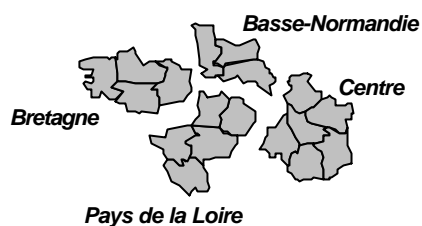


C.CLIN-Ouest

Centre de Coordination de la Lutte
contre les Infections Nosocomiales
(Inter région Ouest)



St Pierre et
Miquelon

Recommandations pour les contrôles d'environnement dans les établissements de santé

Rédaction : Annie Le Guyader, C.CLIN-Ouest

Octobre 1999

C.CLIN-Ouest. CHRU Pontchaillou
2, rue Henri Le Guilloux. 35033 RENNES Cedex 9
Tel 02 99 28 43 62 Fax 02 99 28 43 65

**Recommandations pour les
contrôles d'environnement
dans les établissements de santé**

Rédaction : Annie Le Guyader, C.CLIN-Ouest

Octobre 1999

Membres du Groupe

M.	AUGE	Polyclinique Sévigné	CESSON SEVIGNE
Mme	BEAUGAS	Centre Hospitalier	AVRANCHE GRANVILLE
M.	BERTHELOT	Clinique Jeanne D'Arc	ST BRIEUC
M. le Dr.	BILLAUX	Clinique St Côme	BLOIS
M. le Dr.	BRANGER	C.CLIN-Ouest	RENNES
Mme	BRISHOUAL	Centre Hospitalier	CHATEAUBRIANT
M.	BRUNENGO	Polyclinique du Maine	LAVAL
M. le Dr.	CARTRON	Centre Hospitalier Général	DREUX
M.	CHARLES	Polyclinique du Maine	LAVAL
Mme Dr.	CHARTIER	Clinique Mutualiste de la Sagesse	RENNES
M.	EMARD	Centre de Biologie Médicale	NANTES
Mme	FENNETEAU	CHRU	TOURS
Mme	FORTIN	Centre Hospitalier	SABLE sur SARTHE
Mme	FOSSE	Centre Hospitalier	SABLE sur SARTHE
M.	GAUTIER	Clinique St Côme	BLOIS
M.	GAUTIER	CHRU	RENNES
M.	GEORGES	Centre Hospitalier	CHOLET
M.	GRENIER	Polyclinique Armor et Argoat	GUINGAMP
Mme Dr.	GROLIER-BOIS	Centre Hospitalier	FLERS
Mme	KERYHUEL	Centre Hospitalier Général	LE MANS
M.	LAURENS	Centre Hospitalier	CHOLET
Mme Dr.	LE BOUQUIN	Centre Hospitalier de Bretagne Sud	LORIENT
M.	LE BRIS	Clin. chir. de la Porte de l'Orient	LORIENT
M.	LETREUT	Clinique St Vincent	St GREGOIRE
M.	MANUEL	AES Laboratoire	COMBOURG
Mme	MESNARD	Centre Hospitalier Général	SAUMUR
Mme	NAUDIN	Centre Hospitalier	ANCENIS
Mme	NAY	Centre Hospitalier	LAVAL
Melle	POISSON	CHRU	RENNES
Mme	RAMONT	CHRU	ANGERS
M. le Dr.	ROUCHET	Polyclinique du Maine	LAVAL
Mme	TENAILLEAU	Centre Hospitalier	CHOLET
Mme le Dr.	VAN DER MEE	CHU	TOURS
M.	VIEAU	Centre Hospitalier Général	ST MALO
M. le Dr.	WIESEL	Centre Hospitalier Départemental	LA ROCHE SUR YON
Mme	ZBIERSKI	Centre Hospitalier	LAVAL

Table des matières

INTRODUCTION	7
A. <i>Objectifs</i>	7
B. <i>Champs d'application</i>	7
C. <i>Précautions</i>	7
D. <i>Avertissement</i>	8
PRELEVEMENTS DE SURFACES	9
I. OBJECTIFS	10
II. METHODES DE PRELEVEMENTS	10
A. <i>Qui ?</i>	10
1. Réalisation.....	10
2. Analyse, lecture.....	10
B. <i>Comment ?</i>	10
1. Contrôle bactériologique.....	10
2. Recherche d' <i>Aspergillus</i>	12
3. Méthode par ATPmétrie.....	12
III. LES LOCAUX ET LES FREQUENCES DE PRELEVEMENTS	13
IV. LES POINTS DE PRELEVEMENTS EN FONCTION DES LIEUX	14
V. LES VALEURS-SEUILS	15
VI. EXEMPLE DE FICHE TYPE DE RENDU DE RESULTATS	19
PRELEVEMENTS D'EAU	20
I. OBJECTIF	21
II. L'EAU DU RESEAU	21
A. <i>Contrôles de potabilité</i>	21
B. <i>Recherche de Pseudomonas aeruginosa</i>	23
1. Méthodologie des prélèvements et analyses	23
2. Périodicité des prélèvements	24
3. Résultats.....	24
C. <i>Recherche de Legionella</i>	24
1. Méthodologie des prélèvements et analyses	24
2. Périodicité des prélèvements	25
3. Résultats.....	25
III. L'EAU DES FONTAINES REFRIGEREES	25
A. <i>Méthodologie des prélèvements et analyses</i>	25
1. Sur le site.....	25
2. Au laboratoire.....	26
B. <i>Périodicité des prélèvements</i>	26
C. <i>Résultats</i>	26
IV. L'EAU MICROBIOLOGIQUEMENT MAITRISEE	27
A. <i>Méthodologie des prélèvements et analyses</i>	27
1. Sur le site.....	27
2. Au laboratoire.....	27
B. <i>Périodicité des prélèvements</i>	27
C. <i>Résultats</i>	28

V. L'EAU DES PISCINES DE REEDUCATION	28
A. Méthodologie des prélèvements et analyses	28
1. Sur le site.....	28
2. Au laboratoire.....	28
B. Périodicité des prélèvements	28
C. Résultats	29
VI. AUTRES TYPES D'EAU	29
PRELEVEMENTS D'AIR	30
CONTROLES MICROBIOLOGIQUES	31
I. OBJECTIFS	31
II. METHODE DU PRELEVEMENT	31
A. Qui ?	31
B. Comment ?	32
1. Choix de l'appareil préleveur.....	32
2. Choix des milieux de culture.....	32
3. Volume de prélèvement.....	33
4. Nombre d'échantillons par prélèvement.....	33
III. LIEUX ET POINTS DE PRELEVEMENT	33
IV. FREQUENCE DES PRELEVEMENTS	34
V. INTERPRETATION DES RESULTATS	34
A. Normes internes	35
B. Recommandations	36
CONTROLES PARTICULAIRES	38
I. OBJECTIFS	38
II. METHODE DU PRELEVEMENT	38
A. Qui?	38
B. Comment ?	38
1. Choix de l'appareil préleveur.....	38
2. Nombre d'échantillons par prélèvement.....	39
III. LIEUX ET POINTS DE PRELEVEMENT	39
IV. FREQUENCE DES PRELEVEMENTS	39
V. INTERPRETATION DES RESULTATS	40
ANNEXES	43
ANNEXE I : APPLICATEURS DISPONIBLES SUR LE MARCHE	44
ANNEXE II : CRITERES MICROBIOLOGIQUES SELON LES ZONES	44
ANNEXE III : DEFINITION DES ZONES	45
ANNEXE IV : BIOPROBEURS DISPONIBLES SUR LE MARCHE	47
ANNEXE V : SEUIL PARTICULAIRE ADMIS EN FONCTION DES LOCAUX	48
BIBLIOGRAPHIE	51
NORMES ET TEXTES OFFICIELS CITES	52

INTRODUCTION

A. Objectifs

Le groupe de travail propose dans ce document des recommandations pour les contrôles microbiologiques en hygiène hospitalière avec deux objectifs principaux :

1. Proposer aux établissements une méthode commune de prélèvements des surfaces, de l'eau et de l'air.
2. Aider à l'interprétation des résultats.

Ce programme doit s'intégrer dans la lutte contre les infections nosocomiales de l'établissement et par là même s'adapter à la spécificité de l'établissement en question.

B. Champs d'application

Les lieux concernés par ces recommandations sont tous les secteurs de soins des établissements de santé en particulier les blocs opératoires, les secteurs à risques (oncologie, hématologie, greffes...) et les services de stérilisation.

Les fréquences de prélèvements, en dehors de celles imposées par la législation, sont données à titre indicatif et doivent être déterminées en accord et sous la responsabilité du CLIN.

Si aucun contrôle n'était réalisé jusqu'à présent, une montée en charge devra être progressive et programmée dans le temps.

C. Précautions

Dans ce document, la tenue de l'opérateur ne sera pas détaillée, mais elle devra être en conformité avec le secteur contrôlé. De même l'entretien et la désinfection de la mallette de transport devront être pris en compte.

D. Avertissement

Ce document regroupe des recommandations et non des obligations. Il est une aide à la mise en place et à l'interprétation des contrôles réalisés.

Pour mémoire, le guide pour la prévention des infections de site opératoire de 1999 du CDC recommande « de ne pas pratiquer de prélèvements de routine dans les blocs opératoires, sauf en cas d'investigation d'épidémie » (catégorie IB de recommandation, c'est-à-dire fortement recommandée et prouvée par des études expérimentales, cliniques ou épidémiologiques).

Par ailleurs, les « 100 recommandations » stipulent (recommandation n° 51) : « Les contrôles d'environnement sont effectués et interprétés par du personnel compétent, selon des techniques appropriées et un plan d'analyse défini. Ils sont principalement réalisés pour rechercher la source d'un phénomène infectieux. Toutefois, certains contrôles sont réalisés en routine et le CLIN s'assure de leurs réalisations et prend connaissance de leurs résultats. »

PRELEVEMENTS DE SURFACES

I. OBJECTIFS

L'objectif de ces prélèvements est multiple :

- lors d'une enquête épidémiologique
- en validation d'un protocole de nettoyage et désinfection
- en contrôle de l'efficacité du bionettoyage (et désinfection)

II. METHODES DE PRELEVEMENTS

A. Qui ?

1. Réalisation

Les prélèvements doivent être réalisés de préférence par une personne extérieure au service, compétente et formée à ce type d'exercice ; il est recommandé que ce soit toujours la même personne. En l'absence de biotechnicien, le personnel peut suivre des stages de formation.

2. Analyse, lecture

Il est souhaitable que les prélèvements soient analysés et lus selon une même méthode afin d'en faciliter l'interprétation. Tous les milieux de culture utilisés devront être préalablement contrôlés (fertilité et stérilité).

B. Comment ?

1. Contrôle bactériologique

a) Méthode par empreinte

Cette méthode concerne les surfaces planes (ou des surfaces non planes avec un support de gélose flexible). Il est très important de la standardiser. La norme ISO/DIS 14698-1 « *Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Maîtrises de la biocontamination* » décrit une méthode que nous utiliserons. Après le prélèvement, il est conseillé d'enlever les traces de gélose sur la surface à l'aide d'une lingette.

- **Le milieu**

Le milieu utilisé est une gélose nutritive polyvalente, légèrement ménisquée et contenant des neutralisants, des résidus de produits bactéricides (généralement tween et lécithine) ; la surface de contact accessible doit être d'au moins est de 20 cm².

- **La pression**

La pression exercée durant le prélèvement doit être uniforme, constante et de 25 g/cm² pendant 10 secondes. Deux techniques peuvent être utilisées pour obtenir ces conditions :

- utiliser un poids de 500 g
- utiliser un applicateur

Actuellement sont disponibles sur le marché plusieurs applicateurs commercialisés (voir annexe I).

- **L'acheminement**

Les boîtes seront acheminées au laboratoire dans un délai inférieur à 12 heures.

- **La prise en charge au laboratoire**

Les boîtes sont mises à l'étuve à 30°C pendant 72 heures (première lecture possible après 48 heures mais les résultats définitifs seront donnés après 72 heures) puis pendant 48 heures à 20°C ou température ambiante afin d'observer le développement éventuel de champignons.

b) Méthode par écouvillonnage

Cette technique doit être uniquement utilisée dans 2 cas précis : recherche d'un germe très spécifique sur une surface plane ou recherche de germes dans une zone difficilement accessible et non plane (tuyaux, recoins, joints ...). Il ne s'agit donc que d'une analyse qualitative ou semi- quantitative.

- **L'écouvillon - Technique**

Dans les 2 cas, l'écouvillon stérile est préalablement humidifié dans un liquide stérile isotonique, avec une solution neutralisante (facultatif). Pour une surface plane, cet écouvillon est passé sur une zone définie en stries parallèles rapprochées en le faisant tourner légèrement, puis toujours sur la même zone en stries perpendiculaires aux premières (Norme ISO/DIS 14698-1).

- **L'acheminement**

L'écouvillon peut alors être remis dans son étui protecteur et transmis au laboratoire dans un délai de 2 heures ±1 heure.

- **La prise en charge au laboratoire**

Au laboratoire, en respectant les conditions d'asepsie de toute manipulation bactériologique, l'écouvillon sera "déchargé" dans un tube contenant 2 ml d'eau physiologique stérile ou dans le liquide de transport ; cette étape sera facilitée par une agitation au vortex. A partir de cette suspension, onensemencera soit 0,1 à 0,4 ml selon la technique du "râteau", soit 1 ml par inclusion, ou soit par filtration de la totalité en utilisant un milieu spécifiquement adapté à la recherche du germe. La température et la durée d'incubation seront adaptées à la nature du germe recherché.

2. Recherche d'*Aspergillus*

a) Méthode par empreinte

Une méthode par empreinte pour la recherche d'*Aspergillus* est proposée par quelques laboratoires qui commercialisent des géloses prêtes à l'emploi. La technique est la même que pour la recherche bactériologique (II B 1 a).

Ces géloses seront incubées à l'étuve à 25°C pendant 5 jours (1^{ère} lecture à 3 jours suivie d'une seconde à 5 jours).

b) Technique « de la moquette »

Une autre méthode réservée à la recherche d'*Aspergillus* se fait en frottant des carrés de 5cm x 5cm de moquette à thibaude stériles sur la surface à prélever (1 carré par zone de prélèvement). La manipulation s'effectue avec des gants stériles.

La prise en charge au laboratoire : au laboratoire, ces carrés sont "déchargés" par tapotement sur milieu gélosé de Sabouraud + chloramphénicol. Les boîtes seront mises à l'étuve à 25°C pendant 5 jours (1^{ère} lecture à 3 jours suivie d'une seconde à 5 jours).

3. Méthode par ATPmétrie

Nous ne parlerons volontairement pas de cette technique basée sur la bioluminescence. Cette méthode rapide requiert une contamination minimale pour obtenir un signal (sensibilité faible). Dans l'attente d'étude complémentaire, nous ne recommandons pas cette technique.

→ Dans le cas d'isolement et d'identification des souches, il est important de les conserver dans un intérêt épidémiologique afin de pouvoir, le cas échéant, les comparer avec celles isolées des malades. Il existe plusieurs techniques de conservation : en gélose profonde ou par congélation dans un liquide cryoprotecteur. Ces souches seront gardées 1 an.

III. LES LOCAUX ET LES FREQUENCES DE PRELEVEMENTS

Mis à part la stérilisation, il n'existe pas de textes réglementaires ni d'obligations en matière de périodicité de prélèvements. Des recommandations sont précisées dans le tableau I.

TABLEAU I : Locaux à contrôler pour les prélèvements de surfaces

TYPE DE LOCAUX	OBJECTIF	FREQUENCE
Secteurs protégés : - Salle d'opération - Salle d'examen avec gestes invasifs dans les cavités stériles - Chambre d'hématologie, de greffe	Conformité de la désinfection Vérification du traitement de l'air	1 fois/trimestre
-Stérilisation: zone de conditionnement	Idem + Obligatoire (cf. Circulaire n° 672 du 20 octobre 1997)	1 fois/trimestre ou 1 fois/mois suivant la décision du CLIN
Pharmacie : - Hottes à flux laminaire - Bulles	Conformité de la désinfection Vérification du traitement de l'air	1 fois/mois
Autres secteurs : - Chambre de soins - Secteur néonatalogie	Conformité du bionettoyage	A la demande motivée *
- Réanimation	Conformité du bionettoyage	A la demande motivée *

* voir remarque suivante

Remarques :

Les prélèvements doivent être réalisés sur surfaces sèches après le temps d'application recommandé par le fabricant. Ce délai sera constant et fixé par le CLIN.

Des prélèvements peuvent être fait ponctuellement en complément des indications précédentes ou dans d'autres zones, sur **demande motivée** dans les cas suivants :

- mauvais résultats de routine
- validation de protocole de ménage (changement d'équipe, de technique de bionettoyage ou de technique de prélèvement, changement de produit)
- pendant ou après travaux
- situation d'épidémie, enquête épidémiologique.

IV. LES POINTS DE PRELEVEMENTS EN FONCTION DES LIEUX

Les lieux de prélèvements doivent être choisis aux endroits les plus exposés (tables de conditionnement, plans de travail...). Les seules recommandations que l'on peut utiliser dans ce domaine sont :

- *Guide du bionettoyage GPEM/SL n°5670 Recommandation n° E 1-90 1994*

« Il est impossible de pratiquer un plan d'échantillonnage statistiquement valable, compte tenu des surfaces à étudier et de la surface du milieu nutritif. Il est souhaitable que, pour une zone donnée, on puisse pratiquer au moins un prélèvement :

- à l'entrée,
- dans un secteur où le personnel se situe de manière permanente,
- dans un secteur peu fréquenté (mais souvent mal nettoyé) ».

- *Norme ISO/DIS 14698-1*

« Dans les zones à risque, il convient de surveiller et d'évaluer régulièrement la biocontamination des surfaces [...] dans le but de maintenir un environnement stable dans ces zones. Etablir le plan d'échantillonnage sous forme de procédure écrite ... ».

Le groupe donne des points à titre indicatif (tableau II) ; il est important d'adapter le protocole de prélèvement à l'environnement et d'établir au préalable une analyse critique des points à surveiller prioritairement.

TABLEAU II : Locaux et points de prélèvements de surfaces

LOCAUX	PRELEVEMENTS
- Salle d'opération - Salle d'examen avec gestes invasifs dans les cavités stériles	→ au moins 10 points choisis parmi : entrée chirurgien, entrée malade, table d'opération, scialytique, chariot de transfert, chariot, ampli de brillance, rampe technique, tiroir, catgutier, poignée de porte, interphone, bras des fluides et toutes surfaces en hauteur, grilles d'insufflation et d'extraction (<i>Aspergillus</i>)
- Stérilisation : zone de conditionnement	→ 5 à 10 points comprenant : la ou les paillasses. On peut également prélever dans la zone de stockage.
- Chambre d'hématologie, de greffe	→ 5 à 10 points comprenant : dais, table, pied lit, adaptable, dessus éclairage, téléphone, télévision, grilles
- Pharmacie : hottes à flux laminaire - Oncologie, bulle	→ 3 points minimum
- Réanimation - Chambre de soins	→ Le nombre de points varie selon l'objectif : table, pied de lit, éclairage, adaptable, fauteuil, poignée de porte, rampe de lit
- Secteur néonatalogie	→ 5 à 10 points selon l'objectif

Dans un objectif de reproductibilité et de comparabilité, il est préférable de prélever toujours au même endroit.

V. LES VALEURS-SEUILS

Le tableau III présente les valeurs seuils selon les lieux, l'objectif visé avec les conséquences à en tirer pour l'action. Ces valeurs reposent sur des recommandations existantes et un consensus du groupe. (arrêté du 18 décembre 1997 modifiant les bonnes pratiques de fabrication B.O.98/5, ASPEC 1999, guide du bionettoyage 1994)

TABLEAU III : Valeurs-seuils des prélèvements de surfaces en fonction des lieux.

Critères de décisions

	OBJECTIF	TECHNIQUE	RESULTAT ATTENDU = X colonies/boîte	CONSEQUENCE SI RESULTAT NON CONFORME
PHARMACIE : Bulle, hotte	Conformité de la désinfection et du traitement de l'air	Empreinte	< 1 colonie/boîte	→ si $X > 1$: revoir intégrité des filtres et /ou pratique de nettoyage.
STERILISATION : secteur de conditionnement	Conformité de la désinfection	Empreinte	≤ 5 colonies/boîte	→ si $5 < X \leq 15$: acceptable → si $X > 15$ avec : 1 seul point : signalement 2 à 4 points : revoir le protocole de nettoyage et sa mise en œuvre 5 points : inacceptable ; prévoir un autre contrôle → si présence de <i>S. aureus</i> , entérobactéries, <i>Aspergillus</i> ou <i>Pseudomonas sp.</i> : revoir le protocole entier de nettoyage et prévoir de nouveaux contrôles
CHAMBRE DE GREFFE ET D'ONCOLOGIE	Conformité de la désinfection et vérification du traitement de l'air			
SALLE D'OPERATION SALLE D'EXAMEN AVEC GESTES INVASIFS				

	OBJECTIF	TECHNIQUE	RESULTAT ATTENDU = X colonies/boîte	CONSEQUENCE SI RESULTAT NON CONFORME
SECTEUR NON PROTEGE SECTEUR NEONATALOGIE	Contrôle du protocole de désinfection et conformité du nettoyage	Empreinte	≤ 50 colonies/boîte * sans germe pathogène (<i>S aureus</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Pseudomonas sp</i> , entérobactéries)	➔ si X >50 : revoir le protocole
SERVICE DE SOINS EN CAS D'EPIDEMIE	Recherche des réservoirs	Empreinte Ecouvillon	Absence du germe pathogène recherché	➔ Mesures permettant l'éradication de ce germe (désinfection, suppression de la source...)

* valeurs recommandées par le Guide du bionettoyage(recommandation n° E 1-90) en zone 2 (1994)

Remarque : le Guide du bionettoyage spécifie : « Une flore polymorphe traduit l'inefficacité du procédé ; celui-ci ayant été validé au préalable, cette inefficacité peut être due à une erreur de manipulation [...] .Une flore monomorphe traduira une recontamination par une bactérie moins sensible aux produits utilisés [...] . »

Voir annexes II et III pour des exemples de classification des zones et de critères microbiologiques.

VI. EXEMPLE DE FICHE TYPE DE RENDU DE RESULTATS

CONTROLE BACTERIOLOGIQUE DE SURFACES AU BLOC OPERATOIRE

Prélèvements effectués par :

Date :

Heure :

SERVICE :

SALLE :

- nombre de personnes présentes :

- événement à signaler :

TECHNIQUE DES PRELEVEMENTS : empreintes écouvillon

- milieux de culture utilisés : type

- fournisseur :

- N°lot :

- incubation : temps

- température

RESULTATS EXPRIMES EN UFC/25cm²

LIEU	UFC/ boîte	RECHERCHE SPECIFIQUE	COMMENTAIRE

CONCLUSION :

LABORATOIRE DE CONTROLE :

N°

Date :

Signature

PRELEVEMENTS D'EAU

I. OBJECTIF

L'hôpital est un grand consommateur d'eau. Selon son usage et les exigences de qualité microbiologique et chimique, on peut distinguer :

- **les eaux potables** destinées principalement à l'alimentation humaine
- **les eaux bactériologiquement maîtrisées** ayant subi un traitement afin de réduire au maximum leur charge bactérienne
- **les eaux stériles versables** en flacon scellé de 250 ml à 1 litre, utilisées pour les soins et le rinçage du matériel thermosensible après désinfection ; les eaux stériles apyrogènes sont utilisées pour les préparations injectables. Ces types d'eau relèvent du domaine pharmaceutique.
- **les autres types d'eau** parmi lesquelles on trouvera :
 - l'eau pour hémodialyse dont les contrôles sont décrits dans la Pharmacopée et sont sous la responsabilité du pharmacien
 - l'eau des piscines de rééducation fonctionnelle
 - l'eau chaude sanitaire
 - l'eau de climatisation

Il existe de nombreux textes réglementaires dans ce domaine. L'objectif de ce document est, face aux exigences de sécurité dans le domaine hospitalier et en fonction du type d'eau utilisé, d'émettre des recommandations afin de mettre en place une surveillance adaptée.

II. L'EAU DU RESEAU

L'eau potable d'adduction ou comme matière première ; elle est utilisée en usage externe (lavage des mains, hygiène corporelle, entretien, rinçage des dispositifs...) ou en usage alimentaire (eau de boisson, eau réfrigérée, glace alimentaire).

A. Contrôles de potabilité

Le Décret 89-3 du 3 janvier 1989 précise "les limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine". Avant le compteur de distribution, la qualité de l'eau est de la responsabilité du distributeur mais après le compteur elle relève de la responsabilité de l'utilisateur (Décret 95-363 du 5 avril 1995 modifiant le décret 89-3 du 3 janvier 1989) Le gestionnaire de l'établissement est tenu de s'assurer de sa qualité (Circulaire n° 429 du 8 avril 1975). Même si le Décret n° 61-859 du 1er août 1961 fixant la responsabilité du gestionnaire

et le nombre d'analyses de potabilité à effectuer par an est abrogé, le code de la Santé Publique dans l'article L19 précise : « ...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. »

Cette surveillance ne dépend pas forcément du laboratoire d'hygiène mais des services techniques de l'établissement. Cependant il est nécessaire, voire indispensable que les résultats de ces contrôles soient transmis au laboratoire (ou cellule) d'hygiène et au président du CLIN.

Enfin, il faut noter que la circulaire DGS/DH n° 236 du 2 avril 1996 (désinfection des endoscopes dans les lieux de soins) exige au moins une fois par mois un contrôle des qualités microbiologiques et physico-chimiques de l'eau utilisée (pour les rinçages intermédiaire et terminal pour l'endoscopie haute et basse non interventionnelle), conformément aux critères définis dans le décret 89/3 du 3 janvier 1989 modifié. L'annexe à la lettre-circulaire DH/EM1 n° 98-7262 du 15 juillet 1998 concernant l'utilisation de machine à laver et désinfecter les endoscopes, il est seulement précisé au point 13 que « *quelque soit le système utilisé, la qualité microbiologique de l'eau d'alimentation de la machine doit être périodiquement contrôlée par l'utilisateur* ».

A titre indicatif, les valeurs microbiologiques suivantes sont attendues :

TABLEAU IV : Paramètres microbiologiques de potabilité
(décret 89/3 du 3 janvier 1989 modifié)

Critères	Expressions des résultats	Niveau maximal admissible
Germes aérobies revivifiables à 37°C*	UFC/ml	10 <i>(décret n°90-330 du 10 avril 1990)</i>
Germes aérobies revivifiables à 22°C*	UFC/ml	100 <i>(décret n°90-330 du 10 avril 1990)</i>
Coliformes	UFC/100ml	0 à 95% des cas
Coliformes thermotolérants	UFC/100ml	0
Streptocoques du groupe D	UFC/100ml	0
Spoires de bactéries anaérobies sulfito-réductrice	UFC/20ml	1

* ne constituent pas un critère de potabilité pris indépendamment

**TABLEAU V : Types d'analyses microbiologiques pour l'eau du réseau
(décret 89/3 du 3 janvier 1989 modifié)**

Réduite B1	Sommaire B2	Complète B3
- Coliformes thermotolérants - Streptocoques fécaux	- Coliformes thermotolérants - Streptocoques fécaux - Dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 22°C et à 37°C	- Coliformes totaux et thermotolérants - Streptocoques fécaux - Dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 22°C et à 37°C - Spores de bactéries anaerobies sulfito-réductrices.

B. Recherche de Pseudomonas aeruginosa

Certains germes de l'hospitalisme comme *Pseudomonas aeruginosa* doivent être recherchés (Circulaire n° 429 du 8 avril 1975).

1. Méthodologie des prélèvements et analyses

☛ où ?

Les points d'eau situés dans les services suivants sont concernés par cette surveillance :

- bloc opératoire
- service de réanimation
- maternité
- service d'oncologie et de greffes (service d'immunodéprimés)

☛ comment ?

Après flambage du robinet (si possible) et après avoir laissé couler l'eau 1 à 2 minutes, un prélèvement minimum de 200 ml d'eau sera réalisé dans un flacon stérile contenant du thiosulfate de sodium (20 mg/l). Ce flacon sera transmis le plus rapidement possible au laboratoire.

☛ au laboratoire

100 ml d'eau seront filtrés sur un filtre stérile de 0,45 µm. Ce filtre est ensuite déposé sur un milieu sélectif pour *Pseudomonas aeruginosa* (gélose au cétrimide), puis mis à l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

2. Périodicité des prélèvements

Cette analyse sera faite au moins 1 fois par trimestre dans les secteurs précités.

3. Résultats

Absence de *Pseudomonas aeruginosa* dans 100 ml.

C. Recherche de Legionella

La légionellose est une maladie à déclaration obligatoire (décret n°87-1012 du 11 décembre 1987 et circulaire DGS/PGE/1C n°238 du 28 mars 1989). Une circulaire DGS n°98/771 du 31 décembre 1998 demande de mettre en œuvre 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.

1. Méthodologie des prélèvements et analyses

☛ sur le site

Cette méthodologie est largement décrite dans la circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997 et la norme AFNOR NT 90-431.

Cette recherche s'effectuera principalement sur l'eau chaude sanitaire (douche) des services susceptibles d'accueillir des immunodéprimés et des tours de refroidissement (eau de ruissellement).

Le prélèvement consiste à recueillir un litre d'eau dans un flacon stérile contenant éventuellement du thiosulfate de sodium. Ce prélèvement se fera avec ou sans flambage, sans ou après écoulement de l'eau suivant l'objectif du contrôle.

Les échantillons seront transmis le plus rapidement au laboratoire (circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997 : moins de 48 heures à 4°C)

☛ au laboratoire

La recherche et la numération des *Legionella spp.* dans l'eau sont effectuées selon la norme AFNOR NT 90-431 (novembre 1993) par filtration d'un litre d'eau. La sensibilité de cette méthode est de 50 UFC/litre.

2. Périodicité des prélèvements

Compte tenu de la complexité des analyses, ces contrôles seront effectués 1 fois par trimestre. La circulaire DGS n°98/771 du 31 décembre 1998 précise cependant : « Ces prélèvements doivent être effectués au moins une fois par an dans tous les réservoirs, ballon d'eau et installations à risque, ainsi qu'au niveau de 2 points d'usage par tranche de 100 lits (et au minimum 10 points d'usage pour les établissements de moins de 500 lits). »

3. Résultats

Il n'existe aucun texte réglementaire fixant une densité maximale admissible de *Legionella spp.* dans l'eau chaude sanitaire, mais il est reconnu qu'en dessous d'une densité de 10^3 UFC/litre, le risque d'apparition de cas de légionellose est très faible (circulaire DGS n°97/311 du 24 avril 1997).

La circulaire DGS/SD1D/92 n°513 du 20 juillet 1992 concernant les eaux thermales préconise comme valeur de référence non impérative 10^2 *Legionella*/litre avec un suivi attentif de la situation. A partir de 10^3 UFC/litre, des mesures de lutte et de prévention doivent être prises pour les usages et soins occasionnant la production d'aérosols.

III. L'EAU DES FONTAINES REFRIGEREES

Il existe deux types de fontaines réfrigérées : à réservoir et en continu. Les fontaines à réservoir sont à bannir. La circulaire DGS/PGE/1D n° 2058 du 30 décembre 1986 précise un certain nombre de points.

Il est ainsi précisé que l'eau produite doit satisfaire à tout moment aux normes de potabilité. L'objectif principal de ces contrôles est de vérifier le bon entretien de ces fontaines. Ils peuvent être couplés à des prélèvements de surface.

A. Méthodologie des prélèvements et analyses

1. Sur le site

La technique du prélèvement sera différente selon le but du contrôle :

- afin de vérifier les conditions réelles d'utilisation, on prélèvera sans flambage le 1er jet.
- par contre pour contrôler la qualité de l'eau, on prélèvera après flambage et avoir laissé couler l'eau pendant 1 minute.

Ce flacon sera transmis le plus rapidement possible au laboratoire.

2. Au laboratoire

L'analyse se fera conformément au décret n° 89-3 modifié et sera de type B2 :

- recherche de coliformes thermotolérants (norme AFNOR NFT 90-414)
- recherche de streptocoques fécaux (norme AFNOR NFT 90-416)
- dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 22°C (norme AFNOR NFT 90-402)
- dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 37°C (norme AFNOR NFT 90-401)

Cette analyse pourra être complétée par une recherche de germes psychrophiles (*Listeria*, *Yersinia*), de *Pseudomonas aeruginosa* et / ou *Staphylococcus aureus* par filtration sur filtre stérile de 0,45µm de 100 ml minimum et culture sur milieu spécifique.

B. Périodicité des prélèvements

Cette analyse sera faite 1 fois par an si aucun problème particulier n'est signalé.

C. Résultats

Conformément au décret n° 89-3 modifié , les résultats attendus sont :

- absence de coliformes thermotolérants dans 100 ml
- absence de streptocoques fécaux dans 100 ml
- bactéries aérobies revivifiables à 22°C : 100/ml
- bactéries aérobies revivifiables à 37°C : 10/ml

Par ailleurs on ne doit pas retrouver de germes psychrophiles, de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* dans 100 ml.

Dans le cas de résultats non conformes, il conviendra de distinguer deux cas de figures :

- une seule fontaine présente une contamination, il s'agit probablement d'un défaut d'entretien de cette fontaine. Après une remise en état, un nouveau contrôle s'impose.
- plusieurs fontaines présentent une contamination, il sera alors intéressant de faire une analyse de l'eau du réseau.

→ Eau de source en bonbonne

Ces bonbonnes de capacité de 10 ou 20 litres se vident progressivement à la demande et se remplissent d'air filtré. L'eau de ces bonbonnes doit être conforme à la norme de potabilité.

En l'absence d'expérience de ce système qui semble se généraliser, on ne peut que recommander de mettre en place un protocole de maintenance de l'environnement de cette bonbonne (trop plein, robinet...), de veiller à la rotation (15 jours au maximum ?) et d'exiger du fournisseur les certificats des analyses réglementaires (soutirage, conditionnement...).

IV. L'EAU MICROBIOLOGIQUEMENT MAITRISEE

Il s'agit de l'eau ayant subi un traitement de microfiltration terminale ou aux U.V. Ce type d'eau se rencontre par exemple au bloc opératoire, dans les secteurs protégés, les salles d'endoscopie, biberonnerie...

A. Méthodologie des prélèvements et analyses

1. Sur le site

Le prélèvement se fera après avoir laissé couler l'eau 1 minute environ dans un flacon stérile de 200 ml.

2. Au laboratoire

L'analyse se fera par filtration de 100 ml d'eau sur filtre stérile de pore de 0,45 µm suivie par l'ensemencement de la membrane sur une gélose trypto-caséine soja et mise à l'étuve à 30°C ± 1°C pendant 48 heures.

Selon le même protocole, une recherche de *Pseudomonas aeruginosa* sera effectuée sur 100 ml d'eau et ensemencement de la membrane sur un milieu au cétrimide (incubation à 37°C ± 1°C pendant 24 heures).

B. Périodicité des prélèvements

Ces contrôles seront effectués au minimum 1 fois par trimestre sauf en secteur d'endoscopie où la fréquence sera 1 fois par mois (circulaire DGS/DH n°236 du 2 avril 1996).

Ils se feront dans la journée, en cours d'utilisation du dispositif de traitement. On prendra soin de noter le type et marque du filtre ainsi que le nombre d'utilisation et de stérilisation qu'il a préalablement subi.

C. Résultats

Les résultats attendus sont:

- germes aérobies mésophiles totaux : < 5UFC/100 ml
- absence de *Pseudomonas aeruginosa* dans 100 ml

En cas de dépassement, il est prudent de revoir la validité du système de filtration (entretien, péremption, utilisation) et de refaire un prélèvement.

V. L'EAU DES PISCINES DE REEDUCATION

Il n'existe aucune réglementation concernant ces piscines, mais on peut logiquement les rapprocher des piscines de natation pour lesquelles il existe une législation.

- Décret n° 81-324 du 7 avril 1981 fixant les normes d'hygiène et de sécurité applicables aux piscines et aux baignades aménagées.
- Circulaire DGS/SD1D/92 n° 513 du 20 juillet 1992 relative à la qualité des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux.

A. Méthodologie des prélèvements et analyses

1. Sur le site

Le prélèvement s'effectue par immersion d'un flacon stérile 30cm sous la surface de l'eau. Ce flacon doit contenir un neutralisant des produits de désinfection utilisé (exemple : 120 mg de thiosulfate de sodium pour 1 litre).

2. Au laboratoire

Conformément à la législation, les germes suivants seront recherchés :

- les bactéries aérobies revivifiables à 37°C,
- les coliformes totaux,
- *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

B. Périodicité des prélèvements

La fréquence d'1 fois/mois est conseillée.

C. Résultats

- bactéries aérobies revivifiables à 37°C : < 100 UFC/ml
- coliformes totaux < 10 UFC/100 ml et absence de coliformes thermotolérants
- absence de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* dans 100 ml pour 90% des échantillons.

VI. AUTRES TYPES D'EAU

Ces autres types d'eau ne seront pas étudiés dans ce document :

1. Eau pour hémodialyse

Les contrôles sont décrits dans la Pharmacopée et sont sous la responsabilité du pharmacien.

2. Glace

On peut distinguer :

- glace alimentaire conforme aux critères de potabilité de l'eau potable,
- glace pour remplissage des vessies de qualité non alimentaire.

3. Eau stérile versable

En flacons de 250 ml à 1 litre, ce type d'eau doit répondre aux critères de stérilité de la Pharmacopée. L'usage concerne les interventions chirurgicales, le rinçage après désinfection du matériel pénétrant dans les cavités stériles, les humidificateurs chauffants, les aérosols, les couveuses...

4. Eau pour préparation injectable

PRELEVEMENTS D'AIR

Pour le contrôle de l'air, deux types de contrôles sont à envisager : des contrôles microbiologiques et des contrôles particuliers. Ces derniers sont des contrôles à visée technique et mettent en évidence une défaillance. Ils ne seront donc pas envisagés dans ce document, les recommandations sont exposées en annexe III.

CONTROLES MICROBIOLOGIQUES

I. OBJECTIFS

Ces contrôles seront réalisés dans 4 situations :

- pour le contrôle et suivi de maintenance des **secteurs protégés** : salle d'opération, salle blanche.... Ils seront alors très souvent réalisés par un organisme extérieur agréé selon la méthodologie décrite dans la norme AFNOR NF S 90-351 (Procédure de réception et de contrôle des salles d'opérations, décembre 1987),
- dans un programme d'**assurance qualité** en contrôle de routine,
- en cas d'**épidémie** (recherche spécifique),
- lors de **travaux** au voisinage ou dans un secteur protégé.

II. METHODE DU PRELEVEMENT

La technique des "boîtes ouvertes" est totalement prohibée.

A. Qui ?

Les prélèvements doivent être réalisés par une personne extérieure au service, compétente et formée à la manipulation de l'appareil. Cet opérateur doit être vêtu d'une tenue complète de bloc opératoire et s'être lavé les mains. Pendant le prélèvement, il doit se tenir en arrière, immobile et éloigné de l'appareil, ou mieux à l'extérieur de la salle s'il est muni d'une télécommande afin d'éviter les turbulences.

B. Comment ?

1. Choix de l'appareil préleveur

Il existe deux principaux types de méthode (annexe IV) : une par filtration et une par impaction sur milieu gélosé. La méthode par filtration est peu utilisée, celle par impaction beaucoup plus largement répandue. Il existe différents types d'appareil à impaction : à cribles, à fente, à entonnoir, avec rotation du flux d'air.

Lors du choix de l'appareil, il convient de faire très attention au débit qui doit être suffisant pour effectuer un prélèvement d'1 m³ en moins de 10 minutes (par exemple débit de 100 l/mn).

Dans tous les cas, une fois la méthode retenue, les prélèvements devront être poursuivis selon le même processus avec le même appareil. Deux précautions à respecter :

- Penser à étalonner les appareils 1 fois par an (à voir avec le fournisseur au moment de l'achat),
- La surface externe de l'appareil sera désinfectée avec un produit désinfectant de contact avant de pénétrer dans la zone protégée et les parties amovibles (« buses ») seront stérilisées ou désinfectées.

2. Choix des milieux de culture

Tous les milieux de culture utilisés auront subi un contrôle de fertilité et de stérilité.

TABLEAU VI : Milieux de culture des prélèvements d'air

Micro-organismes	Milieu de culture	Température	Temps d'incubation
Bactéries	Standard Exemple : trypto caséine soja	30°C ± 1°C	3 jours
Levures et moisissures	Exemple : gélose au Malt agar ± antibiotique (ex : chloramphénicol)	25°C ± 1°C	5 jours

D'autres contrôles microbiologiques et d'autres milieux de culture pourront être utilisés selon les micro-organismes en cause, lors de contrôles en cas d'épidémie, de la survenue de contaminations ou d'infections nosocomiales.

3. Volume de prélèvement

Il est recommandé de prélever un volume minimum de 1 m³ d'air par prélèvement en 10 minutes maximum, afin d'éviter le dessèchement de la gélose. Il est donc nécessaire d'adapter le temps de prélèvements au débit de l'appareil. Pour les appareils de très faible débit, il peut être nécessaire d'effectuer plusieurs manipulations successives afin d'obtenir ce volume de 1 m³.

4. Nombre d'échantillons par prélèvement

Il est conseillé de faire 1 à 2 échantillons par prélèvements (même lieu, même point).

III. LIEUX ET POINTS DE PRELEVEMENT

Il convient de distinguer plusieurs situations en fonction des objectifs.

☛ en cas d'épidémie

S'il s'agit d'un germe susceptible d'être aéroporté, le prélèvement se fera là où l'origine de l'épidémie est suspectée.

☛ en cas de travaux générant des particules aéroportées

Il s'agit le plus souvent de recherche d'*Aspergillus*.

☛ en routine

Seuls les lieux bénéficiant d'un traitement de l'air (secteurs protégés) nécessitent un contrôle régulier de l'aérobiocontamination.

TABLEAU VII : Points de prélèvements d'air selon le lieu

LIEU	POINTS DE PRELEVEMENT
Salle d'opération	1 point au niveau de la table
Salle à environnement maîtrisé (pharmacie)	1 dans la salle 1 sous la hotte
Préparation des cytostatiques (sous la hotte à flux laminaire)	1 point dans la zone de préparation
Chambre avec dais	1 point sous le dais 1 point hors du dais
Stérilisation (salle de conditionnement)	1 point au niveau d'une paillasse

Un contrôle préalable de la surpression à l'aide d'un test fumigène (test fumigène Draeger®) ou autre procédé peut être effectué au niveau de la porte et du sas.

IV. FREQUENCE DES PRELEVEMENTS

☛ en cas d'épidémie

Dans ce cas, les prélèvements seront faits à la demande.

☛ en cas de travaux

La fréquence des prélèvements sera à définir en fonction du risque, du type de travaux, de l'activité et des résultats obtenus. Par exemple, une fois par semaine au début des travaux puis sur un rythme plus espacé si les résultats sont satisfaisants.

☛ en routine

Les prélèvements sont à réaliser hors présence humaine, 2 heures minimum après le bionettoyage. Il est préférable de les réaliser le matin avant le programme opératoire.

TABLEAU VIII : Fréquence des prélèvements d'air selon le lieu

LIEU	FREQUENCE
Salle d'opération	1 fois par trimestre
Salle à environnement maîtrisé	1 fois par trimestre
Préparation des cytostatiques (hotte)	1 fois par trimestre
Chambre avec dais	1 fois par trimestre
Stérilisation - salle de conditionnement	1 fois par trimestre

La fréquence de ces contrôles peut être augmentée s'il y a eu intervention sur le système de traitement d'air ou un arrêt de la ventilation.

V. INTERPRETATION DES RESULTATS

De façon générale, il est très difficile de fixer des "normes" universelles car l'expérience prouve que les résultats sont très variables en fonction de l'appareil utilisé et même du manipulateur.

A. Normes internes

Il faut donc que chaque établissement fixe ses propres valeurs "cible", "alerte" et "action" pour un appareil donné et une personne donnée. Cette détermination doit se faire après un contrôle technique complet de la salle afin de s'assurer qu'il n'y a aucun dysfonctionnement initial qui pourrait fausser les mesures (contrôle particulière, surpression, intégrité des filtres...).

On appelle :

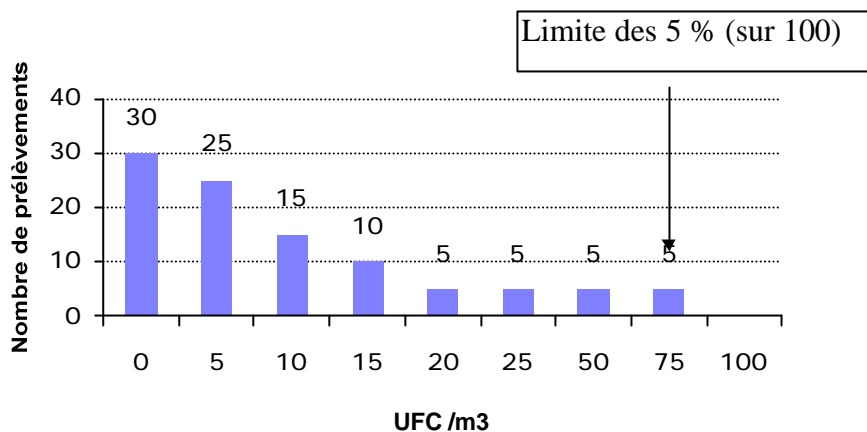
- **valeur "cible"** le nombre d'unité formant colonie (UFC) par m³ à atteindre dans le cas d'un bon fonctionnement des installations
- **valeur "alerte"** le nombre d'unité formant colonie (UFC) par m³ à ne pas dépasser
- **valeur "action"** le nombre d'unité formant colonie (UFC) par m³ entraînant la fermeture de la salle ou la correction immédiate du dysfonctionnement

Les valeurs peuvent être déterminées en établissant un diagramme des résultats obtenus (au moins 20 valeurs) avec en abscisse les nombres d'UFC / m³ et en ordonnée le nombre de fois où ces nombres ont été observés.

La **valeur alerte** correspond à la limite des 5 % des observations obtenues, c'est à dire avant la valeur la plus élevée pour 20 mesures ou avant les 5 mesures les plus élevées pour 100 mesures.

La **valeur cible** n'est acceptable qu'en l'absence de germes pathogènes comme par exemple *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* ou *fumigatus*, ou bacilles à Gram négatif.

**EXEMPLE DE DIAGRAMME (FICTIF)
DE PRELEVEMENTS D'AIR SUR 100 MESURES
(La valeur 50 est la valeur alerte)**



B. Recommandations

- **Le guide UNICLIMA** du traitement de l'air en milieu hospitalier définit quatre zones à risques de biocontamination en fonction du lieu et du malade : la zone 4 à très hauts risques, la zone 3 à hauts risques, la zone 2 à risques modérés, la zone 1 à risques faibles ou négligeables.

Deux institutions ont émis des recommandations pour des secteurs spécifiques :

- **Bonne Pratique de Stérilisation (BPS)** : salle de conditionnement → < 100 UFC/m³

- **Association pour la prévention et l'étude de la contamination (ASPEC)** (« Contrôle de l'environnement dans les zones à hauts et très hauts risques infectieux ») :

- Zone à très hauts risques : 1 UFC/m³ hors activité (prélèvement en 10 minutes maximum)

- Zone à hauts risques : 10 UFC/m³ hors activité (prélèvement en 10 minutes maximum)

Le tableau IX représente des seuils d'aérobiocontamination en fonction de la zone.

TABLEAU IX : Seuil d'aérobiocontamination en fonction des locaux selon 4 références

BPF (1998) Salles d'atmosphère contrôlée	AFNOR (1987) : norme NF S 90-351 Salle d'opération	ASPEC (1999) Recommandation		
Classe A : <1UFC/m ³ Poste de travail sous flux laminaire	B5 : <5 UFC/m ³	ZONE A TRES HAUTS RISQUES*		
		Niveau	Bactéries UFC/m ³	Moisissures UFC/m ³
		Action	10	1
		Alerte	5	1
		Cible	1	<1
Classe B : <10 UFC/m ³ Environnement immédiat d'une classe A	B20 : <20 UFC/m ³	ZONE A HAUTS RISQUES*		
		Niveau	Bactéries UFC/m ³	Moisissures UFC/m ³
		Action	500	1
		Alerte	100	1
Cible	10	<1		
Classe C : <100 UFC/m ³ Zone à atmosphère contrôlée destinée aux étapes moins critiques	B100 : <100 UFC/m ³			
Classe D : <200 UFC/m ³ Zone à atmosphère contrôlée destinée aux étapes moins critiques				

* La présence de certains microorganismes tels que *Staphylococcus sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* et bactéries aérobies à Gram négatif apparentées, *Aspergillus sp.*, entérobactéries, levures (liste non exhaustive) nécessitent de pratiquer des investigations complémentaires.

CONTROLES PARTICULAIRES

I. OBJECTIFS

Ces contrôles seront réalisés des situations bien précises :

- pour le contrôle et suivi de maintenance des **secteurs protégés** : salle d'opération, salle blanche.... Ils seront alors très souvent réalisés par un organisme extérieur agréé selon la méthodologie décrite dans la norme AFNOR NF S 90-351 (Procédure de réception et de contrôle des salles d'opérations décembre 1987)
- dans un programme d'**assurance qualité** en contrôle de routine,
- après toute intervention de maintenance et/ou de changement des filtres.

II. METHODE DU PRELEVEMENT

A. Qui?

Les prélèvements doivent être réalisés par une personne extérieure au service, compétente et formée à la manipulation de l'appareil. Cet opérateur doit s'être vêtu d'une tenue complète de bloc opératoire et s'être lavé les mains. Pendant le prélèvement, il doit se tenir en arrière, immobile et éloigné de l'appareil ou mieux à l'extérieur de la salle si celui ci est muni d'une télécommande afin d'éviter les turbulences.

L'appareil doit être conforme aux exigences de la norme AFNOR NF S 90-351.

B. Comment ?

1. Choix de l'appareil préleveur

L'appareil doit pouvoir mesurer l'empoussièrement pour les particules de taille 0,5 μm et 5 μm

- Penser à étalonner les appareils 1 fois par an (à voir avec le fournisseur au moment de l'achat.)
- La surface externe de l'appareil sera désinfectée par un produit désinfectant de contact avant de pénétrer dans la zone protégée et les "buses" seront stérilisées ou désinfectées.

2. Nombre d'échantillons par prélèvement

Il est conseillé de faire 3 échantillons par prélèvements (même lieu, même point).

III. LIEUX ET POINTS DE PRELEVEMENT

TABLEAU VIII : Points de prélèvements particuliers selon le lieu

LIEU	POINTS DE PRELEVEMENT
Salle d'opération	1 point au niveau de la table (peut être compléter par d'autres points en fonction des résultats conformément à la méthodologie de la norme AFNOR NF S 90-351)
Salle à environnement maîtrisé (pharmacie)	1 dans la salle 1 sous la hotte
Préparation des cytostatiques (sous la hotte à flux laminaire)	1 point dans la zone de préparation
Chambre avec dais	1 point sous le dais
Stérilisation (salle de conditionnement si traitement de l'air)	1 point au niveau d'une paillasse

IV. FREQUENCE DES PRELEVEMENTS

TABLEAU IX : Fréquence des prélèvements particuliers selon le lieu

LIEU	FREQUENCE
Salle d'opération	1 fois par trimestre
Salle à environnement maîtrisé	1 fois par trimestre
Préparation des cytostatiques (hotte)	1 fois par trimestre
Chambre avec dais	1 fois par trimestre
Stérilisation - salle de conditionnement	1 fois par trimestre

La fréquence de ces contrôles peut être augmentée s'il y a eu intervention sur le système de traitement d'air ou un arrêt de la ventilation.

V. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'interprétation des résultats se fera en fonction des moyens mis en œuvre pour le traitement de l'air. Il existe plusieurs référentiels disponibles suivant que l'appareil utilisé exprime le résultats en m³ ou en pied³ (ft³) (voir annexe V). Les références les plus fréquemment utilisées en milieu hospitalier sont données dans les tableaux suivant X et XI.

TABLEAU X : Classes d'empoussièrement particulaire selon la norme AFNOR NF S 90-351 (salles d'opération)

Classe d'empoussièrement particulaire	Concentration maximale en nombre de particules par m ³ pour les niveaux :	
	0,5mm	5mm
4 000	4 000	25
400 000	400 000	2 500
4 000 000	4 000 000	25 000

TABLEAU XI : Classes particulières selon la norme FS 209 E (guide UNICLIMA, 1996)

Classe	Concentration maximale en nombre de particules pour les niveaux			
	0,5mm		5mm	
	m ³	ft ³	m ³	ft ³
100	3530	100	-	-
1000	35 300	1 000	247	7
10 000	353 000	10 000	2 470	70
100 000	3 530 000	100 000	24 700	700

A titre d'exemple, on peut se reporter au guide UNICLIMA (1996) qui classe :

- en zone à risque 3 (classe particulaire 10 000 selon FS 209 E), les blocs opératoires conventionnels (chirurgie digestive propre ou contaminée, chirurgie gynécologique, obstétrical, urologique, ORL), les salles d'explorations fonctionnelles, de réanimation, de soins intensifs, de néonatalogie, de hémodialyse, d'hématologie et de chimiothérapie.
- en zone à risque 4 (classe particulaire 100 selon FS 209 E), les blocs opératoires dits « aseptiques » (orthopédie, cardio-vasculaire, neurochirurgie, ophtalmologie...), les secteurs de cancérologie, d'onco-hématologie, de greffe, des prématurés et des brûlés.

En se référant à ces indications, on peut attendre les résultats du tableau XII.

TABLEAU XII : Résultats des contrôles particuliers en fonction des lieux.

LIEU	ZONE A RISQUE	CLASSE PARTICULAIRE Norme FS 209 E
Salle d'opération	3 ou 4	10 000 ou 100
Salle à environnement maîtrisé	3	10 000
Préparation des cytostatiques - hotte	4	100
Chambre avec dais	4	100
Stérilisation - salle de conditionnement	3	10 000

=====

ANNEXES

ANNEXE I : APPLICATEURS DISPONIBLES SUR LE MARCHE

RODAC weight (200g/durée variable)	BIOBLOCKSCIENTIFIC Parc d'innovation BP 111 67403 ILLKIRCH CEDEX
APPLICATEUR Bio Mérieux (500g/10s)	Bio Mérieux 69280 MARCY L'ETOILE
APPLICATEUR AES Laboratoire	AES Laboratoire Route de Dol BP 54 35270 COMBOURG

ANNEXE II : CRITERES MICROBIOLOGIQUES SELON LES ZONES POUR LES CONTROLES DE SURFACES

GUIDE DU BIONETTOYAGE		ASPEC Recommandation 1999		
Zone	UFC/25cm ²	ZONE A TRES HAUTS RISQUES		
4	<5	Niveau	Bactéries UFC/boîte	Moisissures UFC/boîte
		Action	10	1
		Alerte	5	1
		Cible	<1	<1
3	<5	ZONE A HAUTS RISQUES		
		Niveau	Bactéries UFC/boîte	Moisissures UFC/boîte
		Action	25	1
		Alerte	10	1
		Cible	5	<1
2	<50			
1	<125			

ANNEXE III : DEFINITION DES ZONES
(GUIDE DU BIONETTOYAGE ET LE GUIDE UNICLIMA)

SOURCES	ZONE 4	ZONE 3	ZONE 2	ZONE 1
Guide du bionettoyage Recommandation E 1-90	Néonatalogie Bloc opératoire Service brûlés Immunodéprimés Service de greffe Chimiothérapie Oncologie Onco-hématologie	Pédiatrie Soins intensifs Urgences Salle de travail Laboratoires Radiologie Hémodialyse Réanimation Exploration fonctionnelle Hématologie Chimiothérapie Bloc opératoire aseptique et obstétrical Cure médicale Stérilisation centrale (côté propre)	Circulation Halls Ascenseurs Montées d'escalier Salles d'attente Consultation extérieure Rééducation fonctionnelle non spécifique Maternité Unité d'hébergement pour personnes âgées Service long et moyen séjour Psychiatrie Stérilisation centrale (zone lavage)	Hall d'honneur Bureaux Services administratifs Services économiques Services techniques (maintenance) Maison de retraite Résidence pour personnes âgées

(suite)

**ANNEXE III : DEFINITION DES ZONES
(GUIDE DU BIONETTOYAGE ET LE GUIDE UNICLIMA)**

SOURCES	ZONE 4	ZONE 3	ZONE 2	ZONE 1
Traitement de l'air en milieu hospitalier (guide UNICLIMA)	Cancérologie Onco-hématologie Greffés Prématurés Brûlés Blocs opératoires aseptiques	Réanimation Soins intensifs Explorations fonctionnelles vasculaires Néonatalogie Hémodialyse Hématologie Chimiothérapie Blocs opératoires conventionnels	Médecine interne ou spécialisée Rééducation fonctionnelle Maternité Pédiatrie Long et moyen séjour Psychiatrie Consultations externes Hôpitaux de jour à orientation infectieuse	

ANNEXE IV : BIOCOLLECTEURS DISPONIBLES SUR LE MARCHÉ

(Biocollecteur normalisé avec au moins un débit de 100 l/mn)

NOM	TYPE	FOURNISSEUR
SAMPL'AIR®	Impacteur à crible	AES Laboratoire Route de Dol BP 54 35270 COMBOURG
RCS High Flow	Impacteur à centrifugation	BIOTEST SARL Zone Industrielle Centre 80, rue Hélène Boucher 78530 BUC
SAS 90, super 90, super 90 Clean Room (CR)	Impacteur à centrifugation	BIOBLOCK SCIENTIFIC Parc d'innovation BP 111 67403 ILLKIRCH CEDEX
Air TEST OMEGA	Impacteur à crible	Intertek Testing Services I.C.S. 91, rue Général de Gaulle. BP 1 27109 LE VAUDREUIL CEDEX Laboratoire Chimie et Biologie L.C.B. 71260 LA SALLE
Bio-Impacteur 100.08	Impacteur à crible	Air-Stratégie Bât. E Parc Evolic 91946 COURTABOEUF CEDEX
MAS 100 Merck Air Sampler	Impacteur à crible	Laboratoires Merck-Clévenot 5 à 9, rue Anquetil 94736 NOGENT SUR MARNE CEDEX
M Air T™ Millipore Air Tester	Impacteur à crible	Millipore SA BP 307 78054 St QUENTIN EN YVELINES CEDEX
MICROFLOW	Impacteur à crible	Laboratoires Humeau ZA de Gesvrine 4, rue Képler 44240 LA CHAPELLE SUR ERDRE
MD8 AIRSCAN	Filtration sur membrane de gélatine	Sartorius S.A. 11, avenue du 1 ^{er} mai 91127 PALAISEAU CEDEX

ANNEXE V : SEUIL PARTICULAIRE ADMIS EN FONCTION DES LOCAUX

Classification selon le guide BPF 1998 (salles blanches)

	AU REPOS		EN ACTIVITE	
CLASSE	Nombre maximal autorisé de particules par m ³ , de taille égale ou supérieure à			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3 500	0	3 500	0
B	3 500	0	350 000	2 000
C	350 000	2 000	3 500 000	20 000
D	3 500 000	20 000	non défini	non défini

Spécification de la FDA (salles blanches)

Zone	Nombre maximum de particules par ft ³	
	> 0,5µm	> 5µm
Point critique	< 100	0
Zone de préparation	<100 000	<500

NB : 1 ft³ = 0,028317 m³ ; il faut 35 ft³ pour faire 1 m³

Classes d'empoussièrement particulaire selon la norme AFNOR NF S 90-351 (salles d'opération)

Classe d'empoussièrement particulaire	Concentration maximale en nombre de particules par m ³ pour les niveaux:	
	0,5mm	5mm
4 000	4 000	25
400 000	400 000	2 500
4 000 000	4 000 000	25 000

Classification selon le US Federal Standard 209E

Zone de classification	Nombre de particules par ft ³	
	0,5mm	5mm
Classe 100	100	0
Classe 1000	1 000	7
classe 10 000	10 000	70
classe 100 000	100 000	700

Classes types de propreté particulaire de l'air des salles propres et zones propres selon la norme NF EN ISO 14644-1

Numéro de classification ISO (N)	Concentrations maximales admissibles (particules/m ³ d'air) en particules de taille égale ou supérieure à celle donnée ci-dessous					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
Classe ISO 1	10	2				
Classe ISO 2	100	24	10	4		
Classe ISO 3	1 000	237	102	35	8	
Classe ISO 4	10 000	2 370	1 020	352	83	
Classe ISO 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
Classe ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
Classe ISO 7				352 000	83 200	2 930
Classe ISO 8				3 520 000	832 000	29 300
Classe ISO 9				35 200 000	8 320 000	293 000

NOTE : à cause des incertitudes dues au mesurage, les concentrations sont données avec, au plus, 3 chiffres significatifs.

BIBLIOGRAPHIE

1. ASPEC. Etablissements de santé. Contrôle de l'environnement dans les zones à hauts et très hauts risques infectieux. 1999, 47 p.
2. BRUCKER G. Infections nosocomiales et environnement hospitalier. Paris : ed Flammarion, 1998, 217 p.
3. CCM, GPEM/SL. Guide du bionettoyage, recommandation n° E1-90. Paris : ed JO, 1994, 81 p.
4. Comité Technique des Infections Nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité. 2^{ème} édition. 1999, 121 p.
5. DRASS Rhône-Alpes, COTEREHOS. L'eau dans les établissements de santé. 1995, 39 p.
6. Eau et établissements de soins, Hygiènes, 1998, vol VI, n°6, p 349-424
7. Groupe « EAU SANTE ». Eaux à usage médical : définitions et interprétations pratiques. Ed ASTA, 1999, 34 pages
8. Groupe « EAU SANTE ». Eaux à usage médical : qualité de l'eau et endoscopie. Ed ASTA, 1999, 34 pages
9. GUIDE DU BIONETTOYAGE, Recommandation n° E 1-90, 1994
10. HYGIS N. Hygiène hospitalière. Lyon: PUL, 1998, 666 p.
11. MANGRAM AJ, HORAN TC, PEARSON ML et al. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Inf Cont Hosp Epidemiol 1999 ; 20 : 250-280
12. TISSOT-GUERRAZ F., FLEURETTE J. et CETRE JC. Environnement : locaux, air, eau. In: Les infections nosocomiales et leur prévention. AVRIL JL., CARLET J. Paris : ed. Ellipses, 1998, p 623-63
13. UNICLIMA. Traitement de l'air en milieu hospitalier. Paris : ed SEPAR, 1996, 119 p.

=====

NORMES ET TEXTES OFFICIELS CITES

PRELEVEMENTS DE SURFACES

- ◆ Norme ISO/DIS 14698-1 Salles propres et environnements maîtrisés apparentés- Maîtrise de la biocontamination- 1999
- ◆ Arrêté du 18 décembre 1997 modifiant les bonnes pratiques de fabrication Annexe I Fabrication des médicaments stériles B.O. 98/5

PRELEVEMENTS D'EAU

- ◆ Décret n° 89-3 du 3 janvier 1989 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles.
- ◆ Décret n° 90-330 du 10 avril 1990 modifiant le décret 89-3 du 3 janvier 1989 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles.
- ◆ Décret n° 95-363 du 5 avril 1995 modifiant le décret 89-3 du 3 janvier 1989 modifié relatifs aux eaux destinées à la consommation humaine, à l'exclusion des eaux minérales naturelles.
- ◆ Circulaire n° 429 du 8 avril 1975 relative aux problèmes d'hygiène publique dans les établissements hospitaliers.
- ◆ Circulaire DGS/DH n° 236 du 2 avril 1996 relative aux modalités de désinfection des endoscopes dans les lieux de soins.
- ◆ Lettre circulaire DH/EMI n° 98-7262 du 15 juillet 1998 concernant la sécurité d'utilisation des dispositifs médicaux.
- ◆ Décret n° 87-1012 du 11 décembre 1987 fixant la liste des maladies dont la déclaration est obligatoire en application de l'article L11 du code de la santé publique.
- ◆ Circulaire DGS/PGE/IC n° 238 du 28 mars 1989 relative à la listériose et à la légionellose.
- ◆ 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 celle des bâtiments recevant du public.
- ◆ Circulaire DGS n° 97/311 du 24 avril 1997 relative à la surveillance et à la prévention de la légionellose.
- ◆ Norme AFNOR NT 90-431. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des *Legionella* et *Legionella pneumophila*, novembre 1993

- ◆ Circulaire DGS/SD1D/92 n° 513 du 20 juillet 1992 relative à la qualité des eaux minérales naturelles dans les établissements thermaux.
- ◆ Circulaire DGS/PGE/1D n° 2058 du 30 décembre 1986 relative aux fontaines réfrigérantes.
- ◆ Norme AFNOR NFT 90-414. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des coliformes et coliformes thermotolérants. Méthode générale par filtration sur membrane, Octobre 1985.
- ◆ Norme AFNOR NFT 90-416. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des entérocoques. Méthode générale par filtration sur membrane, Mars 1996.
- ◆ Norme AFNOR NFT 90-402. Essais des eaux. Dénombrement des micro-organismes revivifiables à 22 degrés Celsius. Méthode par incorporation en gélose, Janvier 1996.
- ◆ Norme AFNOR NFT 90-401. Essais des eaux. Dénombrement des micro-organismes revivifiables à 37 degrés Celsius. Méthode par incorporation en gélose, Janvier 1996.
- ◆ Décret n° 81-324 du 7 avril 1981 fixant les normes d'hygiène et de sécurité applicables aux piscines et baignades aménagées.

PRELEVEMENTS D'AIR

- Norme AFNOR NF S 90-351. Matériel médico-chirurgical. Procédure de réception et de contrôles des salles d'opérations, Décembre 1987.
- Norme européenne NF EN ISO 14644-1. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. Partie 1 : classification de la propreté de l'air, Juillet 1999

=====