



DIRECTION GENERALE DE LA SANTE
DIRECTION DE L'HOSPITALISATION ET DE L'ORGANISATION DES SOINS
COMITE TECHNIQUE NATIONAL DES INFECTIONS NOSOCOMIALES

Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé

Air, eaux et surfaces

Les membres du groupe de travail

Monsieur le Pr JD. CAVALLO (coordonnateur, Laboratoire de biologie HIA Bégin)

Monsieur le Dr G. ANTONIOTTI (Laboratoire microbiologie – hygiène Alpa / Nosoconseil)

Madame le Dr N. BAFFOY (Pharmacien CCLIN Paris-Nord)

Madame S. GUIGNEMENT-COUDRAIS (Technicien bio-hygiéniste CCLIN Sud-Est)

Monsieur le Dr J. HAJJAR (médecin hygiéniste CCLIN Sud-Est)

Monsieur C. HORN (Technicien en hygiène CCLIN Est)

Madame le Dr C. LE GOUHIR (Médecin inspecteur régional adjoint, DRASS des Pays de la Loire)

Madame le Dr A. LE GUYADER (Pharmacien, hygiéniste)

Monsieur le Pr B. LEJEUNE (Médecin, CCLIN Ouest)

Madame le Dr M. MOUNIER (Pharmacien biologiste CCLIN Sud-Ouest)

Mademoiselle le Dr V. SALOMON (Pharmacien, Ministère chargé de la santé, DHOS, bureau E2 Cellule infections nosocomiales)

Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé

Air, eaux et surfaces

Sommaire

I.	RISQUES INFECTIEUX LIÉS À L'ENVIRONNEMENT.....	6
I.1	L'ENVIRONNEMENT, RÉSERVOIR POTENTIEL D'ORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LES INFECTIONS NOSOCOMIALES	6
I.2	LES LIENS ENTRE LA CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT ET LA SURVENUE D'INFECTIONS NOSOCOMIALES	9
II	OBJECTIFS ET CHAMP D'APPLICATION DES CONTROLES D'ENVIRONNEMENT	16
II.1	OBJECTIFS DES CONTRÔLES D'ENVIRONNEMENT	16
II.2	CHAMP D'APPLICATION.....	17
III.	LIMITES AUX CONTROLES MICROBIOLOGIQUES D'ENVIRONNEMENT	18
IV.	RECOMMANDATIONS	20
IV.1	INDICATIONS ET STRATÉGIES DE LA SURVEILLANCE MICROBIOLOGIQUE ENVIRONNEMENTALE	20
IV.2	AIR	28
IV.3	EAUX.....	36
IV.3	SURFACES	64
V.	CONCLUSION.....	69
VI.	GLOSSAIRE.....	70

Préambule

La surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé est un sujet qui s'intègre dans l'actualité de la prévention des infections nosocomiales avec l'impact médiatique lié aux épidémies récentes d'infections impliquant des bactéries environnementales comme *Legionella pneumophila* ou *Mycobacterium xenopi*. Pourtant, en dehors de quelques situations bien documentées, la place réelle de l'environnement comme source d'infection nosocomiale est encore mal appréhendée et beaucoup de connaissances restent à acquérir dans ce domaine. Ces incertitudes imposent la mise en œuvre d'une maîtrise de l'environnement bien ciblée sur des actions ayant démontré leur pertinence et leur impact sur la diminution des infections nosocomiales. Les contrôles microbiologiques de l'environnement sont un des outils de mesure qui permettent d'évaluer une situation de départ et l'efficacité de mesures correctives. Ils doivent être mis en œuvre de façon pertinente et obéir à des objectifs très précis tout en évitant une inflation d'analyses inutiles, consommatrices de temps et de moyens financiers. Les recommandations qui suivent sont le fruit de l'expérience d'un groupe de travail du Comité Technique des Infections Nosocomiales (CTIN), enrichie d'une large consultation parmi les professionnels de santé impliqués dans le domaine de la maîtrise de l'environnement hospitalier. Ces recommandations ont pour objectif de donner un cadre d'action en matière de contrôles microbiologiques d'environnement dans les établissements de soins. Ce cadre sera certainement amené à évoluer avec la progression des connaissances en matière de facteurs environnementaux responsables d'infections nosocomiales.

Introduction

La part des infections nosocomiales liée à la contamination de l'environnement hospitalier encore mal documentée, à l'exception de celles liées à quelques micro-organismes d'origine environnementale comme *Legionella* spp, *Aspergillus* spp. ou les mycobactéries atypiques (1, 2, 3, 4). Les études épidémiologiques contrôlées montrant une association entre infection et exposition à un environnement contaminé sont encore rares (5). Le manque de données objectives concernant l'importance du rôle de l'environnement, le manque de corrélation entre les données des cultures de l'environnement et les infections nosocomiales, ainsi que le manque de standardisation et de fiabilité des critères d'interprétation des techniques microbiologiques appliquées à l'environnement, ont conduit les Centers for Disease Control (CDC) (6), l'American Public Health Association (APHA) (7) et l'American Hospital Association (AHA) (8) à adopter une attitude très restrictive sur les indications de la surveillance microbiologique de routine de l'environnement. Le Comité Technique National des Infections Nosocomiales (CTIN) aborde les contrôles d'environnement dans les « 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales » (recommandations 50, 51 et 65) (9) de même que la référence SPI 9 du référentiel d'accréditation de l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (10) et les guides de recommandations des différents CCLIN (11, 12, 13).

Le coût, en temps et en main d'œuvre, de la pratique de telles analyses est important : une enquête nationale réalisée en 2000 et portant sur les pratiques en matière de contrôles environnementaux dans 487 établissements de santé, montre que plus de 80 % des établissements consacrent moins de 50.000 FF (7600 euros) par an aux contrôles d'environnement alors que 17 % y consacrent entre 50.000 et 500.000 FF (76.000 euros) et 1 % plus de 500.000 FF (14). Les écarts sont le reflet de stratégies différentes des établissements hospitaliers en matière de politique de surveillance (15, 16). Deux grands cadres peuvent être distingués dans les contrôles d'environnement : ceux pour l'investigation d'une épidémie et qui doivent être étayés par des arguments épidémiologiques forts et ceux pour une surveillance systématique. La difficulté d'établir une relation de causalité entre le réservoir environnemental et la survenue d'infections nosocomiales explique que l'analyse

exhaustive en routine d'un environnement non maîtrisé n'a pas encore été évaluée sur le plan coût-efficacité. L'utilisation rationnelle des ressources dévolues à la lutte contre les infections nosocomiales nécessite de recentrer les activités sur les actions les plus utiles et les plus efficaces.

Dans ce contexte, le CTIN a décidé de créer un groupe de travail afin d'analyser les données disponibles et de proposer des recommandations pour les indications, la méthodologie des prélèvements et des analyses microbiologiques appliquées à l'environnement hospitalier.

Le terme d'environnement hospitalier regroupe habituellement l'air, l'eau, les surfaces, le linge, les aliments, les dispositifs médicaux et les déchets. Les présentes recommandations se limitent à l'air, à l'eau et aux surfaces. Il existe des réglementations et des recommandations spécifiques concernant les dispositifs médicaux, les aliments et les déchets à risque infectieux auxquelles il convient de se référer.

Références :

1. Stout JE, Yu VL. Legionellosis. N Engl J Med 1997 ; 337 : 682- 7.
2. Yu VL. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella* : a modest proposal. Infect Control Hosp Epidemiol 1998 ; 19 : 893-7.
3. Alberti C, Bouakline A, Ribaud P, Lacroix C, Rousselot P, Leblanc T, Derouin F, Aspergillus Study Group. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. J Hosp Infect 2001 ; 48 : 198-206.
4. Phillips MS, Fordham von Reyn C. Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria. Clin Infect Dis 2001 ; 33 : 1363-74.
5. Rhame F. The inanimate environment. In : Benett J, Brachman P. Hospital infections (4th ed). Lippincot-Raven, Philadelphia, 1998, 299-324.
6. Centers for Disease Control. Guideline for handwashing and hospital environment control. Infect Control Hosp Epidemiol 1985 ; 7 : 231-42.
7. American Public Health Association. Environmental microbiologic sampling in the hospital. Health Lab Sci 1975 ; 12 : 234.

8. American Hospital Association. Statement on microbiologic sampling in the hospital. Hospitals 1974 ; 48 : 125-6.
9. Comité technique National des Infections Nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Ministère de l'emploi et de la solidarité. Secrétariat d'état à la santé et à l'action sociale, 2^{ème} édition, 1999.
10. Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé. Manuel d'accréditation des établissements de santé, février 1999.
11. C.CLIN Ouest. Recommandations pour les contrôles d'environnement dans les établissements de santé, Rennes, octobre 1999.
12. C.CLIN Sud-Ouest. Contrôles microbiologiques en hygiène hospitalière, Bordeaux, 1999.
13. C.CLIN Sud-Est. Vigilance environnementale: contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. HygieneS 2000; VIII, n°3, 1-179.
14. Hajjar J, Cètre JC, Nicole MC, Baron R, Gayet S, Guignement S, Parneix P et les C-CLIN. Les pratiques en matière de contrôle environnementaux dans les établissements de santé. BEH 2000 ; n° 51 : 229-31.
15. Hartemann P, Blech MF, Simon L. Les contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. Rev Fr Lab 1997 ; 291 : 43-47.
16. Eveillard M, Belfayol L, Leroux P *et al.* Contribution d'un laboratoire d'hygiène hospitalière à la surveillance de l'écologie microbienne de l'environnement et à la lutte contre les infections nosocomiales. HygièneS 1996 ; 13 : 49-55.

I. RISQUES INFECTIEUX LIES A L'ENVIRONNEMENT

La contamination d'un site anatomique donné par des micro-organismes, la multiplication de ceux-ci, qui aboutit à la colonisation de ce site, sont les étapes préalables au déclenchement d'une infection. La survenue d'une infection est le plus souvent multifactorielle et dépend de l'inoculum infectieux, de la virulence du micro-organisme, de la rupture des barrières cutané-muqueuses à l'occasion de manœuvres invasives et de la réceptivité du patient (patient immunodéprimé, âgé, alité, etc.). Dans ce contexte, les questions qui se posent pour étudier les relations entre infections nosocomiales et environnement hospitalier sont les suivantes (1) :

- l'environnement constitue-t-il un réservoir pour les micro-organismes impliqués dans les infections nosocomiales ?
- ce réservoir est-il lié à la survenue d'infections nosocomiales épidémiques ou endémiques ?
- l'élimination ou la réduction de ce réservoir ont-elles un impact scientifiquement prouvé sur la diminution des infections nosocomiales ?

I.1 L'environnement, réservoir potentiel d'organismes impliqués dans les infections nosocomiales

L'environnement hospitalier est largement contaminé par des micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (2, 3). Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et, au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins et techniques pratiqués. Les microorganismes présents dans l'environnement hospitalier sont extrêmement variés (bactéries, levures, champignons filamenteux, virus et parasites) et peuvent appartenir aussi bien aux espèces opportunistes qui ne manifestent leur virulence que sur un organisme dont les défenses immunitaires sont affaiblies, qu'aux espèces habituellement pathogènes pour l'homme. La capacité de créer une infection découle d'une combinaison de facteurs associant le niveau d'expression des facteurs de virulence du micro-organisme, sa quantité ou sa concentration, le mode de contamination (aérienne, hydrique...) et la réceptivité de l'hôte.

I.1.1 Les bactéries

Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement des patients :

- des bactéries d'origine humaine (peau, muqueuses) parmi lesquelles des bactéries multirésistantes aux antibiotiques comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ou les *Enterococcus* résistants à la vancomycine (4).
- des bactéries d'origine environnementale 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 micro-organismes (4 - 7).

La survie et éventuellement la multiplication de ces bactéries conditionnent la nature, l'importance de la colonisation environnementale et la capacité de l'environnement à devenir un réservoir dans lequel le micro-organisme persiste et éventuellement une source à partir de laquelle le micro-organisme va pouvoir être transmis. Cette survie dans l'environnement, favorisée par la formation de biofilms au niveau des surfaces, varie selon les bactéries et la nature des surfaces contaminées (4). *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii* sont les espèces parmi les plus résistantes à la dessiccation et peuvent survivre plusieurs semaines sur des surfaces sèches, devant *Pseudomonas aeruginosa*, certaines entérobactéries comme *Serratia marcescens* et les entérocoques qui peuvent survivre plus d'une semaine (8 -13). *Escherichia coli*, entérobactérie la plus fréquente dans les infections nosocomiales est beaucoup moins résistante à la dessiccation (9,13). Des survies particulièrement longues, atteignant plus de 6 mois sont décrites, en particulier avec certaines souches épidémiques de *S. aureus* résistant à la méticilline (14). Dans des conditions d'humidité et en présence de matières organiques, la survie est encore plus longue (9). La capacité de sporuler propre à certaines bactéries comme *Clostridium difficile* leur assure une très longue persistance dans l'environnement.

I.1.2 Les champignons

Parmi les autres micro-organismes impliqués dans les infections nosocomiales, les levures et surtout les champignons filamenteux environnementaux (*Aspergillus* spp.) sont très bien adaptés à la survie et la multiplication dans l'environnement (15).

I.1.3 Les virus

Les virus peuvent également contaminer l'environnement, le plus souvent à partir du réservoir humain constitué par les patients et le personnel hospitalier. Leur importance est certainement sous-estimée car leur recherche est techniquement difficile à réaliser. Certains virus responsables d'infections nosocomiales en pédiatrie, comme le virus respiratoire syncytial ou les rotavirus, survivent de façon plus ou moins prolongée dans l'environnement. Ainsi, les rotavirus sont capables de survivre plusieurs jours sur les mains et un à 10 jours ou plus sur les surfaces sèches et non poreuses dans un environnement faiblement humide (< 50%), contre 6 heures pour le virus respiratoire syncytial (16,17)

I.1.4 Les parasites

Les formes infectantes de certains parasites sont éliminées en très grande quantité dans la nature à partir des hôtes parasités (18). C'est le cas notamment de *Cryptosporidium parvum*, des kystes d'amibes, de *Giardia intestinalis* ou d'autres parasites comme *Cyclospora* et les microsporidies. 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* spp. La viabilité de ces parasites dans le milieu extérieur est prolongée et les moyens de détection et de prévention restent limités.

I.2 Les liens entre la contamination de l'environnement et la survenue d'infections nosocomiales

La contamination de l'environnement par des micro-organismes fait poser la question de leur responsabilité dans la genèse des infections nosocomiales (19).

Lors d'infections nosocomiales survenant sur un mode épidémique, le micro-organisme responsable de l'épidémie peut être retrouvé dans l'environnement. Si ce dernier peut être une source de transmission à l'homme, la preuve formelle de sa responsabilité exclusive dans la genèse de l'infection reste difficile à apporter (2,5). En effet, les épidémies d'infections nosocomiales sont presque toujours associées à une transmission inter-humaine, ou à la contamination de dispositifs médicaux ou d'un liquide normalement stérile (20). La place de la transmission directe inter-humaine est reconnue comme prépondérante par rapport à la transmission liée à l'environnement (21-23).

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 post-opératoire en chirurgie orthopédique prothétique étaient liés au niveau de contamination de l'air du bloc opératoire (24). 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 post-opératoires (de 3,4 % à 1,6%), mais à un niveau moindre que l'utilisation d'une antibioprophylaxie (de 3,4% à 0,8%) ou que l'association d'une filtration et d'une antibioprophylaxie (de 3,4% à 0,7%) (25, 26). Ces résultats suggèrent indirectement la responsabilité, au moins partielle, d'une transmission aérienne à partir de particules mises en suspension, véhiculées par les turbulences d'air et déposées directement ou indirectement dans la plaie lors de l'intervention chirurgicale. Les agents le plus souvent mis en cause dans ces infections sont des bactéries d'origine cutanée ou muqueuse, comme les staphylocoques avec au tout premier plan l'espèce *Staphylococcus aureus* (24). Si l'aérobiocontamination a pu être impliquée comme source d'infections nosocomiales du site opératoire, il n'existe pas d'arguments pour mettre en cause l'environnement inerte du bloc opératoire comme les sols, les murs ou les autres surfaces (27).

Une classification des niveaux de preuve pour évaluer l'implication d'un réservoir environnemental comme source d'une infection a été proposée par Weber (2) complétant celle initialement proposée par Rhame (20). Les premières concernent la capacité de cet environnement à jouer le rôle d'un réservoir : le micro-organisme doit survivre ou pouvoir se multiplier dans l'environnement inerte et pouvoir être cultivé à partir de cet environnement. Des arguments indirects peuvent permettre dans un second temps d'impliquer ce réservoir environnemental comme source d'infections nosocomiales : absence d'identification d'autres sources de transmission, études cas-témoins démontrant une association entre l'exposition à la contamination environnementale et l'infection, réduction de la transmission par élimination ou réduction du réservoir environnemental (2).

Les techniques actuelles, dont la biologie moléculaire, ont permis d'incriminer des sources environnementales à l'origine d'infections nosocomiales (2, 28) :

- risque de transmission aérienne (*Aspergillus* ou autres champignons filamenteux) et d'infection chez des malades immunodéprimés à l'occasion de travaux extérieurs (15) ;
- risque de transmission aérienne à partir d'un réservoir aqueux par les humidificateurs, les nébuliseurs (*Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*) (2, 29), les réseaux d'eau chaude ou les systèmes de traitement d'air pour *Legionella pneumophila* (30, 31) ;
- transmission par contact de *Mycobacterium xenopi* (32), *Pseudomonas aeruginosa* (2) ou du virus de l'hépatite C à partir de dispositifs médicaux (33) ;
- transmission par contact de *Pseudomonas aeruginosa* ou d'autres bactéries résistantes (*Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*...) à partir d'antiseptiques contaminés (2, 28).

En dehors des cas impliquant des micro-organismes d'origine environnementale comme *Legionella* spp. ou *Aspergillus* spp., la présence d'un micro-organisme dans l'environnement du patient n'est pas, à elle seule, une condition suffisante pour l'impliquer comme source responsable de la survenue d'une infection. Il est en effet difficile de démontrer si cette contamination environnementale est la cause ou la conséquence de l'infection. Une relation de cause à effet peut toutefois être

documentée lorsque la suppression de la source est associée à la cessation de l'épidémie.

Malgré ces incertitudes, l'implication de l'environnement dans la transmission des infections nosocomiales doit être prise en compte. La maîtrise de l'environnement apparaît indispensable dans les établissements de santé, afin de protéger les patients, en particulier les plus fragiles, ainsi que le personnel. Cette maîtrise repose sur la mise en œuvre de démarches d'analyse des risques qui s'appuient sur la définition de niveaux de qualité requis adaptés à chaque type de situation. La stratégie de surveillance s'intègre dans cette démarche raisonnée. Elle doit spécifier les prélèvements microbiologiques de contrôle réellement utiles à réaliser, ainsi que les actions qui seront menées sur la base des résultats des analyses.

Références

1. Rutala WA, Weber DJ. Environmental interventions to control nosocomial infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995 ; 16 : 442-3.
2. Weber DJ, Rutala WA. Environmental issues and nosocomial infections. In : Wenzel RP. *Prevention and control of nosocomial infections* (3rd ed). Williams & Wilkins, Baltimore, 1997, 491-514.
3. Rutala WA, Weber DJ. Water as a reservoir of nosocomial pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ; 18: 609-16.
4. Talon D. The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. *J Hosp Infect* 1999 ; 43 : 13-17.
5. Boyce JM, Potter-Bynoe G, Chenevert C, King T. Environmental contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : possible infection control implications. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ; 18 : 622-9.
6. Rampling A, Wiseman S, Davis L, Hyett AP, Walbridge AN, Payne GC, Cornaby AJ. Evidence that hospital hygiene is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp infect* 2001; 49: 109-16.
7. Weber DJ, Rutala WA. Role of the environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997 ; 18 : 306-9.

8. Oie S, Kamiya A. Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on naturally contaminated dry mops. J Hosp Infect 1996; 34: 145-9.
9. Jawad A, Heritage J, Snelling AM, Gascoyne-Binzi DM, Hawkey PM. Influence of relative humidity and suspending menstrua on survival of *Acinetobacter* spp. on dry surfaces. J Clin Microbiol 1996; 34: 2881-7.
10. Wendt C, Dietze B, Dietz E, Rüden H. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. J Clin Microbiol 1997; 35: 1394-7.
11. Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J and Hawkey PM. Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic cases. J Clin Microbiol 1998; 36: 1938-41.
12. Noskin GA, Stosor V, Cooper I, Peterson LR. Recovery of vancomycin-resistant enterococci on fingertips and environmental surfaces. Infect Control Hosp Epidemiol 1995; 16: 577-81.
13. Wendt C, Wiesenthal B, Dietz E, Ruden H. Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces. J Clin Microbiol 1998; 36: 3734-6.
14. Wagenvoort JHT, Sluijsmans W and Penders RJR. Better environmental survival of outbreak vs sporadic MRSA isolates. J Hosp Infect 2000; 45: 231-4.
15. Conférence de consensus ANAES du 21 mars 2000. Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés.– HYGIENES – 2000 – Volume VIII n°6. consultable sur le site www.anaes.fr
16. Wilde J, Van R, Pickering L, Eiden J, Yolken R. Detection of rotaviruses in the day care environment by reverse transcriptase polymerase chain reaction. J Infect Dis 1992; 166 : 507-11.
17. Hall CB, Douglas RG Jr, Geiman JM. Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. J Infect Dis 1980; 141 : 98-102.
18. Gibson CJ, Hass CN, Rose JB. Risk assesment of waterborne protozoa : current status and future trends. Parasitology, 1998 ; 117 : S205-S212.
19. Veskey D, Streifel A. Environmental services. In : Mayhall C. Hospital epidemiology and infection control. William & Wilkins, Baltimore, 1996, 818-23.
20. Rhame F. The inanimate environment. In : Bennett J, Brachman P. Hospital infections (4th ed). Lippincott-Raven, Philadelphia, 1998, 299-324.

21. Maki DG, Alvarado CJ, Hassemer CA, Zilz MA. Relation of the inanimate hospital environment to endemic nosocomial infection. *N Engl J Med* 1982 ; 307 : 1562-6.
22. Mc Gowan JE Jr. Environmental factors in nosocomial infection - a selective focus. *Rev Infect Dis* 1981 ; 3 : 760-9.
23. Bauer TM, Ofner E, Just HM, Daschner FD. An epidemiological study assessing the relative importance of airborne and direct contact transmission of microorganisms in a medical intensive care unit. *J Hosp Infect* 1990 ; 15 : 301-9.
24. Lidwell OM, Lowburry EJ, Whyte W, Blowers R, Stanley SJ, Lowe D. Airborne contamination of wounds in joint replacement operations : the relationship to sepsis rates. *J Hosp Infect* 1983 ; 4 : 111-31.
25. Lidwell OM, Elson RA, Lowburry EJ, Whyte W, Blowers R, Stanley SJ, Lowe D. Ultraclean air and antibiotics for prevention of postoperative infection. A multicenter study of 8,052 joint replacement operations. *Acta Orthop Scand* 1987 ; 58 : 4-13.
26. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. The Hospital Infection Practice Advisory Committee. Guideline for prevention of surgical site infection 1999. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999 ; 20 : 247-80.
27. Ayliffe GAJ. Role of the environment of the operating suite in surgical wound infection. *Rev Infect Dis* 1991; 13 (suppl 10): S800-4.
28. Centers for Disease Control and prevention - Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Draft guideline for environmental infection control in healthcare facilities. www.cdc.org.
29. Anaissie EJ, Penzak SR, Dignani mC. The hospital water supply as a source of nosocomial infections: a plea for action. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1483-92.
30. Yu V. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella* : A modest proposal. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19: 893-7.
31. Garbe PL, Davis BJ, Weisfeld JS, Markowitz L, Miner P, Garrity F, Barbaree JM, Reingold AL. Nosocomial Legionnaires' disease. Epidemiologic demonstration of cooling towers as a source. *JAMA* 1985; 254: 521-4.
32. Astagneau P, Desplaces N, Vincent V, Chicheportiche V, Botherel A, Maugat S, Lebascle K, Léonard P, Desenclos J, Grosset J, Ziza J, Brucker G.

Mycobacterium xenopi spinal infections after discovertebral surgery: investigation and screening of a large outbreak. Lancet 2001; 358: 747-51.

- 33.Desenclos JC, Bourdiol-Razès M, Rolin B, Ducos J, Bréchet C, Thiers V. Hepatitis C in a ward for cystic fibrosis and diabetic patients: possible transmission by spring-loaded finger-stick devices for self-monitoring of capillary blood glucose. Infect Control Hosp Epidemiol 2001; 22: 701-7

Risques infectieux liés à l'environnement

Les micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (bactéries, levures, champignons filamenteux, parasites et virus) présents dans l'environnement hospitalier appartiennent aux espèces opportunistes et aux espèces pathogènes pour l'homme.

La contamination de l'environnement hospitalier varie qualitativement et quantitativement d'un établissement à un autre, et au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, des soins pratiqués, de la capacité de survie des micro-organismes dans l'environnement et de la présence de biofilm.

La présence d'un micro-organisme dans l'environnement hospitalier n'est pas une condition suffisante pour l'impliquer dans la survenue d'une infection. Celle-ci nécessite l'association de plusieurs facteurs liés au micro-organisme, à la voie de transmission, à la porte d'entrée et à la réceptivité de l'hôte.

Le rôle de l'environnement hospitalier (air, eaux, surfaces) dans la survenue des infections nosocomiales est mal documenté, contrairement à celui joué par les mains du personnel et les dispositifs médicaux. Les preuves scientifiques concernent surtout des épidémies et reposent souvent sur des arguments indirects.

L'identification de certaines sources environnementales potentiellement à l'origine d'infections nosocomiales (aspergillose, légionellose) rend indispensable la maîtrise de l'environnement hospitalier pour protéger les patients et le personnel soignant.

La maîtrise de l'environnement repose sur l'application des mesures d'hygiène de base, la qualité des comportements du personnel et la mise en place d'une maintenance préventive. La surveillance de cette maîtrise passe, en priorité, par les contrôles des procédés auxquels on peut associer, sous certaines conditions, les contrôles de résultats dont les contrôles microbiologiques.

Une amélioration de la standardisation des techniques microbiologiques et de la fiabilité des critères d'interprétation appliquée à l'environnement est nécessaire pour mieux valider l'association entre contamination de l'environnement et survenue des infections nosocomiales. Il faut donc adopter vis à vis des contrôles microbiologiques d'environnement une attitude raisonnée et non inflationniste.

Une stratégie consensuelle, fondée sur la mise en œuvre de démarches d'analyse des risques, est recommandée. Ces démarches s'appuient sur des niveaux de qualité adaptés aux principaux types de situation. Elles doivent spécifier les prélèvements microbiologiques de contrôle utiles ainsi que les actions à mener.

II OBJECTIFS ET CHAMP D'APPLICATION DES CONTROLES D'ENVIRONNEMENT

La réalisation des contrôles d'environnement (air, eaux, surfaces) fait partie de la politique de lutte contre les infections nosocomiales. Ce sont des indicateurs qui s'intègrent dans un plan d'action qualité visant à la gestion du risque infectieux.

Sur la base des recommandations émises dans ce guide, chaque établissement de santé doit adapter la stratégie de contrôle de son environnement, en fonction de zones à risque qui auront été au préalable définies par le CLIN et l'équipe opérationnelle d'hygiène.

II.1 Objectifs des contrôles d'environnement

Ils peuvent être de plusieurs ordres :

II.1.1 Contrôles dans le cadre d'une procédure de qualification d'une installation

- avant le démarrage des activités dans un nouvel environnement (ex : salles opératoires, flux laminaires) ;

II.1.2 Contrôles à visée de surveillance

Par exemple :

- dans le cadre du plan de maintenance d'une installation (ex. : flux laminaires) ;
- Dans le cadre d'un plan d'action qualité (surveillance de points critiques) : établissement du niveau de contamination de base et suivi
- Dans le cadre de travaux générant un risque (Aspergillus, Legionella..) : évaluation du niveau de ce risque.

II.1.3 Contrôles à visée d'investigation

- dans le cadre d'une enquête épidémiologique si elle oriente vers une contamination environnementale : recherche de la source de contamination afin de la supprimer.

II.1.4 Éventuellement contrôles à titre pédagogique

- visualiser la présence de micro-organismes dans l'environnement.

II.2 Champ d'application

Ce guide s'adresse aux établissements de santé. Il propose :

- des recommandations pour les contrôles microbiologiques de l'air, des eaux et des surfaces dans 3 domaines : indications, méthodologie et interprétation des résultats obtenus ;
- des règles de bonnes pratiques pour les laboratoires effectuant des prélèvements et des analyses de l'environnement. En effet, conformément à la recommandation 51 des « 100 Recommandations » du CTIN (1) les contrôles d'environnement sont effectués et interprétés par du personnel compétent, selon les techniques appropriées et un plan d'analyse défini.

Remarque importante

- Le groupe de travail considère unanimement qu'il n'y a pas indication à des prélèvements au niveau du linge, en dehors d'une démarche de qualité interne à une blanchisserie ou de situations épidémiques.

Référence

1. Comité technique National des Infections Nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Ministère de l'emploi et de la solidarité. Secrétariat d'état à la santé et à l'action sociale, 2^{ème} édition, 1999.

III. LIMITES AUX CONTROLES MICROBIOLOGIQUES D'ENVIRONNEMENT

Les contrôles microbiologiques d'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.

Dans les différentes épidémies rapportées, la dose infectante n'est pas connue.

Diverses techniques de prélèvements, de mise en culture ou d'analyse microbiologique pour chaque type de contrôles d'environnement sont utilisées. Les résultats obtenus avec des techniques différentes ne sont pas comparables, d'autant qu'il existe différentes recommandations pour l'interprétation des résultats. Une des principales difficultés actuelles est la non-reproductibilité des résultats obtenus à l'occasion de comparaisons inter-laboratoires. Cela peut s'expliquer par le fait que :

- l'environnement génère des écosystèmes complexes avec des micro-organismes dans des états physiologiques très hétérogènes,
- les méthodes de décrochage des micro-organismes de leur support environnemental ne sont pas standardisées et d'efficacité variable,
- les conditions de culture sont parfois difficiles à optimiser.

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: niveaux cible, d'alerte et d'action.

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.

Dans certaines situations, par exemple dans le cadre des exigences réglementaires, les niveaux peuvent être confondus.

Il faut toujours se rappeler que les contrôles d'environnement ne sont pas :

- des prévisions du risque infectieux,
- des certificats de conformité,
- des certificats de bonne ou de mauvaise conduite
- des certificats de bonne conscience (surtout s'ils sont négatifs)

IV. RECOMMANDATIONS

IV.1 Indications et stratégies de la surveillance microbiologique environnementale

IV.1.1 Indications

La norme internationale ISO/DIS 14698-1 concernant la maîtrise de la biocontamination dans les salles propres et environnements maîtrisés apparentés donne les définitions suivantes :

- Une zone à risque de biocontamination est un lieu géographiquement défini et délimité dans lequel des individus, des produits ou des matériaux (ou une combinaison quelconque de l'ensemble ci-dessus) sont particulièrement vulnérables à la biocontamination.
- La biocontamination est définie comme la contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des particules viables.
- Un environnement microbien maîtrisé est une zone définie où l'on maîtrise les sources de biocontamination à l'aide de moyens spécifiés (maîtrise de la qualité microbiologique de l'air, des supports, des liquides, des textiles).

Plusieurs groupes ont tenté de donner une définition des zones à risque : CTIN - 100 recommandations pour la prévention des infections nosocomiales, guides ASPEC, guide UNICLIMA, guide du bionettoyage.... D'un point de vue plus pratique, nous préférons adopter le concept de « **Zone à environnement maîtrisé** » (Tableau I) . Dans un établissement de santé, des locaux, des parties d'un local ou des groupes de locaux, présentent un niveau de risque variable selon les patients qui y séjournent et/ou les soins qui y sont délivrés. L'identification de zones ou d'actes qui font courir un très haut ou un haut risque infectieux, dans un établissement, conduit à prendre des mesures de maîtrise de l'environnement adaptées à ces risques. Avec les blocs opératoires, les salles d'imagerie interventionnelle ou d'endoscopie, les principales zones à environnement maîtrisé se situent en néonatalogie, en onco-hématologie ou

dans les services pratiquant des greffes ou accueillant des brûlés (chambres d'isolement protecteur). Les salles de conditionnement des services de stérilisation sont également considérées comme des zones à environnement maîtrisé et font l'objet d'une réglementation spécifique (Arrêté du 22 juin 2001 relatif aux bonnes pratiques de pharmacie hospitalière). Certaines préparations (cytotoxiques, nutrition parentérale...) doivent être effectuées dans un environnement maîtrisé (hotte à flux laminaire, isolateur.....).

Tableau I : Zones à environnement maîtrisé dans les établissements de soins

Zones à environnement maîtrisé	Systèmes spécifiques de traitement
salle d'opération	Air
salle de radiologie interventionnelle	Air
chambre d'isolement protecteur avec flux laminaire	Air, eau
balnéothérapie des brûlés	Eau
hottes à flux laminaire	Air
zones de conditionnement en stérilisation	Air

IV.1.2 Stratégies de surveillance en fonction des situations

L'indication des contrôles microbiologiques dans la surveillance de l'environnement nécessite une démarche pragmatique d'analyse du risque. Leurs fréquences sont définies en fonction d'objectifs précis pour des zones définies (Tableau II).

La surveillance microbiologique est un des éléments de la maîtrise des risques sanitaires d'origine environnementale, qui repose également sur :

- la connaissance des installations et de la typologie des différentes ressources ainsi que de leurs usages,
- la définition des critères de qualité requise,
- la détermination des situations critiques, des modalités de surveillance et d'intervention,

- l'application de règles de prévention et d'actions correctives (maintenance, comportements...),
- l'évaluation des mesures adoptées.

La documentation concernant l'ensemble de ces éléments est réunie dans un dossier mis à jour périodiquement (pour l'eau, l'air, etc..) et mis à la disposition de l'équipe opérationnelle d'hygiène. Une fiche formalisant la définition des responsabilités et le rôle des différents acteurs concernés est incluse dans ce dossier.

La complexité de la gestion des risques infectieux liés à l'environnement peut conduire, en particulier dans les établissements de santé de grande taille, à mettre en place une instance interne de coordination dont les interlocuteurs de référence sont le comité de lutte contre les infections nosocomiales, l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière et les services techniques de l'établissement.

Tableau II . Stratégie des prélèvements d'environnement dans un établissement de soins en fonction des situations

Circonstances	Objectifs	Pilotes	Fréquence	Zones	Cibles
Cadre réglementaire ou démarche qualité	Assurer la conformité à la réglementation Etablir des indicateurs de résultats, un tableau de bord	CLIN et équipe opérationnelle d'hygiène (EOHH) avec le responsable d'assurance qualité	Programmée avec le plan d'échantillonnage	Obligation réglementaire ou zones maîtrisées	• air • eaux • surfaces (<i>Aspergillus</i>)
Travaux	Rechercher <i>Aspergillus</i> (air, surfaces) <i>L. pneumophila</i> (eau) <i>P. aeruginosa</i> (eau)	CLIN et EOHH avec les services techniques	Pendant et à la fin des travaux	En fonction de la localisation des travaux	• surfaces (<i>Aspergillus</i>) • air • eaux
Epidémie	Vérifier une hypothèse Comparer des souches	CLIN et EOHH avec le chef du service concerné	Ponctuelle	En fonction de l'enquête	
Pédagogie	Matérialiser la contamination biologique sans interprétation des résultats	EOHH avec l'accord du laboratoire	Recours éventuel lors d'une formation	A définir en fonction des objectifs de formation	

IV.1.3 Cahier des charges d'un laboratoire de contrôle

La pratique des contrôles microbiologiques de l'environnement nécessite l'utilisation de techniques microbiologiques spécifiques et des connaissances suffisantes sur les indications des prélèvements, les paramètres, les limites et les critères d'interprétation des résultats obtenus (1). En effet, l'utilisation de techniques inadaptées ou une interprétation erronée des résultats microbiologiques peuvent conduire à la prise de mesures inutiles ou inadéquates par les décideurs et les autres utilisateurs des données produites.

Le CTIN, dans sa 51^{ème} recommandation, précise que « Les contrôles d'environnement sont effectués et interprétés par du personnel compétent, selon des techniques appropriées et un plan d'analyse défini » (2). De plus, une compétence dans le domaine de l'épidémiologie des infections nosocomiales (méthodologie d'investigation des enquêtes épidémiologiques lors d'épidémies, interprétation des antibiogrammes, techniques de typage phénotypique ou moléculaire) est particulièrement recommandée pour permettre au responsable du laboratoire d'être un interlocuteur privilégié des instances de lutte contre les infections nosocomiales.

Les analyses microbiologiques de contrôle de l'environnement peuvent être pratiquées par :

- Des laboratoires intégrés dans des établissements de santé. Le laboratoire est alors un laboratoire de biologie sous GBEA ou un laboratoire d'hygiène hospitalière.
- Des laboratoires extérieurs à l'établissement.

Le laboratoire devra satisfaire à des exigences strictes pour assurer la qualité des analyses. Le personnel doit posséder la formation, les aptitudes, les connaissances, ainsi que l'expérience nécessaires à l'exécution des fonctions dont il est chargé. Ces fonctions doivent être clairement définies. Dans le cadre des analyses microbiologiques de l'environnement, il n'existe pas de Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA), comme il en existe dans le cadre des analyses de biologie

médicale (3). L'établissement doit s'assurer de la mise en place d'une démarche qualité par le laboratoire et élaborer un cahier des charges détaillé.

Le COFRAC (Comité Français d'Accréditation) a élaboré plusieurs programmes spécifiques en particulier le programme eaux 100.2 (5). Si l'accréditation par le COFRAC ou un organisme européen équivalent n'est pas obligatoire, elle est fortement conseillée pour la réalisation de contrôles microbiologiques de l'environnement car elle permet de répondre aux critères de compétence et de qualité pour la réalisation des analyses.

De plus le groupe de travail propose les recommandations suivantes pour les laboratoires pratiquant des analyses d'environnement dans un établissement de santé.

- Une démarche qualité reposant sur des procédures rédigées et appliquées, qui doivent intégrer un plan d'analyse défini : indications et méthodologie des prélèvements, délais et conditions de transport, description des techniques d'analyse, des appareillages, des milieux et des critères d'interprétation utilisés, délai et conditions de conservation des souches habituellement impliquées dans les infections nosocomiales.
- Une durée de conservation des souches d'un an afin de pouvoir, en cas d'épidémie, effectuer des études épidémiologiques rétrospectives (4).
- La traçabilité des réactifs et des milieux de culture.
- L'utilisation de méthodes normalisées lorsqu'elles existent (normes NF, EN ou ISO). Lorsque ces normes n'existent pas, les méthodes utilisées par le laboratoire doivent être référencées (ex : pharmacopée, publications scientifiques....).
- Un compte-rendu de résultats comportant :
 - l'identification du laboratoire ;
 - la date, la nature et le lieu du prélèvement ;
 - l'identification du préleveur ;
 - la technique de prélèvement et mentionner l'utilisation et la nature d'un éventuel neutralisant ou tout élément susceptible d'interférer avec le résultat de l'analyse ;

- l'indication de l'analyse : démarche qualité, épidémie, recherches particulières... ;
 - la technique d'analyse utilisée ;
 - les résultats ;
 - une conclusion comportant un commentaire faisant référence à des niveaux seuils quand ils existent ;
 - l'identification du responsable du laboratoire.
- La participation à des essais interlaboratoires (intercalibration) régionaux ou nationaux lorsque ceux-ci existent.
 - La classification et l'archivage appropriés, si possible sur support informatique, des démarches, des résultats des contrôles de qualité, des audits internes et des analyses. Le groupe de travail propose que les données et archives soient conservées pendant une durée de 5 ans par analogie avec le GBEA.

L'agrément du laboratoire délivré par le ministre chargé de la santé n'est obligatoire à ce jour que pour l'analyse des eaux destinées à la consommation humaine, des eaux de piscine et de baignade aménagée dans le cadre de la réglementation.

Références :

1. Hartemann P, Blech MF, Simon L. Les contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. Rev Fr Lab 1997 ; n° 291 : 43-47.
 2. Comité technique National des Infections Nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Ministère de l'emploi et de la solidarité. Secrétariat d'état à la santé et à l'action sociale, 2^{ème} édition, 1999.
 3. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale . JO du 11 décembre 1999.
 4. Antoniotti G. Regli A. Démarche qualité au laboratoire de Bactériologie p.753-766 in Manuel de Bactériologie Clinique. J. FRENEY et Coll. éditions ESKA 2000.
- Commission sectorielle d'Accréditation « environnement » du COFRAC. Programme n° 100.2 Analyses biologiques et microbiologiques des eaux, Paris, août 1998.

IV.1.4 Organisation générale des prélèvements et transport des échantillons

- Les conditions de prélèvement doivent répondre à une **standardisation**.
- Ces prélèvements sont réalisés par un **opérateur formé** en matière de prélèvements à visée microbiologique de l'environnement.
- La tenue de l'opérateur **doit être adaptée au site** où est effectué le prélèvement.
- **L'identification de l'échantillon** comprend les informations classiques (site, date, heure, identité de l'opérateur...), mais aussi toute information susceptible d'être prise en compte dans la technique d'analyse et pour l'interprétation des résultats. Par exemple :
 - le moment de réalisation du prélèvement (avant le programme opératoire, hors présence humaine ; pendant l'activité avec le nombre de personnes présentes ; après le bionettoyage...) ;
 - les caractéristiques de l'installation contrôlée (point d'eau équipé ou non d'un filtre terminal, caractéristiques du système de traitement de l'air...) ;
 - les problèmes éventuels rencontrés lors du prélèvement.
- Certains prélèvements pourront être accompagnés de mesures complémentaires. Par exemple : mesure de la température, du taux de désinfectant résiduel lors des prélèvements d'eau, mesure de la surpression ou de la vitesse de l'air lors des prélèvements d'air...
- Le **volume** de chaque échantillon est fonction du contrôle réalisé.
- **Le délai et les conditions d'acheminement** de l'échantillon doivent assurer la survie des micro-organismes collectés sans en favoriser le développement, ni celui de la flore associée. Le transport doit être le plus rapide possible et en cohérence avec la réglementation.

Certains **neutralisants** devront être associés aux prélèvements lorsque c'est nécessaire.

IV.2 Air

IV.2.1 Indications

Les investigations ne se justifient qu'en zones à environnement maîtrisé, c'est à dire lorsqu'il existe un système de traitement d'air dont la conception, la performance et l'entretien permettent d'obtenir et de maintenir une classe particulière au moins équivalente à la classe ISO 8 (Tableau III).

Dans ce contexte, les indications peuvent se décliner ainsi :

- Dans le cadre du processus de maîtrise du système de traitement de l'air, comme indicateurs de résultats et validation de tous travaux de maintenance (plan d'assurance qualité). La fréquence des prélèvements doit être définie en concertation avec le CLIN et l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière (EOHH).
- En cas de travaux dans un secteur à environnement maîtrisé ou un secteur adjacent (recherche d'*Aspergillus*, couplé avec des prélèvements de surface) (1).
- En cas d'épidémie, en fonction de l'écologie du germe concerné et associés ou non à d'autres types de prélèvements.

Tableau III Correspondance entre les classifications « ISO » « Federal Standard (FS) » et « Normes Françaises (NF) ».

NF EN ISO 14644-1 1999		F209D 1998	NF X44-101 (1981)
<i>Classe</i>	<i>Nombre max. Particules ≥ 0,5µm/m³</i>	<i>Nombre max. particules ≥ 0,5µm/pied³</i>	<i>Nombre max. Particules ≥ 0,5µm/m³</i>
1			
2			
3		1	
4		10	
5	3 500	100	4 000
6		1 000	40 000
7	350 000	10 000	400 000
8	3 500 000	100 000	4 000 000
9		1 000 000	

Un pied cube = $2,83 \cdot 10^{-2} \text{ m}^3$

IV.2.2 Éléments de choix et de méthodologie

Les prélèvements doivent être réalisés par du personnel spécifiquement formé. La référence à des procédures opératoires validées est indispensable.

- Les contrôles particuliers sont effectués à l'aide de compteurs de particules. Le choix du compteur de particules doit tenir compte de ses qualités ergonomiques (poids, encombrement, maniabilité...). Cette technique s'intéresse aux particules d'un diamètre supérieur ou égal à 0,5 µm. L'air étant un milieu fluctuant et hétérogène, un prélèvement unique est insuffisant et il est préférable de réaliser 3 prélèvements en chaque point. Les comptages et surtout les cinétiques particulières sont des investigations délicates à ne confier qu'à du personnel formé.

- **Les contrôles de l'aérobiocontamination** sont effectués à l'aide de biocollecteurs dont les caractéristiques techniques vont conditionner la qualité des résultats d'analyse. Par souci de reproductibilité et de comparaison des résultats le même appareil sera toujours utilisé.

Les critères de choix d'un biocollecteur doivent tenir compte :

- des qualités ergonomiques (poids, encombrement, maniabilité...) ;
- des exigences de la norme ISO/DIS 14698-1 (2) : capacité de prélèvement de 1 m³ avec un débit recommandé de 100 litres par minute et une vitesse d'impaction sur la gélose inférieure à 20 mètres par seconde. La notion de 1m³ d'air prélevé en 10 minutes maximum relève surtout des caractéristiques techniques de l'appareil. Ce volume, classiquement admis, évite le dessèchement excessif du milieu de culture utilisé. En pratique, il conviendra de déterminer le volume d'air prélevé qui autorise un comptage aisé des colonies de micro-organismes et qui devra être compris entre 100 et 1000 litres ;
- de la possibilité de désinfecter la surface externe de l'appareil, de stériliser les parties amovibles de l'appareil (« buses ou cribles ») ;
- de la possibilité de prélever hors présence humaine (appareils à télécommande ou à déclenchement différé) ;
- l'appareil doit être livré avec un certificat d'étalonnage « d'origine » et un contrôle d'étalonnage doit pouvoir être proposé par le fournisseur.

L'air étant un milieu fluctuant et hétérogène, un prélèvement unique est insuffisant. Il est donc conseillé de faire comme dans les comptages particuliers, 3 prélèvements en chaque point (norme NF S 90-351) (3).

IV.2.3 Contrôle particulaire ou contrôle de l'aérobiocontamination ?

Quelques éléments peuvent orienter le recours à l'une ou l'autre de ces deux techniques d'investigations :

- Il n'existe pas obligatoirement de corrélation entre le nombre de particules et le nombre de micro-organismes dans l'air.
- Le comptage particulaire est plus aisé à mettre en œuvre et plus réactif (résultats absolus et immédiats) que la mesure de l'aérobiocontamination qui impose des délais de mise en culture au laboratoire.
- Le comptage particulaire permet de se référer à des normes définissant clairement des classes d'empoussièrement particulaire.
- Les mesurages de l'aérobiocontamination font également référence à des classes bactériologiques ou à des recommandations (*Aspergillus* spp), mais leur interprétation est bien plus délicate en raison de la grande disparité de performances des appareils et de l'absence de techniques de référence.

Du fait des avantages pratiques et de la meilleure standardisation présentés par le contrôle particulaire, le groupe de travail recommande qu'il soit considéré comme la méthode de choix dans le cadre d'un plan qualité. Les contrôles d'aérobiocontamination peuvent être utiles dans un deuxième temps pour évaluer le niveau de concentration en micro-organismes dans l'air, lorsque les contrôles particuliers ne sont pas conformes au niveau cible ou dans le cas de la recherche d'*Aspergillus* spp.

Il est important que chaque établissement détermine en fonction de la nature de ses installations les points critiques à prélever afin de définir un plan d'échantillonnage dans le cadre d'une démarche qualité spécifique. Cette démarche doit associer les services techniques de l'établissement et l'équipe opérationnelle d'hygiène.

IV.2.4 Lieux de prélèvements – résultats attendus

Important : quel que soit le type de prélèvement, une vérification des pressions d'air est recommandée (manomètre fixe ou, à défaut, poire à fumée froide).

IV.2.4.1 Salles opératoires et salles de radiologie interventionnelle

Les mesurages de la propreté particulaire

Procéder à la réalisation d'une cinétique de décontamination particulaire et de comptages particuliers (compteur de particules), en des points préalablement définis : dans le cadre de la procédure de réception de la salle et après toute action de maintenance sur le réseau aéraulique.

La cinétique de décontamination particulaire doit permettre de connaître le temps que met une pièce, disposant d'un traitement d'air, pour revenir à son état initial. Elle permet ainsi de déterminer le temps d'attente entre deux interventions.

Deux approches sont possibles :

- Dans une salle en activité, en fin de programme : mesurer la contamination particulaire lors de la sortie de la salle, puis réaliser des mesures successives jusqu'à ce que la concentration particulaire initiale (Classes ISO 5 ou 7), déterminée lors de la réception du local, soit atteinte.
- Dans une salle hors activité : provoquer un « empoussièrement » artificiel bien quantifié et déterminer, par mesures successives, la réduction de la concentration particulaire (en log) en fonction du temps (jusqu'à l'état initial déterminé lors de la réception du local) (3) .

Les comptages particuliers isolés, en salle au repos, permettent de confirmer la classe particulaire recherchée lors de la conception du local (niveau de base). En cas de traitement de l'air en flux turbulent conventionnel le niveau de qualité exigé est la classe particulaire ISO 7 (4): 10 000 selon la norme FS209D et 400 000 selon la norme NFX44-10.

En cas de traitement de l'air par flux laminaire ou plafond soufflant, le niveau de qualité exigé est la classe particulière ISO 5 : 100 selon la norme FS209D et 4000 selon la norme NFX44-10.

Les mesurages de la propreté bactériologique

Ces prélèvements réalisés de manière isolée n'ont aucun intérêt en première intention (cf. *Eléments de choix et de méthodologie - § Contrôles de l'aérobiocontamination*). En attendant une standardisation, l'approche suivante peut être proposée sur le plan bactériologique : en cas de traitement de l'air en flux turbulent conventionnel et compte-tenu des exigences de classe particulière, le niveau de qualité à atteindre est la classe bactériologique B20 ; en cas de traitement de l'air par flux laminaire ou plafond soufflant, le niveau de qualité à atteindre est la classe bactériologique B5 (Tableau IV).

Tableau IV : Classes bactériologiques selon la norme NF S 90-351

Classes bactériologiques	Concentration maximale en UFC / m³ d'air
B100	100
B20	20
B5	5

IV.2.4.2 Secteurs d'hospitalisation à environnement maîtrisé (chambres équipées de flux laminaires)

Procéder à la réalisation d'une cinétique particulière, ainsi qu'à des comptages particuliers (compteur de particules) en des points préalablement définis dans le cadre de la procédure de réception du local, ou après toute action de maintenance sur le réseau aéraulique. Les chambres de patients en aplasie prolongée équipées d'un flux laminaire doivent répondre à la classe particulière ISO 5 : 100 selon la norme FS209D et 4000 selon la norme NFX44-10.

Compléter par des contrôles de l'aérobiocontamination avec recherche de champignons filamenteux (*Aspergillus*,...) en complémentarité avec des prélèvements de surfaces (1).

Niveau Cible : **Absence** (*Aspergillus* spp ou autre champignon filamenteux)/m³

Niveau d'Alerte et d'action : **≥ 1** (*Aspergillus* spp ou autre champignon filamenteux)/m³

IV.2.4.3 Hottes à flux laminaire (HFL) - Postes de Sécurité Microbiologiques (PSM)

Procéder à la réalisation d'un comptage particulaire (compteur de particules) dans le cadre de la procédure de réception de la hotte, et après toute action de maintenance, de préférence dans le cadre d'un contrat de maintenance. Les résultats attendus sont une conformité avec la classe particulaire ISO 5 : 100 selon la norme FS209D et 4000 selon la norme NFX44-10.

Les prélèvements microbiologiques par bio-collecteur sous une hotte à flux laminaire ne sont pas indiqués, en raison du petit volume avec écoulement d'air laminaire.

IV.2.4.4 Unités de stérilisation

Les bonnes pratiques de pharmacie hospitalière (BPPH) (5) précisent, dans leur ligne directrice particulière, que la propreté de l'air requis est spécifiée et dépend de la nature des opérations effectuées. Elle respecte les limites de la classe 8 de la norme NF EN ISO 14644-1 au repos, dans toutes les zones de conditionnement : soit un nombre maximal de particules autorisé de 3. 520.000 particules de diamètre < 0,5 µm / m³, de 835.000 particules de diamètre < 1 µm / m³ et de 29.300 particules < 5 µm / m³. Des mesurages particuliers permettent utilement de confirmer tant la classe d'empoussièrement exigible que les capacités de renouvellement de l'air, telles que précisées dans les BPPH.

Les mesures d'aérobiocontamination recommandées par les BPPH sont de 200 UFC/m³ pour une salle en activité (5). Ce taux d'aérobiocontamination n'est pas du tout corrélé à la norme NF EN ISO 14644-1 qui concerne les salles au repos.

Références :

1. Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés. Conférence de consensus ANAES du 21 mars 2000 – HYGIENES – 2000 – Volume VIII n°6 ou www.anaes.fr
2. Norme ISO/DIS 14698–1. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – maîtrise de la biocontamination
3. Norme NF S 90-351. Procédures de réception et de contrôle des salles d'opérations – Qualité de l'air.
4. Norme NF X 44-101 (NF EN ISO 14644-1). Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – classification de la propreté de l'air.
5. Arrêté du 22 juin 2001 relatif aux bonnes pratiques de pharmacie hospitalière. JO n°152 du 3 juillet 2001.

IV.3 EAUX

Au sein d'un établissement de santé, plusieurs types d'eau peuvent être distingués selon leur usage et les exigences de la qualité qui s'y rattachent.

Le tableau V présente une typologie des différentes eaux utilisées dans un établissement de santé qui seront traitées dans ce chapitre.

Tableau V : Typologie des différentes eaux dans un établissement de santé.

Q.1. Eaux froides ne subissant aucun traitement dans l'établissement

Q.1.1. Eaux à usage alimentaire

- Q.1.1.a. Eau d'entrée
- Q.1.1.b. Eaux aux points d'usage destinée à la consommation humaine

Q.1.2. Eau pour soins standards

Q.2. Eaux spécifiques, traitées au sein de l'établissement de santé et répondant à des critères définis en fonction des usages

Q.2.1. Eaux bactériologiquement maîtrisées

Q.2.2. Eau chaude

Q.2.3. Eau des piscines de rééducation

Q.2.4. Eaux des spas, jacuzzi et douches à jets

Q.2.5. Eaux pour hémodialyse

Q.2.6. Eau purifiée selon la Pharmacopée Européenne

Q.2.7. Eau hautement purifié selon la Pharmacopée Européenne

Q.2.8. Eau des fontaines réfrigérantes à usage de boisson

Q.3. Eaux stériles

Q.3.1. Eau pour préparations injectables

Q.3.2. Eau pour irrigation (eau versable)

Q.3.2. Eau potable stérilisée

A chaque type d'eau correspond une indication d'usage bien définie. Ces usages et les qualités d'eau correspondantes et leur classification sont précisés dans le guide

technique sur l'eau dans les établissements de santé - Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF), à paraître fin 2002.

L'étape préalable, indispensable à la surveillance de la qualité de l'eau du réseau d'un établissement de santé, consiste à établir un plan du réseau de distribution qui permettra d'avoir une connaissance aussi précise que possible des sources d'alimentation, de l'organisation et de la configuration détaillées du réseau (identification d'éventuels bras morts...), des installations à risque, de l'historique des travaux et des interventions importantes, ajout sur le réseau, etc.

Ce plan du réseau, bien qu'il soit parfois difficile à obtenir, est un outil indispensable à l'évaluation des risques et à l'identification des points critiques, pour la mise en place d'un plan de surveillance et d'entretien, d'un plan d'échantillonnage et la mise en œuvre de mesures préventives ou curatives adéquates. Il doit être régulièrement tenu à jour, en particulier après chaque modification des installations. Ce plan doit être intégré dans le carnet sanitaire des installations dans lequel sont également consignés les points de contrôle et les actions de maintenance sur les réseaux de l'établissement de santé.

Q.1. EAUX FROIDES NE SUBISSANT AUCUN TRAITEMENT DANS L'ÉTABLISSEMENT

Q.1.1. Eaux à usage alimentaire

Eau d'entrée

Il s'agit de l'eau froide arrivant à l'entrée de l'établissement, que ce soit à l'interface avec le réseau public ou à la sortie d'un forage au sein de l'établissement. Elle doit satisfaire au minimum aux prescriptions en vigueur définies par la directive européenne 98/83/CE relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (1) et son décret d'application français: le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles qui définit les critères de potabilité réglementaires (2). En ce qui concerne les établissements de santé, le directeur de l'établissement est tenu de s'assurer que l'eau fournie au public dans l'établissement est propre à la

consommation, conformément aux dispositions de l'article L 1321-1 du code de la santé publique (2).

Une surveillance de l'eau d'entrée est réalisée par le responsable de la distribution publique des eaux. En application du décret précité, le contrôle sanitaire des eaux de la distribution publique est réalisée sous l'égide de la DDASS. Si l'établissement est lui-même producteur, il est tenu aux obligations du contrôle définies dans le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 (2). Les analyses d'eau du contrôle sanitaire sont réalisées dans des laboratoires agréés par le ministère chargé de la santé (3).

Il peut être conseillé que le point d'alimentation de l'établissement de santé figure comme point de référence entrant dans le programme analytique de surveillance du réseau public de la commune concernée. Ceci permet de minimiser les frais analytiques et de disposer de résultats détaillés, communiqués régulièrement par la DDASS, à la demande des établissements.

Eaux aux points d'usage

Bien que les eaux des fontaines réfrigérantes soient classées dans les eaux traitées par le CSHPF, leur utilisation se confond avec celui des eaux aux points d'usage et elles seront donc traitées dans ce chapitre du guide.

1. Indications

Ces eaux froides sont destinées à la consommation humaine directement ou indirectement (alimentation) par toute personne au sein de l'établissement. Elles comprennent les eaux non conditionnées des robinets intérieurs ou extérieurs aux bâtiments, les eaux subissant un traitement au sein de l'établissement (fontaines réfrigérantes, eau pour production de glace alimentaire) et les eaux préemballées ou conditionnées dans l'établissement (bouteilles, conteneurs...) qui servent à des usages autres que la préparation en pharmacie.

L'article L1321-1 du code de la santé publique précise que "quiconque offre au public de l'eau en vue de l'alimentation humaine, à titre onéreux ou à titre gratuit et sous

quelque forme que ce soit, y compris la glace alimentaire, est tenu de s'assurer que cette eau est propre à la consommation". Le directeur de l'établissement est responsable de la qualité de l'eau aux points d'usage et doit donc faire vérifier le niveau de qualité atteint dans l'établissement par des contrôles bactériologiques aux points d'usage.

Cas particuliers des eaux conditionnées :

Les eaux vendues en bouteilles ou dans des conteneurs doivent respecter les valeurs données dans l'annexe I, du décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles qui définit les critères de potabilité réglementaire (2). Pour ces eaux, vendues en bouteilles ou conteneurs, les contrôles internes de production sont du ressort des producteurs et des contrôles sanitaires sont également réalisés comme pour l'eau de la distribution publique par la DDASS. Cependant, l'utilisation de volumes importants dans les conteneurs peut favoriser une stagnation de l'eau, et des contrôles peuvent être effectués à la diligence de chaque établissement.

2. Lieux, modalités et fréquence de prélèvement

Les prélèvements sont réalisés sur plusieurs points de distribution d'eau de boisson selon un plan d'échantillonnage qui devra tenir compte de la taille de l'établissement, du nombre de bâtiments, de la structure du réseau, de son niveau d'utilisation et de la présence de zones critiques.

A titre d'exemple, le ou les points de distribution d'eau de boisson peuvent être choisis dans un office alimentaire situé dans un service à risque de type hématologie, sur les points les plus distants du réseau dans chaque bâtiment ainsi qu'au niveau des fontaines réfrigérantes et des machines à glace alimentaire.

Dans tous les cas, le choix des points de prélèvement est réalisé après identification des points représentatifs et critiques du réseau d'eau froide afin de représenter une image fiable de la qualité du réseau au sein de chaque bâtiment, en sachant que l'eau distribuée est généralement de moins bonne qualité aux points les plus distants du réseau. Ce contrôle contribue à l'évaluation de la qualité du réseau dans

l'établissement et les résultats observés doivent être comparés à ceux obtenus à l'entrée de l'établissement qui serviront de point de référence.

Le prélèvement est réalisé obligatoirement sur le 2^{ème} jet, mousseur ou brise jet enlevés pour être représentatif de la qualité de l'eau circulante dans le réseau. Si l'on désire vérifier les conditions réelles d'utilisation au point d'usage et la maintenance de la robinetterie, le prélèvement sera réalisé sur le 1^{er} jet.

Aucune fréquence n'est actuellement fixée par la réglementation, en ce qui concerne l'eau du réseau de l'établissement de santé utilisée pour la consommation humaine. Une fréquence minimale annuelle d'un contrôle bactériologique par tranche de 100 lits et par an est proposée pour l'ensemble des points d'usage de l'établissement de santé avec un minimum de 4 contrôles par an pour les établissements de moins de 400 lits.

La circulaire DGS/PGE/1D n°2058 du 30 décembre 1986 ne précise que les principales dispositions techniques concernant les fontaines réfrigérantes (4). Il est proposé la pratique d'un contrôle bactériologique par an sur chaque fontaine.

Il faut insister sur l'importance de l'entretien et de la maintenance rigoureuse des fontaines réfrigérantes, qui seront conçues de manière à éviter la stagnation prolongée de l'eau dans des réservoirs. De même, une attention toute particulière sera portée à la maintenance préventive des machines produisant de la glace à usage alimentaire.

L'eau du réseau utilisée pour la production de glace alimentaire doit répondre aux mêmes critères que l'eau du réseau destinée à un usage alimentaire. Chaque point de production de glace alimentaire sera contrôlée bactériologiquement une fois par an (eau d'alimentation et glaçons).

3. Analyse

L'analyse est une analyse de type D1 applicable aux points de distribution (selon le tableau II-1 partie A du décret 2001-1220) :

- Numération de la flore aérobie revivable à 22°C et 37°C dans un échantillon de 1 ml décrit dans la norme EN ISO 6222.
- Recherche de coliformes totaux et d'*Escherichia coli* dans des échantillons de 100 ml (normes AFNOR NFT 90-414 / ISO 9308-1).
- Recherche des entérocoques dans un échantillon de 100 ml (norme AFNOR NFT 90-416 / ISO 7899-2).
- Recherche de bactéries sulfite-réductrices y compris les spores si les eaux subissent un traitement de filtration (norme AFNOR NF EN 26461).

Cette analyse de type D1 est complétée par la recherche de *Pseudomonas aeruginosa*. En l'absence de norme européenne actuellement validée, la méthodologie à retenir pour cette recherche est celle proposée à titre indicatif dans l'annexe B de la norme AFNOR NFT 90-421 (ne fait pas partie intégrante de la norme) : 100 ml sont filtrés sur un filtre de 0,22 µm stérile qui est déposé sur une gélose sélective à l'acide nalidixique et au cétrimide, incubée à 37°C ± 1° C pendant 48h. La technique de recherche de *Pseudomonas aeruginosa* est en cours de normalisation (projet de norme PR EN ISO 12 780, février 2000 – Qualité de l'eau – Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* par filtration sur membrane).

Pour les analyses portant sur l'eau conditionnée, les volumes d'échantillon à tester sont de 250 ml pour la recherche des coliformes thermotolérants, des entérocoques et de *P. aeruginosa*.

4. Interprétation des résultats

Ces eaux à usage alimentaire doivent répondre aux critères microbiologiques de l'analyse D1 (décret 2001-1220 du 20 décembre 2001).

Pour l'eau conditionnée à usage alimentaire, les critères sont donnés dans le tableau VIa (2). Pour l'eau à usage alimentaire aux points d'usage les critères microbiologiques retenus s'inspirent du décret 2001-1220 auquel le groupe de travail a intégré des recherches complémentaires dont celle de *P. aeruginosa*, considérée comme la bactérie hydrique la plus représentative du risque nosocomial, est préconisée par le groupe de travail (Tableau VIb).

Tableau VIa : Critères microbiologiques retenus pour l'eau conditionnée à usage alimentaire

Type de recherche	Niveau d'action
	Limites de qualité réglementaires ¹
Flore aérobie revivable à 22° C	≤ 100 UFC / ml
Flore aérobie revivable à 37° C	≤ 20 UFC / ml
<i>Escherichia coli</i>	< 1 UFC / 250 ml
Entérocoques	< 1 UFC / 250 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ¹	< 1 UFC / 250 ml
Spores de bactéries sulfite-réductrices,	< 1 UFC / 50 ml

¹ Valeurs précisées dans le décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001 pour les eaux vendues en bouteilles ou conteneurs.

Tableau VIb : Critères microbiologiques retenus pour l'eau à usage alimentaire aux points d'usage (définis à partir du décret 2001-1220)

Type de recherche	Niveau cible ou d'action (limites de qualité) ³
Flore aérobie revivable à 22° C	≤ 100 UFC / ml ¹
Flore aérobie revivable à 37° C	≤ 10 UFC / ml ¹
Coliformes totaux	< 1 UFC / 100 ml
<i>Escherichia coli</i>	< 1 UFC / 100 ml ³
Entérocoques	< 1 UFC / 100 ml ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ²	< 1 UFC / 100 ml
Spores de bactéries sulfite-réductrices	< 1 UFC / 50 ml

¹ Pour ces paramètres, dont les valeurs sont indicatives, il s'agit de détecter une variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle, témoin d'une anomalie sur le réseau.

² L'intégration de cette espèce est justifiée car il s'agit de la bactérie hydrique la plus représentative du risque nosocomial dans les établissements de soins.

³ Les limites de qualité réglementaires confondent les niveaux cibles et d'action pour les *Escherichia coli* et les entérocoques dans le cas des eaux de distribution.

Q.1.2. Eaux pour soins standards

1. Indications

Il s'agit de l'eau du réseau de distribution intérieur à l'établissement, utilisée pour les soins des patients sans risque particulier (toilette des patients, lavage des mains du personnel soignant..), ou pour le nettoyage et le rinçage de certains dispositifs médicaux : nettoyage, rinçage intermédiaire de tous les dispositifs médicaux et rinçage terminal des endoscopes en endoscopie digestive haute et basse sauf en cas d'accès à un milieu stérile (5).

La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* est indiquée comme indicateur d'une contamination par des bactéries hydriques responsables d'infections nosocomiales.

2. Fréquence des prélèvements

S'il est important que chaque établissement procède à des autocontrôles, aucune fréquence n'est actuellement fixée par la réglementation. Pour les eaux de cette catégorie, un contrôle trimestriel sur des points considérés comme critiques est recommandé.

3. Lieux et modalités de prélèvement

Le plan d'échantillonnage est réalisé en tenant compte des spécificités du réseau, et en essayant de tenir compte de chaque "sous -réseau" rencontré. Dans tous les cas, le choix des points prélevés est réalisé après identification des points critiques du réseau d'eau froide et de la localisation des actes techniques nécessitant de l'eau pour soins standards : les points d'eau à prélever sont choisis de préférence dans des services accueillant des patients à risque infectieux élevé (réanimation, secteurs accueillant des immunodéprimés, services de brûlés, néonatalogie...) ou pour des « utilisations à risque » (poste de lavage des mains des chirurgiens, douche des

nouveau-nés en maternité, rinçage terminal des endoscopes digestifs ou ORL...). Le prélèvement est réalisé sur de l'eau froide ou mitigée suivant les conditions d'emploi. Pour les analyses bactériologiques, le prélèvement est effectué dans un récipient stérile. Il est réalisé après avoir laissé couler l'eau 1 à 2 minutes et enlevé un éventuel brise-jet (prélèvement du 2^{ème} jet) afin de contrôler la qualité de l'eau du réseau interne. Le prélèvement sur le premier jet est utilisé uniquement pour vérifier la maintenance du point d'usage. Si l'eau est chlorée et pour neutraliser le chlore, ce récipient devra contenir au moins 0,5 mg de thiosulfate de sodium / 100 ml d'eau prélevée.

L'acheminement au laboratoire doit se faire sans attendre. Si l'analyse ne peut pas être effectuée immédiatement, l'échantillon est stocké au réfrigérateur (+ 4°C) pendant un maximum de 12 heures avant la réalisation effective de l'analyse.

4. Analyse

L'analyse recommandée comprend :

- Le dénombrement de la flore aérobie revivifiable à 22° et 37°C (norme EN ISO 6222).
- La recherche des coliformes totaux à 37°C (norme AFNOR NFT 90-414 / ISO 9308-1).
- La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* (annexe B de la norme AFNO NF T 90-421, cf. page 41)

5. Interprétation des résultats

Pour l'eau pour soins standards, la recherche des coliformes totaux est préférée à celle des coliformes fécaux et des entérocoques car elle concerne plus les entérobactéries impliquées dans des infections nosocomiales d'origine environnementale (de type *Serratia marcescens* ou *Enterobacter* Spp.). De plus, l'absence de coliformes totaux inclut théoriquement l'absence de coliformes fécaux

et l'eau de l'hôpital est par ailleurs déjà soumise à des contrôles bactériologiques de potabilité, impliquant la recherche des témoins de contamination fécale (entérocoques et coliformes fécaux en particulier).

Les paramètres bactériologiques de qualité retenus pour l'eau destinée aux soins standards sont donnés dans le tableau VII.

Tableau VII : Critères bactériologiques retenus pour l'eau destinée aux soins standards.

Type de recherche	Niveau cible	Niveau d'alerte et d'action
Flore aérobie revivable à 22° C	≤ 100 UFC / ml	variation dans un rapport de 10 par rapport à la valeur habituelle
Flore aérobie revivable à 37° C	≤ 10 UFC / ml	
Coliformes totaux	< 1 UFC / 100 ml	1 UFC / 100 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 1 UFC / 100 ml	1 UFC / 100 ml

Devant des résultats anormaux, il est nécessaire de vérifier les conditions d'analyse, de répéter les analyses et d'intervenir en cas de confirmation de ces résultats anormaux (Cf. III.2 Limites méthodologiques).

Les critères demandés pour les soins standards s'intègrent dans ceux demandés pour l'eau d'alimentation aux points d'usage à l'hôpital et cette donnée peut être prise en compte pour rationaliser la constitution des plans d'échantillonnage et le choix des points de prélèvement.

Dans le cadre de l'investigation d'une épidémie ou de circonstances épidémiologiques particulières, d'autres micro-organismes potentiellement pathogènes peuvent être spécifiquement recherchés en tenant compte du type d'usage, de l'état des sujets exposés et du contexte épidémique. Les contaminations à *Pseudomonas aeruginosa* sont fréquemment liées à une contamination locale des

points d'usage, que l'on arrive le plus souvent à maîtriser par l'application de mesures curatives et préventives à ces niveaux.

Une synthèse concernant les usages, les sites et les fréquences de prélèvements sur les eaux de type Q.1.1 et Q.1.2 est reprise sur le tableau VIII.

Tableau VIII : Tableau de synthèse concernant les usages, les sites et les fréquences de prélèvements sur les eaux à usage alimentaire traitées ou non traitées (type Q.1.1, Q.1.2 et Q.2.8)

Usages de l'eau	Sites de prélèvements	Fréquence de prélèvements
Q.1.1a Usage alimentaire Eau d'entrée	Réglementaire (2)	
Q.1.1b Usage alimentaire Eau aux points d'usage	Plan d'échantillonnage à élaborer en intégrant les points critiques les plus représentatifs du réseau (points d'usage les plus distants, secteurs "à risque")	Un contrôle par tranche de 100 lits et par établissement avec au minimum 4 contrôles par an pour un établissement de moins de 400 lits
Q.2.8 Eau des fontaines réfrigérantes et machines à glaçon alimentaire	Chaque fontaine et chaque machine à glaçons alimentaire	Un contrôle par an
Q.1.2 Eau pour soins standards	Points critiques d'usage	Un contrôle trimestriel

Q.2.- EAUX SPECIFIQUES, TRAITEES AU SEIN DE L'ETABLISSEMENT DE SANTE, ET REpondant A DES CRITERES DEFINIS EN FONCTION DES USAGES

Q.2.1. Eaux bactériologiquement maîtrisées

1. Indications

Il s'agit d'eaux de qualité bactériologique supérieure à celle du réseau, obtenues après traitement chimique (chloration) ou physique (microfiltration en amont ou au point d'usage, ultra-violets...) de l'eau du réseau. La microfiltration au point d'usage est le procédé de traitement le plus classique. Certains filtres sont stérilisables et réutilisables, d'autres sont à usage unique. Le choix du système de maîtrise doit être réfléchi et répondre à une utilisation spécifique et limitée. Le constat de résultats bactériologiques anormaux doit faire apporter une correction immédiate, en conséquence il n'y a pas de niveau d'alerte proposé (Cf. tableau X). Les indications des eaux bactériologiquement maîtrisées font l'objet de recommandations spécifiques d'utilisation dans le guide technique sur l'eau dans les établissements de santé – Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France.

2. Fréquence, lieux et modalités de prélèvement (tableau IX)

Les contrôles sont réalisés avec une fréquence minimale trimestrielle pour les systèmes de traitement chimiques et physiques à l'exception des systèmes de microfiltration à usage unique qui ne justifient pas de réaliser des contrôles bactériologiques, une fois que le procédé a été validé et que ses modalités d'utilisation sont régulièrement contrôlées.

Le prélèvement est réalisé sur le 2^{ème} jet lorsque le système de maîtrise est loin du point d'usage. Lorsqu'il s'agit d'un traitement au point d'usage, le premier jet doit être utilisé. Le prélèvement est effectué dans un récipient stérile contenant au moins 0,5 mg de thiosulfate de sodium / 100 ml d'eau prélevée pour neutraliser le chlore, si l'eau est chlorée. S'il s'agit d'un système de chloration (et pour tout système de

maîtrise chimique), le prélèvement sera réalisé sur les points d'usage les plus distants. Un dosage du chlore libre résiduel devra systématiquement être associé s'il s'agit d'une sur-chloration. S'il s'agit d'un système de maîtrise physique, le prélèvement est effectué sur chaque poste concerné.

Tableau IX : Sites et fréquences retenus pour les contrôles des eaux bactériologiquement maîtrisées.

Lieux des prélèvements		Fréquence des prélèvements
Système de maîtrise physique (microfiltration – U.V...)	Chaque point d'eau traité	Au moins 1 fois par trimestre à l'exception des filtres à usage unique ¹
Système de maîtrise d'un secteur du réseau (procédés chimiques oxydants autorisés)	Au moins 1 point parmi les plus distants	Au moins 1 fois par trimestre

¹ une fois que le procédé a été validé et que ses modalités d'utilisation sont régulièrement contrôlées

3. Analyse

Une recherche de la flore aérobie totale est réalisée sur deux échantillons de 100 ml par filtration sur membrane 0,45 µm puis par ensemencement de deux géloses de dénombrement, type PCA qui seront incubées respectivement pendant 72 heures à 22°C et 48 h à 37°C.

A cela s'ajoute une recherche de *Pseudomonas aeruginosa*, par filtration sur un échantillon de 100 ml.

4. Interprétation des résultats

Les critères retenus d'interprétation des résultats pour les eaux bactériologiquement maîtrisées sont donnés dans le tableau X.

Tableau X : Niveaux cible et d'action retenus pour les eaux bactériologiquement maîtrisées.

	Niveau cible / 100 ml	Niveau d'action / 100 ml
Flores revivifiables à 22°C et à 37°C	≤ 1 UFC	≥ 10 UFC
<i>P. aeruginosa</i>	et < 1 <i>P. aeruginosa</i>	ou ≥ 1 <i>P. aeruginosa</i>

Q.2.2. Eau chaude

1. Indications

L'eau chaude est produite à partir de l'eau du réseau d'eau froide de l'établissement, après accumulation ou production instantanée (chauffage) et après traitements éventuels (adoucissement...).

La maîtrise du risque lié aux légionelles est prioritaire et repose sur la connaissance l'entretien régulier du réseau et les équipements ainsi que sur la surveillance régulière des paramètres physiques (température de l'eau,...) et microbiologiques

Dans certains cas, l'eau froide du réseau peut atteindre une température supérieure à 25°C (mauvaise isolation ou exposition solaire). A ce moment, le risque *Legionella* concerne également ces eaux froides et les mesures préventives spécifiques doivent s'appliquer. Le relevé régulier de la température dans les différentes parties du réseau d'eau froide contribue à la prévention du risque *Legionella*. Pour cette même raison, les réseaux d'eau mitigée présentent un danger de contamination par *Legionella* spp.

La circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997 stipule que des prélèvements doivent être systématiquement associés à l'apparition d'un cas isolé de légionellose d'origine

nosocomiale ou survenu lors d'une cure thermale (6). La circulaire DGS n°98/771 du 31 décembre 1998 recommande la mise en œuvre d'une surveillance de la contamination des réseaux, par la recherche de légionelles sur des prélèvements effectués dans les réservoirs, ballons d'eau chaude, installations à risque, ainsi qu'aux points d'usage (7). La circulaire DGS n°2002/243 du 22 avril 2002 propose des recommandations visant à prévenir le risque lié aux légionelles et définit les modalités de suivi des paramètres physiques (température) et microbiologiques (recherche de *Legionella*) dans les réseaux d'eau chaude (8).

2. Fréquence, lieux et modalités de prélèvements

Ces éléments sont détaillés dans la circulaire relative à la prévention de la légionellose dans les établissements de santé (8). La fréquence et les lieux de mesures de la température sont également largement développés dans cette circulaire.

3. Analyse

La technique d'analyse et la numération de *Legionella* sont effectuées selon la norme AFNOR NT 90-431 ou la norme ISO 11731.

4. Interprétation des résultats

Les présentes recommandations proposent des niveaux d'intervention en fonction des concentrations en *Legionella* dans les installations de distribution d'eau chaude (Tableau XI) (8). Dans ce tableau, figurent trois niveaux d'intervention en fonction des concentrations en *Legionella* mesurées aux points les plus représentatifs de chaque entité de production et de distribution d'installation d'eau chaude.

Ces niveaux d'intervention sont définis pour la population hospitalière dont une grande partie présente des facteurs de risque reconnus (broncho-pneumopathie obstructive, éthyliste, tabagisme, diminution des défenses immunitaires consécutive à une pathologie ou un traitement, néoplasie, insuffisance rénale sévère).

Pour certains patients dits « patients à haut risque », la mise en œuvre des mesures de prévention particulières est expressément demandée (8). On inclut dans ce groupe de patients les immunodéprimés sévères et particulièrement les immunodéprimés après transplantation ou greffe d'organe et les immunodéprimés par corticothérapie prolongée (0,5 mg/ kg de prednisone pendant 30 jours ou plus ou équivalent) ou récente et à haute dose (> 5 mg/kg de prednisone pendant plus de 5 jours). Pour ces patients, l'eau soutirée au niveau des points d'usage à risque (en particulier les douches) doit respecter en permanence une concentration en *Legionella pneumophila* inférieure au seuil de détection (8). Lorsqu'il n'est pas possible d'assurer en permanence cette exigence, des mesures spécifiques doivent être mises en œuvre : mise en place de points d'usage sécurisés à l'attention de ces patients (microfiltres terminaux à 0,2 µm, dispositif de production autonome et instantanée d'eau chaude....) ou à défaut utilisation d'alternatives aux douches (lavage au gant, bains....).

Le risque de légionellose varie en fonction de l'état immunitaire des personnes exposées, de la densité et de la durée d'exposition aux aérosols contaminés, de l'espèce et du sérotype. *L. pneumophila* sérotype 1 est la plus souvent impliquée dans les épidémies d'infections nosocomiales. Ainsi, les données de déclaration obligatoire montrent, en 2000, que l'espèce *L. pneumophila* représentait 98% (480/488) des cas diagnostiqués. *L. pneumophila* sérotype 1 représentait 81% des cas (396/488) (9).

Tableau XI : Niveaux d'intervention en fonction de la concentration en *Legionella pneumophila* aux points les plus représentatifs des réseaux d'eau chaude (8)

Niveaux d'intervention	Concentration
Niveau cible Niveau à maintenir dans des conditions normales de fonctionnement. Risque faible d'acquisition d'une légionellose	<10³ UFC <i>Legionella pneumophila</i> / Litre d'eau <u>remarque</u> : lorsque le taux de <i>Legionella</i> spp est <10³ UFC / Litre d'eau, il n'est pas indispensable d'identifier l'espèce.
Niveau d'alerte et d'action Information immédiate des personnes en charge de la gestion de l'eau, du CLIN, de l'équipe opérationnelle d'hygiène et des services concernés. Etude de l'origine des écarts avec les résultats des analyses antérieures et des causes de la prolifération. Vérification du réseau Mise en œuvre de mesures correctrices nécessaires pour maîtriser la concentration de <i>Legionella pneumophila</i> en dessous de 10³ UFC/l (diagnostic, purge, travaux, température, détartrage...). Renforcement des contrôles physiques et microbiologiques et évaluation de l'étendue de la contamination du réseau.	10³ UFC <i>Legionella pneumophila</i> / Litre d'eau
Niveau d'action renforcée Appliquer les mesures de base ci-dessus en y ajoutant Une information adaptée des patients accompagnée de conseils. Mise en œuvre des actions curatives nécessaires (Montée en température Une mise en œuvre rapide des actions curatives nécessaires (température, purge, nettoyage et désinfection, filtration). En fonction de l'analyse bénéfice/risque pour les patients, la décision de supprimer les usages à risque (douches, bains de type « à remous », etc) et mettre en œuvre des moyens pour limiter l'exposition des patients aux aérosols (lavage au gant, bain...). Un suivi de l'efficacité des actions mises en œuvre	10⁴ UFC <i>Legionella pneumophila</i> / Litre d'eau

Les consignes d'intervention indiquées doivent être enclenchées sur les secteurs contaminés et ceux susceptibles de l'être, dès lors qu'une analyse effectuée à l'un des points représentatifs est défavorable, c'est à dire dépasse les valeurs indiquées. Lorsque les niveaux d'alerte et d'action sont dépassés, les actions préconisées doivent être maintenues jusqu'à obtention de résultats d'analyses conformes au niveau cible.

Q.2.3 Eaux de piscine de rééducation (hors bains à remous et douches à jets)

1. Indications

Il n'existe pas de réglementation particulière concernant la qualité des eaux de piscines de rééducation. En attente d'une législation spécifique pour assurer la sécurité sanitaire de ces équipements ayant des usages et des usagers particuliers, il est recommandé d'adopter les principes de surveillance des installations ouvertes au public, principes stipulés dans le décret 81-324 du 7 avril 1981 modifié par le décret 91-980 du 20 septembre 1991 (10). Il n'y a pas intérêt à rechercher *Legionella* au niveau des bassins, mais leur recherche est fortement recommandée au niveau des douches, pour une eau utilisée à une température supérieure à 25°C, cf. tableau XI.

2. Fréquence des prélèvements

Les contrôles sont réalisés mensuellement sur l'eau des bassins et trimestriellement sur l'eau des douches pour la recherche de *Legionella pneumophila*.

3. Modalités de prélèvement

Le prélèvement est fait hors présence humaine le matin, avant l'accès des patients. Il est effectué par immersion d'un récipient stérile à 20 ou 30 cm de la surface. Si l'eau est chlorée, l'eau recueillie est transférée dans un deuxième récipient stérile contenant du thiosulfate de sodium. La température est systématiquement relevée.

4. Analyses

Le contrôle microbiologique doit comporter le dénombrement :

- dans 1 ml : des bactéries aérobies revivifiables à 37°C (Norme AFNOR NF T 90-421) ;
- dans 100 ml : des coliformes totaux à 37°C, des *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* (Norme AFNOR NF T 90-421 et ses annexes A et B);
- En cas de positivité de la recherche de coliformes totaux, une identification sera effectuée sur chaque type de colonie.
- dans 1 l : de *Legionella pneumophila* (norme AFNOR NT 90-431 ou norme ISO 11731).

Les techniques d'analyse pour la recherche des bactéries aérobies revivifiables, des coliformes totaux et de *L. pneumophila* sont normalisées. La technique de recherche de *P. aeruginosa* est décrite page 40 . En attendant une normalisation européenne, la méthodologie proposée à l'annexe A de la norme NF T 90-421 (qui ne fait pas partie intégrante de la norme) peut être utilisée pour la recherche de *Staphylococcus aureus* : 100 ml sont filtrés sur un filtre de 0,45 µm, qui est déposé sur milieu de Chapman mannité lequel sera incubé à 37°C ± 1°C pendant 48h.

Des mesures quotidiennes du chlore libre et du pH sont nécessaires. En cas d'emploi d'isocyanurates, une mesure hebdomadaire du taux de stabilisant est nécessaire.

5. Interprétation des résultats

Les résultats attendus sont donnés dans le tableau XII. Les niveaux « cible » et « action » sont confondus, car bien que le décret n°81-324 ne fasse pas référence à ces critères d'interprétation, il précise que l'eau des bassins doit répondre à des normes. Le dépassement des niveaux cibles doit donc déclencher une action. En effet, l'eau des bassins est traitée et les indicateurs recherchés sont représentatifs de l'efficacité des traitements mis en œuvre.

Tableau XII : Critères d'interprétation concernant les eaux de piscine de rééducation (adaptés selon le décret n° 81-324 du 7 avril 1981 modifié)

Recherche	Niveau cible ¹
Flore aérobie revivifiable à 37°C dans 1 ml	< 100 UFC
Coliformes totaux à 37°C dans 100 ml	< 1 UFC ²
<i>Staphylococcus aureus</i> dans 100 ml	< 1 UFC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans 100 ml	< 1 UFC

¹ Tout dépassement du niveau cible doit déclencher une action

² Dans le cas particulier des piscines de rééducation une exigence supérieure à celle du décret N° 81-324 du 7 avril 1981 est demandée.

Q.2.4. Eau des bains à remous et des douches à jets

1. Indications

L'utilisation des eaux des bains à remous et des douches à jet est comparable à celle pratiquée dans les établissements thermaux pour le même type de soins du fait du risque élevé d'aérosolisation et la recherche de *Legionella pneumophila* est indispensable dans tous les cas.

2. Fréquence des prélèvements

Les contrôles doivent être réalisés mensuellement.

3. Modalités de prélèvement

Le prélèvement est fait au niveau des points d'usage le matin avant l'accès des patients aux bassins.

4. Analyses

Le contrôle microbiologique doit comporter le dénombrement :

- dans 1 ml : des bactéries aérobies revivifiables à 37°C (Norme AFNOR NF T 90-421);
- dans 100 ml : des coliformes totaux à 37°C, des *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* (Norme AFNOR NF T 90-421 et ses annexes A et B);
- En cas de positivité de la recherche de coliformes totaux, une identification sera effectuée sur chaque type de colonie.
- dans 1 l : de *Legionella pneumophila* (norme AFNOR NT 90-431 ou norme ISO 11731).

Les techniques d'analyse pour la recherche des bactéries aérobies revivifiables, des coliformes totaux, et de *L. pneumophila* sont normalisées. Les techniques de recherche de *P. aeruginosa* et *S. aureus* sont décrites [page 40 et 53](#).

5. Interprétation des résultats

Les résultats à atteindre sont proposés dans le tableau XIII. Les niveaux cible et d'action sont confondus, car le décret n°81-324 ne fait pas référence à ces critères d'interprétation, mais précise que l'eau des bassins doit répondre à des normes. Le dépassement de ces niveaux doit donc déclencher une action.

Du fait du risque élevé d'aérosolisation, l'absence de *Legionella pneumophila* est, ici, un facteur à surveiller particulièrement.

Tableau XIII : Critères d'interprétation concernant les eaux des bains à remous et des douches à jets (adaptés selon le décret n° 81-324 du 7 avril 1981)

Recherche	Niveau cible ¹
Flore aérobie revivifiable à 37°C dans 1 ml	< 100 UFC
Coliformes totaux à 37°C dans 100 ml	< 1 UFC ²
<i>Staphylococcus aureus</i> dans 100 ml	< 1 UFC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dans 100 ml	< 1 UFC
<i>Legionella pneumophila</i> dans 1 l	< 50 UFC ³

¹ Tout dépassement du niveau cible doit déclencher une action

² Comme pour les piscines de rééducation, une exigence supérieure à celle du décret N° 81-324 du 7 avril 1981 est demandée.

³ Seuil de détection fixé par la norme. L'objectif est de se situer en dessous du seuil de détection.

Q.2.5. Eaux pour hémodialyse

L'eau de dialyse est généralement produite à partir de l'eau du réseau de distribution après avoir subi une filière de traitement. La qualité microbiologique et endotoxinique de l'eau d'alimentation des générateurs de dialyse est codifiée par la Pharmacopée Européenne (3^{ème} édition) dans la monographie « eau pour dilution des solutions concentrées pour hémodialyse ». Celles des eaux destinées à l'hémofiltration et à l'hémodiafiltration en ligne ont été définies dans la circulaire DGS/DH/AFSSAPS n° 2000-311 du 7 juin 2000 relative aux spécifications techniques et à la sécurité sanitaire de la pratique de l'hémofiltration et de l'hémodiafiltration en ligne dans les établissements de santé (11).

La circulaire DGS/DH/AFSSAPS n°2000-317 du 20 juin 2000 relative à la diffusion d'un guide pour la production d'eau pour l'hémodialyse des patients insuffisants rénaux fixe un programme minimal annuel de contrôle des installations de traitement d'eau en fonction du nombre de séances d'hémodialyse pratiquées par an dans l'établissement (12).

Pour l'hémodiltration et l'hémodiafiltration en ligne, les dispositions de la circulaire DGS 2000-311 du 7 juin 2000 doivent être prises en compte (11). Le dénombrement des germes totaux se fait sur un échantillon d'un litre, en utilisant la technique de filtration sur membrane, après mise en culture sur des milieux pauvres, de type TGEA ou R2A, pendant une durée minimale de 7 jours à 20-22°C. En cas de culture positive par les techniques usuelles, l'identification des germes est indispensable. Les critères de qualité exigés pour les eaux destinées à l'hémodialyse conventionnelle, pour l'hémodiltration et l'hémodiafiltration en ligne sont présentées sur le tableau XIV.

Tableau XIV : Critères de qualité exigés pour les eaux destinées à l'hémodialyse conventionnelle, pour l'hémodiltration et l'hémodiafiltration en ligne.

	Niveau d'action
Hémodialyse conventionnelle	
(Eau d'alimentation des générateurs)	
Flore aérobie revivable	< 100 UFC / ml ¹
Endotoxines	< 0,25 UI / ml
Hémodiltration et hémodiafiltration en ligne	
(Eau d'alimentation des générateurs ou du dialysat)	
Flore aérobie revivable	< 100 UFC / l
Endotoxines	< 0,25 UI / ml

¹ En pratique, les centres de dialyse exigent une qualité supérieure à celle de la pharmacopée pour l'eau de dilution des concentrés d'hémodialyse (<10 UFC/100 ml). La qualité physico-chimique est définie dans la pharmacopée européenne.

Q.2.6. Eau purifiée

Cette eau purifiée est codifiée par la monographie de la Pharmacopée Européenne désignant une eau utilisée pour la préparation de médicaments autres que ceux qui doivent être stériles et exempts de pyrogènes. Elle est produite à partir d'eau potable

par différents procédés : osmose inverse et/ou déminéralisation et/ou distillation. Elle se présente en vrac ou conditionnée en récipient.

Le contrôle de ces eaux est à la charge du producteur et doit respecter les normes définies par la Pharmacopée Européenne. La qualité exigée pour l'eau purifiée, déterminée par filtration sur membrane, après mise en culture sur milieu gélosé B, est : flore aérobie revivable ≤ 100 UFC / ml. La concentration en endotoxines doit être $< 0,25$ UI / ml. Il convient d'exiger du fabricant des certificats de contrôles des lots.

Q.2.7. Eau hautement purifiée

Cette eau hautement purifiée est codifiée par la monographie de la Pharmacopée Européenne 2002 (*Addendum 4.2*) désignant une eau utilisée pour la préparation de médicaments lorsqu'une eau d'une qualité élevée est nécessaire, sauf dans les cas où l'emploi de l'eau pour préparation injectable est requis.

Le contrôle de ces eaux est à la charge du producteur et doit respecter les normes définies par la Pharmacopée Européenne. La qualité exigée pour l'eau hautement purifiée est : germes aérobies viables totaux ≤ 10 UFC / ml. Il convient d'exiger du fabricant des certificats de contrôles des lots.

Q.2.8. Eau des fontaines à usage de boisson

L'eau des fontaines doit répondre aux mêmes critères de potabilité que l'eau aux points d'usage Q.1.1b (voir tableaux V et VII). Elle est considérée comme une eau traitée car elle est rafraîchie à une température entre 8 et 12°C afin d'être désaltérante et d'amoindrir le goût de chlore. Du fait de son usage, il est possible de l'intégrer dans le plan d'échantillonnage de l'eau alimentaire aux points d'usage (voir chapitre des eaux Q.1.1).

Q.3. EAUX STERILES

Ces eaux ne sont pas fabriquées par les établissements de soins. Elles sont citées ici pour mémoire en terme de définition.

Q.3.1 Eau pour préparations injectables

Le contrôle est à la charge du producteur et doit respecter les normes définies par la Pharmacopée Européenne.

L'eau pour préparations injectables « en vrac » est destinée à la préparation industrielle de médicaments par voie parentérale dont le véhicule est aqueux. Elle n'est pas nécessairement stérile car c'est le produit final qui sera stérilisé et sa qualité définie par la Pharmacopée est celle de l'eau hautement purifiée en vrac : ≤ 10 UFC/100 ml est la valeur seuil déterminée par filtration sur membrane en utilisant du milieu gélosé B et au moins 200 ml d'eau pour préparations injectables en vrac. De plus le taux d'endotoxines bactériennes doit être inférieur à 0,25 UI par millilitre.

L'eau pour préparation injectable stérilisée est destinée à la dissolution de préparation pour administration parentérale au moment de l'emploi. Elle doit répondre aux exigences de qualité de la Pharmacopée Européenne pour l'eau hautement purifiée, mais en plus doit être stérile.

Q.3.2 Eau pour irrigation (eau versable)

Cette appellation est codifiée par la Pharmacopée Européenne dans la monographie « Préparations pour irrigation » qui désigne des préparations aqueuses stériles de grands volumes, destinées à l'irrigation des cavités, des lésions et des surfaces corporelles, par exemple au cours d'interventions chirurgicales. Les récipients sont unidoses (flacon versable) et leur orifice ne doit pas être adaptable aux dispositifs de perfusion. L'étiquetage doit indiquer que l'eau ne doit pas être injectée, qu'elle doit être utilisée en une seule fois et que les quantités non utilisées doivent être jetées.

L'eau pour irrigation doit être stérile et contenir moins de 0,5 UI/ml d'endotoxines bactériennes.

Q.3.3 Eau potable stérilisée

Cette eau est obtenue par ébullition ou autoclavage de l'eau à usage alimentaire de type Q.1.1. Elle est préconisée par la circulaire DGS/VS4 n° 97-413 du 30 mai 1997, relative à la microbiologie des eaux destinées à la consommation humaine et au risque parasitaire pour la boisson et pour la consommation d'eau dans les préparations alimentaires non cuites destinées aux patients immunodéprimés.

Références

1. Directive européenne 98/83/CE du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. JOCE n° L 330 du 5 décembre 1998.
2. Décret 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles. JO du 22 décembre 2001.
3. Arrêté du 12 novembre 1998 portant modalités d'agrément des laboratoires pour certains types d'analyse des eaux ou des sédiments. JO du 30 décembre 1998.
4. Circulaire DGS/PGE/1D n° 2068 du 30 décembre 1986 relative aux fontaines réfrigérantes.
5. Circulaire DHOS/E2/DGS/SD5C/2002 relative aux modalités de traitement manuel pour la désinfection des endoscopes non autoclavables dans les lieux de soins (a paraître courant 2002).
6. Circulaire DGS/VS2 n° 97-311 du 24 avril 1997 relative à la surveillance et à la prévention de la légionellose (BO du Ministère des affaires sociales, de la ville et de l'intégration n° 22 du 2 juillet 1997)..
7. Circulaire DGS n° 98/771 du 31 décembre 1998 relative à la mise en œuvre de bonnes pratiques d'entretien des réseaux d'eau dans les établissements de santé et aux moyens de prévention du risque lié aux légionelles dans les installations à

risque et dans celles des bâtiments recevant du public (BO du Ministère de l'emploi et de la solidarité n° 99/3).

8. Circulaire DGS/SD7A/SD5C/DHOS E 4 n° 2002/243 du 22 avril 2002 relative à la prévention de la légionellose dans les établissements de santé.
9. Campese C, Decludt B. Les légionelloses déclarées en France en 2000. BEH 2001 ; n 42 : 199-201.
10. Décret n° 81-324 du 7 avril 1981 fixant les normes d'hygiène et de sécurité applicables aux piscines et aux baignades aménagées (JO du 10 avril 1981) modifié par le décret n° 91-980 du 20 septembre 1991 (JO du 26 septembre 1991).
11. Circulaire DGS/DH/AFSSAPS n° 311 du 7 juin 2000 relative aux spécifications techniques et à la sécurité sanitaire de la pratique de l'hémofiltration et de l'hémodiafiltration en ligne dans les établissements de santé.
12. Circulaire DGS/DH/AFSSAPS n°200-317 du 20 juin 2000 relative à la diffusion d'un guide pour la production d'eau pour l'hémodialyse des patients insuffisants rénaux.

IV.3 Surfaces

1. Indications

Les indications des prélèvements de surface sont les suivantes :

- travaux dans le secteur maîtrisé ou un secteur adjacent
- survenue d'une épidémie, en fonction de l'écologie du germe concerné
- indicateurs de résultats dans une démarche qualité globale ou dans un plan de contrôle.

Il est essentiel d'éviter une inflation d'analyses inutiles. C'est pourquoi, en aucun cas, ces prélèvements d'environnement ne doivent être systématiques en dehors du cadre très spécifique d'une démarche qualité (exemples : bloc opératoire, stérilisation ou HACCP en cuisine...).

2. Lieux et points de prélèvements

Il est important d'adapter le plan de prélèvement à l'environnement et d'établir au préalable une analyse critique des points à surveiller prioritairement. Ainsi, les lieux et points de prélèvements choisis doivent être ceux qui, après analyse des risques, présentent le risque infectieux le plus élevé pour les patients. Pour un suivi comparatif, il faut conserver les mêmes points de prélèvements, et ceux-ci doivent être effectués selon la même méthodologie. La position des points de prélèvements doit être reportée sur un plan des locaux ou de l'équipement à contrôler. A titre d'exemple, différents lieux et points de prélèvements sont présentés dans le tableau XV.

Tableau XV : Exemples de points de prélèvements en fonction des locaux

Locaux	Prélèvements
- salle d'opération - salle de radiologie interventionnelle	→ au moins 10 points choisis dans la zone opératoire (table d'opération, scialytique, table d'instrumentation...)
- chambre d'isolement protecteur avec flux laminaire	→ 5 à 10 points sous le flux (paroi du dais, lit, adaptable) et hors flux (plan de préparation des médicaments)
- hottes à flux laminaire	→ 3 points minimums
- service de stérilisation : zone de conditionnement (circulaire n°672 du 20 octobre 1997 et bonnes pratiques de pharmacie hospitalière)	Non fixé

En règle générale, les prélèvements au niveau des sols et murs ne présentent pas d'intérêt **sauf dans le cas de la surveillance de l'environnement des malades à « risque fongique » et en particulier pour la recherche d'*Aspergillus* spp.** (3, 4).

3. Fréquence des prélèvements

La fréquence des prélèvements dépend du type d'établissement et de l'environnement. Ponctuel en cas d'épidémie et de travaux et dans les autres cas, avec une périodicité définie par le CLIN et l'équipe opérationnelle d'hygiène dans le cadre d'un plan d'échantillonnage intégré dans une démarche qualité.

4. Méthodologie

Notion de rendement : le rendement témoigne de l'efficacité du prélèvement ; c'est le rapport entre le niveau obtenu de résultat et le niveau réel de contamination. Ce rendement est directement lié à la nature de la surface (résine, métal, carrelage...), à

la régularité de cette surface (lisse, rugueux...) et à la force appliquée. Il dépend également directement du milieu de culture et de l'analyse (choix du milieu, nature des inhibiteurs d'antiseptiques, température et durée d'incubation...). Il est possible de déterminer ce coefficient de rendement en déposant sur la surface, au préalable parfaitement nettoyée, une quantité connue de germes puis en répétant plusieurs prélèvements sur la même surface.

Il est très important d'utiliser une méthode standardisée afin de pouvoir comparer les résultats obtenus. Le projet de norme AFNOR pr EN 1632-3 préconise une pression de 500g (± 50 g) pendant 10 secondes sur une surface de 25cm² (1). Cette méthode doit être utilisée sur les surfaces planes. Dans un esprit comparable, la norme ISO /DIS 14698-1 « salles propres et environnements maîtrisés apparentés » précise, dans son annexe D, qu'une pression constante et uniforme de 25g/cm² sera appliquée durant 10 secondes sur l'ensemble de la surface de contact (sans mouvement circulaire ou linéaire) (2). Cette norme propose également une technique par écouvillonnage qui s'applique à des surfaces difficilement accessibles ou non planes et peut être employée lorsque le prélèvement par gélose contact n'est pas réalisable. La méthode utilisant la gélose contact est plus sensible pour détecter les bactéries globalement et la présence des cocci à Gram positif dans l'environnement, bien que la technique par écouvillonnage humide semble mieux détecter les bacilles à Gram négatif (5, 6). Pour la recherche des champignons, les deux méthodes sont équivalentes (5).

Le rendement (rapport entre le niveau obtenu de résultat et le niveau réel de contamination) est directement lié à la nature de la surface (résine, métal, carrelage...), à la régularité de cette surface (lisse, rugueux...) et à la force appliquée. Il dépend également directement du milieu de culture et de l'analyse (choix du milieu, nature des inhibiteurs de désinfectants, température et durée d'incubation...). Il est possible de déterminer ce coefficient de rendement en déposant sur la surface, au préalable parfaitement nettoyée, une quantité connue de germes puis en répétant plusieurs prélèvements sur la même surface.

5. Interprétation

L'expression des résultats est faite en nombre de particules viables par 25 cm² de surface. Les résultats sont comparés aux critères d'interprétation proposés dans le tableau XVI.

Tableau XVI : critères d'interprétation proposés pour les prélèvements de surface

Zones protégées	Résultats en Unités Formant Colonies / 25 cm ²	
	<i>Aspergillus ou autre champignon filamenteux</i>	Germes totaux ¹
- salle d'opération		
- salle de radiologie interventionnelle	➤ Cible : < 1	➤ Cible : ≤ 5 et absence de germes pathogènes
- chambre d'isolement protecteur avec flux laminaire	➤ Alerte : 1 ➤ Action : 1	➤ Action : > 5 ou présence de germes pathogènes
- hottes à flux laminaire		
- service de stérilisation : zone de conditionnement (circulaire n°672 du 20 octobre 1997 et bonnes pratiques de pharmacie hospitalière)		Non fixé

¹ Prélèvements effectués après bionettoyage et hors activité humaine

Références :

1. Pr EN 1632-1 ; Technologie des salles propres - Maîtrise de la biocontamination. Méthodes d'analyse et de mesurage de la biocontamination des surfaces dans les zones à risque.
2. ISO/DIS 14698 -1. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. Partie 1 : principes généraux.
3. Conférence de consensus : Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés (hématologie, transplantation) – texte court ; HygièneS 2000 ; VIII : 310-14.
4. Grillot R, Nolard N. Surveillance de l'environnement des malades à risque fongique : méthodes d'évaluation et utilité. HygièneS 2000 ; VIII : 408-17.
5. Gangneux JP, Poirot JL, Morin O et al. Surveillance mycologique de l'environnement pour la prévention de l'aspergillose invasive. Proposition de standardisation des méthodologies et modalités d'application. Presse Med 2002 ; 31 : 841-8.
6. Lemmen SW, Hafner H, Zolldann D, Amedick G, Lutticken R. Comparison of two sampling methods for the detection of gram-positive and gram-negative bacteria in the environment : moistened swab versus Rodac plates. Int J Hyg Environ Health 2001 ; 203 : 245-8.

V. CONCLUSION

Bien qu'il soit difficile de démontrer si la contamination environnementale est la cause ou la conséquence de l'infection, des arguments indirects permettent le plus souvent d'impliquer l'environnement comme réservoir primaire ou secondaire potentiellement à l'origine d'infections nosocomiales. Les agents les plus indiscutablement impliqués dans la transmission et l'infection à partir d'un réservoir environnemental (en dehors du cas particulier de la transmission aéroportée dans les blocs opératoires en chirurgie propre) sont le plus souvent des micro-organismes d'origine environnementale comme les légionelles, les *Aspergillus*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Acinetobacter baumannii*. Pour les micro-organismes provenant du tube digestif, de la peau ou des muqueuses humaines, la transmission inter-humaine est certainement fortement prédominante par rapport à la transmission à partir de l'environnement qui exige une capacité élevée de survie des micro-organismes. Les staphylocoques, les entérobactéries, les entérocoques, *Mycobacterium tuberculosis*, *Clostridium difficile* ou certains virus comme les rotavirus sont alors les plus fréquemment impliqués.

L'identification de certaines niches écologiques potentiellement à l'origine d'infections nosocomiales (aspergillose, légionellose) rend indispensable la maîtrise de l'environnement hospitalier afin de protéger les patients, en particulier les plus fragiles, et le personnel soignant. Le niveau de maîtrise à atteindre repose sur la mise en œuvre de démarches d'analyse des risques et sur la définition de niveaux de qualité adaptés à chaque grand type de situation. L'application des mesures d'hygiène et d'une maintenance préventive rigoureuse par un personnel formé et motivé doivent permettre d'obtenir et maintenir ces niveaux de qualité. La surveillance de cette maîtrise passe, en priorité, par les contrôles des procédés auxquels, sous certaines conditions, on peut associer des indicateurs de résultats incluant les prélèvements microbiologiques d'environnement.

VI. GLOSSAIRE

Accréditation

Procédure par laquelle un organisme d'accréditation reconnaît formellement qu'un organisme ou un individu est compétent pour effectuer des tâches spécifiques. L'organisme d'accréditation des laboratoires en France est le COFRAC (Comité Français d'Accréditation). L'ANAES accrédite les établissements de santé dans leur globalité.

Action(s) corrective(s)

Action à entreprendre quand les résultats de la surveillance de la biocontamination indiquent que l'on a dépassé les niveaux d'alerte ou d'action.

Aérobiocontamination

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

Agrément

Permission, approbation délivrée par autorité particulière en référence à des normes spécifiques.

Assurance de la qualité

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

Biocontamination

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

Biofilm

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

Clostridium sulfito-réducteurs

Groupe important de bactéries à Gram positif, anaérobies et qui forment des spores (ISO 6107) et sont capables de réduire les sulfites en sulfure. L'espèce la plus importante est *Clostridium perfringens*. Leur habitat naturel est le sol ou le gros intestin de l'homme ou des animaux. Les spores peuvent survivre de longues périodes dans les fèces, le sol, la poussière et l'eau. Leur présence dans l'eau peut être utilisée pour détecter une pollution fécale ancienne ou intermittente.

Coliformes

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

Coliformes fécaux

Organismes coliformes qui peuvent se développer et avoir les mêmes propriétés fermentaires et biochimiques à 44°C que celles qu'ils ont à 37°C (FD ISO 6107). La principale espèce recherchée est *Escherichia coli*, entérobactérie typiquement d'origine fécale.

Conformité

Satisfaction aux exigences spécifiées. En opposition à la non conformité qui est la non satisfaction à une exigence spécifiée.

Contrôle de qualité

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

Critère

Enoncé d'un moyen ou d'un élément permettant de satisfaire une référence (ANAES).

Démarche qualité

Ensemble des actions que mène l'établissement pour développer la satisfaction de ses utilisateurs.

Eaux (types d'eaux)

Pour la définition des différents types d'eaux dans les établissements de santé, voir le chapitre « eaux » du guide

Echantillon microbiologique

Petite quantité représentative d'une substance prélevée en aseptie dans un contexte stérile et correctement conservée et manipulée en vue d'examens microbiologiques.

Echantillonnage de l'environnement

Action qui consiste à prélever une partie considérée comme représentative d'un élément de l'environnement en vue de l'examen de diverses caractéristiques définies. Il existe de multiples situations d'échantillonnage. Pour certaines d'entre elles, le prélèvement de simples échantillons ponctuels est suffisant, alors que d'autres exigent des équipements d'échantillonnage sophistiqués.

Entérocoques

Streptocoques fécaux (obsolète). Groupe de bactéries à Gram positif, aérobies et anaérobies facultatives, qui habitent normalement le gros intestin de l'homme et des animaux homéothermes ; ces bactéries possèdent l'antigène du groupe D de Lancefield, sont catalase négatives, capables de croître à 45°C et d'hydrolyser l'esculine, en présence de 40% de sels biliaries, et le méthyl-4 umbelliferryl-D-glucuronide (MUG), en présence d'acétate de thallium et d'acide nalidixique (ISO 6107). Leur présence dans l'eau, même en l'absence d'*Escherichia coli*, indique généralement une pollution fécale.

Environnement maîtrisé

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

Escherichia coli

Entérobactérie, hôte habituelle de l'intestin des hommes et animaux. C'est une bactérie coliforme thermotolérante aérobie qui fermente le lactose ou le mannitol avec production à la fois d'acide et de gaz, forme de l'indole à partir du tryptophane et hydrolyse le méthyl-4 umbelliferryl-D-glucuronide (MUG), le tout à 44°C (ISO 6107). Du fait d'une courte durée de survie dans l'environnement et d'une incapacité de reproduction dans les milieux aquatiques, sa présence dans l'eau témoigne d'une contamination fécale récente.

Filtration sur membrane

Technique d'élimination ou de concentration des particules des fluides, incluant les micro-organismes (mais non les virus libres), par filtration à travers un filtre de porosité connue (ISO 6107).

Flore aérobie revivifiable à 22 et à 37°C

Bactéries, levures et moisissures se développant en aérobiose à 22°C ± 2°C pendant 68 ± 4 heures et à 36°C ± 2°C pendant 44 heures ± 4 heures sur des milieux définis (ISO 6222).

Indicateur

C'est une donnée constatant une situation et permettant de la caractériser ou de l'interpréter. Il peut s'agir d'une variable quantitative ou qualitative. Ces indicateurs peuvent évaluer les structures, les procédures ou les résultats.

Legionella

Groupe d'espèces bactériennes pathogènes à Gram négatif, thermotolérantes et non sporulantes largement représentées dans les eaux, notamment les vases et les dépôts. La croissance de ces espèces est optimale entre 30 et 45°C. L'espèce *Legionella pneumophila* est la principale responsable de la légionellose.. elle est

capable de croissance ralentie aux températures supérieures à 20°C et tolère des températures jusqu'à 55°C.

Maîtrise de la qualité

Techniques et activités à caractère opérationnel utilisées en vue de répondre aux exigences relatives à la qualité (ISO 8402). Le but de la maîtrise de la qualité est d'obtenir la conformité du produit ou service réalisé. Pour cela, il faut exprimer explicitement les exigences pour la qualité, et mettre en œuvre des techniques qui permettent de satisfaire ces exigences.

Mesurage

Action de mesurer par un procédé direct et concret.

Mesure

Action de déterminer la valeur de certaine grandeur par comparaison avec une grandeur constante de même espèce, prise comme référence (étalon, unité).

Niveau d'action

Niveau établi en référence à des normes réglementaires, des recommandations ou à défaut par l'utilisateur, devant immédiatement déclencher, lorsqu'il est dépassé, un examen et des actions correctives fondées sur cet examen.

Niveau d'alerte

Niveau ou seuil défini, établi en référence à des normes réglementaires, des recommandations ou à défaut par l'utilisateur, qui détecte précocement une dérive potentielle des conditions normales de fonctionnement, avec une tendance vers un dépassement des seuils. 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.

Niveau cible

Niveau ou seuil défini, établi en référence à des normes réglementaires, des recommandations ou à défaut par l'utilisateur, qui vise à obtenir et à maintenir des conditions normales de fonctionnement.

Normalisation

L'organisme unique qui est chargé d'établir les normes en France est l'AFNOR. Cet organisme est une association loi de 1901 déclaré d'intérêt public qui a également une activité d'organisme certificateur de produits (marque NF). A l'échelon européen, c'est le CEN (Comité Européen de normalisation) qui est l'organisme de normalisation. A l'échelon international, c'est l'ISO (International Standard Organisation) qui est l'organisme mondial de normalisation.

Norme

La définition de la norme varie en fonction du contexte dans laquelle on l'applique. Dans le cadre de la réglementation, la norme représente des exigences à respecter et la conformité à cette norme conditionne l'autorisation d'exercer une activité. Ces normes présentent un caractère obligatoire dans le cas où elles seraient imposées par un texte réglementaire (Décret, Arrêté).

Dans le cadre de l'évaluation des pratiques professionnelles, la norme peut être utilisée comme une spécification technique validée par un organisme reconnu.

Organisme pathogène

Qualifie un organisme capable de causer une maladie chez un végétal ou un animal prédisposé, y compris chez l'homme (ISO 6107).

Plan d'échantillonnage

Plan de prélèvements incluant la fréquence des prélèvements et l'emplacement des points de prélèvement des échantillons.

Point critique maîtrisable

Tout point, procédure ou étape qui peut être maîtrisé afin d'éliminer ou de réduire à un niveau acceptable le risque de biocontamination.

Procédure

La procédure est une manière spécifiée d'exécuter une activité (ISO 8402). Dans de nombreux cas, les procédures sont exprimées par des documents. Une procédure, quand elle est écrite comporte généralement l'objet et le domaine d'application d'une activité :

- ce qui doit être fait et qui doit le faire,
- quand, où et comment cela doit être fait,
- quels matériels, équipements et documents doivent être utilisés,
- comment cela doit être maîtrisé et enregistré.

La procédure peut être complétée par des instructions de travail détaillant l'action à accomplir.

Pseudomonas aeruginosa

Espèce bactérienne aérobie stricte à Gram négatif, non sporulante, produisant une oxydase, une catalase et des pigments, présente dans le milieu aquatique et capable d'utiliser de nombreux composés organiques et non organiques simples pour assurer sa croissance. Elle est très souvent impliquée dans les infections nosocomiales.

Qualité

Ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites (ISO 8402).

Réservoir de micro-organismes

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

Salle d'opérations

Salle de volume délimité à l'intérieur duquel on pratique des opérations chirurgicales et dont on a réduit, par des moyens technologiques, l'empoussièrlement particulaire et l'aérobiocontamination (NFS 90-351)

Streptocoques fécaux

Voir entérocoques

Traçabilité

Aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou la localisation d'une entité au moyen d'identifications enregistrées (ISO 8402).

Unité de stérilisation

Activité optionnelle de la pharmacie à usage intérieur des établissements de santé et dont la mission est la préparation des dispositifs médicaux stériles.

Unité formant colonies (UFC)

Micro-organismes viables et cultivables, isolés ou agglomérés que l'on dénombre comme une seule unité sur un milieu gélosé.

Zone à risque de biocontamination

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