

Rôle du laboratoire de Microbiologie environnementale dans le contrôle de l'environnement en routine en établissement de santé

Dr Frédérique Gouriet

MCU-PH

Système de surveillance des infections nosocomiales à partir du service de microbiologie .

Service de
BACTERIOLOGIE

Services
CLINIQUES

Relevé Informatisé Hebdomadaire

Analyse + Informations complémentaires

Service de
Microbiologie
environnementale

Synthèse mensuelle

C.L.I.N. CORRESPONDANT
HYGIENISTE

Situation épidémique: Microbiologie environnementale

- Contrôles microbiologiques d'environnement en établissements de santé réalisés en routine peuvent participer à la prévention des infections associées aux soins à condition
- réponse aux exigences de la certification des établissements de santé

Stratégie des contrôles de l'environnement en routine en établissement de santé

Prérequis:

- une **connaissance de l'établissement**

- systèmes de traitement d'air, réseaux d'eau sanitaire, zones et activités à risque...

- modes d'exposition des patients (aérosolisation, contacts cutanéomuqueux, manuportage...)

- facteurs de risques individuels des patients (immunodéprimés, brûlés...)

Stratégie des contrôles de l'environnement en routine en établissement de santé

Prérequis:

- **Analyse de risques**

- sources de dangers (contraintes architecturales, pertinence des matériaux, défauts de conception, de réalisation, de maintenance, réalisation de travaux, comportement des utilisateurs, dysfonctionnements possibles des installations techniques...)

- la nature des dangers (réservoirs potentiels de micro-organismes en lien avec les sources de danger)

Stratégie des contrôles de l'environnement en routine en établissement de santé

Prérequis:

- **Echantillonnage identification des points critiques identifiés**
 - prélèvement, avec des niveaux de maîtrise (cible, alerte et action) définis et permettant l'interprétation des résultats,
 - Méthodologie rigoureuse et standardisée
 - Conduite à tenir en cas de non-conformité

Hygiène environnementale et infection nosocomiale

- **Contrôle microbiologique de l'environnement des soins**
pour garantir un environnement le plus sain possible pour les patients et ainsi éviter autant que possible les infections associées au soin.
- **Prélèvements d'environnement et des analyses d'eau, d'air et de surfaces dans des structures sensibles au risque infectieux**
(blocs opératoires, endoscopie, centre de dialyse, chambres stériles en Hématologie, préparations parentérales en Pharmacie et en Radiopharmacie)

Rôle du laboratoire de microbiologie environnementale

- **Collaboration avec le clin** (planification des contrôles microbiologiques à réaliser sur le CHU, alerte en cas de non-conformité et organisation des contrôles après action corrective).
- **Contrôle de stérilité** (poches de sang, cornées, préparations pharmaceutiques, parentérales, endoscopes...), **contrôle d'air et de surface** au bloc opératoire, dans les chambres stériles, au lactarium, à la pharmacie centrale, aux laboratoires, **Contrôles microbiologiques** au CH de Landerneau (endoscopes, air et surface aux blocs opératoires et eaux du réseau).
- Identification microbiologique (Spectrométrie de masse du laboratoire de Bactériologie) et **réalisation d'antibiogramme** (en lien avec le laboratoire de Bactériologie).
- **Prélèvement et dénombrement des légionnelles dans les eaux chaudes sanitaires**

Etablissements de santé et le risque microbiologique lié à l'environnement

Les contrôles microbiologiques d'environnement

- 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...).

Accréditation des laboratoires d'analyses environnementales

À ce jour, pour les contrôles environnementaux, **l'accréditation est obligatoire seulement pour le contrôle sanitaire de l'eau destinée à la consommation humaine et pour la recherche de légionelles dans l'eau chaude sanitaire (ECS)**

Pour le contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles et des eaux de piscines et de baignades (baignades aménagées et autres baignades)

- **l'accréditation** est le préalable à **l'agrément** suivant l'arrêté du 24 janvier 2005 relatif aux conditions d'agrément des laboratoires pour la réalisation des prélèvements et des analyses du contrôle sanitaire des eaux qui fixe les conditions administratives et techniques dans lesquelles les laboratoires peuvent obtenir un agrément pour la réalisation des prélèvements ou des analyses des paramètres du contrôle sanitaire
- (<http://www.sante.gouv.fr/laboratoires-agrees-pour-le-controle-sanitaire-des-eaux.html>) et qui précise que « *L'agrément est subordonné à une accréditation préalable selon la norme ISO/CEI 17025 ...* ».

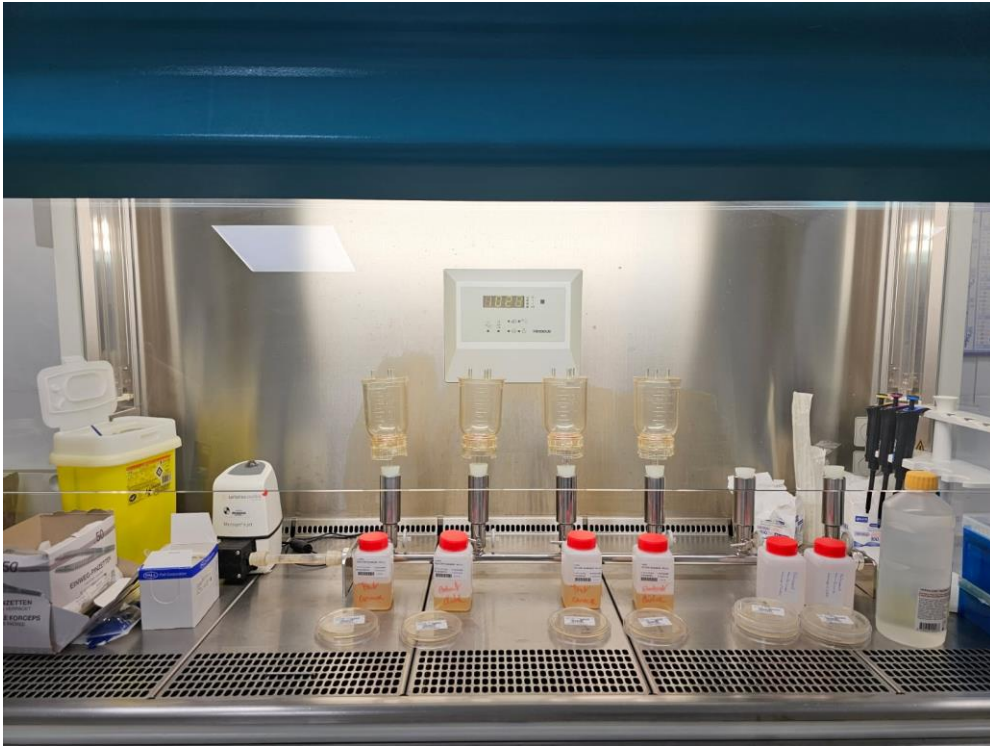
Accréditation des laboratoires d'analyses environnementales

Pour la recherche de legionelles,

-arrêté du 1er février 2010 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations de production, de stockage et de distribution d'eau chaude sanitaire stipule que « *le responsable des installations fait réaliser les prélèvements d'eau et analyses de légionelles par un laboratoire accrédité pour le paramètre légionelles par le Comité français d'accréditation ou tout autre organisme d'accréditation équivalent européen signataire de l'accord multilatéral pris dans le cadre de la coordination européenne des organismes d'accréditation* ».

-La technique est imposée et doit suivre la norme d'application obligatoire(actuellement NF T90-431 (2014)).

Laboratoire de microbiologie environnementale



Rampe de filtration

PSM



Etuves 30°C, 37°C

Analyses réalisées au laboratoire de microbiologie environnementale

Type de prélèvement
AIR
AIR ESET
surface
Surface ESET
EAU-Dialyse
Eau de réseau
Eau stérile
Legionnelle
Potabilité
Rch spécifique
Eau de sangsues -Rch Aeromonas
Sté rampe
Médicaments et Préparations Hospitalières

Endoscope

Prélèvements

Contrôles programmés :

Trimestriels après stockage afin que chaque endoscope soit contrôlé 1 fois par an.

->Prélèvement à distance de la désinfection (au minimum 6 heures après la dernière désinfection).

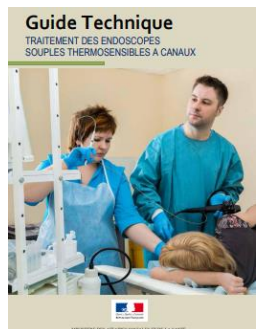
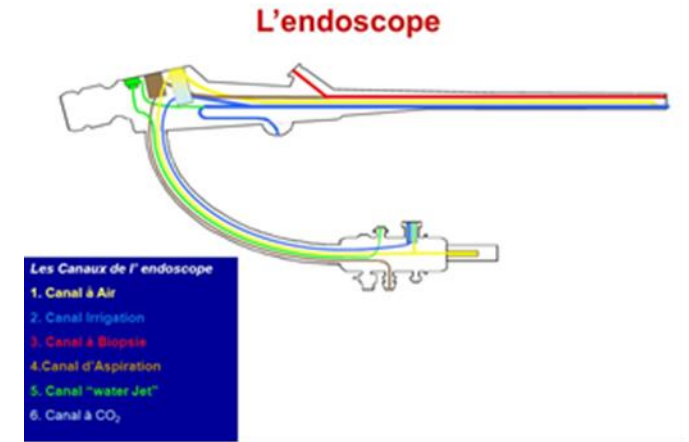
Contrôles ponctuels : Dans ces cas, attendre le résultat avant de réutiliser l'endoscope (après résultat en alarme : contrôle canal par canal, acquisition ou prêt de nouveau dispositif , retour de maintenance si non traité avant envoi, changement de procédure , alerte de matériovigilance, cas groupés d'infections ou levée de séquestration.

-> Prélèvement immédiatement après un cycle de désinfection

Liquide de prélèvement :

Désinfection à l'acide per acétique : **Tampon DNP Thiosulfate** (flacons de 100 ml).

A demander à l'avance au Laboratoire. En l'absence de tampon disponible, utiliser une solution stérile de chlorure de sodium à 0,9 % (risque de sous estimation de la contamination).



Endoscope

En pratique, il est recommandé :

- d'évaluer le niveau de contamination en dénombrant la flore mésophile totale aérobie revivable (aspect quantitatif du contrôle) ;
- de vérifier l'absence de micro-organismes indicateurs d'un dysfonctionnement en identifiant les colonies apparues (aspect qualitatif du contrôle)

les agents concernés sont les **entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et autres *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter sp*, *Staphylococcus aureus* et *Candida sp*.**

L'identification de ces microorganismes peut aider à préciser l'origine du dysfonctionnement

Endoscope

Tableau II : Aide à l'interprétation des résultats pour la surveillance microbiologique des endoscopes (les valeurs sont données à titre indicatif).

NIVEAU DE DESINFECTION	NIVEAU CIBLE	NIVEAU D'ALERTE	NIVEAU D'ACTION
Désinfection de haut niveau et rinçage à l'eau stérile	Flore totale <1 UFC	-	Flore totale ≥ 1 UFC OU présence de micro-organismes indicateurs *
Désinfection de niveau intermédiaire et rinçage à l'eau bactériologiquement maîtrisée **	Flore totale <5 UFC ET absence de micro-organisme indicateur *	Flore totale 5-25 UFC ET absence de micro-organisme indicateur *	Flore totale > 25 UFC OU présence de micro-organismes indicateurs *
Désinfection de niveau intermédiaire et rinçage à l'eau pour soins standard **	Flore totale <25 UFC ET absence de micro-organisme indicateur *	Flore totale 25-100 UFC ET absence de micro-organisme indicateur *	Flore totale > 100 UFC OU présence de micro-organismes indicateurs *

* Principaux micro-organismes indicateurs : *Staphylococcus aureus*, entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et autres *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter sp*, *Candida sp*.

** Il est recommandé pour l'interprétation des résultats d'avoir à disposition un résultat récent de contrôle microbiologique de l'eau de rinçage ou de réaliser un contrôle de cette eau en parallèle.

général

Adresse

patient : 002101125880

pat. auxiliaire :

séjour : 62160671

date d'entrée : 29/04/2024

date de sortie : 31/12/2024

nom : HYG

prénom : Duo Cent Trente

âge de jeune fille :

date de naissance : 01/01/2000

sexe : Masculin

date du décès :

raison de patient :

date de prél. : 04/09/2025 07:00:00

ass. : 2049

N° chambre :

Numéro Choro

le de prél.

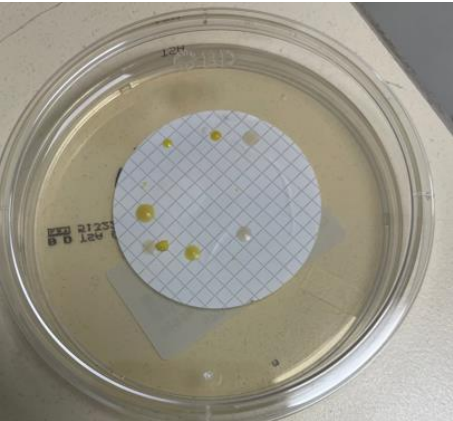
Nature

Origine

Q253145806

04/09/2025

Duodenos



Détails

Tests

Antibiogrammes

Extrémité distale X

Total de colonies : 1

Staph aureus : Absence

Nombre : 0

Entérobactéries : Absence

Nombre : 0

Ps. Aeruginosa : Absence

Nombre : 0

Pseudomonas sp. : Absence

Nombre : 0

Acinetobacter : Absence

Nombre : 0

St. maltophilia : Absence

Nombre : 0

Entérocoques : Absence

Nombre : 0

Candida sp. : Absence

Nombre : 0

Champ. Filamenteux : Absence

Nombre : 0

Canaux Y

Total de colonies : 300

Staph aureus : Présence

Nombre : 250

Entérobactéries : Absence

Nombre : 0

Ps. Aeruginosa : Absence

Nombre : 0

Pseudomonas sp. : Absence

Nombre : 0

Acinetobacter : Absence

Nombre : 0

St. maltophilia : Absence

Nombre : 0

Entérocoques : Absence

Nombre : 0

Candida sp. : Absence

Nombre : 0

Champ. Filamenteux : Absence

Nombre : 0

Total de colonies : 301

Identification

Gemme 1 : Staphylococcus aureus

Gemme 2 : Staphylococcus haemolyticus

Antibiogrammes

Gemme 1 : Staphylococcus aureus

Gemme 2 : Staphylococcus haemolyticus

Score Maspec : 2.38

Score Maspec : 2.12

Commentaires

Z > 25 UFC et/ou présence de micro-organisme indicateur. Niveau action.

Prélèvement de surface par empreinte gélosée ou écouvillonnage

Objectifs

Ils sont doubles :

- quantifier les micro-organismes de la flore aérobie revivifiable présents dans l'échantillon,
- isoler une éventuelle bactérie pathogène ou un *Aspergillus* ou une moisissure, l'identifier et le quantifier.

Prélèvements

Mensuels, Trimestriels ou semestriels

boîtes de gélose « contact »

Tableau 30 : Valeurs cibles en UFC/25 cm ² pour les prélèvements de surfaces par empreintes gélosées après bionettoyage				
Classe de risque ou classe de propreté particulière	Risque 4 ou ISO 5	Risque 3 ou ISO 7	Risque 2 ou ISO 8	Risque 1
Valeurs cibles hors présence humaine/25 cm ²				
FAR	≤ 1	≤ 5	≤ 25	*
<i>Aspergillus sp.</i>	< 1	< 1	< 1	
Micro-organismes indicateurs	< 1	< 1	< 1	

* à déterminer par ES en fonction de l'objectif.

Tableau 31 : Valeurs cibles en UFC/25 cm ² pour les prélèvements de surfaces des ZEM de la pharmacie, la thérapie cellulaire et la stérilisation « en activité » suivant les Bonnes Pratiques ^{(10)(11) (12) (13) (16)}				
Classe de risque des Bonnes Pratiques	Classe A	Classe B	Classe C	Classe D-
Valeurs cibles en activité/25 cm ²				
FAR	≤ 1	≤ 5	≤ 25	≤ 50
« moisissures »	< 1	< 1	< 1	< 1
Micro-organismes indicateurs	< 1	< 1	< 1	< 1



Contrôles microbiologiques de l'air pour la surveillance de l'environnement dans un établissement de santé.

Contrôles microbiologiques et aérauliques de l'air

Aérobiocontamination, comptage particulaire, analyse des ambiances, qualification de zone à atmosphère contrôlée :

- Bloc opératoire
- Unité de stérilisation
- Unité de reconstitution des cytostatiques
- Poste à sécurité microbiologique
- Salle blanche

Prélèvement d'air pour la surveillance de l'environnement dans un établissement de santé.

- Air par impactage : les classes en pharmacie correspondent aux classes ISO de la manière suivante :
 - Classe A → ISO 5
 - Classe B → ISO 7
 - Classe C → ISO 8
 - La classe D est spécifique à la pharmacie et n'a pas d'équivalent ISO.

Classe de risque	4	3	2	1*
Niveau de risque	Très haut	Haut	Modéré	Faible ou négligeable
Classe microbiologique **	M1	M10	M100	-*
Nombre maximum d'UFC/m ³	≤ 1	10	100	

* La zone 1 correspond à des locaux non spécifiques et n'a pas d'objectif de classe bactériologique.

** le « M » de classe « bactériologique » prend en compte les bactéries et les champignons.

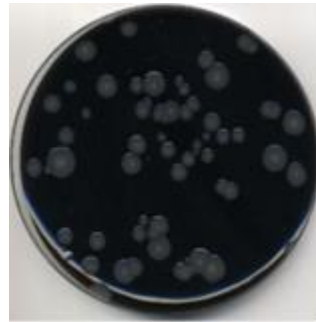
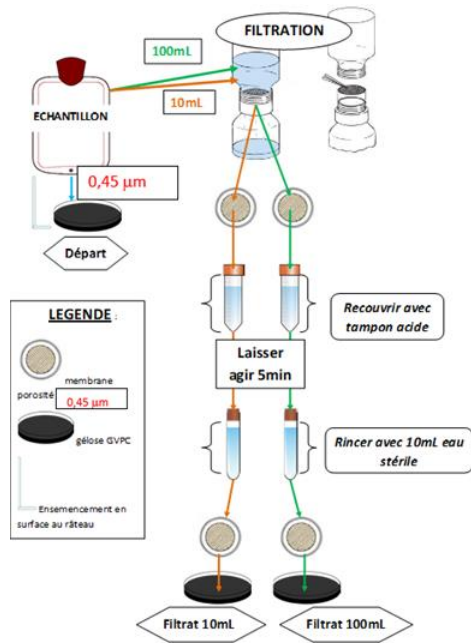
et surfaces (BPPH ⁽¹⁰⁾, BPP ⁽¹³⁾) :

Classe	Limites recommandées de contamination microbiologique (valeurs moyennes)			
	Echantillon d'air UFC/m ³	Sédimentation sur boîtes de Pétri (diamètre 90 mm) UFC /4heures (*)	Géloses de contact (diamètre 55 mm) UFC /plaque	Empreintes d'gant (5 doigts) UFC /gant
A	< 1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

* certaines boîtes peuvent être exposées pendant moins de 4 heures



Recherche et dénombrement de *Legionella* sp. et de *Legionella pneumophila*



Eaux propres :

Legionella sp. <10 UFC/L

Legionella pneumophila <10 UFC/L

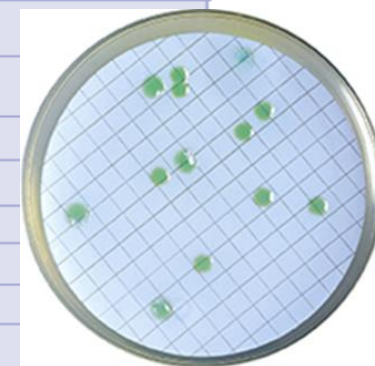
Legionella non détectées

Echantillon		Eau
Echantillon	Origine du prélèvement	1 retour de boucle LT3a
Media		
QEPIMEDIA	Pvt départ	
	Total Légionelle	0
	Legio pneumophila	0
	Légionella spp	0
	Pvt filtré 10ml	
	Total Légionelle	1000
	Legio pneumophila	1000
	Légionella spp	0
	Pvt filtré 100ml	
	Total Légionelle	500
	Legio pneumophila	500
	Légionella spp	0
	Total Légionelles	
	Total Légionelle	1000
	Legio pneumophila	1000
	Légionella spp	0
Identifications		
Germes 1	Legionella pneumophila	
Antibiogrammes		
Germes 1	Legionella pneumophila	
	Sérogroupe	2,14
	Score Maspec	2,28

Eau conforme au niveau cible de l'arrêté du 1er février 2010 relatif à la surveillance des légionelles dans les installations d'eau chaude sanitaire des ERP.

Typologie des différentes catégories d'eau

Catégories d'eau	Niveaux	Paramètres microbiologiques						
		Flora aérobie revivable à 22°C	Flora aérobie revivable à 36°C	Coliformes totaux	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Endotoxines
Q.1.1. a Eau d'entrée	Niveau cible	100 UFC/m	10 UFC/ml	< 1 UFC/100ml				
Q.1.1. b Eau aux points d'usage	Niveau cible	Pas de variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle		< 1 UFC/100ml	< 1 UFC/100ml			
Q.1.2. Eau pour soins standards	Niveau dble	≤ 100 UFC/ml	≤ 10 UFC/ml	< 1 UFC/100ml	< 1 UFC/100ml			
Q.2.1. Eau bactériologiquement maîtrisée	Niveau dble	≤ 1 UFC/100ml			< 1 UFC/100ml			
	Niveau d'action	≥ 10 UFC/100ml			≥ 1 UFC/100ml			
Q.2.2. Eau chaude	Niveau dble					< 10 ³ UFC/l		
	Niveau d'alerte					10 ³ UFC/l		
	Niveau d'action					10 ⁴ UFC/l		
Q.2.3. Eau des piscines de rééducation*	Niveau exigé		< 100 UFC/ml	≤ 1 UFC/100ml	≤ 1 UFC/100ml		≤ 1 UFC/100ml	
Q.2.4. Eau des bains à remous et des douches à jets*	Niveau exigé		< 100 UFC/ml	≤ 1 UFC/100ml	≤ 1 UFC/100ml	absence de <i>Legionella pneumophila</i> **	≤ 1 UFC/100ml	
Q.2.5. Eaux pour hémodialyse Hémodialyse conventionnelle Hémofiltration et hémodiafiltration en ligne	Niveau exigé	< 100 UFC/ml						< 0,25 UI/ml
	Niveau exigé	< 100 UFC/l						< 0,25 UI/ml
Q.2.6. Eau purifiée	Niveau exigé	≤ 100 UFC/ml						< 0,25 UI/ml
Q.2.7. Eau hautement purifiée	Niveau exigé	≤ 10 UFC/100ml						
Q.2.8. Eau des fontaines à usage de boisson	Niveau cible	Pas de variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle		< 1 UFC/100ml	< 1 UFC/100ml			



Analyse d'une eau de sangsues ou du linge de sangsues

Analyse d'une eau de sangsues ou du linge de sangsues.


- Eau d'aquarium des sangsues
- Eaux de transport
- Linge de transport

Prescrit par 5705 (BLOC CHIR.MAIN-MEMBRES-2TA)
Joignable au 29393
Actuellement hospitalisé(e) en HOSPIT.CHIR.MAIN-MEMBRES TA 5700
● B_OSTEO

Le journal téléphone du dossier est vide

Date		Comment.	Isolements						
bu	Date	Comment.	PI	Organisme	Eval.	Rp	Cf	Ab	Comm. In
K_5J_CO2	19/09 16:53	?	1 A	Enterobacter hormaechei	-	X	V	X	?
SOUCHE	22/09 06:27	SDEF_034 - A-8	2 A	Aeromonas hydrophila	-	X	V	X	?
SOUCHE	22/09 06:27	SDEF_034 - A-9	3 A	Staphylococcus aureus	-	X	V	X	?
SOUCHE	22/09 06:27	SDEF_034 - B-1							
C_5J_CO2	19/09 16:53	?							
SA 10J	19/09 16:53	?							

Général



Docteur :
Corres. : 2778

Prél. : 15/09/2025 15:30:00
N° chambre :

Numéro Chror	le de prél.	Nature	Origine
Q253146653	15/09/2025	Eaux de si	

Détails Tests Antibiogrammes

Echantillon

EchantillonEaux de sangsues

Media

☐ QEPIMEDIA
☐ MCK Sangsues
☐ Etiquettes ATB

Identifications

Gemme 1Aeromonas veronii

Antibiogrammes

Gemme 1Aeromonas veronii

☒ Score Maspec2.26
☒ Souchageoui
☒ Méthode souchageCryobilles

CEFEPIME (2)S (<=0,12 mg/L)
CIPROFLOXACINE (2)S (<=0,06 mg/L)
LEVOFLOXACINE (2)S (<=0,12 mg/L)
COTRIMOXAZOLE (2)S (<=20 mg/L)

Analyse microbiologique des eaux de dialyse

Echantillons	Code ENR	Contenant	Quantité à Filtrer	Fréquence	Seuil
eau osmosée d'hémodialyse conventionnelle / Eau alimentant les générateurs (Départ et Retour de boucle)	QHEDI	Flacon stérile de Thiosulfate de Sodium (20 mg/L) de 250ml pour travailler sur 100ml	100 ml	Tous les 15 jours Conception, 1 fois /trimestre Timone enfant	<10 UFC/100 ml
eau osmosée d'hémodiafiltration / Eau alimentant les générateurs (Départ et Retour de boucle)	QHEFI	Flacon stérile de Thiosulfate de Sodium (20 mg/L) de 1L	1 L		<100 UFC/ L
Dialysat	QEAUD	Poche	100 ml	Une fois par trimestre et par générateur	< 10 UFC/100 ml
Infusât/Liquide de Substitution	QEAUI		500 ml au minimum		0 UFC/500 ml



Apport du laboratoire dans les enquêtes environnementales

- Epidémie d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine dans 3 unités
- L'analyse a porté sur les souches d'ERG isolées chez les patients liés à l'épidémie et sur celles retrouvées dans l'environnement
- Année 2024-Janvier 2025

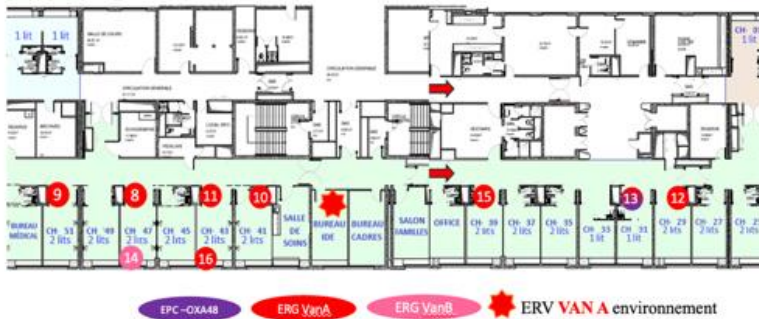
65 souches patient et 4 souches environnementales ont été analysées.

Enquête environnementale



Unité 1

1. U1 : écouvillon d'une bassine (chambre 83) était positif à ERG VanB ST152.
2. U2 : écouvillon d'un ordinateur du bureau infirmier était positif à ERG VanA ST1469.
3. U3 : écouvillon d'une bassine (chambre 11) était positif à ERG VanB ST152,
4. Ecouvillon d'un brassard de tension partagé entre les patients (positionné dans le couloir) était positif à ERG VanA ST1469.

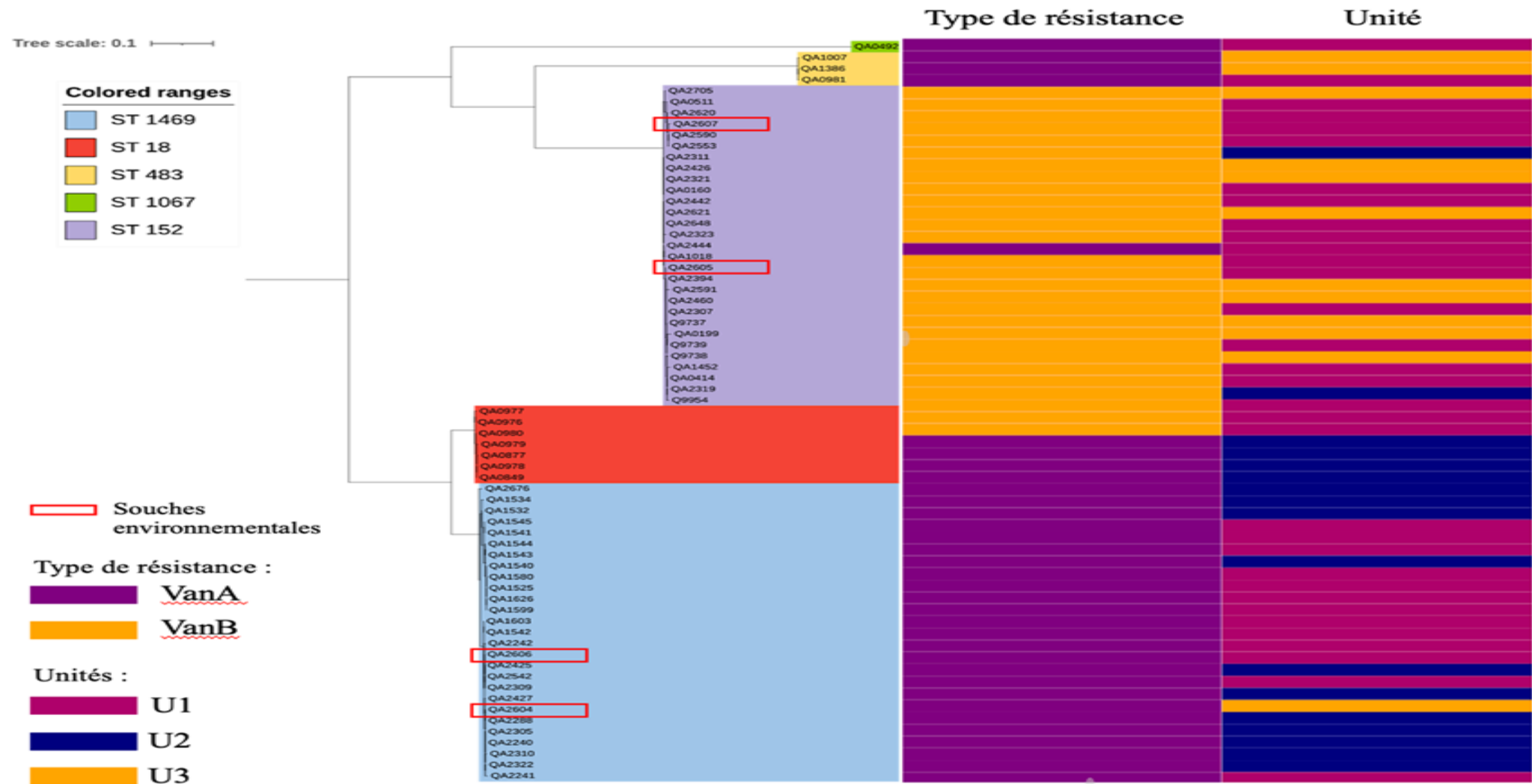


Unité 2



Unité 3

Enquête environnementale

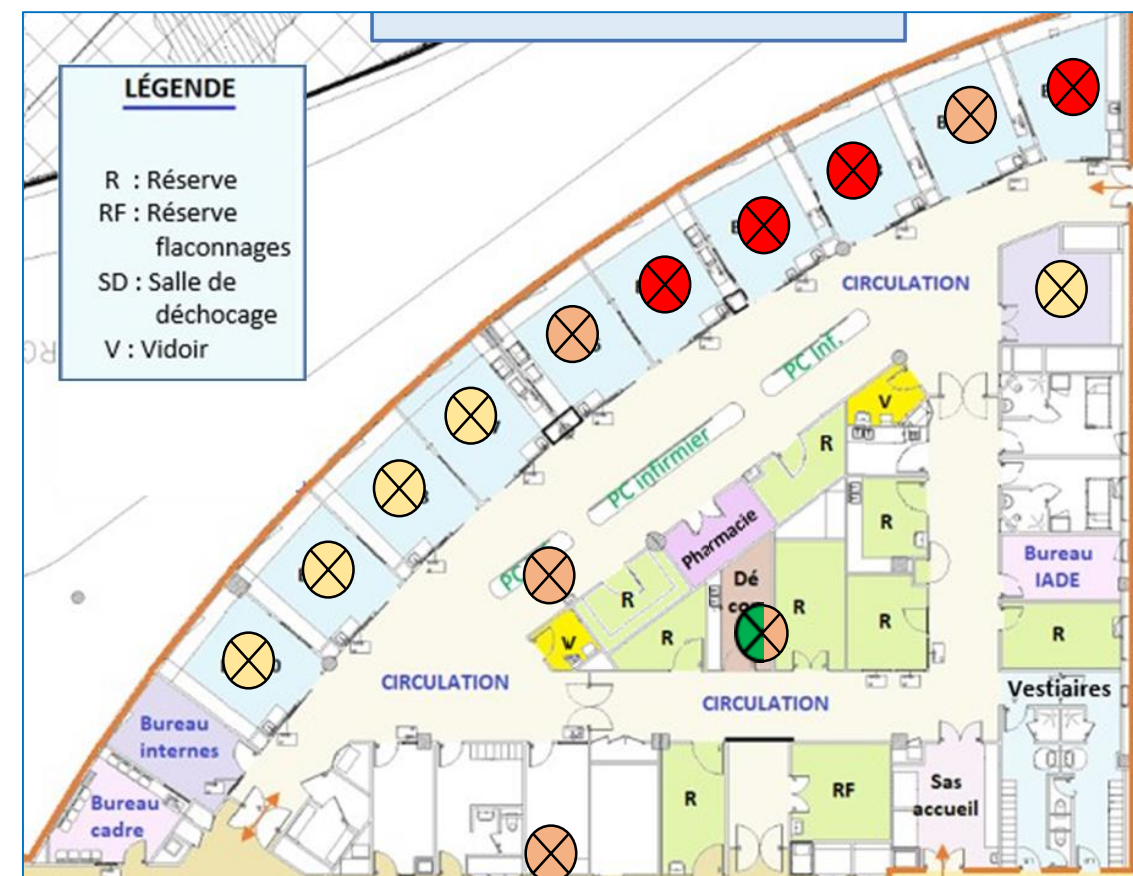


P. aeruginosa producteur de carbapénémase VIM

- Entre janvier et octobre 2024, **huit cas d'acquisition nosocomiale de *PVIM*** ont été identifiés en réanimation. Parmi ces cas, 7 patients sur 8 étaient **admis directement dans cette unité** sans passage préalable par un autre service.
- Une analyse génomique a pu être réalisée pour **six isolats sur huit** : tous étaient porteurs du gène *bla_{VIM-2}*.
- Parmi eux, **cinq appartenaient au ST532**, tandis qu'un échantillon appartenait au **ST155**.

Enquête environnementale

Localisation point prélèvement	Type de prélèvements	Germe	Type de résistance	ST
Box 1	Siphon	<i>P. aeruginosa</i>	VIM-2	532
Box 2	Siphon	<i>E. hormaechei</i>	NDM-5	269
Box 3	Siphon	<i>P.aeruginosa</i>	VIM-2	532
Box 4	Siphon	<i>P.Aeruginosa</i>	VIM-2	532
Box 5	Siphon	<i>K.pneumoniae</i>	KPC-3	13
Box 6	Siphon	<i>P. aeruginosa</i>	VIM-2	532
Box 7	Siphon	<i>Citrobacter farmeri</i>	VIM-1 VIM-4	1162
Box 8	Siphon	Absence de germe identifié	VIM	.
Box 9	Siphon	Absence de germe identifié	VIM	.
Box 10	Siphon	Absence de germe identifié	VIM	.
Déchocage	Siphon	Absence de germe identifié	VIM	.
Vidoirs	Siphon vidoir face entrée	Négatif	.	.
	Siphon vidoir face déchocage	Négatif	.	.
PC infirmier	Siphon	<i>Citrobacter portucalensis</i>	VIM-1 VIM-4	3337-252
Salle de décontamination	Siphon droit	Absence de germe identifié	VIM	.
	Siphon gauche	Négatif	.	.
Chambre de garde internes	Siphon	Négatif	.	.
Chambre de garde Séniors	Siphon	Négatif	.	.
Vestiaire Homme	Siphon	Négatif	.	.
Vestiaire Femme	Siphon	Négatif	.	.
Détente	Siphon	<i>Citrobacter farmeri</i>	VIM-1 VIM-4	1162
	Robinet (au mur)	Négatif	.	.
SAS d'entrée (côté box 1)	Siphon	Négatif	.	.
SAS (côté vestiaire)	Siphon	Négatif	.	.



Conclusion

- Travail d'équipe
- Laboratoire microbiologie
- Clin
- Services cliniques