Rôle d'un laboratoire de Microbiologie de l'environnement

Expérience de l'hôpital Saint-Antoine

Frédéric Barbut
Microbiologie de l'environnement
Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales (UHLIN)
Hôpital Saint Antoine

Hôpitaux Universitaires Est Parisien
SAINT-ANTOINE
ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

18 octobre 2017

Académie de Pharmacie

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

Définition de l'environnement hospitalier

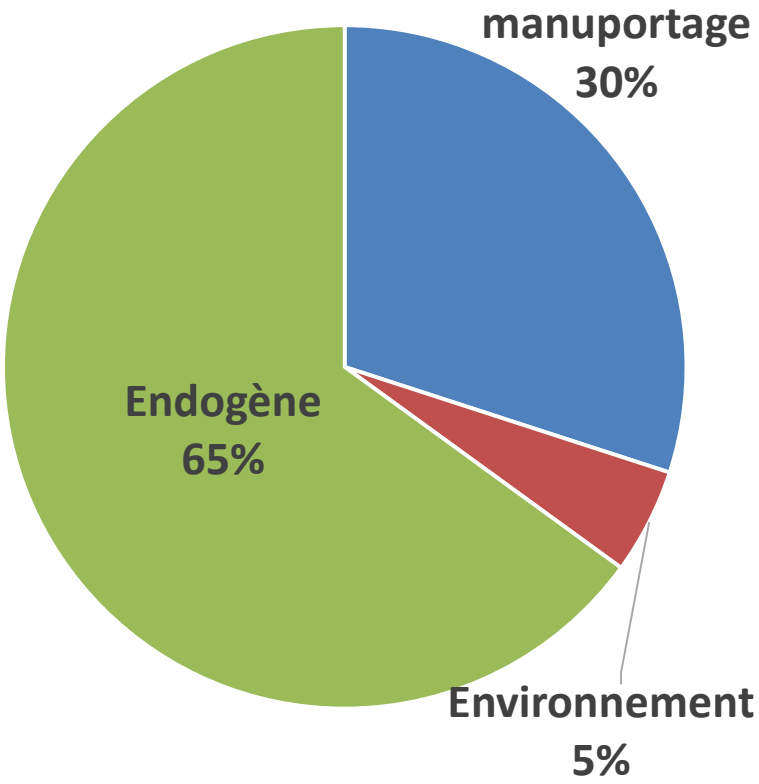
- Ensemble des éléments qui entrent en contact avec les patients, le personnel soignant ou les visiteurs dans une structure hospitalière
  - Eau : eau du réseau, eau de dialyse, microfiltrée…
  - Surfaces: mobiliers, linge, stéthoscopes, thermomètres …
  - Air : médical ou atmosphérique
  - Dispositifs médicaux (endoscopes)
  - Solutés, alimentation….

Origine des infections associées aux soins

- **EXOGENE**

  - Par manuportage
    via le personnel de soins

  - A partir d'un réservoir inerte ou de matériels
    . Air (*Aspergillus...*)
    . Eau (*Pseudomonas* sp., *Legionella* sp....)
    . Sol, Matériels (*C. difficile, Acinetobacter...*)



- **ENDOGENE (=AUTO-INFECTIONS)**

  - Par la flore de l'hôte (primaire ou flore hospitalière)

Epidémies liées à l'environnement

- Pneumopathies à *Legionella pneumophila* à partir de douches contaminées (*Fiore et al.,* Clin Infect Dis. 1998 Feb;26(2):426-33)

- Aspergillose pulmonaire chez des enfants pendant des travaux (*Iwen et al.*, ICHE 19941994 May;15(5):303-6)

- Infections à *Serratia marcescens* à partir de solutions antiseptiques contaminées en neurochirurgie (*Bosi et al.,* JHI 1996 Jul;33(3):217-24)

- Diarrhées à *C. difficile* à partir de thermomètres rectaux (*Brooks et al.,* ICHE 1992 Feb;13(2):98-103)

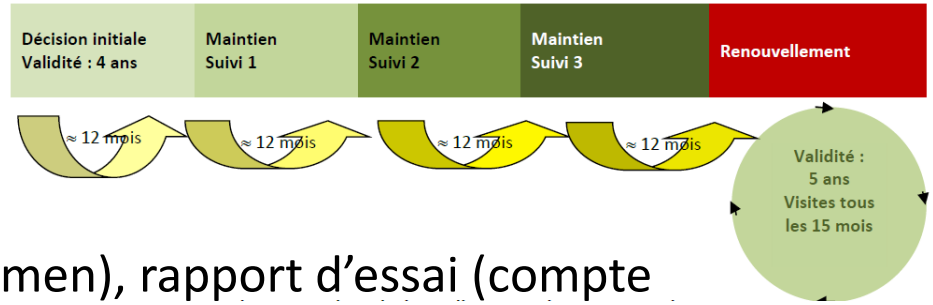
- ISO à *Rhodococcus bronchialis* à partir d'un bain marie servant à réaliser un temps de coagulation lors d'intervention à cœur ouvert (*Richet H.,* NEJM 1991, Jan 10;324(2):104-9)

Pourquoi réaliser des contrôles de l'environnement ?

- répondre à une **obligation réglementaire** (Ex: légionelle, potabilité)
- suivre des indicateurs dans le cadre d'une démarche **d'assurance qualité** (décontamination de siphons),
- surveiller les zones à environnement maîtrisé (**ZEM**),
- surveiller et prévenir les risques liés aux **travaux** et/ou aux opérations de maintenance,
- valider une méthode ou un processus (**qualifications**) (ESET),
- s'inscrire dans une **enquête épidémiologique** orientant vers une source environnementale,
- visualiser la contamination environnementale dans le cadre d'une **démarche pédagogique** (pour sensibiliser le personnel à l'hygiène environnementale et faciliter la mise en place de mesure corrective…).

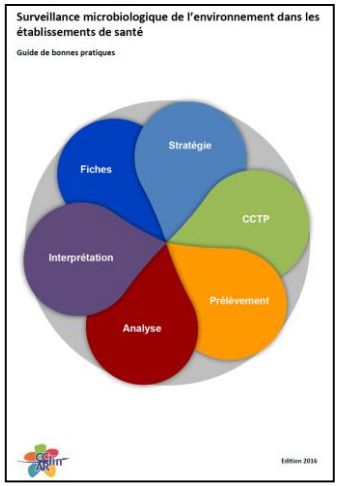
Pourquoi séparer la microbiologie de l'environnement de la microbiologie médicale ?

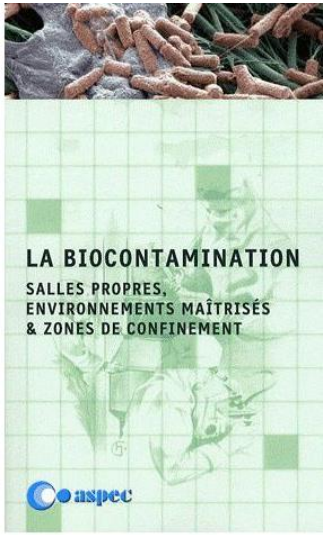
- **Des normes d'accréditation différentes** (Norme EN NF ISO 17025 : « Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais")
  - Accréditation obligatoire pour :
    - Légionelles dans l'ECS (arrêté 1er février 2010)
    - Potabilité (il faut en plus un agrément subordonné à l'accréditation)

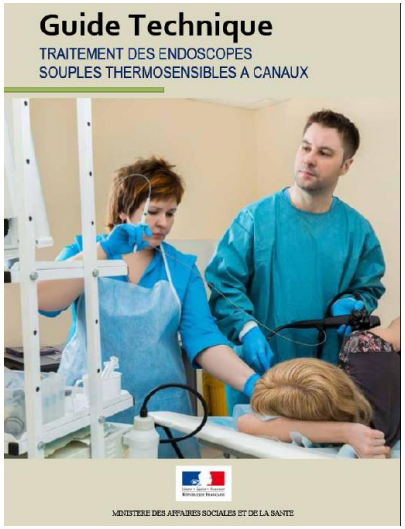


- Un **vocabulaire** différent : essai (examen), rapport d'essai (compte rendu d'analyse), déclaration de conformité, avis et interprétations
- Des procédés de **validations** différents (pas nécessairement un biologiste médical)
- Des **techniques de prélèvements** et des milieux de cultures différents (« air sampler », « gélose contact », techniques par inclusions dans les géloses)

Textes réglementaires, guides ou normes d'applications







Stratégie générale de surveillance de l'environnement

- coordonnée et validée par **l'EOH et/ou le CLIN**.
- intégrée dans la **démarche qualité** de l'ES
- réfléchie pour répondre au besoin réel de l'ES en se basant notamment sur la connaissance des classes de **risque infectieux de chaque zone** de l'ES en fonction de **l'analyse de risque** préalable et des recommandations des sociétés savantes ou norme (AFNOR NF 50-790)

	Risque 4	Risque 3	Risque 2
Classe ISO ou classe de risque des bonnes pratiques	ISO 5 Classe A	ISO 7 Classe C	ISO 8 Classe D
Locaux	Bloc opératoire orthopédie Chambres d'hématologie sous flux	UPAC Bloc conventionnel Radiologie interventionnelle Chambres avec air traité	Stérilisation (Conditionnement, sortie d'autoclave) Laboratoire de médecine nucléaire Réanimations Salles de SSPI Salle d'endoscopie

Stratégie générale de surveillance de l'environnement

- conçue depuis la **nécessité des contrôles** jusqu'à la **conduite à tenir (CAT**) en cas de résultats non-conformes,

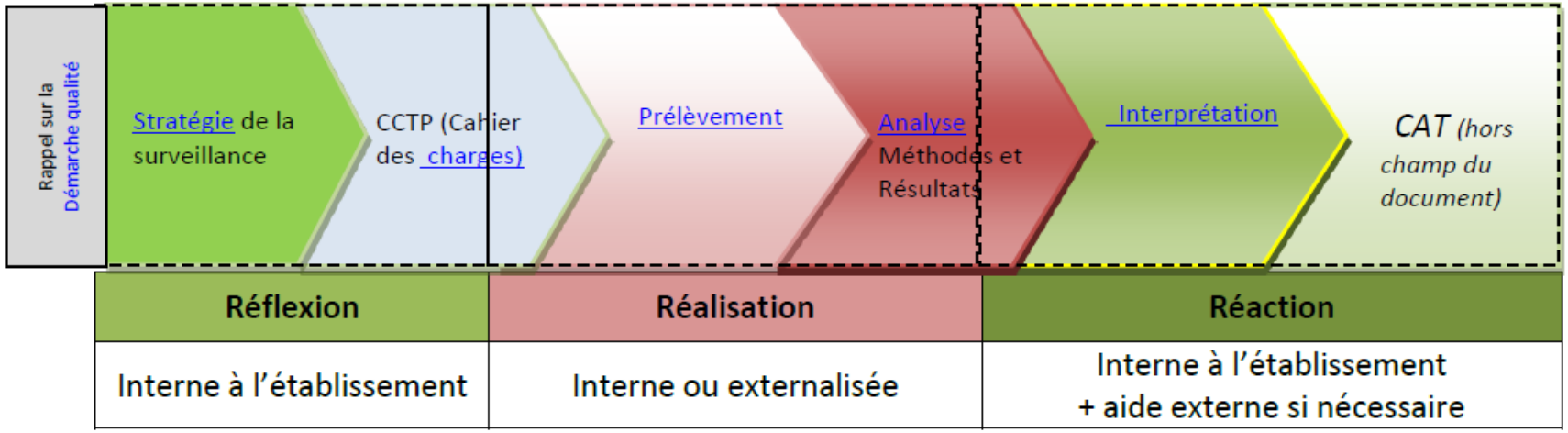
  - **Niveau cible** : niveau de qualité → vise à assurer et à maintenir des conditions normales de fonctionnement dans le contexte d'un environnement maîtrisé

  - Niveau d'alerte : dérive par rapport aux conditions normales. Si dépassé, 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 délais analyse, 1ères mesures correctives peuvent être prises

  - Niveau d'action : réaction immédiate avec analyse des causes du dysfonctionnement et mise en œuvre d'actions correctives

Processus des contrôles microbiologiques

- Règle des 3R

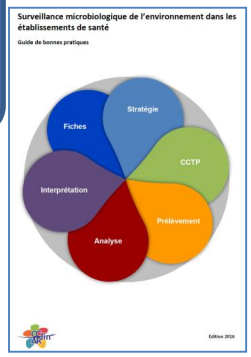


Cahiers des charges (CCTP)

Contrat Client /prestataire

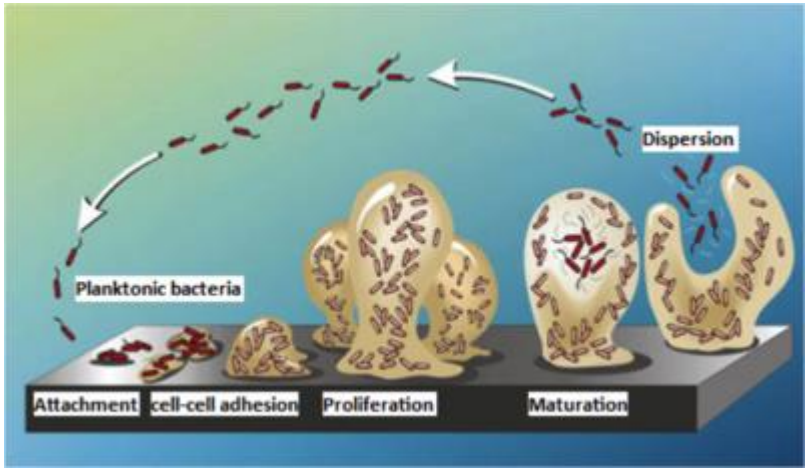
Plan d'échantillonnage

Niveau cible/ alerte /action



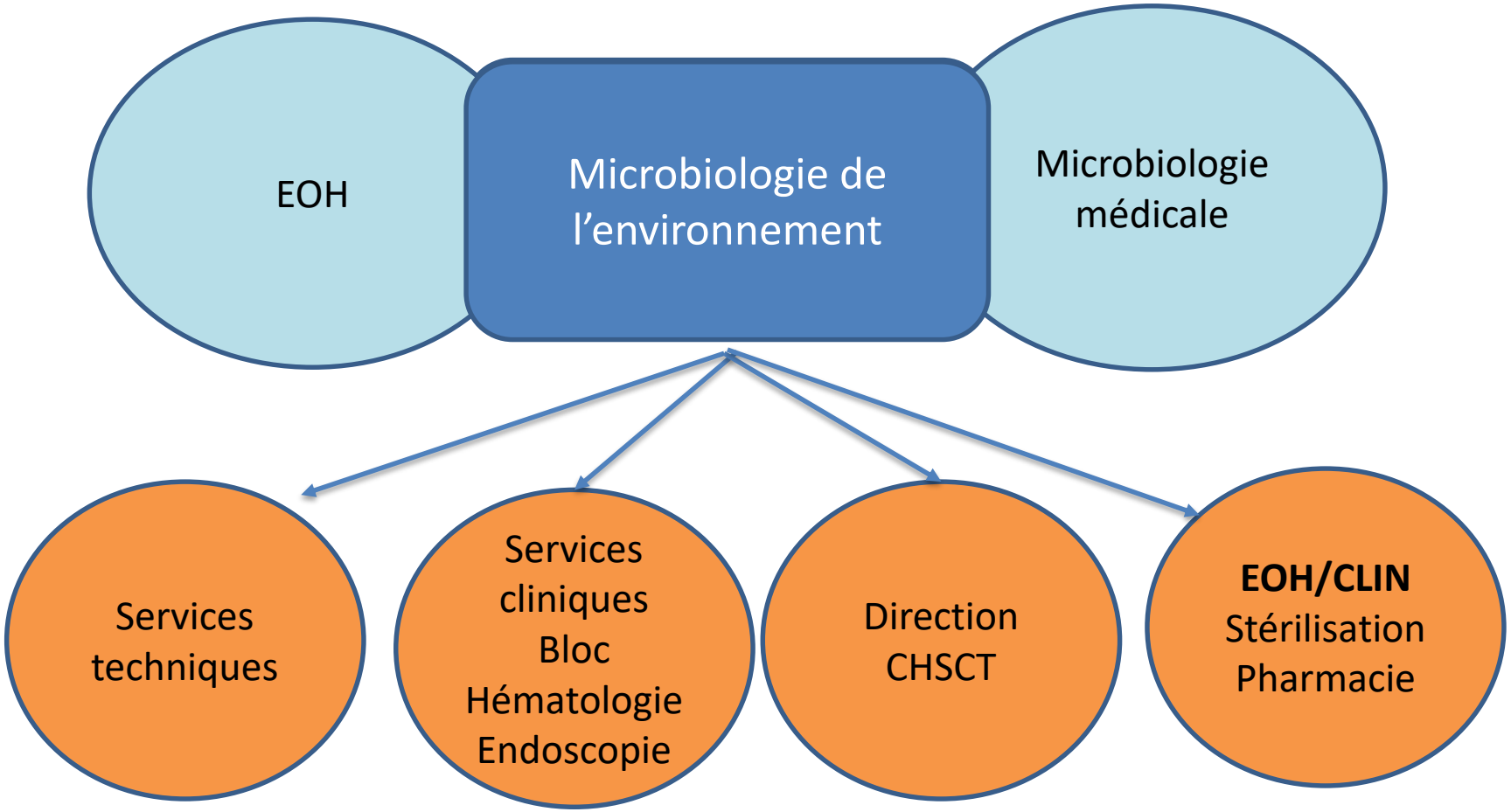
Les limites des contrôles de l'environnement

- ***environnement*** : écosystèmes complexes avec des MO dans des états physiologiques très hétérogènes : pas de « mesure absolue »
  - germes viables « stressés » qui seront cultivables ou non en fonction du milieu et des conditions de culture (température, durée d'incubation, atmosphère) ;
  - adhésion des micro-organismes (MO) aux surfaces (biofilm) relargués de manière aléatoire… le **rendement** de la culture correspond à la valeur obtenue / la valeur réelle de contamination.



- ***résultats*** : 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 MO présents). **Les contrôles donnent une image instantanée qui reflète l'état à un instant « T »**.

Place d'un service de Microbiologie de l'environnement



Quelques exemples de services rendus

- Cas de légionellose nosocomiale de transmission inhabituelle
- Fontaines réfrigérantes et Mycobactéries
- Hématologie et contamination aspergillaire
- Evaluation *in situ* de nouveau détergent désinfectant

Légionellose nosocomiale

Patiente 18 ans, allogreffée de moelle pour LAM1 (fév 2014)

- **hospitalisation en hématologie** du **16 au 24/12/2015** (pour une réactivation du CMV) **chambre 419**
- 30/12/15 : hospitalisée pour fièvre, frissons, gêne respiratoire + condensation parenchymateuse basale gauche traité par Tazocilline
- 05/01/2016 : aggravation , réanimation médicale et traitement par Imipéneme + Amiklin. L'Ag urinaire **légionelle est positif le** (J+5) et **LBA positif à Lp serogroupe 1.**
- Rovamycine + Levofloxacine
- Evolution favorable
- Enquête environnementale négative
- ARS : présence de légionelle au domicile

Légionellose d'origine nosocomiale probable

Patient 51 ans, récidive de Hodgkin

- 4/05/2016 : admis **chambre 419** en hématologie pour autogreffe sur récidive de Hodgkin. Aplasie du 11 au 22/05
- 16/05/16 : fièvre à 38°5 persistante
- 20/05/15; condensation alvéolaire de la pyramide basale droite
- 26/05/16: **Ag légionelle est positif.**
- 28/05/2016 : **LBA positif à Lp sérogroupe 1.** Le patient est traité par Rovamycine + levofloxacine puis par Azithromycine + levofloxacine.
- Le 1/06/16 : passage en réanimation devant l'aggravation respiratoire. Evolution favorable

Légionellose d'origine nosocomiale certaine

Investigations

- **Recherche des sources potentielles d'exposition**
  - Patients fragilisés, aplasiques sous ImmunAir
  - Pas de notion de douche
  - Eau embouteillée (boisson)
  - Filtre anti-légionelle au lavabo : traçabilité OK

- Contrôle microbiologique des sources potentielles d'expositions
  - douches communes : < 10 Lp/L
  - lavabo de la chambre 419 : < 10 Lp/L

- Températures de production d'ECS : OK (53°)

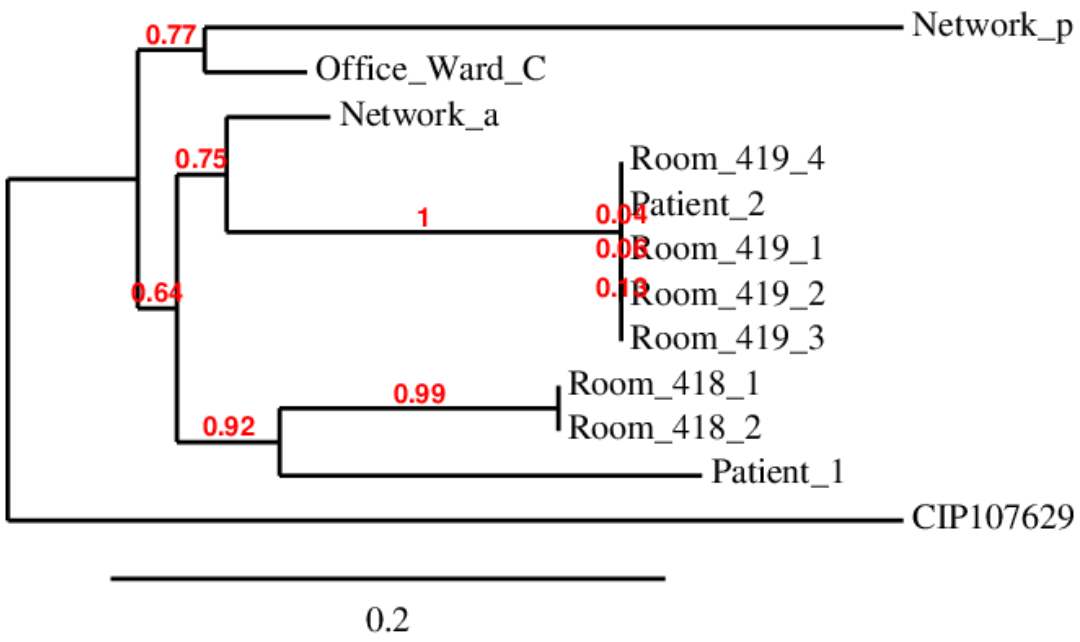
- Envoi des 2 souches au CNR (Lyon) : **ST1, PFGE Paris, sous groupe Philadelphie**

- Contrôles des toilettes 31/05/2016
  - T= 22°C
  - Souches adressée au CNR (WGS)

Localisation	Point de prélèvement	Type d'eau	Résultat	Groupe
Ch 419	**Cuvette WC**	**EF**	**1100 UFC /litre**	**Lp1**
Ch 418	**Cuvette WC**	**EF**	**100 UFC/ litre**	**Lp1**
Ch 417	Cuvette WC	EF	<10 UFC / litre	
Ch 405	Cuvette WC	EF	<10 UFC / litre	
Ch 421	Cuvette WC	EF	<10 UFC / litre	
CH 520/521	Cuvette WC	EF	<10 UFC / litre	
Ch 322/323	Cuvette WC	EF	Ininterprétable	
Départ eau froide Caroli	Point de puisage	EF	**20 UFC / litre**	Lp1

Investigations

Analyse de souches par NGS



Pseudo-épidémie à *Mycobacterium gordonae*

- Service de Pneumologie (mars 1997-décembre 1997)

BAAR à l 'examen microscopique (n=5)

↓

Tuberculose ??

↓

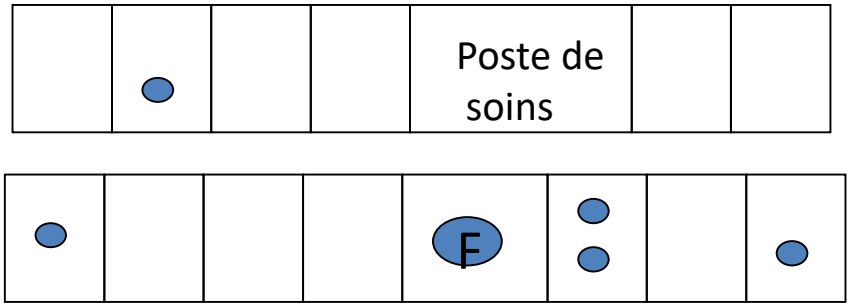
Quadrithérapie (n=4)

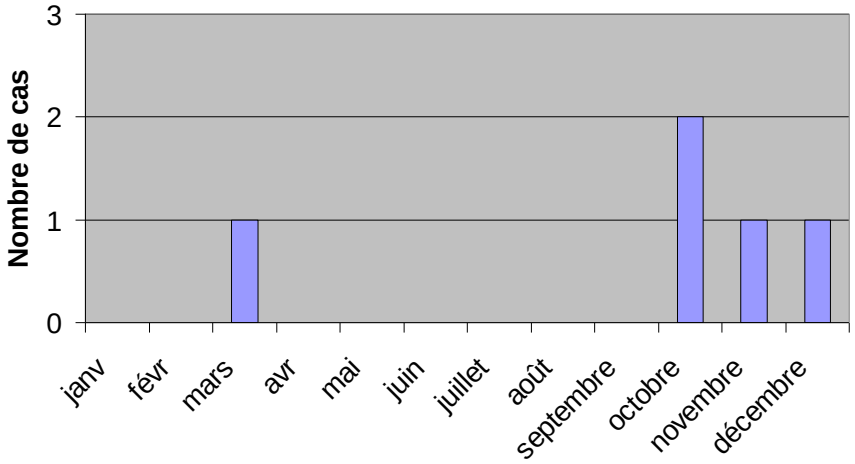
↓

Culture positive à *M. gordonae* à J+2 mois

↓

Arrêt de la quadrithérapie

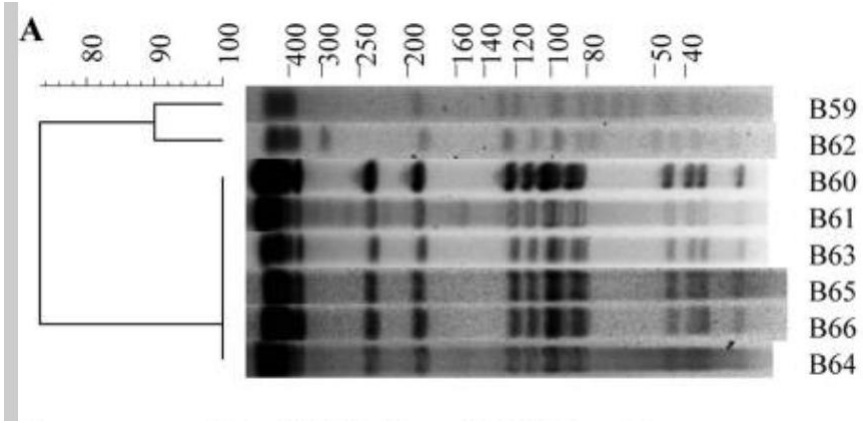




Patient	Age	Sexe	Prélèvement	Diagnostic principal	Traitement anti-tuberculeux
DUP	86	M	Crachat	AEG	Oui
SEV	88	M	Asp. Gast.	Tumeur solide	Oui
SON	49	F	Crachats	Tulmeur solide	Oui
DIF	81	F	Asp. Gast.	LMC	Oui
CLE	88	M	Asp. Gast.	Septicémie	Non

Pseudo épidémie à *Mycobacterium gordonae*

	Hors service Pneumo.		Service de Pneumo.	
	Nb culture + (%)	Nb de colonies (UFC/ml)	Nb culture + (%)	Nb de colonies (UFC/ml)
Postes infirmiers (n=36)	1 (3.4%)	<1	1 (14%)	<1
Chambres (n=73)	8 (28.6%)	<1	20 (44.4%)	<1
Fontaines réfrigérantes (n=20)	4 (21%)	1.6	1 (100%)	500



- Les souches isolées de la fontaine réfrigérante et des patients sont identiques
  - ➔ réservoir de germe
- La fontaine réfrigérante est fortement contaminée à sa sortie alors que l 'eau d 'alimentation est faiblement contaminée
  - ➔ phénomène d 'amplification
- Tous les patients ont bu de l 'eau de la fontaine avant le prélèvement bactériologique
  - ➔ mode de contamination
- Retrait de la fontaine réfrigérante
  - ➔ pas de nouveau cas

Contamination aspergillaire en hématologie après travaux

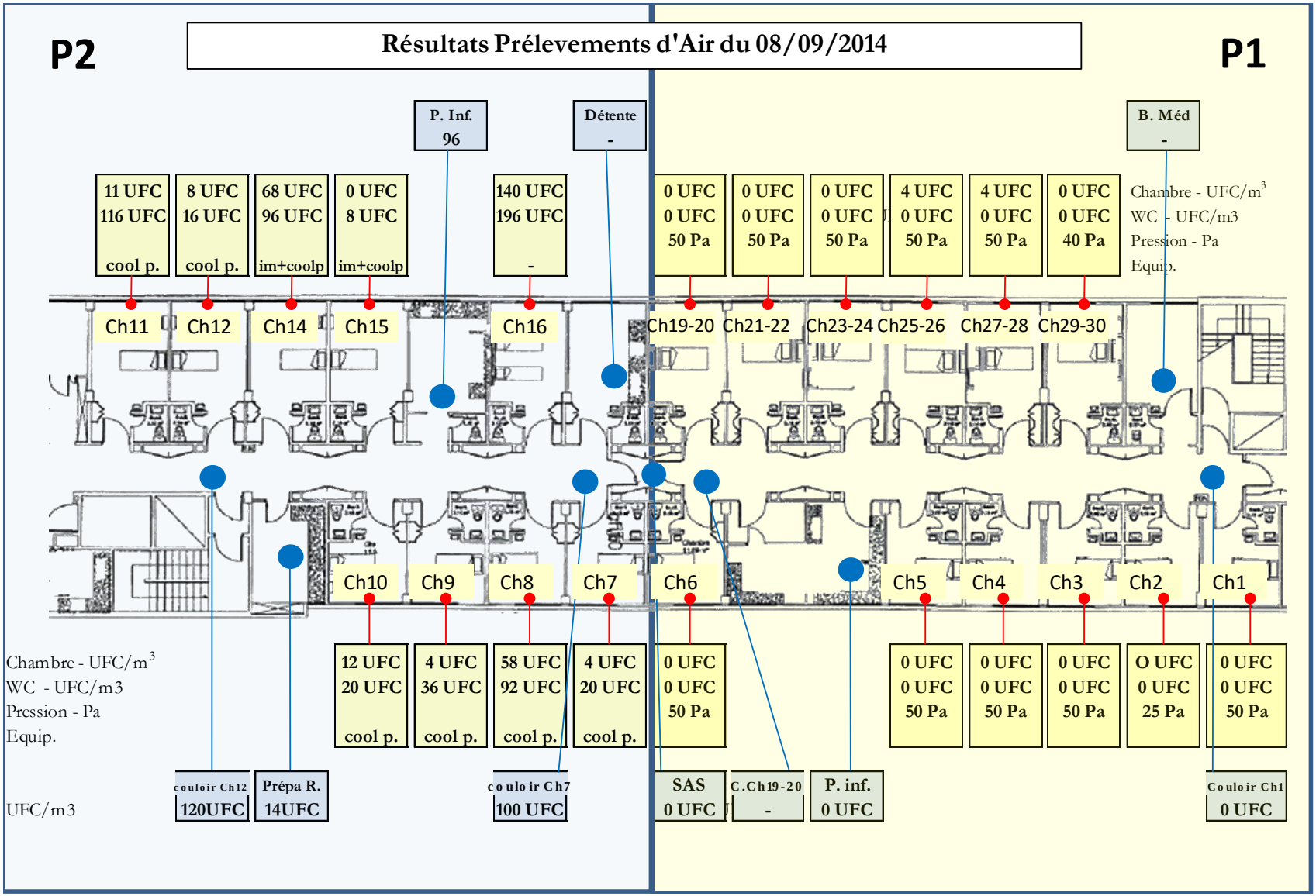
- **Contexte**
  - Travaux de maintenance dans le secteur « lymphoïde » en août 2014
    - Dépose de robinet des lave mains
    - Reprise de revêtement mural
    - Réfection plafond poste de soin
    - Peinture
  - 9 chambres, 10 lits
  - 1 CTA commune
  - Cool Plasmairs dans toutes les chambres sauf ImmunAir dans chambres 14 et 15

Prélèvements avant travaux

	03/04/2014		17/04/2014		07/05/2014		22/05/2014		27/06/2014		13/06/2014		11/07/2014	
	air /m3	aspergillus	air /m3	aspergillus	air /m3	aspergillus	air /m3	aspergillus	air /m3	aspergillus	air /m3	aspergillus	air /m3	aspergillus
Chambre 12	0	0									0	0		
Chambre 12 WC	0	0									4	0		
Chambre 8	0	0									0	0		
Chambre8 WC	0	0									28	4		
Chambre 10					0	0							0	0
Chambre 10 WC					0	0							0	0
Chambre 15					0	0							0	0
Chambre 15 WC					0	0							8	0
Chambre 7							0	0						
Chambre 7 WC							4	0						
chambre 11							12	2						
Cambre 11 WC							4	0						
chambre 16							8	0						
Chambre 16 WC							4	0						
chambre 9	0	0							0	0				
Chambre 9 WC	0	0							4	0				
Chambre 14	0	0							0	0				
chambre 14 WC	0	0							8	0				
couloir ch 7	0	4	0	0	0	0	4	0	4	0	36	8	0	0
Couloir ch 12	4	0	0	0	0	0	8	0	4	0	32	0	4	0
poste infirmier	0	0	0	0	0	0	16	0	4	0	8	0	12	0
préparation repas	8	0	0	0	0	0	4	0	0	0	28	0	4	0
détente	0	0	4	0	0	0	24	0	0	0	16	0	0	0
sas poste 2	0	0	0	0	0	0								

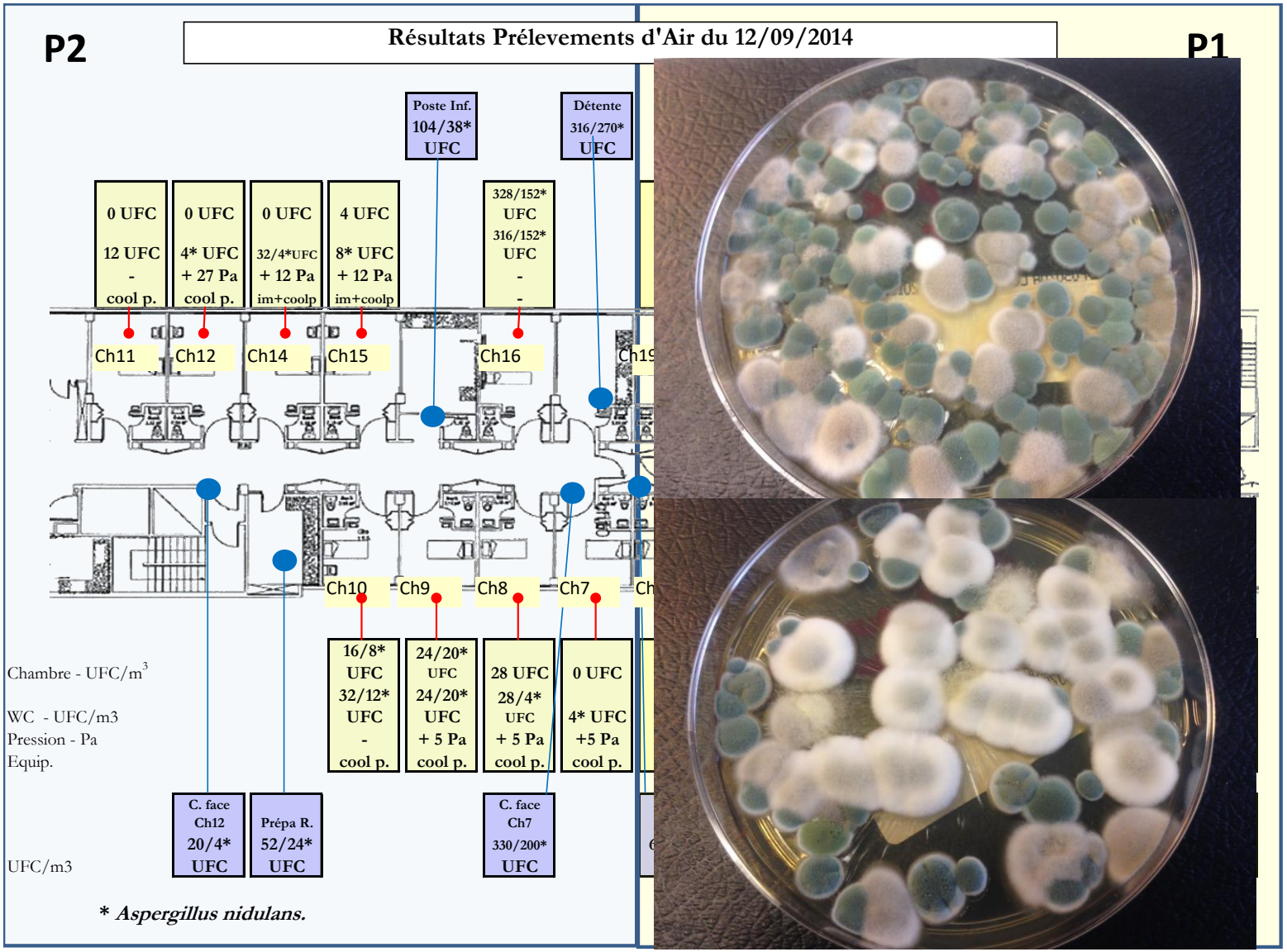
Prélèvements après travaux

(cool plasmairs en marche, CTA en marche).

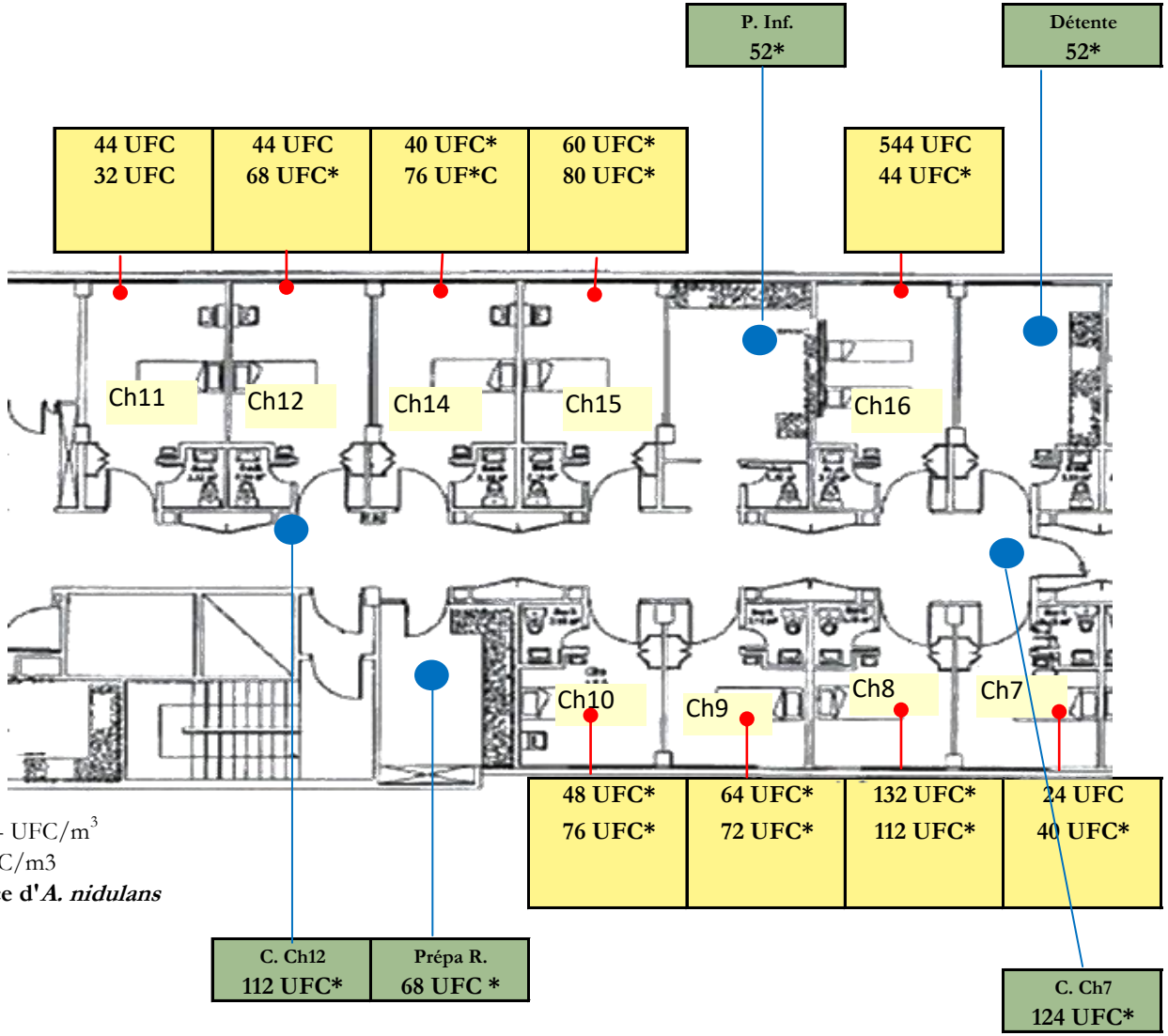


Prélèvements après travaux (contrôles)

(cool plasmairs en marche, CTA en marche)



Contrôles après désinfection par vapeur peroxyde d'hydrogène (Bioquell)



Chambre - UFC/m^3
WC - UFC/m3
*** presence d'*A. nidulans***

Hypothèses

- La situation ne s'améliore pas :
  - Contamination plus importante dans tout le secteur
  - *A. nidulans* présent dans de nombreuses chambres

- La VMC est hors de cause car elle est obturée

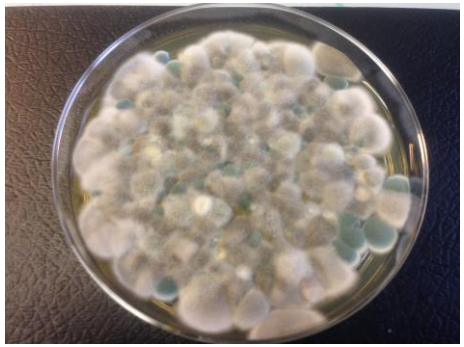
- **Inondation du P2** (lié au vol du robinet) et de la psychiatrie (au regard des chambres 8, 9, 15, poste infirmier et ch 16)
  - Certaines dalles de sols sont cloquées
  - Les coffrages des volets roulants de psychiatrie sentent « l'humidité »

- Un réservoir dans les faux plafonds de psychiatrie est suspecté

Prélèvement sols d'hématologie

(27 /11/14)

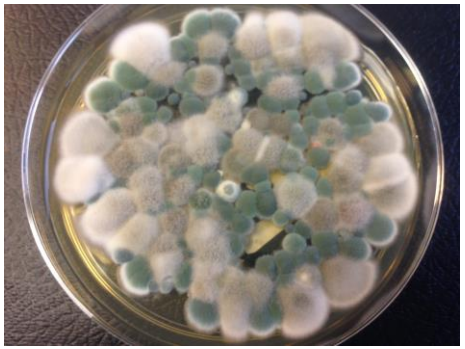
	Surfaces (Nb d'UFC)
Chambre 8	Dalle décollée : >300 d' A. nidulans Autour tuyaux rouillés lavabo : 28
WC Chambre 11	Sous lavabo :245 dont 3 A. nidulans
Chambre 15	Rainure dalle entrée chambre : 211 dont 172 A. nidulans Dalle décollée : 72 dont 6 A. nidulans
Chambre 16	Dalle :242 dont 31 A. nidulans Joint dalle : 164 dont 17 A. nidulans Joint dalle près radiateur : 119 dont 43 A. niger Autour des tuyaux lavabo : 237 dont 29 A. nidulans
WC Chambre 16	Rouille autour tuyaux lavabo : 68 dont 26 A. nidulans
Poste infirmier	Dalle 1 : >300 dont 50 A. nidulans Dalle 2 : >300 dont 78 A. nidulans Dalle 3 : >300 dont 60 A. nidulans



Prélèvement de psychiatrie (air)

(21/11/14 et 27/11/14)

Chambre 3 - Faux plafond	576 dont 160 *A. nidulans*
WC Chambre 3 - Faux plafond	712 dont 224 A. nidulans
Chambre 5 - Faux plafond	360 dont 56 *A. nidulans*
WC Chambre 5 - Faux plafond	680 dont 60 *A. nidulans* et 4 *A. niger*
Chambre 14 - 15 - Faux plafond	372 dont 60 *A. nidulans*
Chambre 16 - 17	140 dont 24 *A. nidulans* et 4 A. sp.



Conclusions

- Identification du réservoir (sol hémato + faux plafond de psychiatrie)
- Humidité résiduelle sous les dalles : prolifération fongique
  - Inaccessible à la désinfection de surface mais remise en suspension par ventilation par le système Bioquell utilise des ventilateurs pour la dégradation du H_2O_2

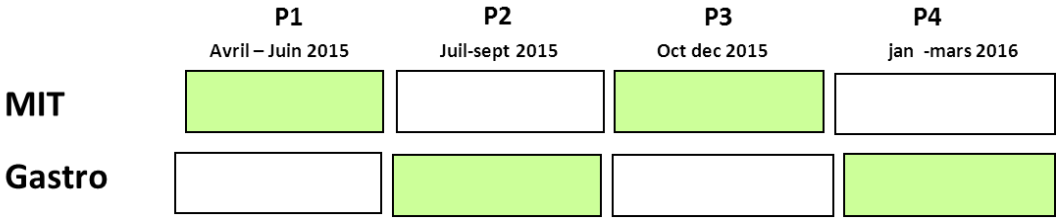
- Mesures prises
  - Réfection de l'ensemble des sols
  - Désinfection des faux plafonds et des coffrages de volets roulants en psychiatrie
  - Contrôles après travaux conformes

Microbiologie de l'environnement et recherche clinique

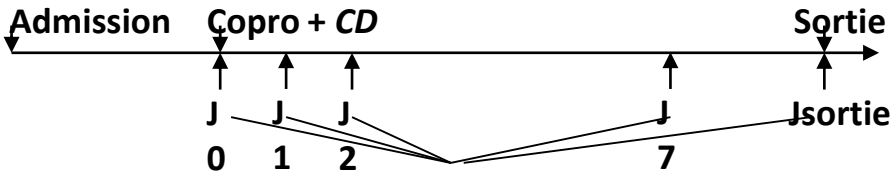
- Comparer l'activité sporicide d'un détergent-désinfectant (acide peracétique) et celle de l'eau de Javel 0,5% de chlore actif **en conditions réelles d'utilisation pour éradiquer les spores de *C. difficile***

- Etude prospective, bicentrique, de type « avant-après » en cross over multiple

Procédé 1: **3 étapes** (nettoyage +rinçage+ eau de Javel à 0,5%)
Procédé 2: **1 étape (**avec détergent-désinfectant).



- Prélèvements
  - **Surfaces :**100 cm^2 , 10 **points prédéfinis**

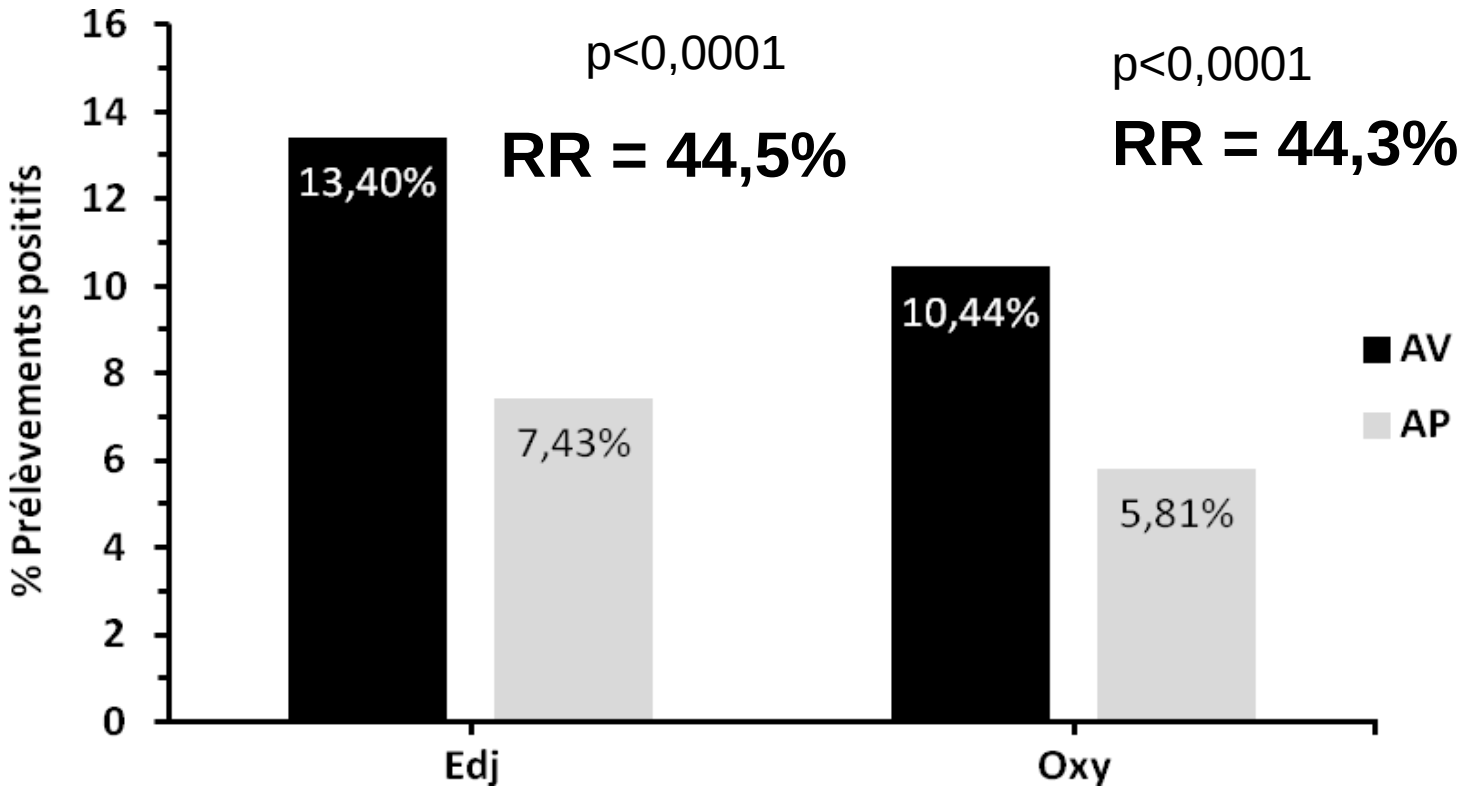


Efficacité selon la technique de bionettoyage

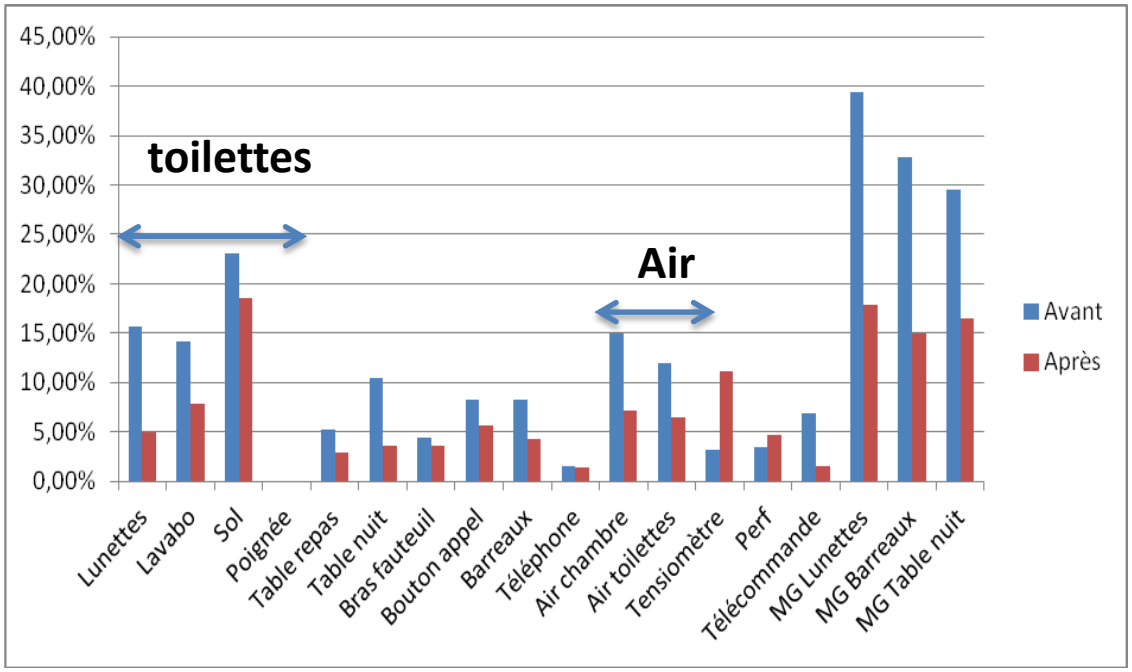
40 patients

28 en Gastro-entérologie et 12 en Maladies infectieuses.
14 chambres Eau de Javel /26 chambres acide percétique

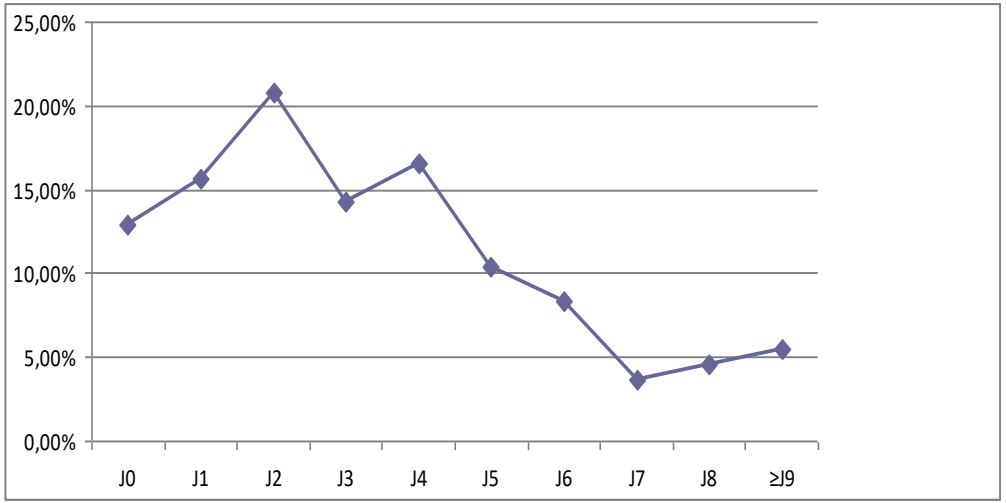
4441 prélèvements



Contamination en fonction des sites



Cinétique de contamination avant bionettoyage



Conclusion

- Grandes hétérogénéités d'organisation et de pratiques dans les ES
- Nécessité d'avoir une politique réfléchie, coordonnée, intégrée des contrôles de l'environnement
- Travailler en étroite collaboration avec les EOH
- Professionnaliser ces contrôles
- Accompagner les services dans l'interprétation des résultats
- Connaitre les limites de ces contrôles

Environnement=Réservoir de bactéries

- Eau : *Pseudomonas aeruginosa*, autres BGN oxydatifs (*S. maltophilia, B. cepacia*), *Legionella* sp., mycobactéries atypiques,

- Air : *Aspergillus* et autres champignons filamenteux

- Surfaces : *Acinetobacter* sp., *Clostridium difficile*, SARM