**

- Dénombrer la flore totale aérobie en dénombrant toutes les colonies présentes sur la gélose et identifier les bactéries potentiellement pathogènes avec les techniques usuelles de bactériologie (Figure 19) ;
- Si présence de levures et/ou de champignons filamenteux : identifier toute colonie suspecte d'être un *Aspergillus* et confirmer l'identification ;

##### **2ème lecture : après 5 à 7 jours de ré-incubation :**

- Dénombrer la flore totale aérobie qui a pu évoluer depuis la 1ère lecture et, si de nouvelles colonies de bactéries potentiellement pathogènes sont apparues, les identifier comme



précédemment. Rechercher à nouveau la présence de levures et/ou de champignons filamenteux et procéder comme pour la 1ère lecture ;

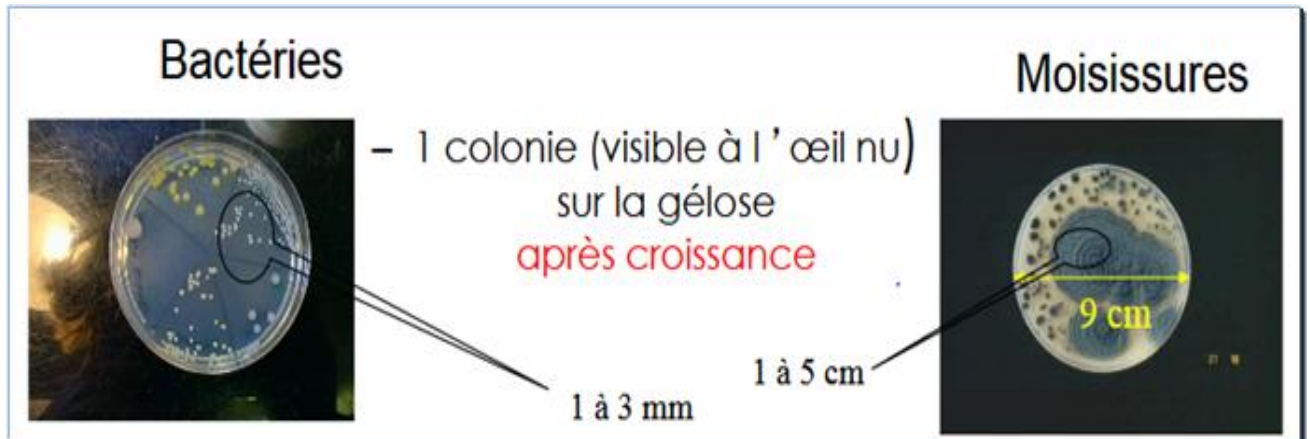


Fig 19 : Boîte contact après incubation et comptage des UFC bactériennes et fongiques

## 2. Recherche ciblée de fongiques :

### 1ère lecture : après 48 à 72 heures d'incubation :

- Dénombrer les levures et/ou les champignons filamenteux : identifier toute colonie suspecte d'être un *Aspergillus* et confirmer l'identification,
- Si absence de champignons, les géloses sont ré incubées (5 à 7 jours en tout) ;

### 2ème lecture : après 5 à 7 jours d'incubation :

- Rechercher à nouveau la présence de levures et/ou de champignons filamenteux et procéder comme pour la 1ère lecture ;

## B. Lames gélosées pliantes double face avec neutralisant

Les techniques reposent sur le principe de récupération par contact avec des lames gélosées double face et mise en culture des contaminants (bactéries, levures, ...). Cette méthode permet d'effectuer deux tests en une seule application et la recherche d'une flore totale et une flore spécifique (coliforme, entérobactérie, moisissure, levure, streptocoque et staphylocoque) en même temps. L'articulation du bouchon par rapport à la lame permet d'appliquer correctement la surface gélosée sur la surface à contrôler pendant 10 secondes (Figure 20).



Lames gélosées pour flore totale et flore spécifique

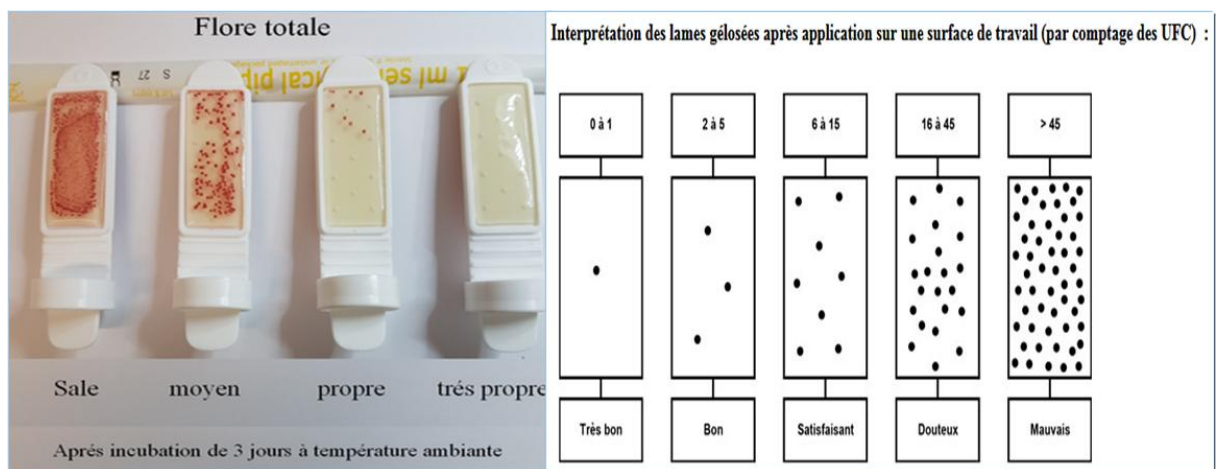


Mini étuve spécifique lames gélosées

**Fig 20 :** Lames gélosées pliantes double face avec mini étuves

Ce test est utilisé pour le contrôle de l'efficacité des procédures de désinfections des surfaces et du matériel, de l'hygiène des mains, l'hygiène des textiles et de la qualité microbiologique d'échantillon liquide par immersion.

**Interprétation :** Les lames gélosées sont incubées selon la température optimale de croissance des microorganismes recherchés (exemple 37 °C pendant 24h) dans une mini étuve spécifique pour lames gélosées. Après 24h, le nombre de colonies qui se développent à la surface de la gélose peut être utilisé afin de quantifier la charge bactérienne et l'interprétation des résultats se fait selon la fiche d'interprétation fournie par le fabricant (figure 21).

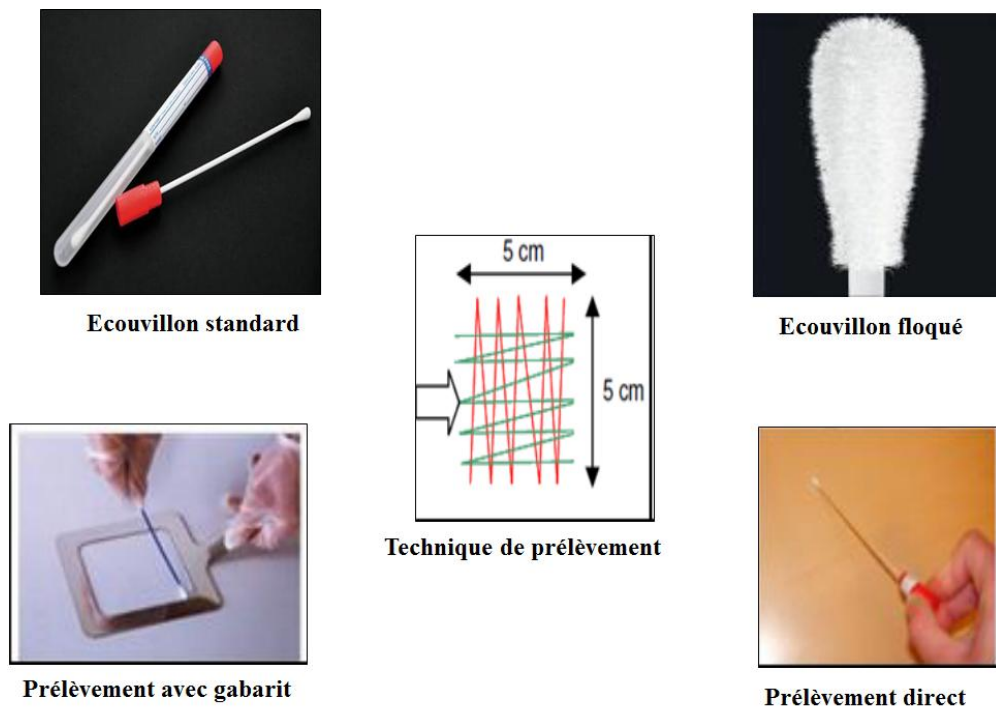


**Fig 21 :** Interprétation des résultats

#### V.4.1.2. Prélèvement de surface par écouvillonnage

Cette technique doit être uniquement utilisée dans 2 cas précis : recherche d'un germe très spécifique (recherche de champignons filamenteux ou enquêtes épidémiologiques par exemple) sur une surface plane ou recherche de germes dans une zone difficilement accessible et non plane ou plus grandes que celle des boîtes contact. Il ne s'agit donc que d'une analyse qualitative ou semi-quantitative.

La récupération des microorganismes cultivables peut être réalisée en frottant la surface à prélever avec un écouvillon stérile en fibres (naturelles ou synthétiques), en mousse ou en nylon floqué. La Norme ISO 18593 (2004) suggère une surface minimale à couvrir entre 20 et 100 cm<sup>2</sup>, calibrée si possible avec un gabarit (à usage unique ou stérilisable) pour standardiser la technique et obtenir une technique semi-quantitative (Figure 22).



**Fig 22 :** Représentation schématique d'un prélèvement de surface par écouvillonnage

L'écouvillon est sorti de son étui protecteur, humidifié par un liquide stérile (eau, sérum physiologique, bouillon nutritif ou diluant-neutralisant), et passé sur la surface à prélever en stries parallèles rapprochées en le faisant tourner, puis avec des stries perpendiculaires aux premières, en respectant un angle de 45° et avec une pression constante (Norme NF EN ISO 14698-1 (2004)).

Cette technique est principalement utilisée dans le cadre d'études de recherches sur l'efficacité du nettoyage ou pour identifier des agents pathogènes spécifiques et permettre de clarifier l'épidémiologie lors des épidémies.

**Remarque :** L'empreinte sur milieu gélosé et l'écouvillonnage peuvent être utilisés de façon complémentaire lors des contrôles de la contamination de surface. Quelle que soit la technique utilisée, il est de bonne pratique de passer sur la surface concernée une lingette ou une compresse imprégnée de détergent-désinfectant ou d'alcool après le prélèvement pour ne pas laisser de résidus de milieu de culture et d'humidité.

### **Conditions de transport et délai d'acheminement**

Quand le temps entre le prélèvement et l'analyse n'est pas spécifié par le fabricant, il convient de transmettre l'écouvillon au laboratoire dans son étui protecteur le plus rapidement possible dans des conditions qui n'altèrent pas la viabilité ni le nombre de microorganismes, à l'abri d'une contamination (Norme NF EN ISO 14698-1(2004)) et de préférence en moins de 4h.

En revanche, contrairement aux boîtes contact qui ne doivent pas être réfrigérées, l'écouvillon sera maintenu à  $5^{\circ} \pm 3^{\circ}C$  si le délai d'acheminement est supérieur à 4h. Le temps de transport ne dépassera jamais 24h.

### **L'ensemencement est réalisé soit :**

- Directement par épuisement de l'écouvillon sur le milieu choisi ;
- Après déchargement : dilutions si on présume que le nombre de microorganismes sera élevé et ensemencements sur le milieu choisi ;
- Après enrichissement : pour une recherche ciblée, il est possible d'effectuer un enrichissement en bouillon sélectif (recherche d'ERV après enrichissement dans un bouillon VRE par exemple) ou non (dans le but de quantifier le nombre de microorganismes stressés) puis ensemercer sur milieu adapté

Dans un contexte d'épidémie dont on soupçonne une origine environnementale, des conditions atmosphériques et des durées d'incubation et des milieux spécifiques peuvent s'avérer nécessaires.

**Interprétation :** Même méthode que pour les empreintes gélosées. Les résultats sont soit qualitatifs : présence/absence ou bien quantitatifs (utilisation d'un gabarit), exprimés en

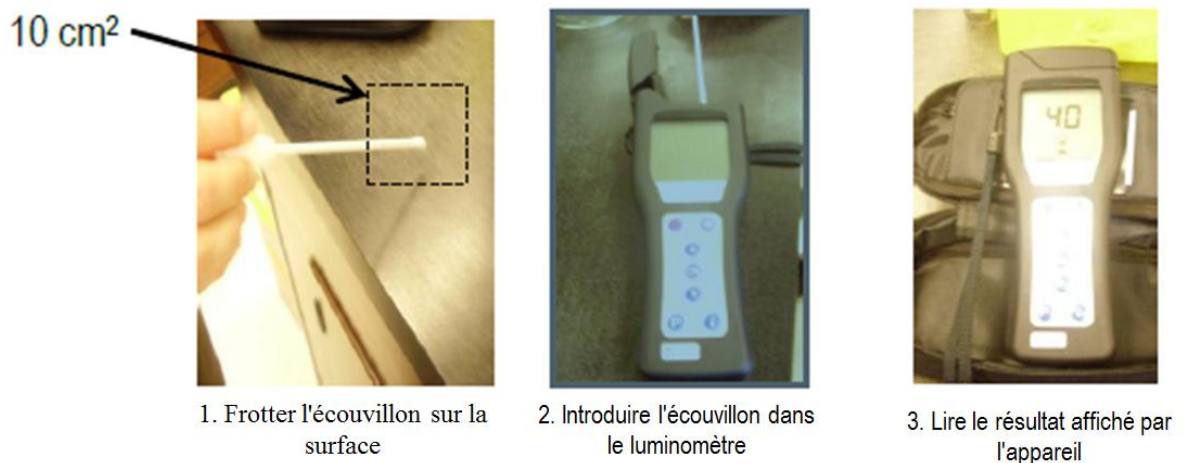
nombre d'unité formant colonie par surface prélevée. Ils s'expriment en UFC/surface prélevée (au moins 20 cm<sup>2</sup> d'après la norme NF EN ISO 14698-1 (2004)).

#### V.4.1.3. Méthodes indirectes de détection des microorganismes sur les surfaces

**L'adénosine triphosphate (ATP) :** L'ATP-métrie est une méthode rapide et alternative pour la surveillance et le contrôle de l'hygiène environnementale en milieu hospitalier. Elle est complémentaire aux méthodes d'analyse microbiologique par boîte de pétri qui nécessitent une période d'incubation de 48 h minimum.

Le principe de la méthode consiste à doser l'ATP par bioluminescence, en le considérant comme un indicateur de l'activité métabolique des microorganismes présents dans l'échantillon prélevé. L'activation d'un complexe luciférine/luciférase entraîne une émission de lumière proportionnelle à la quantité d'ATP présente dans les cellules vivantes ou non, microbiennes ou non.

L'échantillonnage se fait généralement à l'aide d'un écouvillon (semblable à un cotontige) en contact avec la surface étudiée, provoquant une réaction chimique qui émet une lumière d'intensité proportionnelle à la quantité de molécules d'ATP présentes sur cette surface. La bioluminescence est mesurée à l'aide d'un luminomètre qui donne un résultat en unités URL (unité relative de lumière). Les seuils indiquent la non-conformité en présence d'une mesure > 30 URL, cette mesure étant considérée comme la norme acceptable (Figure 23). Cependant, l'expérience sur le terrain en milieu hospitalier montre que cette norme est peu applicable en raison de la complexité de l'interprétation.



**Fig 23 :** Prélèvement de surface par ATP-métrie

**Les Limites :** Cette technique de mise en évidence de cellules présentes sur les surfaces n'est donc pas toujours corrélée avec les résultats des prélèvements microbiologiques, d'autant plus que la présence de résidus de produits détergents ou désinfectants peut interférer avec la réaction enzymatique.

En raison du faible niveau de contamination général des surfaces en milieu hospitalier et de la détection de matériau non viable par l'ATP, la sensibilité et la spécificité de ces systèmes s'élève seulement à environ 57 %. Par conséquent, l'utilisation de cette méthode est limitée dans le cadre de la surveillance critique de l'environnement hospitalier (*Mulvet et al, 2011*). Néanmoins, l'ATP-métrie pourrait être utilisée dans les établissements de santé pour évaluer la qualité globale du bionettoyage même si, actuellement, cette technique sert surtout dans l'industrie agroalimentaire pour vérifier l'absence de salissures.

**Un gel fluorescent :** La méthode consiste essentiellement à appliquer, sur une surface, un produit qui devient fluorescent lorsqu'il est exposé à une source lumineuse à ultraviolet d'une longueur d'onde déterminée. Cette méthode peut être utilisée pour évaluer la minutie des pratiques de nettoyage. Habituellement, on vise à marquer des surfaces à contact fréquent dans l'environnement clinique. Le produit utilisé doit être hydrosoluble, pouvoir sécher sur les surfaces tout en restant transparent et pouvoir être enlevé presque complètement après le frottage à l'aide d'un linge humide.

Le gel est appliqué afin de marquer les zones de la surface à nettoyer, mais théoriquement, il ne peut pas être vu par les membres chargés du nettoyage. Après le nettoyage, une lumière ultraviolette permet d'indiquer la quantité de gel qui a été enlevée, et par conséquent la minutie apportée au nettoyage (Figure 24). Ce type d'audit doit donc servir à évaluer la qualité de l'action mécanique dans la technique de nettoyage. Il n'indique pas la qualité de la désinfection car celle-ci est possible seulement en déposant le désinfectant, sans frottage.



Marquer la surface à l'aide du produit fluorescent (ex : inscrire une date)



Vérifier la surface marquée à l'aide de la lampe UV.



**Fig 24 :** Marquage des surfaces par fluorescence

Cette méthode a été utilisée avec succès dans le cadre de programmes éducatifs. Il est possible qu'une diminution de 75 % soit jugée acceptable sur une surface particulière et que 100 % le soit sur une surface lisse et lustrée. Une grille peut être faite à des fins de comparaisons ultérieures. Cette méthode reste versatile car peut s'appliquer à différents types de surfaces et de formes.

**Les limites** : Le produit fluorescent est plus difficile à enlever sur des surfaces rugueuses ou poreuses (ex. : le bois). Si la quantité résiduelle est importante après une action mécanique normale de nettoyage, l'évaluation se trouve compromise. La méthode exige que le marquage se fasse avant la procédure de désinfection d'une chambre qui peut parfois être un obstacle contraignant.

#### **V.4.2. Fiches de suivi de la qualité des surfaces**

Pour chaque salle ou zone à risque, la localisation exacte des points de prélèvement doit être déterminée et doit correspondre aux points critiques, c'est-à-dire le plus près possible du patient ou du site d'activité (table d'opération, d'anesthésie, ...) ou bien les moins accessibles au bionettoyage (poignée, rainures, armoires, ...). Le nombre de points de prélèvement par salle ne doit pas être inférieur à 5 et doit avoisiner 10 de façon à ce que les résultats soient représentatifs de la contamination globale.

Afin de faciliter le repérage, des fiches de suivi de la qualité sont nécessaire pour permettre d'indiquer les surfaces qui seront évaluées ainsi que les résultats obtenus. Ces fiches illustrent deux prototypes de locaux, soit la salle de bain et la chambre de patient comme exemples et sont adaptées selon le contexte de l'établissement.



**V.4.2.1. Fiche de suivi de la qualité d'une chambre de malade**

Date et heure : \_\_\_\_\_

Secteur : \_\_\_\_\_

Local : \_\_\_\_\_

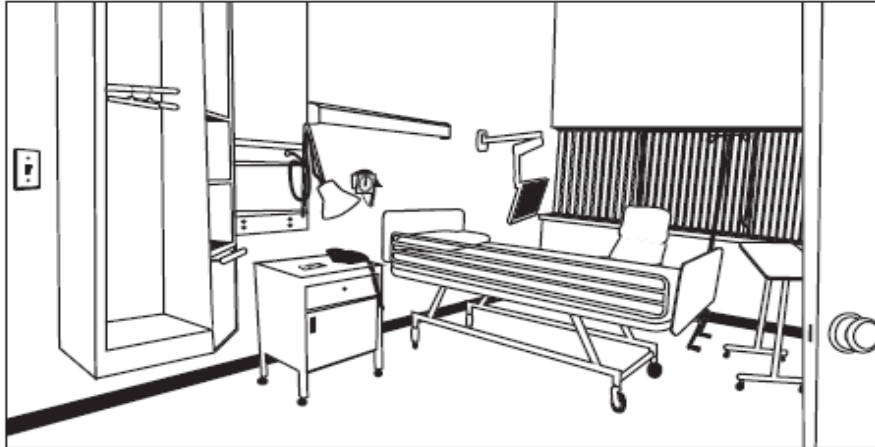
Numéro de lit : \_\_\_\_\_

Auditeur : \_\_\_\_\_

Fluorescence

ATP bioluminescente

Culture microbiologique



**SURFACES**

- 1 \_\_\_\_\_
- 2 \_\_\_\_\_
- 3 \_\_\_\_\_
- 4 \_\_\_\_\_
- 5 \_\_\_\_\_
- 6 \_\_\_\_\_
- 7 \_\_\_\_\_
- 8 \_\_\_\_\_

**RÉSULTATS**

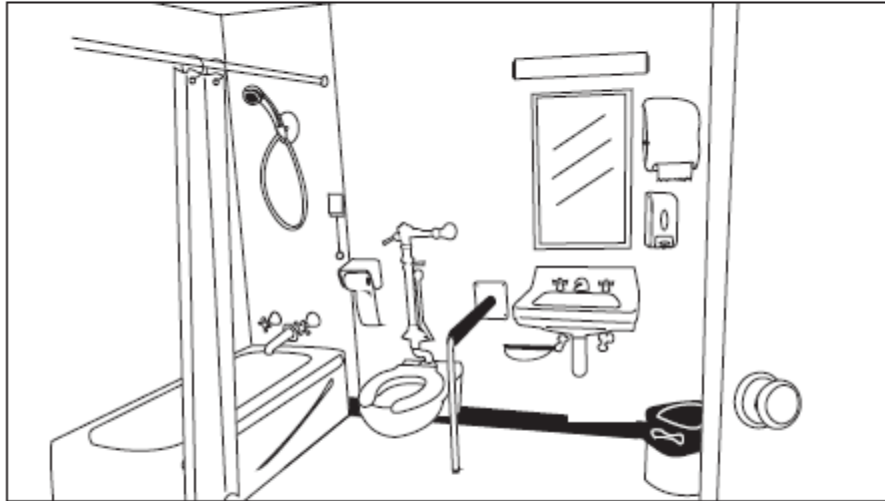
- 1 \_\_\_\_\_
- 2 \_\_\_\_\_
- 3 \_\_\_\_\_
- 4 \_\_\_\_\_
- 5 \_\_\_\_\_
- 6 \_\_\_\_\_
- 7 \_\_\_\_\_
- 8 \_\_\_\_\_



**V.4.2. 2. Fiche de suivi de la qualité de la salle de bain**

Date et heure : \_\_\_\_\_  
 Secteur : \_\_\_\_\_  
 Local : \_\_\_\_\_  
 Numéro de lit : \_\_\_\_\_  
 Auditeur : \_\_\_\_\_

- Fluorescence  
 ATP bioluminescente  
 Culture microbiologique



**SURFACES**

1 \_\_\_\_\_  
 2 \_\_\_\_\_  
 3 \_\_\_\_\_  
 4 \_\_\_\_\_  
 5 \_\_\_\_\_  
 6 \_\_\_\_\_  
 7 \_\_\_\_\_  
 8 \_\_\_\_\_

**RÉSULTATS**

1 \_\_\_\_\_  
 2 \_\_\_\_\_  
 3 \_\_\_\_\_  
 4 \_\_\_\_\_  
 5 \_\_\_\_\_  
 6 \_\_\_\_\_  
 7 \_\_\_\_\_  
 8 \_\_\_\_\_

**IV.5. Limites aux contrôles microbiologiques d'environnement**

Les contrôles microbiologiques de l'environnement doivent être réservés aux objectifs précédemment cités, car il existe des limites à une généralisation de leur réalisation. Pour la majorité des contrôles d'environnement (air, eaux surfaces), il n'existe pas de seuils clairement démontrés au-delà desquels un risque infectieux peut être défini. Lors de la réalisation et de l'interprétation de contrôles bactériologiques de l'environnement, un certain nombre de problèmes se posent cependant :

La stratégie de surveillance microbiologique doit prendre en compte les limites inhérentes liées :

**1. A l'environnement** : C'est un milieu fluctuant et hétérogène qui génère des écosystèmes complexes avec des microorganismes dans des états physiologiques très hétérogènes, de ce fait, il n'y a pas de « mesure absolue » :

- Le dénombrement au sein d'un échantillon est influencé par la population des germes viables « stressés » qui seront cultivables ou non en fonction du milieu et des conditions de culture (température, durée d'incubation, atmosphère) ;
- La recherche se limite la plupart du temps aux bactéries et aux moisissures compte-tenu du fait que les virus sont techniquement plus difficiles à détecter. Néanmoins, leur rôle dans l'environnement ne doit certainement pas être sous-estimé. Cela vaut par exemple pour le *Virus Respiratoire Syncytial (RSV)*, le Rotavirus et le Norovirus qui peuvent survivre dans l'environnement de plusieurs heures à quelques jours.
- Le lien causal entre la présence d'un microorganisme à un endroit déterminé et l'apparition d'une infection n'est pas toujours clair et les techniques de typages complémentaires peuvent être nécessaires.
- Pour la plupart des agents infectieux, il n'existe aucune valeur minimale (dose minimale infectieuse) au-dessus de laquelle il faut s'attendre à un risque d'infection.
- Les méthodes de décrochage des microorganismes qui sont « attachés » sous forme de biofilm de leur support environnemental ne sont pas standardisées et d'efficacité variable. Ainsi, le rendement de la culture correspond à la valeur obtenue / la valeur réelle de contamination.  
A titre d'exemple, pour les surfaces prélevées par empreinte gélosée, le rendement dépend de la force appliquée, de la relation surface/microorganismes (support, humidité, matières organiques...), du milieu de culture et de l'analyse.
- Diverses techniques de prélèvements, de mise en culture ou d'analyse microbiologique pour chaque type de contrôles d'environnement sont utilisées.

**2. Aux résultats** : Ils sont dépendants des techniques de culture qui ne détectent que les particules viables et cultivables sur le milieu utilisé (ne mettent pas en évidence tous les microorganismes présents).

- Les résultats obtenus avec des techniques différentes peu standardisées ne sont pas comparables et peuvent être tributaires de la fragmentation ou non du biofilm.

➤ L'interprétation est souvent difficile, les résultats sont déterminés de façon multifactorielle, différentes recommandations existent pour l'interprétation des résultats et les normes sont rares.

➤ **La comparaison de résultats entre eux est souvent complexe voire impossible si les méthodes utilisées sont différentes ou si les prélèvements sont peu fréquents car les contrôles donnent une image instantanée qui reflète l'état à un instant « T ».**

Il est donc important de bien fixer les objectifs des contrôles et, dans le cadre de recherches ciblées, de bien préciser le microorganisme recherché (mycobactéries atypiques, parasites ...) car il peut être nécessaire d'utiliser des méthodes spécifiques, adaptées à cette recherche. Dans les différentes épidémies rapportées, la dose infectante n'est pas connue.

**3. A la reproductibilité :** Pour l'optimiser, il est indispensable d'exiger des procédures rigoureuses depuis le prélèvement jusqu'au rendu des résultats (méthodes, milieux, conditions de culture, expression des résultats). Quand la réglementation donne des techniques ou méthodes de référence, il est indispensable de suivre strictement la procédure indiquée par le texte car la notion de conformité des résultats en dépend sauf à valider une technique alternative.

Dans tous les cas, il faudra que, pour chaque type de contrôle, l'établissement de soins retienne :

- Des méthodes de prélèvement et d'analyse si possible normalisées ou à défaut standardisées ;
- Des critères d'interprétation à 3 niveaux établis en tenant compte de la réglementation existante, de recommandations ou à défaut définis par l'utilisateur. Pour l'interprétation des résultats, trois types de niveaux peuvent être définis :
  - **Le niveau cible** est le niveau de qualité qui vise à assurer et à maintenir des conditions normales de fonctionnement dans le contexte d'un environnement maîtrisé.
  - **Le niveau d'alerte** est le niveau permettant une première alerte en cas de dérive par rapport aux conditions normales. Lorsque ce seuil d'alerte est dépassé, des recherches supplémentaires doivent être mises en place, afin de vérifier les résultats observés et de s'assurer que le processus et/ou

l'environnement sont toujours maîtrisés. Compte tenu des délais d'analyse, les premières mesures correctives peuvent être prises.

- **Le niveau d'action** est le niveau devant impérativement déclencher, lorsqu'il est dépassé, une réaction immédiate avec analyse des causes du dysfonctionnement et mise en œuvre d'actions correctives.

## Références bibliographiques

1. Infections nosocomiales : le dossier novembre. 2010. Direction générale de l'offre de soins, bureau qualité et sécurité des soins.
2. Guide de bonnes pratiques pour la prévention des infections liées aux soins réalisés en dehors des établissements de sante. Ministère de la Santé, de la Famille et des Personnes Handicapées. 2004. Direction générale de la sante. 140p. [www.sante.gouv.fr](http://www.sante.gouv.fr).
3. CCLIN Sud-est. 2004. Dépistage des bactéries multirésistantes (BMR), Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux. Prélèvements microbiologiques.2p.
21. CCLIN Sud-ouest. 2016. Surveillance Microbiologique de l'Environnement dans les Etablissements de sante guide de bonnes pratiques.125p.
4. Comite Technique National des Infections Nosocomiales. 1999. Maitrise de la diffusion des bactéries multirésistantes, recommandations pour les établissements de sante. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Secrétariat d'état à la Sante et à l'action Sociale. 23 p. Nosobase n°6512.
5. Groupe Hygiène et Salubrité au Regard de la Lutte aux Infections Nosocomiales. 2010. Hygiène et Salubrité en milieux de soins. Démarche pour le développement de stratégies d'entretien des surfaces. Services Sociaux du Quebec. 39p.
6. Comite Technique National des Infections Nosocomiales. 1999. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. 2<sup>ème</sup> édition. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Secrétariat d'état à la Sante et à l'action Sociale, 1999, 121 pages. Nosobase n°6075.
7. Organisation mondiale de la sante (OMS). 2010. Lutte contre les Infections et Soins de Sante : Nécessite d'une action de collaboration. Comité Régional de la Méditerranée Orientale. 14p.
8. Organisation mondiale de la sante (OMS). 2008. Prévention des infections nosocomiales. Guide pratique. 2<sup>ème</sup> édition.80p.
10. Organisation mondiale de la sante (OMS). 2009. Guide hygiène des mains : pourquoi, comment et quand. Sécurité des patients.7p.
11. Organisation mondiale de la sante (OMS). 2010. Hygiène des mains : manuel technique de référence. A l'attention des professionnels soignants, des formateurs. Sécurité des patients. 40p.
12. Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière. 2015. Directives Nationales Relatives a l'Hygiène de l'Environnement dans les établissements de Sante Publics et Privés. 223p.
13. Comite Editorial Pédagogique de l'UVMAF. 2011. Hygiène hospitalière. Support de cours. Université Médicale Virtuelle Francophone. 38p.
14. Guide pratique sur : le contrôle des infections environnementales dans les hôpitaux. 2016. Biomerieux. 44p. [www.biomerieux.fr](http://www.biomerieux.fr).

15. Chaib Y, Elanssari A, Ouane M, Hamama S, Oujar N, Chakhtoura KH, Chibani A, Nehir M et Soulaymani A. 2016. Les facteurs liés aux patients hospitalisés favorisant l'infection nosocomiale. *International Journal of Innovation and Applied Studies* ; **14 (2)**. pp. 472-482. ISSN 2028-9324.
16. Henriette J. 2014. Bactéries *Legionella* spp et tours de refroidissement à l'eau : la gestion des facteurs de risque dans le règlement modifiant le code de sécurité de la loi sur le bâtiment. *Maitrise en Environnement*. Université de Sherbrooke. 128p.
17. Cavallo J.D., Fabre R., Jehl F., Rapp C et Garrabe E. (2004). Beta-lactamines. *EMC maladies infectieuses*. 1: 129-202 pp.
18. Revue Officielle de la Société Française d'Hygiène Hospitalière. 2010. Surveiller et prévenir les infections associées aux soins. *Recommandations*. Volume xviii (4). ISSN 1249-0075. 180p.
19. Sanipousse. 2019. Lames gélosées pour la détection des coliformes et des germes totaux. Auto-contrôle des surfaces et des matériels ; traçabilité et métrologie. <https://www.sanipousse.com/portfolio/lames-gelosees-detection-coliformes-germes-totaux>.
20. Conseil Supérieur de la Santé. 2009. Recommandations en matière d'hygiène des mains durant les soins. CSS n° 8349. 42p.
21. Conseil Supérieur de la Santé n°8364. 2010. Recommandations en matière de contrôles bactériologiques de l'environnement dans les institutions de soins. Bruxelles. 32p. [www.css-hgr.be](http://www.css-hgr.be).
22. Le Gallou F, Lepelletier D. 2017. Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôles microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé. *EMC-biologie médicale*. **12(4)**: 1-11. article 90-25-0025-a.
23. Arzac S et Bernet C. 2015. Les catégories d'eau dans les établissements de santé ; typologie, Traitements Complémentaires, référentiels. *CCLIN Sud-est*, version 4. 17p.
24. Guide de l'entretien des locaux en établissement médico-social. *Recommandation*. ARLIN Bourgogne. Version 1. 2013. 61p.
25. La politique de prévention des infections associées aux soins : une nouvelle étape à franchir. 2019. *Rapport Public Annuel 2019*. Cour des Comptes. [www.ccomptes.fr @courdescomptes](http://www.ccomptes.fr/@courdescomptes). 35p.
26. Tremblay Y.D.N, Hathroubi S, Jacques M. 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. **78 (2)**:110-116 p.
27. Grosseron. Catalogue HACCP. Consommable, Hygiène, protection, désinfection, équipement, nettoyage, prélèvement, détectable. 164p. <https://www.grosseron.com/Produits/ContenuWeb/Pages/Nos%20catalogues/Brochure%20catalogue%20HACCP%20bd.pdf>

28. Lei H, Jones R.M. et Li Y. 2017. Exploring surface cleaning strategies in hospital to prevent contact transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC infectious diseases*. **17**(85). 9p.
29. Lemort B. 2000. Normes et Recommandations en Hygiène Environnementale Hospitalière. **58**(4). 431-7p.
30. Conseil supérieur d'hygiène publique de France. 2001. gestion du risque lie aux legionelles. 8, avenue de segur - 75350 paris 07 sp. 70p.
31. Hygiène Hospitalière 1 IH. 2012. support de cours. Agnès Destrée. 88p. [http://sectionih.be/etudiants/pdf/2012\\_hygiene\\_hospitaliere\\_1\\_ih](http://sectionih.be/etudiants/pdf/2012_hygiene_hospitaliere_1_ih).
32. Hygiène hospitalière 2 IH. 2012. support de cours. Agnès Destrée. 78p [http://www.sectionih.be/etudiants/pdf/2012\\_hygiene\\_hospitaliere\\_2\\_IH](http://www.sectionih.be/etudiants/pdf/2012_hygiene_hospitaliere_2_IH).
33. Guide de gestion intégrée de la qualité en hygiène et salubrité. 2013. La Direction des communications du Ministère de la Santé et des Services Sociaux. Gouvernement du Québec. ISBN : 978-2-550-68861-7. 65p. [www.msss.gouv.qc.ca/hygiene-salubrite](http://www.msss.gouv.qc.ca/hygiene-salubrite).
34. Entretien des locaux dans les établissements de santé et établissements médico-sociaux. 2017. Recommandations de bonnes pratiques. CPIAS Occitanie / CPIAS Nouvelle Aquitaine.104.
35. Maillard J.Y. (2005). Antimicrobial biocides in the healthcare environment: efficacy, usage, policies, and perceived problems. *THER CLIN RISK MANAG Ther. Clin. Risk Manag.* **1**(4): 307-320.
36. Kramer A. et Assadian O. (2014). Survival of Microorganisms on Inanimate Surfaces. *In : Use of Biocidal Surfaces for Reduction of Healthcare Acquired Infections*. Ed. Springer Switzerland. 7-26.
37. Kramer A., Schwebke I. et Kampf G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? *BMC Infect. Dis.* **6** : 130-138.
38. Wand M.E. (2017). Bacterial Resistance to Hospital Disinfection. *In : Modeling the Transmission and Prevention of Infectious Disease*. Ed. Springer, UK. *Advances in Environmental Microbiology.* **4**. 19-54.
39. Wand M.E., Bock L.J., Bonney L.C. et Sutton J.M. (2017). Mechanisms of Increased Resistance to Chlorhexidine and Cross-Resistance to Colistin following Exposure of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Isolates to Chlorhexidine. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **61**: 01162-16.
40. Wales A. et Davies R. (2015). Co-Selection of Resistance to Antibiotics, Biocides and Heavy Metals, and Its Relevance to Foodborne Pathogens. *Antibiotics.* **4**: 567-604.
41. Kalyon B.D. et Olgun U. (2001). Antibacterial efficacy of triclosan-incorporated polymers. *Am. J. Infect. Control.* **29**(2) : 124-125.
42. Pachori P., Gothwal R. et Gandhi P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis.* **6**(2):109-119.

43. Rubinstein E. et Keynan Y. (2013). Vancomycin-resistant enterococci. *Critical care clinics*, 29(4), 841-852.
44. Cattoir, V. et Leclercq R. (2010). Les entérocoques résistants aux glycopeptides. *médecine/sciences*, 26(11), 936-942.