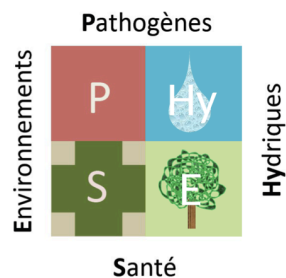


Maîtrise de la qualité microbiologique des eaux en  
système de soins  
*Implication dans la survenue d'infections associées aux soins*

**Dr Sara Romano-Bertrand**

Equipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements  
UMR Hydrosiences, Université Montpellier  
sara.romano-bertrand@umontpellier.fr  
Laboratoire d'Ecologie Microbienne Hospitalière  
CHU Montpellier  
s-romano@chu-montpellier.fr



Le 6 février 2018





*L'eau est un élément essentiel au fonctionnement des établissements de santé, mais elle peut constituer une source d'infections graves en cas de contamination ou de mauvais usage...*

# L'eau dans les établissements de santé



# Introduction (1)

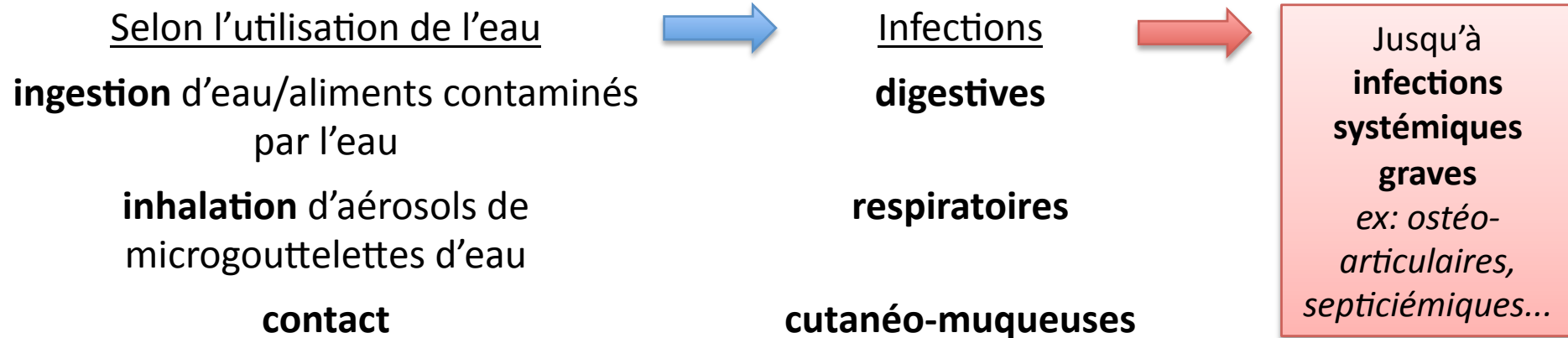
- Au sein d'un établissement de santé (ES), l'eau représente un bien inestimable en raison :
  - de la consommation en **grands volumes**
  - des usages très diversifiés qui requièrent **différents niveaux de qualité**



# Introduction (2)

Dans les ES, **risques** sanitaires liés à l'eau surtout **microbiologiques**

*Plus rarement risques chimiques*




Facteurs de risque : liées au micro-organisme (MO) hydrique (virulence, mode de contamination...); nature et durée des soins pratiqués; utilisation d'un DMI ou acte chirurgical; pathologie ou traitement du patient...

# Typologie des différentes catégories d'eau (1)

Pour chaque catégorie d'eau : exigences de qualité et modalités de surveillance

- Paramètres physico-chimiques et microbiologiques
- Limites de qualité

Niveau cible	Niveau d'alerte	Niveau d'action
niveau à <b>atteindre</b> en conditions normales de fonctionnement	niveau de détection précoce d'une <b>dérive</b> potentielle des conditions de fonctionnement ⇒ vérification des résultats et mise en œuvre de premières mesures correctives	niveau de déclenchement immédiat de <b>mesures correctives</b> ⇒ retour rapide sous le niveau d'alerte pour tendre vers le niveau cible



# Typologie des différentes catégories d'eau (2)

**Q.1** Eaux ne subissant **aucun traitement** dans l'établissement de santé

**Q.1.1** Eaux à usage alimentaire

**Q.1.2** Eaux pour soins standard

**Q.2** Eaux spécifiques **traitées** au sein de l'établissement de santé répondant à des critères définis selon les usages

**Q.2.1** Eau bactériologiquement maîtrisée

**Q.3** Eaux **stériles**

**Q.4** Eaux **techniques**

# Typologie des différentes catégories d'eau (2)

**Q.1** Eaux ne subissant **aucun traitement** dans l'établissement de santé

**Q.1.1** Eaux à usage alimentaire

**Q.1.2** Eaux pour soins standard

**Q.2** Eaux spécifiques **traitées** au sein de l'établissement de santé répondant à des critères définis selon les usages

**Q.2.1** Eau bactériologiquement maîtrisée

**Q.3** Eaux stériles

**Q.4** Eaux techniques

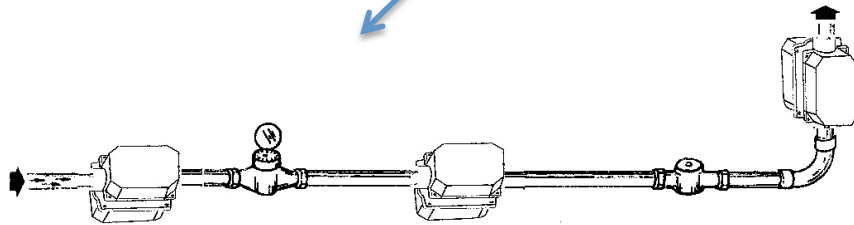


# Q.1 Eaux ne subissant aucun traitement dans l'ES

- Eaux appelées d'un point de vue réglementaire « *eaux destinées à la consommation humaine* »
- Usages alimentaire, sanitaire et soins
- Origine : réseau d'adduction publique (ou forage privé) : ne subissent aucun traitement dans l'ES
- En fonction des usages, on distingue
  - Q.1.1 Eaux à usage alimentaire
  - Q.1.2 Eaux pour soins standard

# Q.1.1 Eaux à usage alimentaire

- **Définition** : Les réseaux internes aux ES peuvent être de longueurs variables, être alimentés par des mélangés d'eaux et parfois comporter des réservoirs, ce qui peut impliquer des variations de la qualité de l'eau distribuée. C'est pourquoi on distingue 2 sous-catégories d'eau : **l'eau d'entrée** dans l'ES et **l'eau aux points d'usage**.



# Q.1.1.a L'eau d'entrée (1)

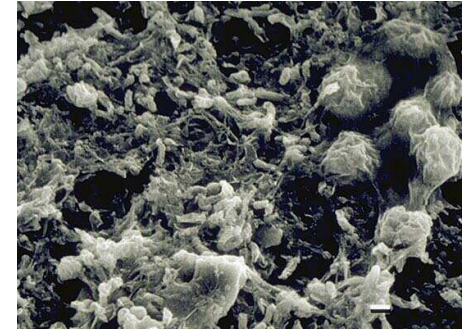
- **L'eau d'entrée** : définie comme celle arrivant à l'entrée de l'ES que ce soit à l'interface avec le réseau public ou à la sortie d'un forage propre à l'établissement.
- innocuité garantie vis à vis de la population de l'établissement

Critères de potabilité (articles R.1321-1 à R.1321-5 CSP) relatifs aux eaux destinées à la consommation humaine : l'eau d'entrée ne doit pas véhiculer de polluants à des doses toxiques ou de MO pathogènes ou opportunistes; elle doit éviter la corrosion ou l'entartrage excessif des canalisations

# Q.1.1.a L'eau d'entrée (2)

- Contamination de l'eau

- la dégradation de la qualité de l'eau peut survenir à tout moment entre le point d'entrée et le robinet du consommateur



- Interface eau/matériau : lieu privilégié d'accumulation des cellules microbiennes et de matière organique et de multiplication des bactéries  
⇒ formation de biofilm

- Biofilm caractérisé par un relargage constant de bactéries (agrégats++)

- Formation d'un biofilm sur les canalisations et présence de réservoirs microbiens en points de stagnation de l'eau (bras morts++) participent à la contamination microbiologique de l'eau distribuée

# Q.1.1.a L'eau d'entrée (3)

- **Facteurs favorisants :**

- charge organique et vitesse de circulation faible de l'eau
- entartrage
- corrosion
- T° intermédiaires:25-50°C
- relargage de substances biodégradables par matériaux plastiques...

- **Facteurs limitants :**

- Lutte contre la stagnation de l'eau
- Maitrise de la T° de l'eau
- Lutte contre l'entartrage et la corrosion
- Traitement complémentaire de l'eau
- Choix des matériaux

# Q.1.1.b L'eau aux points d'usage (1)

- **L'eau aux points d'usage** : définie comme celle étant consommée ou utilisée directement ou indirectement par toute personne au sein de l'ES
- Critères de potabilité (articles R.1321-1 à R.1321-5 CSP) relatifs aux eaux destinées à la consommation humaine
- Prélèvements : nécessité de définir des points critiques d'échantillonnage afin de surveiller les évolutions de la qualité dans le réseau et dans les bâtiments  
plan d'échantillonnage tenant compte de la structure du réseau, de la fréquentation et des usages afin que l'analyse représente une image la plus fiable possible de la qualité au sein de chaque bâtiment et/ou des divers étages des bâtiments

# Q.1.1.b L'eau aux points d'usage (1)

Indicateurs Physico-Chimiques		
Indicateurs	Niveau cible	Fréquence
Carbone Organique Total (COT) et turbidité	Une diminution significative du COT est le reflet d'une croissance bactérienne.	Dans le cadre d'une étude bilan du réseau interne à l'établissement
Chlore résiduel associé au pH et la température	0,1 mg/l de chlore libre.	Trimestrielle
Fer et métaux issus de la corrosion (Pb, Cu, Cr, Zinc...)		Selon le contexte de l'établissement

Indicateurs Microbiologiques		
Indicateurs	Niveau cible	Fréquence
Flore aérobie revivifiable à 22°C et à 36°C	Pas de variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle à l'entrée.	1 contrôle/100 lits et par an, avec un minimum de 4 contrôles/an.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 1 UFC / 100 ml	Trimestrielle
Coliformes totaux	< 1 UFC / 100 ml	Trimestrielle

# Q.1.2 Eaux pour soins standards (1)

## Utilisation

soins de base pour des patients sans risque particulier

lavage des mains

nettoyage et le rinçage de certains dispositifs médicaux (ex: rinçage terminal endoscopes digestif / sauf en cas d'accès dans une cavité stérile)

## Lieu et fréquence des prélèvements

fonction taille de l'ES spécificité du réseau, zones à risque...

### Si résultats non conformes

vérifier conditions d'analyse

renouveler prélèvements jusqu'à conformité des résultats

possibilité d'intervention si non amélioration

(ex: démontage, détartrage et désinfection des robinets, pose de filtres terminaux antimicrobiens voire désinfection du réseau par choc chloré ou thermique...)



# Q.1.2 Eaux pour soins standards (2)

- Qualité de l'eau :

	Niveau cible
Flore aérobie revivable à 22°C	≤ 100 UFC / ml
Flore aérobie revivable à 36°C	≤ 10 UFC / ml
Coliformes totaux*	<1 UFC / 100 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<1 UFC / 100 ml

\* En présence de coliformes totaux, il est nécessaire de rechercher *Escherichia coli*.

## Q.2 Eaux spécifiques **traitées** au sein de l'ES

- Il s'agit des eaux destinées à des usages alimentaires, sanitaires et de soins, **ayant subi un traitement au sein de l'établissement de santé** :
  - ❖ Eau bactériologiquement maîtrisée
  - ❖ Eau chaude
  - ❖ Eau des piscines de rééducation
  - ❖ Eaux des bains à remous et des douches à jets
  - ❖ Eaux pour hémodialyse
  - ❖ Eau purifiée
  - ❖ Eau hautement purifiée
  - ❖ Eau des fontaines à usage de boisson

# Q.2 Eaux spécifiques **traitées** au sein de l'ES

- Il s'agit des eaux destinées à des usages alimentaires, sanitaires et de soins, **ayant subi un traitement au sein de l'établissement de santé** :
  - ❖ Eau bactériologiquement maîtrisée
  - ❖ Eau chaude
  - ❖ Eau des piscines de rééducation
  - ❖ Eaux des bains à remous et des douches à jets
  - ❖ Eaux pour hémodialyse
  - ❖ Eau purifiée
  - ❖ Eau hautement purifiée
  - ❖ Eau des fontaines à usage de boisson

## Q.2.1 Eau bactériologiquement maîtrisée (1)

**Après traitement** => qualité **bactériologique supérieure** à celle du réseau de distribution

Destinée aux **patients immunodéprimés** ainsi que pour des soins au **contact des muqueuses** ou exposant à un risque infectieux particulier (ex : rinçage terminal des fibroscopes bronchiques)

- Qualité de l'eau : paramètres microbiologiques retenus pour l'eau bactériologiquement maîtrisée

	Niveau cible	Niveau d'action
Flore aérobie revivifiable à 22°C	≤ 1 UFC / 100 ml	≥10 UFC/100ml
Pseudomonas aeruginosa	< 1 UFC / 100 ml	≥ 1 UFC / 100 ml

## Q.2.1 Eau bactériologiquement maîtrisée (2)

### Moyen d'obtention

à partir de l'eau du réseau d'alimentation de l'ES

traitement chimique : chloration

traitement physique : filtration, ultraviolets...

1. **Microfiltration au point d'usage** = procédé de traitement le plus classique

Porosité moyenne de  $0,2\mu\text{m}$

à UU

mis en place, changés et entretenus selon les recommandations des fabricants  
et les procédures définies par l'établissement

- avantages: pouvoir de rétention élevé, facilité d'emploi, peu encombrant

- inconvénients: débits faibles, colmatage rapide...

## Q.2.1 Eau bactériologiquement maîtrisée (3)

2. **Traitements par rayonnement ultraviolet** (lampe UV basse pression/basse énergie)
3. **Chloration** : hyperchloration de l'eau au point de puisage ou chloration permanente par injection automatique grâce à une pompe
  - avantage: eau désinfectée très riche en chlore
  - inconvénient: risques liés à une surchloration, compatibilité avec les matériaux, vérification des concentrations en chlore...

### Fréquence de prélèvements

trimestrielle (auges chirurgicales...)

fonction du système d'assurance qualité défini dans l'ES

## Q.2.2 Eaux chaudes sanitaires

- Risque principal = Légionelles (cf cours P. Licznar)

## Q.2.3 Eau des piscines de rééducation (1)



Pas de réglementation spécifique pour l'usage exclusivement médical

⇒ au minimum exigences de qualité de l'eau ainsi et règles d'hygiène et de surveillance pour les piscines ouvertes au public

**articles D.1332-1 à D.1332-15 du CSP**, fixant les normes d'hygiène et de sécurité applicables aux piscines et baignades aménagées

**arrêté du 7 avril 1981, modifié par l'arrêté du 18 janvier 2002**, fixant les dispositions techniques applicables aux piscines

**arrêté du 7 avril 1981** fixant les dispositions administratives applicables aux piscines et aux baignades aménagées



## Q.2.3 Eau des piscines de rééducation (2)



### Facteurs de risque de contamination

- Difficultés d'une désinfection continue : T° élevée, agitation mécanique (bouillonnements, hydrojets..)
  - Conception des bassins médicaux
- Mauvaise maintenance (recyclage de l'eau, rythme des vidanges, entretien des filtres, entretien locaux)
- Etat de santé des patients : incontinence, patients porteurs de BMR

### Sources de contamination

- Baigneurs
- Personnel
- Matériels utilisés pour les patients
  - L'eau alimentant les bassins

## Q.2.3 Eau des piscines de rééducation (3)



- Qualité requise: pas d'intérêt à rechercher *Legionella pneumophila* au niveau des bassins, mais leur recherche est fortement recommandée au niveau des douches (cf cours P. Licznar)

	Niveau exigé
Flore aérobie revivable à 36°C	< 100 UFC / ml
Coliformes totaux à 36°C	≤ 1 UFC / 100 ml
Pseudomonas aeruginosa	≤ 1 UFC / 100 ml
Staphylococcus aureus	≤ 1 UFC / 100 ml

- Contrôles paramètres physico-chimiques (pH, T°, teneur en chlore...)
- Fréquence et modalité des prélèvements: 1x/mois, hors présence humaine (le matin avant arrivée patients)

## Q.2.3 Eau des piscines de rééducation (2)



### Prévention de la contamination

#### Mesures techniques

à la conception des bassins (choix d'une hydraulique du bassin évitant toute zone sans courant d'eau...) et traitements d'eau (filtration, désinfection, renouvellement de l'eau)

#### Règles d'hygiène

générales (entretien de l'environnement du bassin, ventilation locaux...) et individuelles (corporelle, port de chaussures adaptées, bonnet...)

## Q.2.4 Eau des bains à remous et des douches à jets (1)

Eaux de bains à remous et de douches à jets sont une **source importante d'aérosols**. Obligatoirement traitées par désinfection et justifient des critères de qualité particuliers pour prévenir le risque de dissémination des légionelles. **La recherche de *Legionella pneumophila* est indispensable**

	Niveau exigé
Flore aérobie revivifiable à 36°C	< 100 UFC / ml
Coliformes totaux à 36°C	≤ 1 UFC / 100 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤ 1 UFC / 100 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤ 1 UFC / 100 ml
<i>Legionella pneumophila</i>	absence*

\*Absence signifie au sens de la norme NF T90-431 de septembre 2003, « <250 UFC/l » et « *Legionella pneumophila* non détectées »

## Q.2.4 Eau des bains à remous et des douches à jets (2)

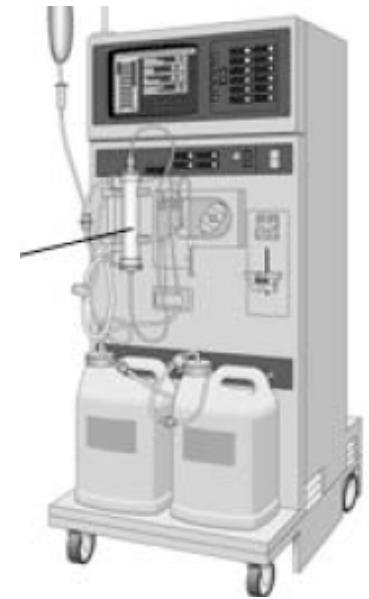
- Contrôles paramètres physico-chimiques (pH, T°, teneur en chlore...)
- Fréquence et modalité des prélèvements: 1x/mois, hors présence humaine (le matin avant arrivée patients)

Q.2.5 Eau pour hémodialyse

Q.2.6 Eau purifiée

Q.2.7 Eau hautement purifiée

**Eaux pharmaceutiques**  
(cf. Pharmacopée Européenne)



Quid de la place de l'eau dans le risque infectieux hospitalier ?



# Infections associées aux soins (IAS)



au cours ou au décours d'une prise en charge médicale (démarche diagnostique, thérapeutique, palliative, d'exploration...), ni présente ni en incubation au moment de cette prise en charge



# Infections associées aux soins (IAS)



au cours ou au décours d'une prise en charge médicale (démarche diagnostique, thérapeutique, palliative, d'exploration...), ni présente ni en incubation au moment de cette prise en charge

5,1% des patients hospitalisés\* concernés en France en 2012



# Infections associées aux soins (IAS)

au cours ou au décours d'une prise en charge médicale (démarche diagnostique, thérapeutique, palliative, d'exploration...), ni présente ni en incubation au moment de cette prise en charge

5,1% des patients hospitalisés\* concernés en France en 2012

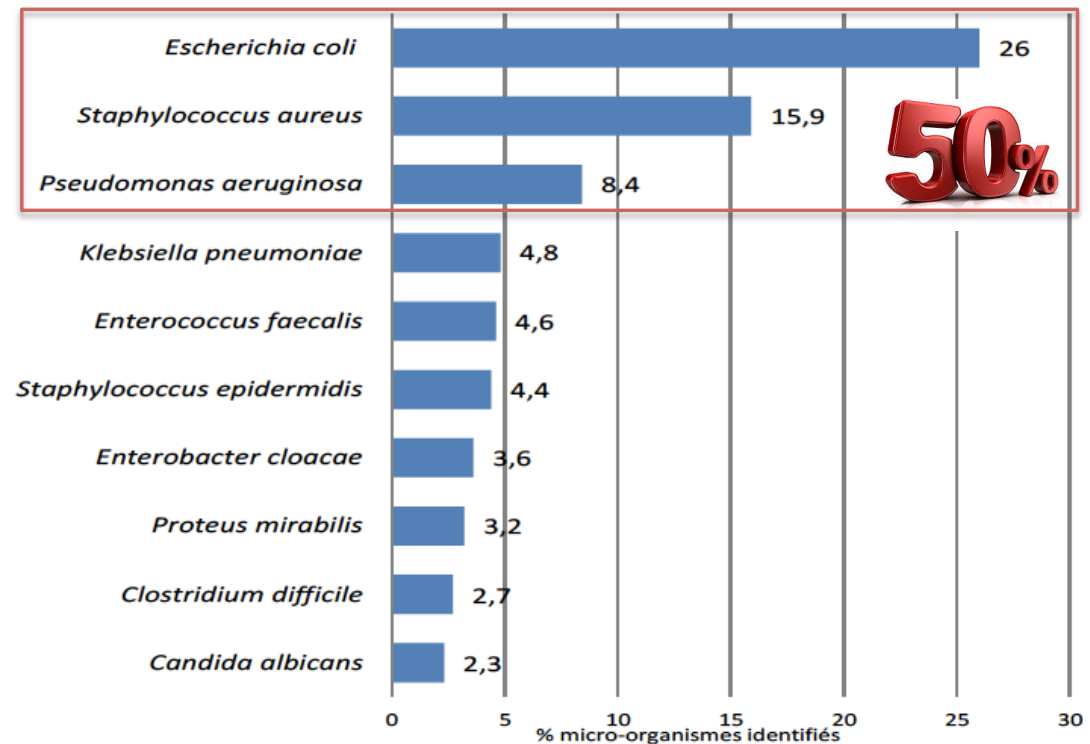
## Principales bactéries en cause

*Escherichia coli*  
*Staphylococcus aureus*  
*Pseudomonas aeruginosa*

+

*Clostridium difficile*  
(risque épidémiogène)

*Legionella pneumophila*  
(recherche réglementée)





# Infections associées aux soins (IAS)

au cours ou au décours d'une prise en charge médicale (démarche diagnostique, thérapeutique, palliative, d'exploration...), ni présente ni en incubation au moment de cette prise en charge

5,1% des patients hospitalisés\* concernés en France en 2012

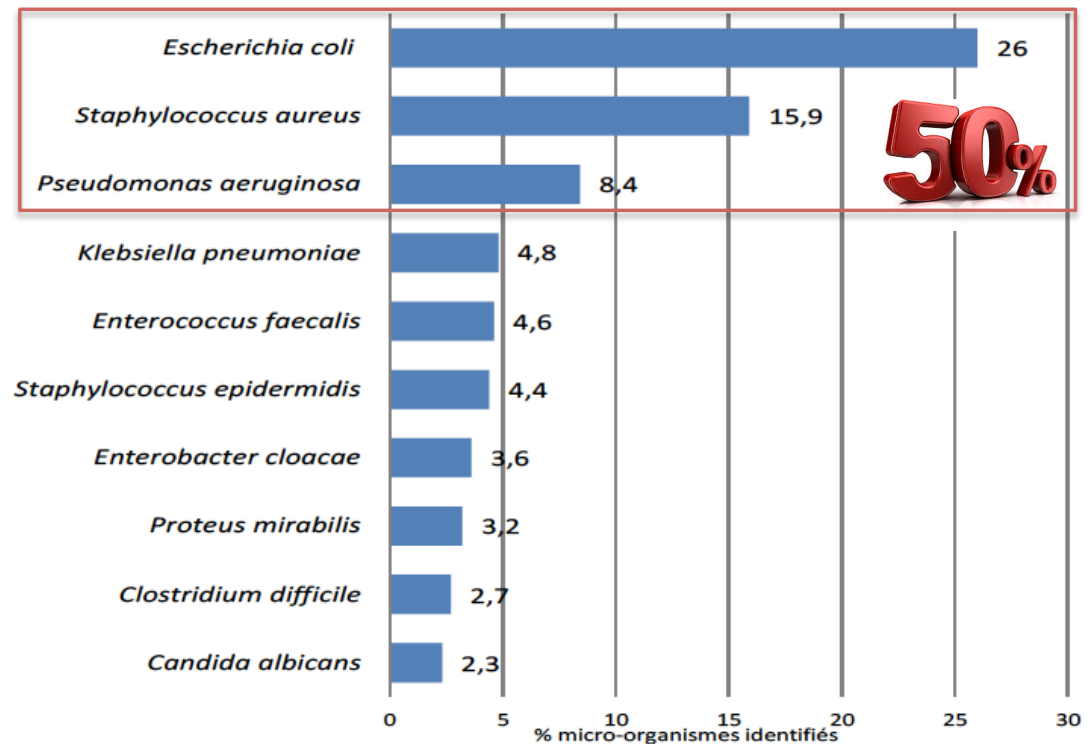
## Principales bactéries en cause

*Escherichia coli*  
*Staphylococcus aureus*  
*Pseudomonas aeruginosa*

+

*Clostridium difficile*  
(risque épidémiogène)

*Legionella pneumophila*  
(recherche réglementée)



IAS isolées ou épidémies d'IAS

# Bactéries pathogènes opportunistes



Origine exogène

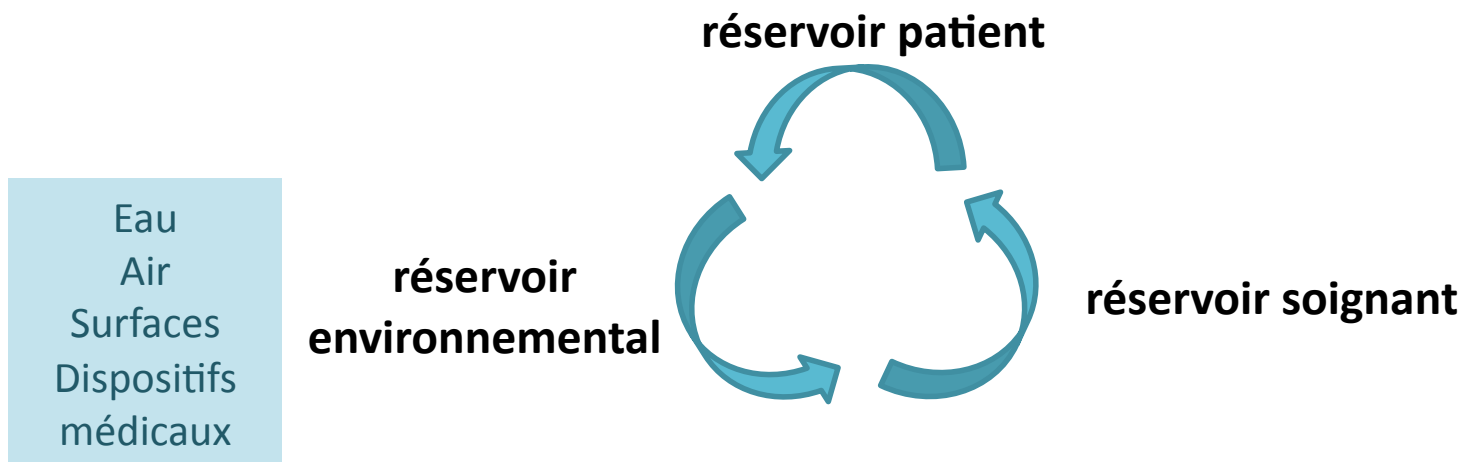


Pathobiontes d'autres patients ou de soignants

**Origine environnementale**

*Pseudomonas aeruginosa*  
*Legionella pneumophila*  
Mycobactéries non tuberculeuses...

Différentes voies d'acquisition et transmission

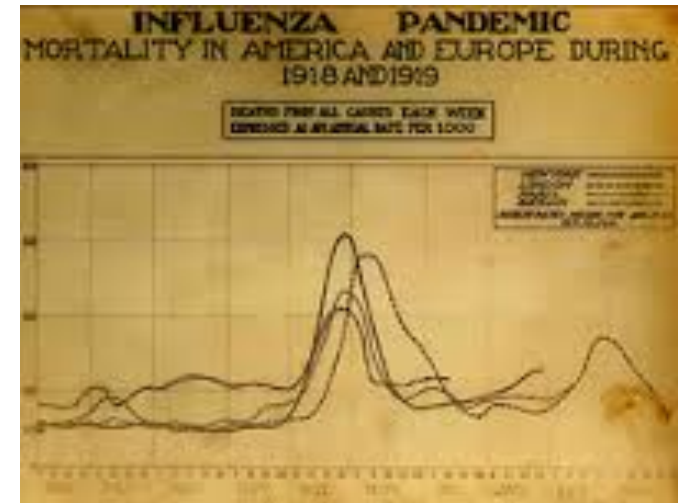


# Epidémie



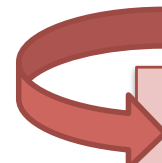
↗ significative de l'incidence d'une maladie au-delà de ce qui est habituellement observé

⇒ Apparition d'un **nombre inhabituel ou inattendu de cas** d'une maladie dans une population, dans une même unité de temps et d'espace



Endémie

⇒ Existence permanente d'un nombre de cas d'une maladie dans un lieu défini

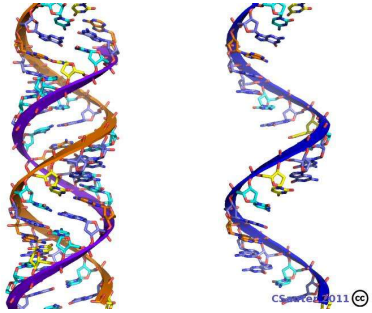


La **surveillance**  
pour savoir quand donner l'alerte

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Principe et objectifs

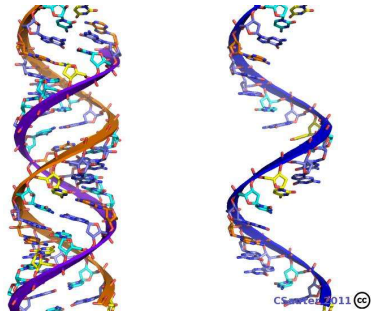
**Méthodes moléculaires** = détection des acides nucléiques (ADN et ARN)



# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Principe et objectifs

**Méthodes moléculaires** = détection des acides nucléiques (ADN et ARN)



3 applications particulières

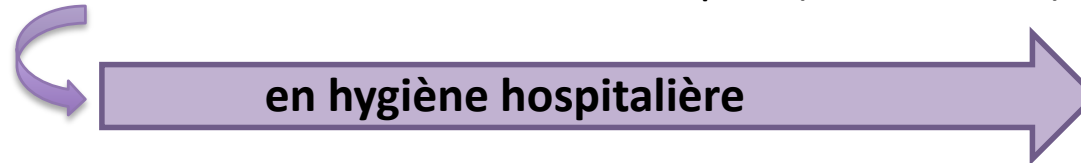
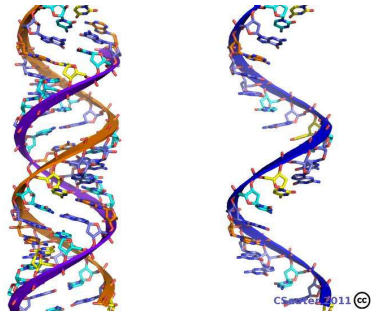
**Surveillance  
des IAS**

**Prévoir  
Prévenir  
Argumenter  
Stopper  
Former**

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Principe et objectifs

**Méthodes moléculaires** = détection des acides nucléiques (ADN et ARN)



3 applications particulières

Surveillance  
des IAS

Prévoir  
Prévenir  
Argumenter  
Stopper  
Former

Origine  
OBP ?

**Prévoir** = Identifier des clones à  
potentiel épidémique

{ *C. difficile*  
*S. aureus*  
*P. aeruginosa*

**Prévenir** = Recherche  
« normalisée » de réservoir

{ *L. pneumophila*  
(NF T90-471)

**Argumenter** = Investigation  
d'épidémies

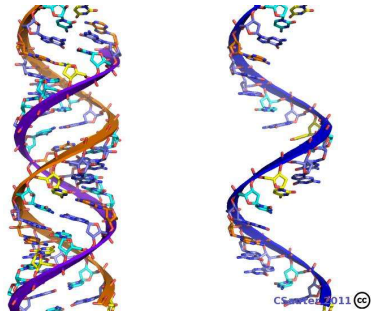
{ Tout pathogène



# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Principe et objectifs

**Méthodes moléculaires** = détection des acides nucléiques (ADN et ARN)



3 applications particulières

Surveillance  
des IAS

Prévoir  
Prévenir  
Argumenter  
Stopper  
Former

Origine  
OBP ?

**Prévoir** = Identifier des clones à  
potentiel épidémique

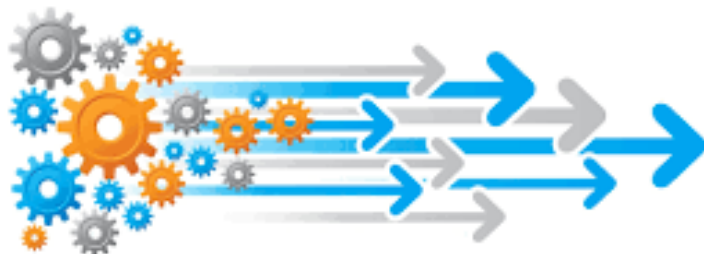
*C. difficile*  
*S. aureus*  
*P. aeruginosa*

**Prévenir** = Recherche  
« normalisée » de réservoir

*L. pneumophila*  
(NF T90-471)

**Argumenter** = Investigation  
d'épidémies

Tout pathogène



**Outils moléculaires** : + discriminants et + universels  
que le phénotypage traditionnel

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Recherche « normalisée » d'un réservoir



### L'exemple de *L. pneumophila*

Agent de la Légionellose

>50 espèces de *Legionella* => *L. pneumophila* en cause dans >95% des infections

Colonise les réseaux d'eau (chaude)

Contamination par inhalation d'aérosols contaminés



# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Recherche « normalisée » d'un réservoir



### L'exemple de *L. pneumophila*

Agent de la Légionellose

>50 espèces de *Legionella* => *L. pneumophila* en cause dans >95% des infections

Colonise les réseaux d'eau (chaude)

Contamination par inhalation d'aérosols contaminés



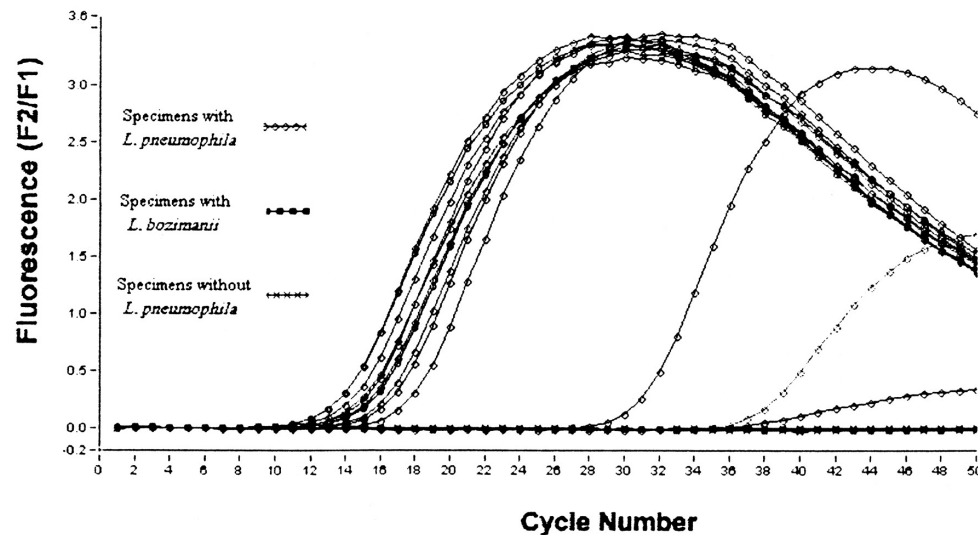
**Surveillance**  
réglementaire dans les  
établissements de soins  
(NF T90-471)

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Recherche « normalisée » d'un réservoir



### L'exemple de *L. pneumophila*



Calibration par étalonnage

⇒ limite de détection

⇒ quantification en copies de gène amplifié ↔ correspondance en UFC/L

Témoins + et - à chaque analyse

### PCR quantitative en temps réel

filtration d'un volume déterminé d'eau



extraction de l'ADN bactérien



amplification par primers spécifiques

} *Legionella* spp.  
*L. pneumophila*

+

hybridation spécifique d'une sonde fluorescente aux amplicons



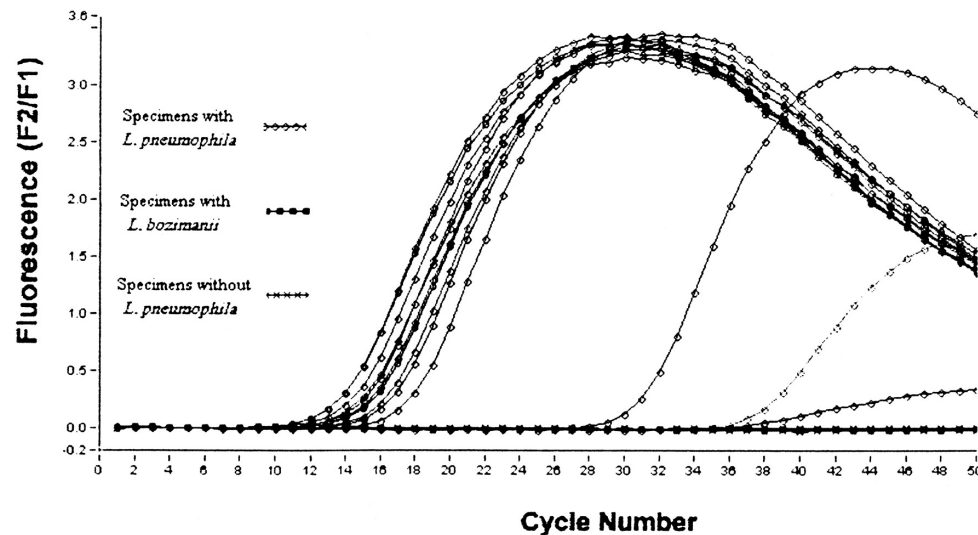
**détection** de fluorescence à chaque cycle d'amplification et **quantification**

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Recherche « normalisée » d'un réservoir



### L'exemple de *L. pneumophila*



Calibration par étalonnage

⇒ limite de détection

⇒ quantification en copies de gène amplifié ↔ correspondance en UFC/L

Témoins + et - à chaque analyse

### PCR quantitative en temps réel

filtration d'un volume déterminé d'eau



extraction de l'ADN bactérien



amplification par primers spécifiques

} *Legionella* spp.  
*L. pneumophila*

+

hybridation spécifique d'une sonde fluorescente aux amplicons



**détection** de fluorescence à chaque cycle d'amplification et **quantification**

**Réservoir de *L. pneumophila***

⇒ mesures de prévention (filtres...)

⇒ décontamination du réseau

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

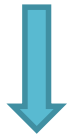
## Investigation d'une épidémie

Comparaison de souches d'une même espèce par des méthodes moléculaires

isolées de patients



isolées de l'environnement



Identifier une épidémie  
moléculaire  
à l'échelle locale  
ou mondiale



Apporter des arguments sur  
le mode de transmission  
la source  
le vecteur



**Mais aussi**  
Améliorer nos connaissances  
sur la circulation et la persistance des BPO

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



Méthodes d'empreinte moléculaire

**rep-PCR**

Polymorphisme de longueur des fragments  
de restriction (RFLP)

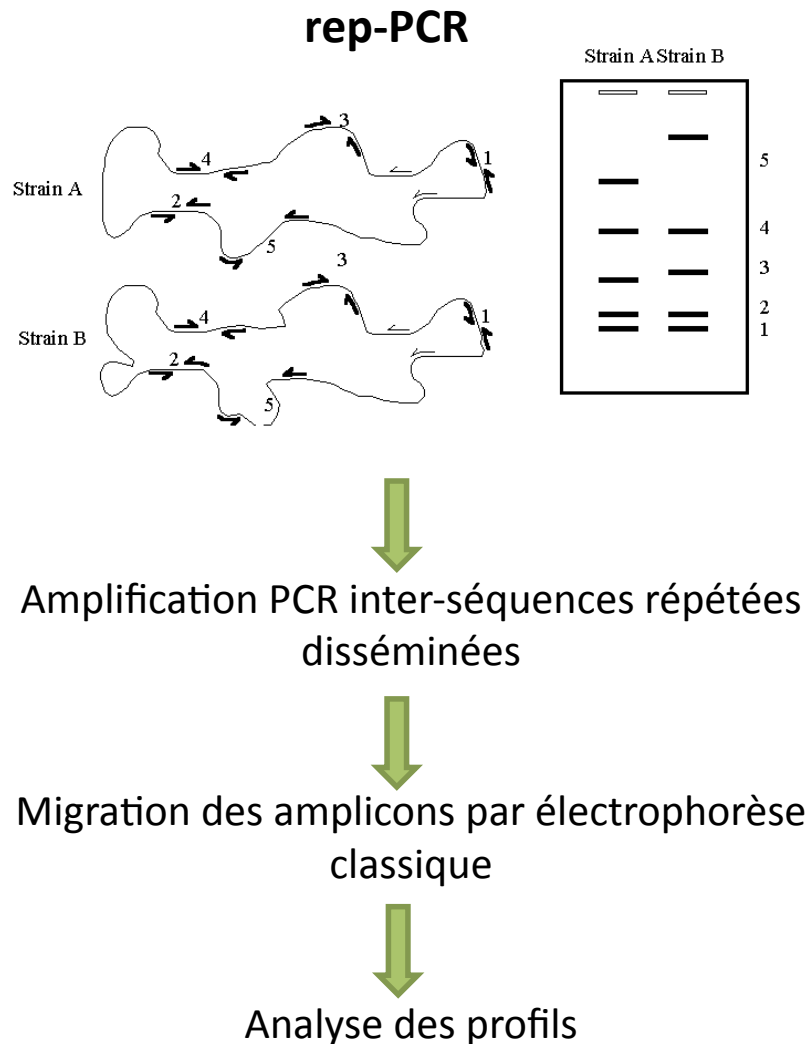
⇒ **Electrophorèse en champ pulsé (ECP)**

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



### Méthodes d'empreinte moléculaire



Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP)

⇒ **Electrophorèse en champ pulsé (ECP)**



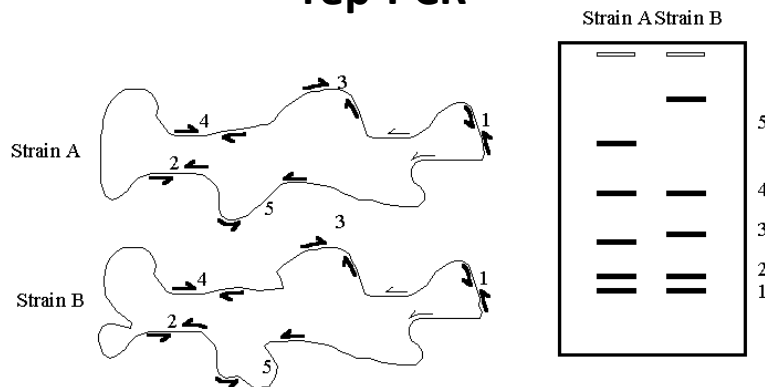
# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière



## Investigation d'une épidémie

### Méthodes d'empreinte moléculaire

#### rep-PCR



Amplification PCR inter-séquences répétées disséminées

Migration des amplicons par électrophorèse classique

Analyse des profils

Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP)

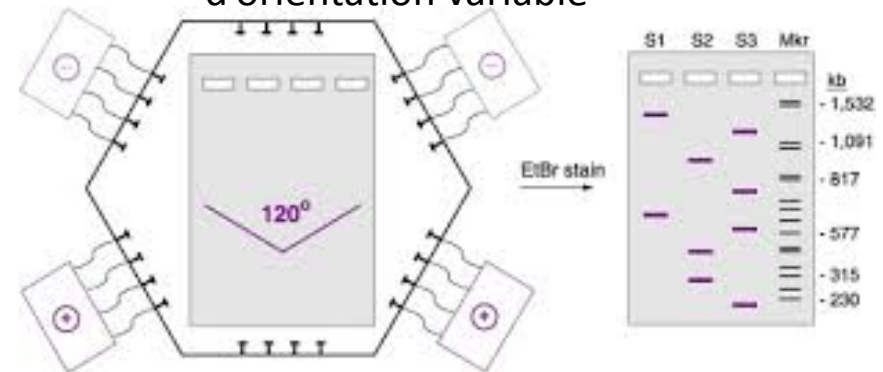
⇒ **Electrophorèse en champ pulsé (ECP)**

Extraction ADN génomique

Macrorestriction enzymatique

15-20 fragments

Migration dans champs électriques d'orientation variable



Choix de l'enzyme de restriction selon espèce et le GC%

Electric field alternates 120° every 90 seconds for 18 to 24 hours at 14° C

Analyse des pulsotypes

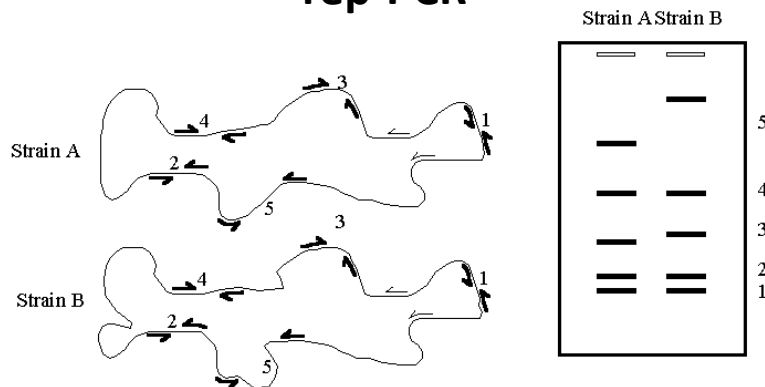
# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière



## Investigation d'une épidémie

### Méthodes d'empreinte moléculaire

#### rep-PCR



Amplification PCR inter-séquences répétées disséminées

Migration des amplicons par électrophorèse classique

Analyse des profils

Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP)

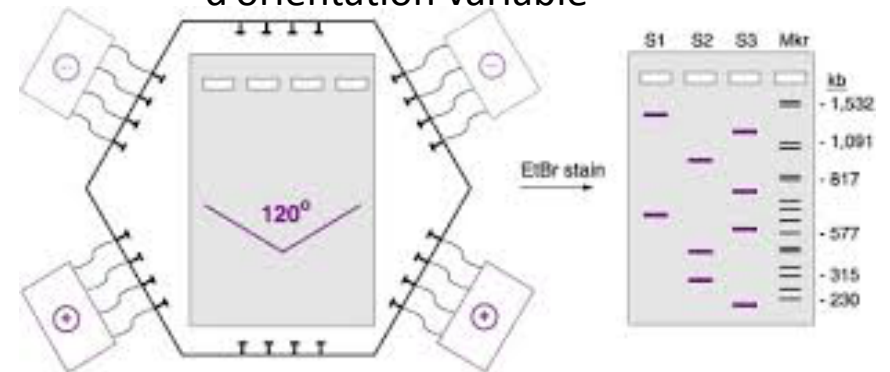
⇒ **Electrophorèse en champ pulsé (ECP)**

Extraction ADN génomique

Macrorestriction enzymatique

15-20 fragments

Migration dans champs électriques d'orientation variable



Electric field alternates 120° every 90 seconds for 18 to 24 hours at 14° C

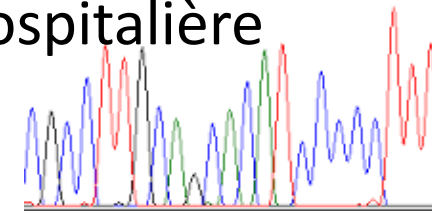
Choix de l'enzyme de restriction selon espèce et le GC%

Analyse des pulsotypes

**Clonalité ?**

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



Méthodes basées sur le séquençage

### Multi Locus Sequence Typing (MLST)

amplification PCR 7 gènes de ménages



séquençage



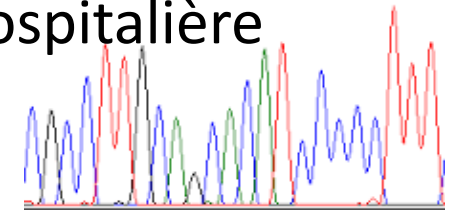
combinaison des 7 allèles = identification ST



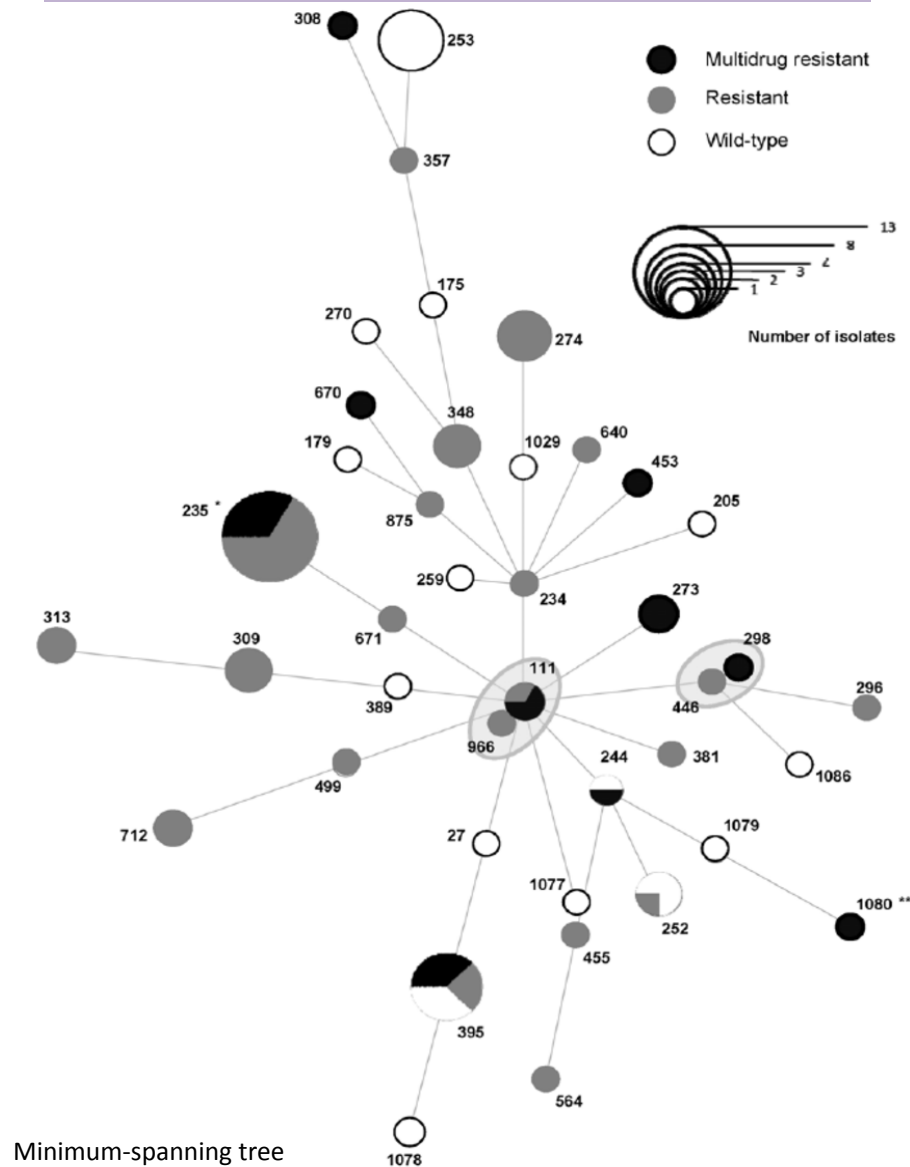
Epidémiologie locale et mondiale

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



### Méthodes basées sur le séquençage



### Multi Locus Sequence Typing (MLST)

amplification PCR 7 gènes de ménages



séquençage



combinaison des 7 allèles = identification ST



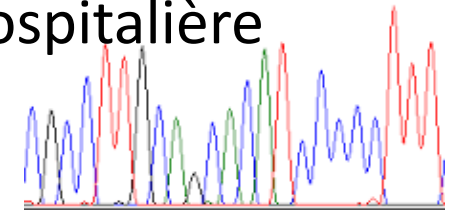
Epidémiologie locale et mondiale

L'exemple de *P. aeruginosa*

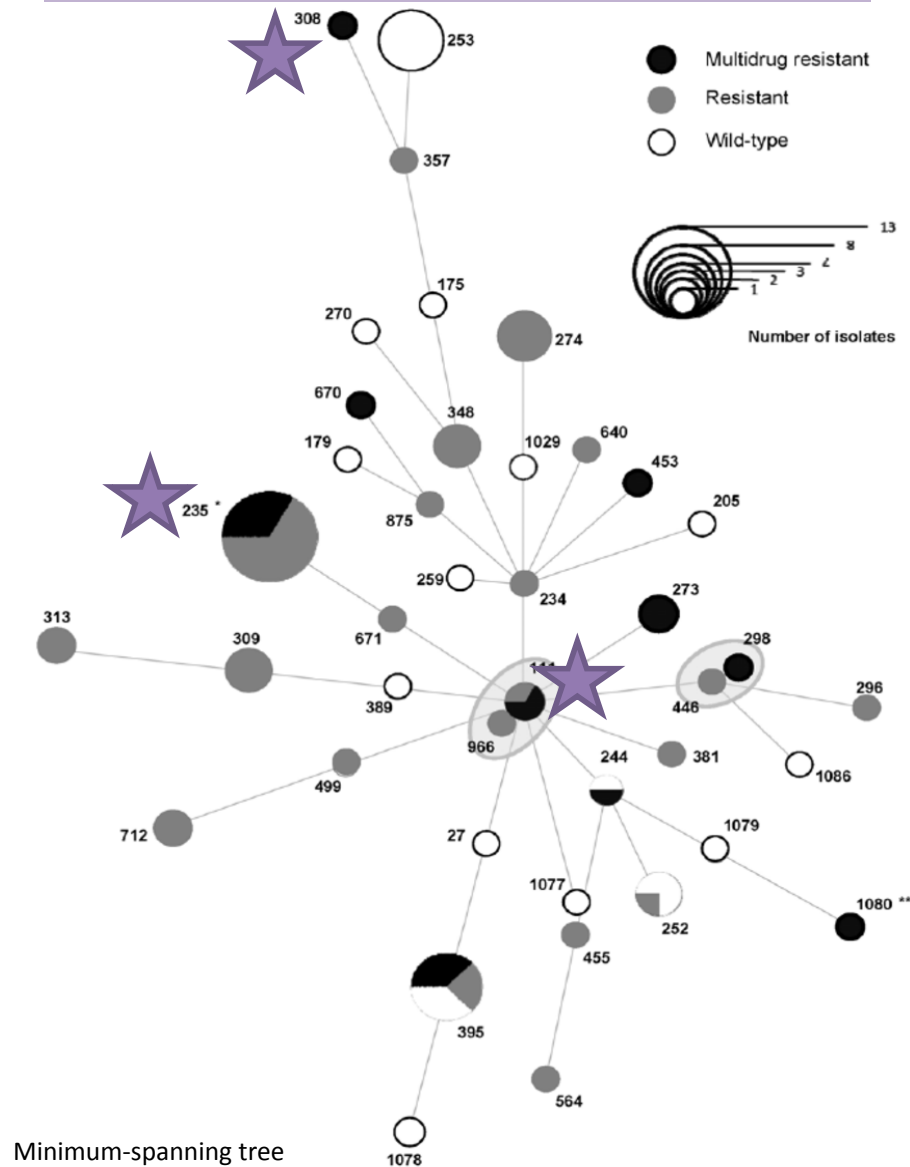
Minimum-spanning tree

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



### Méthodes basées sur le séquençage



### Multi Locus Sequence Typing (MLST)

amplification PCR 7 gènes de ménages



séquençage



combinaison des 7 allèles = identification ST



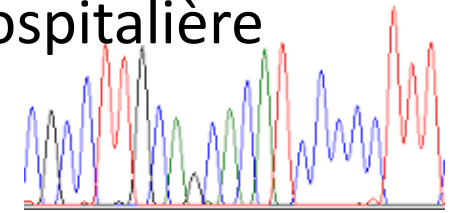
Epidémiologie locale et mondiale

### L'exemple de *P. aeruginosa*

- ST 235, 311, 308...**
- clones à au risque épidémique
- XDR
- situation épidémique
- (ex: ST308 au CHU de Montpellier)

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



Méthodes basées sur le séquençage

### Séquençage génome entier (WGS)

Selon la plasticité génomique de l'espèce étudiée



nombre de Sites Nucléotidiques Polymorphes (SNP)  
corrélé avec la divergence entre les souches



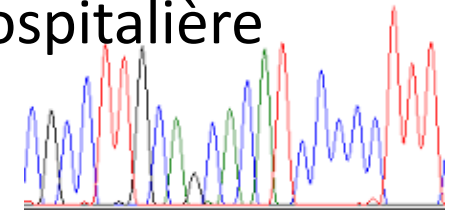
définition d'un « core-genome » du clone  
épidémique



arbre phylogénétique des souches d'une épidémie  
et seuil de SNP pour définir le clone épidémique

# Investigation d'IAS = Analyses moléculaires en hygiène hospitalière

## Investigation d'une épidémie



Méthodes basées sur le séquençage

### Séquençage génome entier (WGS)

Selon la plasticité génomique de l'espèce étudiée



nombre de Sites Nucléotidiques Polymorphes (SNP) corrélé avec la divergence entre les souches



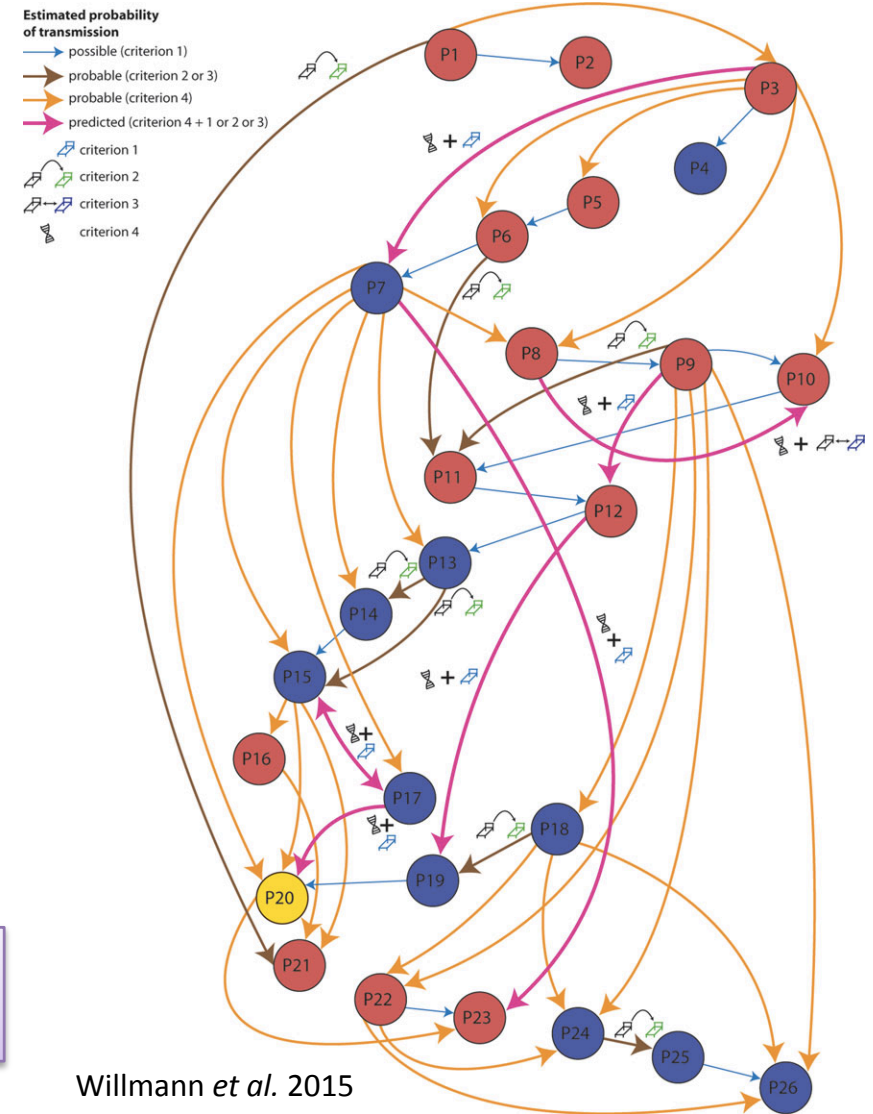
définition d'un « core-genome » du clone épidémique



arbre phylogénétique des souches d'une épidémie et seuil de SNP pour définir le clone épidémique

**Meilleur pouvoir discriminant**  
⇒ voies de transmission entre 2 services

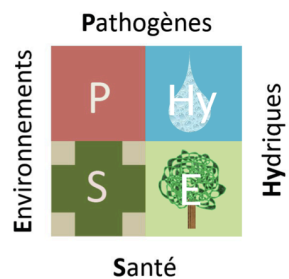
### WGS et épidémie de *P. aeruginosa* ST308



Willmann *et al.* 2015

## Exemples

*Implication de l'eau dans la survenue d'infections associées aux soins*



Le 6 février 2018





# Investigation autour de cas d'infections urinaires à *Pseudomonas aeruginosa* après cystoscopie



Sorbets Elodie<sup>1</sup>, Evrelin Marine<sup>1</sup>, Chalze Pascale<sup>1</sup>, Romano-Bertrand Sara<sup>1,2</sup>, Jumas-Bilak Estelle<sup>1,2</sup>, Parer Sylvie<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Département d'Hygiène Hospitalière, Hôpital Saint-Eloi, CHU Montpellier, Montpellier, France

<sup>2</sup> Equipe PHYSE, UMR Hydrosciences, Université Montpellier



## 1 Introduction

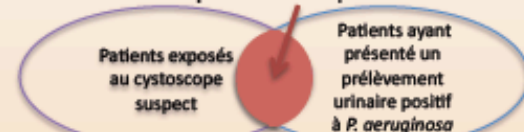
Les infections urinaires occupent la 1<sup>ère</sup> place des infections nosocomiales, principalement causée par *Escherichia coli* dans 65-75% des cas. *Pseudomonas aeruginosa* est plus rarement retrouvée, uniquement responsable de 1-2% des cas (1). Dans ce cas, une origine exogène doit être suspectée. Parmi les gestes à risque, l'exploration des voies urinaires par cystoscopie peut être à l'origine d'infections urinaires exogènes (2).

Nous rapportons ici l'investigation conduite autour de 3 infections urinaires à *P. aeruginosa* d'allure sporadique, survenues en 6 mois au décours de cystoscopies ambulatoires réalisées avec le même cystoscope.

L'objectif de l'investigation était de recenser l'ensemble des cas d'infection chez les patients exposés à une cystoscopie et d'identifier l'origine de ces infections.

## 2 Méthode d'investigation

### 1. Recherche rétrospective des CAS par croisement de listes



+ typage moléculaire par multiplex rep-PCR (3) des souches de *P. aeruginosa* des patients cas

### 2. Signalement des complications infectieuses des patients revus en consultation

- Les chirurgiens interrogeaient leurs patients sur la survenue d'une éventuelle complication traitée en ville au décours de l'acte endoscopique
- Transmission de l'information à l'équipe d'hygiène hospitalière.

### 3. Investigation environnementale

- séquestration et prélèvement du cystoscope suspecté comme à l'origine des cas
- contrôles microbiologiques de l'eau des points d'eau de soins des salles de cystoscopie

### 4. Estimation du risque d'infection lié à l'exposition au cystoscope suspect

% échantillons positifs à *P. aeruginosa* Patients exposés au cystoscope suspect VS Patients exposés à un des 3 autres cystoscopes

## 3 Résultats

### Bilan des cas et confirmation du lien avec le cystoscope suspect

N° du cystoscope	Nb patients exposés	Période	Nombre de cas d'infections urinaires à <i>P. aeruginosa</i> (sur 101 échantillons prélevés entre le 07/07/15 et le 20/06/16)
1: cystoscope suspect positif à <i>P. aeruginosa</i> le 01/06/2016	104	09/07/15* - 31/05/16**	11 *** (10.6%) entre le 16/08/15 et le 25/05/16
2	81	05/08/15 - 30/05/16	0
3	92	21/08/15 - 30/05/16	0
4	114	28/07/15 - 23/06/16	0

\* dernier prélèvement négatif du cystoscope

\*\* séquestre et prélèvement microbiologique du cystoscope

\*\*\* 3 patients déclenchant l'investigation + 4 cas identifiés rétrospectivement + 4 cas signalés par les urologues

Tous les patients infectés ont été exposés au même cystoscope.

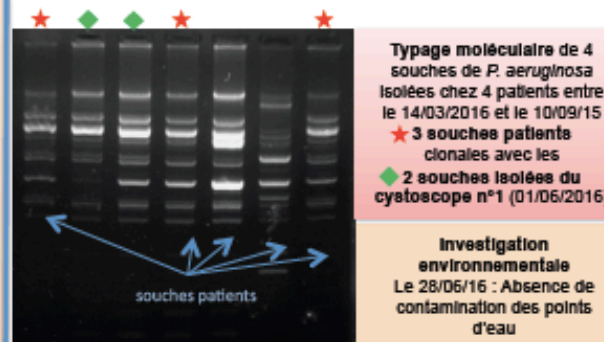


Figure 1 : Profils de typage multiplex rep-PCR des souches cliniques et environnementales

Typage moléculaire de 4 souches de *P. aeruginosa* isolées chez 4 patients entre le 14/03/2016 et le 10/09/15  
 ★ 3 souches patientes cliniques avec les  
 ◆ 2 souches isolées du cystoscope n°1 (01/06/2016)

Investigation environnementale  
 Le 28/06/16 : Absence de contamination des points d'eau

## 4 Discussion/Conclusion

Peu d'infections à *P. aeruginosa* au décours d'une cystoscopie sont publiées dans la littérature. Leur survenue justifie une investigation approfondie. La contamination d'un dispositif médical peut persister plusieurs mois (4), comme c'est le cas du cystoscope impliqué ici dans une épidémie de 8 mois. Plus de 10% des patients exposés au matériel contaminé ont présenté une infection urinaire à *P. aeruginosa*. La séquestration du cystoscope a suffi à enrayer l'épidémie et aucune autre origine environnementale n'a été identifiée, confirmant son implication.

Pour une détection plus rapide des phénomènes épidémiques, soulignons l'intérêt d'un dispositif de signalement par les patients des complications survenant au décours des actes ambulatoires.

## Niches environnementales et circuit de transmission des bactéries hydriques dans un service hospitalier à réseau d'eau protégé



Sophie Baranovsky<sup>1,2</sup>, Yosr Hicheri<sup>1</sup>, Lara Mercier<sup>3</sup>, Marianne Morvan<sup>1</sup>, Anne Lotthe<sup>1</sup>, Sara Romano-Bertrand<sup>1,2</sup>, Estelle Jumas-Bilak<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Département d'Hygiène Hospitalière, CHRU Montpellier, 80 avenue Augustin Fliche 34293 Montpellier Cedex 5



<sup>2</sup>UMR 5569 Equipex « Pathogènes Hydriques Santé Environnements », HydroSciences, Montpellier, Unité de Bactériologie, UFR Pharmacie, 15 avenue Charles Flahault BP 14491 34093 Montpellier Cedex 5

<sup>3</sup>Département clinique d'Hématologie Intensive Hospitalisation à Temps Complet CHRU Montpellier, 80 avenue Augustin Fliche 34293 Montpellier Cedex 5



Au CHRU de Montpellier, une souche hydrique de *P. aeruginosa* ST308 a entraîné une série de 6 épidémies associées aux soins de 2005 à 2010. La pose de filtres antimicrobiens terminaux a permis l'arrêt de ces épidémies mais quelques cas sporadiques causés par des souches du réseau d'eau persistent notamment dans le service d'hématologie, ce qui suggère un défaut de filtration ou une circulation secondaire (hors réseau d'eau) de bactéries hydriques.

### Objectifs

- Evaluer l'efficacité de la filtration antimicrobienne terminale
- Définir les circuits secondaires de circulation et de transmission de bactéries hydriques dans un service à réseau d'eau protégé

### Matériel et méthodes

- Audit de la circulation de l'eau lié à l'activité de soins
- Prélèvements d'eau au point d'usage
  - 73 points d'eau dont 52 filtrés
  - 2 campagnes de prélèvements en janvier et mai 2015
  - Microfiltration réalisée grâce à une membrane de nitrate de cellulose d'une porosité de 0,45 µm (Sartorius®)
  - Culture sur milieu cétrimide (Difco®), 72H à 30 °C.
- Prélèvement en double écouvillonnage des surfaces humides et sèches au sein des circuits défini par l'audit
  - Le premier écouvillon est directement ensemencé sur un milieu cétrimide alors que le second subit un enrichissement en bouillon Typticase soja (Difco®) pendant 12H à 37°C. Après enrichissement, le bouillon est ré-ensemencé sur trois milieux gélosés: Mac-Conkey (Difco®), Cétrimide (Difco®), et TSA (Difco®), 72H à 37°C.
  - Identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Bruker®)
  - Typage par multiplex-rep-PCR et par Electrophorèse en Champ Pulsé

### Résultats

#### Audit de circulation de l'eau dans le service

6 circuits ont été défini selon l'activité ou le lieu :

- Entretien des locaux
- Toilette des patients
- Salle de détente du personnel
- Office alimentaire
- Salle de bain du patient

#### Prélèvements du réseau d'eau

- 6 points d'eau en janvier et 7 en mai étaient contaminés par *P. aeruginosa*
- 6 points d'eau en janvier et 5 en mai étaient contaminés par *S. maltophilia*
- 0 bactérie a été isolée dans les prélèvements après filtre

#### Prélèvements de surface au sein des circuits

- 315 prélèvements
- 11 isolats de *P. aeruginosa* ont été isolés dans 2 circuits
- 3 espèces hydriques du genre *Pseudomonas* sont retenues comme « indicatrices » de la circulation de pathogènes hydriques:
  - *P. montelli*
  - *P. luteola*
  - *P. oryzae*

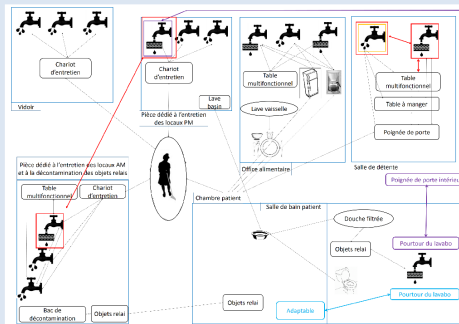


Figure 1 : Diffusion des bactéries hydriques au sein des circuits de la circulation de l'eau

Les quadrilatères représentent les pièces, les quadrilatères arrondis représentent les surfaces. Les flèches noires représentent la circulation de l'eau dans le service. En rouge, la diffusion d'une souche de *P. aeruginosa* au sein du circuit de la « salle de détente du personnel » et de « l'entretien des locaux »

En orange, la diffusion d'une souche de *P. montelli* au sein du circuit de la « salle de détente du personnel »

En violet, la diffusion d'une souche de *P. luteola* au sein du circuit de « l'entretien des locaux »

En bleu, la diffusion d'une souche de *P. oryzae* au sein du circuit de la « salle de bain du patient »

→ Dans le circuit de la « salle de détente du personnel », un même clone de *P. aeruginosa* a diffusé jusqu'à la table de préparation des repas située à une distance de 4m du point d'eau.

→ Un autre clone de *P. aeruginosa* a diffusé dans 2 pièces dédiées à l'entretien et éloignées d'environ 30m

→ *Pseudomonas oryzae* a diffusé de la salle de bain d'un patient jusqu'à la table de lit.

→ *Pseudomonas luteola* a diffusé sur différents sites éloignés de plusieurs centaines de mètres jusque dans la salle de bain d'un patient.

**Les bactéries hydriques contaminent les surfaces humides et sèches à partir d'un point d'eau mais la diffusion reste faible.**

### Discussion

- L'efficacité de la filtration antimicrobienne a pu être démontrée d'une part par l'absence de bactéries dans les prélèvements après filtre et d'autre part par la faible contamination de l'environnement par des bactéries hydriques pathogènes (11/315 prélèvements).
- Notre étude a pu démontrer qu'il n'est pas nécessaire de filtrer la totalité des points d'eau d'un service à risque mais uniquement les points d'eau proches des patients et les points d'eau considérés à risque, après audit des pratiques.
- La faible contamination par *P. aeruginosa* ou autre Opportunistic Premise Plumbing Pathogens (OPPPs) nous a contraint à utiliser des bactéries hydriques indicatrices de la circulation de l'eau. Cette approche est novatrice et peut être réutilisée aisément grâce à l'utilisation en routine du MALDI-TOF pour la surveillance de l'environnement.

### Conclusion

Notre étude a pu démontrer une faible diffusion de bactéries hydriques dans l'environnement d'un service à réseau d'eau partiellement protégé par des filtres antimicrobiens.

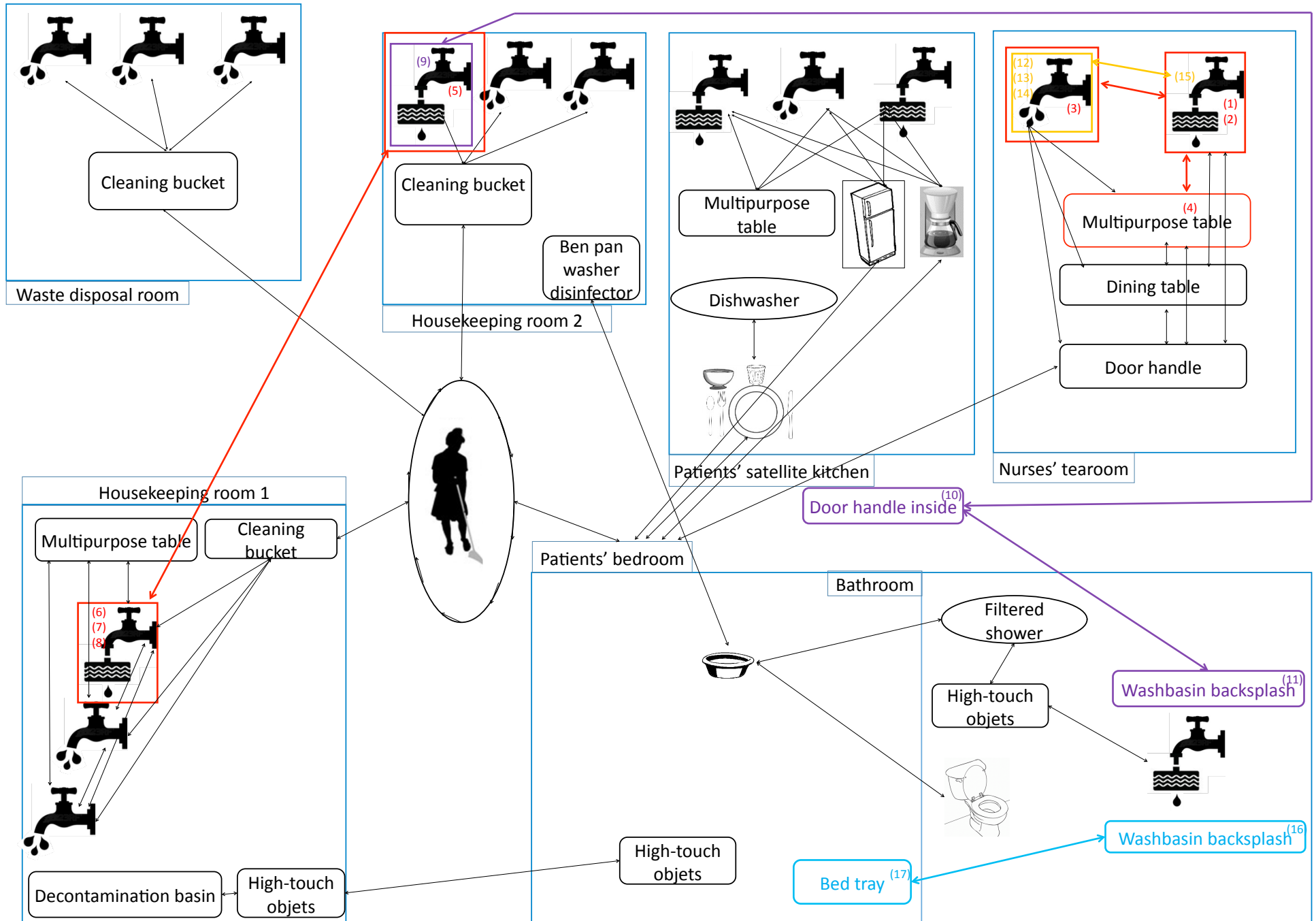
## Questions

- Donner la définition d'une eau bactériologiquement maîtrisée

- Donner la définition d'une infection associée aux soins

- Donner 2 raisons de poser des filtres anti-bactériens sur un point d'eau

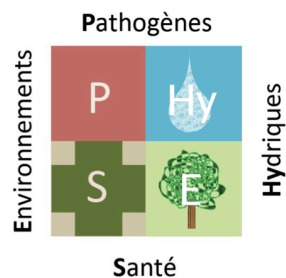
- Expliquer en quelques lignes l'intérêt du travail présenté dans ce poster



Maîtrise de la qualité microbiologique des eaux en  
système de soins  
*Implication dans la survenue d'infections associées aux soins*

**Dr Sara Romano-Bertrand**

Equipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements  
UMR Hydrosiences, Université Montpellier  
sara.romano-bertrand@umontpellier.fr  
Laboratoire d'Ecologie Microbienne Hospitalière  
CHU Montpellier  
s-romano@chu-montpellier.fr



Le 6 février 2018

