



Ingénieur du Génie Sanitaire

Promotion : **2008 - 2009**

Date du Jury : **septembre 2009**

**Analyse des risques liés à la présence
de *Pseudomonas aeruginosa* dans
l'eau du réseau hospitalier des
services de réanimation**

Rémi ROUMAT

Référent pédagogique : Pierre Le CANN

Référent professionnel : Anne-Marie ROGUES

Remerciements

Mes remerciements s'adressent aux personnes suivantes :

- Le Pr. Anne-Marie ROGUES, pour m'avoir permis d'effectuer mon mémoire au sein du service d'hygiène hospitalière du CHU de Bordeaux ainsi que pour ses conseils et son soutien tout au long de mon travail.
- Le Dr. Anne-Gaëlle VENIER, assistante hospitalo-universitaire, pour m'avoir également conseillé et orienté au cours de mes travaux.
- Je remercie également Camille DUCERF, attachée de recherche clinique, pour sa participation active à ce travail.
- L'ensemble du personnel d'hygiène hospitalière pour leur accueil et leur sympathie.
- Le Pr. Le Cann Pierre (EHESP) pour son aide et son suivi au bon déroulement du mémoire.

Je remercie également le Dr GRUSON, chef de service de réanimation, ainsi que l'ensemble du personnel du service 1^{er} Aile 1 de réanimation, pour leur accueil au sein du service et leur participation à l'étude menée au cours de ce mémoire.

Je remercie l'ensemble des services techniques ainsi que les techniciens de recherches cliniques des centres hospitaliers participant au projet DYNYPYO pour leur implication et leur participation à ce projet.

Enfin, je remercie le Dr. Isabelle ACCOCEBERRY (CHU de Bordeaux), le Dr. Anne BOUSSEAU (CHU de Poitiers) et le maître de conférence Michel PELANDAKIS (Université de Lyon 1) pour leur aide et leur participation pour l'expérimentation de co-culture avec des amibes libres initialement prévue au cours de ce mémoire mais qui n'a pu aboutir par faute de temps.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Risque relatif et odds ratio en relation avec les facteurs de risque d'acquisition de <i>P. aeruginosa</i>	6
Tableau 2 : Résistances aux antibiotiques en fonction du système d'efflux.....	17
Tableau 3: Risque de résistance lié à l'utilisation d'antibiotiques.....	19
Tableau 4 : Tableau de synthèse des enquêtes réalisées sur l'origine hydrique de <i>P. aeruginosa</i>	40
Tableau 5 : Données DYNAPYO concernant les points d'eau et les patients de chaque service de réanimation (données du 23 juillet 2009)	42
Tableau 6 : Evolution annuelle de la contamination environnementale	50
Tableau 7: effectifs pour le test du Chi deux	51
Tableau 8 : Comparaison de la contamination de l'eau en sortie des points d'eau avant et après mise en place de la filtration terminale	60

Liste des figures

Figure 1 : Occurrence de <i>P. aeruginosa</i> dans les services de réanimation de 2004 à 2006	4
Figure 2 : Evolution des infections à <i>P. aeruginosa</i> de 2005 à 2007 (données CCLIN Sud-Ouest) .	5
Figure 3: Cycle de formation du biofilm chez <i>P. aeruginosa</i>	12
Figure 4 : Structure des pompes d'efflux de <i>P. aeruginosa</i>	16
Figure 5 : Résumé des voies de transmission de <i>P. aeruginosa</i>	31
Figure 6 : Schéma conceptuel de l'origine exogène <i>P. aeruginosa</i>	35
Figure 7 : Schématisation des conformations du réseau d'eau en milieu hospitalier	36
Figure 8 : Pratiques de désinfection et équipement des points d'eau	41
Figure 9 : Taux de contaminations (points d'eau et patients) des services DYNAPYO.....	42
Figure 10 : Hygiène des mains en entrée de chambre de réanimation par le personnel (n=31).....	47
Figure 11 : Hygiène des mains en sortie de chambre de réanimation par le personnel (n=31)	47
Figure 12 : Port d'équipement de protection par le personnel (n=31).....	48
Figure 13 : Répartition des surfaces les plus touchées par le personnel médical dans une chambre de patient (n=104)	49
Figure 14 : Répartition des contaminants identifiés au cours des contrôles d'environnement (n=56)	51

Sommaire

Introduction	1
1 <i>P. aeruginosa</i> : microorganisme pathogène en réanimation	3
1.1 Présentation des services de réanimation	3
1.2 Epidémiologie des infections à <i>P. aeruginosa</i>	3
1.3 Facteurs de risques d'acquisition de <i>P. aeruginosa</i>	5
2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : état des connaissances du pathogène	8
2.1 Caractéristiques microbiologiques	8
2.2 Foyers naturels	9
2.3 Les facteurs de virulence	9
2.3.1 La formation du biofilm	10
2.3.2 <i>Quorum sensing</i>	12
2.3.3 La résistance aux traitements antibiotiques	14
A) Les porines	15
B) Pompes d'efflux	15
C) La production d'enzymes	17
D) Impact du biofilm	19
2.3.4 Résistance aux produits désinfectants	20
3 Identification des réservoirs et voies de transmissions de <i>P. aeruginosa</i> : synthèse bibliographique.	21
3.1 Origine hydrique	21
3.1.1 L'eau du réseau	21
3.1.2 La robinetterie	22
3.1.3 La rétrocontamination	23
3.1.4 Virulence des souches environnementales	24
3.2 Contamination croisée	25
3.2.1 Transmission croisée directe (transfert de patient à patient)	26
3.2.2 Transmission croisée indirecte	26
A) Contamination par le personnel	26
B) Dispositif médical (DM)	27
3.3 Origine Endogène	28
3.4 Résumé	30
4 Contexte du mémoire	31
4.1 Présentation du service d'hygiène	31
4.2 Présentation du projet DYNAPYO	32
4.2.1 Objectifs du projet de recherche	32
4.2.2 Méthode de l'étude	32
4.3 Objectifs de l'évaluation des risques	34
5 Analyse des points critiques liés à <i>P. aeruginosa</i>	34
5.1 Evaluation du risque hydrique	35
5.1.1 Références et problématiques	35
A) Configuration des réseaux	35

B) Utilisation des points d'eau en réanimation	37
C) Confrontation points d'eau/ patient	38
5.1.2 Méthode de l'évaluation	38
5.1.3 Résultats	39
A) Enquête configuration des réseau	39
B) Enquête utilisation des points d'eau	39
5.1.4 Confrontation des résultats des enquêtes avec les contaminations point eau/patient	42
A) Résultats	42
5.2 Evaluation de la transmission croisée (mains et DM)	43
5.2.1 Référentiels et problématiques	44
5.2.2 Enquête contact des surfaces	46
A) Méthodologie	46
B) Résultats des observations	46
a) Hygiène des mains et tenue professionnelle	46
b) Contact avec les surfaces lors de la succession de soins	48
5.2.3 Relevé des surveillances environnementales	50
A) Méthode	50
B) Résultats	50
5.2.4 Evaluation du risque lié aux dispositifs médicaux	52
A) Méthode	52
B) Résultats	52
5.3 Maîtrise du risque endogène	53
6 Discussion des points de maîtrise	54
6.1 Origine hydrique	54
6.2 La transmission croisée	55
6.2.1 Manuportage et environnement proche du patient	55
6.2.2 Dispositifs médicaux (DM)	57
7 Recommandations et axes d'amélioration	58
7.1.1 Mesures pour l'éviction de <i>P. aeruginosa</i> de l'eau	58
A) La désinfection	58
a) Le réseau d'eau hospitalier	58
b) Les points d'eau et siphons en réanimation	59
B) Utilisation des robinets manuels	60
C) Utilisation d'une filtration terminale	60
D) Utilisation d'eau embouteillée pour l'hydratation des patients	61
7.1.2 Mesures préventives pour éviter la transmission de <i>P. aeruginosa</i>	62
A) Environnement proche du patient	62
B) Personnel	63
a) Respect des règles d'hygiène	63
b) La gestion des soins	64
C) Les dispositifs médicaux	64
a) Utilisation d'un matériel dédié à chaque patient	64
b) Préférence des usages uniques	64
c) Protocoles de nettoyage/désinfection	65
7.1.3 Endogène	66
A) Vers un dépistage systématique ?	66
B) Eviter la pression de sélection	66
7.1.4 Etude de la virulence des souches d'origine hydrique	67
Conclusion	69
Bibliographie	71
Liste des annexes	79

Liste des sigles utilisés

BMR : Bactérie Multi Résistante

C. albicans : *Candida albicans*

CCLIN : Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales

DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales

DM : Dispositifs Médicaux

EBLSE : Entérobactéries productrices de BétaLactamases à Spectre Etendu

ECG : ElectroCardioGramme

E. coli : *Escherichia coli*

IC : Intervalle de Confiance

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

OR : Odds Ratio

PHA : Produit Hydro-Alcoolique

PHRC : Programme Hospitalier de Recherche Clinique

QS : *quorum sensing*

RAISIN : Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales

RR : Risque Relatif

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline

SNC : *Staphylococcus* à Coagulase Négative

SFAR : Société Française d'Anesthésie et de Réanimation

SFHH : Société Française d'Hygiène Hospitalière

UFC : Unité Formant Colonie

Introduction

Pseudomonas aeruginosa est un germe pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales en milieu hospitalier. Les infections nosocomiales provoquées par cette bactérie représentent $\frac{1}{4}$ des infections de bactérie à Gram négatif^[35].

Ce germe, ubiquiste environnemental retrouvé principalement dans les milieux humides, est majoritairement retrouvé dans les services de réanimation où il est la cause d'infections diverses. Son occurrence nationale en service de soins intensif est de l'ordre de 15%.

Malgré les avancées en terme d'hygiène (procédés de désinfection du matériel, hygiène du personnel) qui ont permis la diminution de l'occurrence des infections liées au SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) et EBLSE (entérobactéries sécrétrices de lactamases à spectre étendu), le taux d'infection de *P. aeruginosa* reste quasi inchangé depuis les années 1970. C'est à partir de cette période que l'industrie pharmaceutique a orienté ses recherches afin de trouver des molécules antibiotiques efficaces contre cette bactérie^[67].

Du fait de ses capacités naturelles d'adaptation, l'environnement hospitalier semble être favorable à son développement. En effet, la pression de sélection par les antibiotiques et la désinfection (du réseau et des dispositifs médicaux) permet d'éradiquer une flore potentiellement concurrente mais également de créer une sélection génétique des souches de *P. aeruginosa* les plus résistantes.

Ces propriétés naturelles de la bactérie contribuent indéniablement à son écologie en temps que pathogène opportuniste en milieu hospitalier.

Ce mémoire, concernant l'évaluation des risques liés à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du réseau hospitalier des services de réanimation, vise ainsi à déterminer les foyers hospitaliers de la bactérie grâce à un recueil des données scientifiques sur *P. aeruginosa*, et étudier par la suite les points critiques qui en seront identifiés.

Ainsi, le travail réalisé prétend parfaire les connaissances sur la bactérie et d'émettre des axes d'améliorations (ou des perspectives d'avenir) dans le but de réduire, voire de d'endiguer, l'occurrence de *P. aeruginosa* en réanimation.

1 *P. aeruginosa* : microorganisme pathogène en réanimation

1.1 *Présentation des services de réanimation*

La définition réglementaire d'un service de réanimation est fixée par l'article R. 6123-33^[86] : « les soins de réanimation sont destinés à des patients qui présentent ou sont susceptibles de présenter plusieurs défaillances viscérales aiguës mettant directement en jeu le pronostic vital et impliquant le recours à des méthodes de suppléance. »

La réanimation peut alors se définir comme étant l'ensemble des techniques et des moyens nécessaires à pallier une ou plusieurs fonctions vitales momentanément défaillantes, dont on est en droit d'espérer la récupération.

La réanimation est une discipline nécessitant un plateau technique lourd et hautement différencié ainsi qu'une équipe médicale et paramédicale particulièrement étoffée, compétente et performante.

Les affections relevant de la réanimation sont nombreuses : états de choc, comas, insuffisances organiques aiguës, décompensations de maladies chroniques, hémorragies, intoxications, infections sévères, brûlures étendues, période post-opératoire de chirurgies lourdes, etc.

Il existe différentes catégories d'unités de réanimation :

- unité de réanimation médicale
- unité de réanimation chirurgicale
- unité de réanimation médico-chirurgicale (polyvalente)
- unité de réanimation pédiatrique

1.2 *Epidémiologie des infections à P. aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est clairement reconnu comme un pathogène nosocomial majeur. Cette bactérie est notamment retrouvée à la troisième place des principales espèces responsables d'infections nosocomiales (IN). Son occurrence nationale est estimée à 10% en hôpital tous services confondus (22,6% pour *Escherichia coli* et 20% pour *Staphylococcus aureus*)^[88].

Malgré les progrès réalisés en matière de prévention, *P. aeruginosa* reste une des bactéries les plus fréquemment isolées et les plus redoutées en réanimation où elle sévit le plus fréquemment sur le mode endémique.

En effet, de part l'état de vulnérabilité des patients et la lourdeur des soins, ces personnes sont plus sujettes à des IN, et notamment à *P. aeruginosa*.

La figure 1 illustre la variation d'occurrence du P_{yo} dans les services de réanimation au niveau national de 2004 à 2006.(données REA-RAISIN^{[89][90][91]}).

Ce graphe illustre le fait que malgré les améliorations en termes d'hygiène et de pratiques médicales, l'occurrence de *P. aeruginosa* reste proche de 15% en réanimation.

Ces mêmes améliorations ont pourtant permis de réduire les infections nosocomiales liées à *E. coli* et à *S. aureus* (aussi bien en réanimation que dans les autres services hospitaliers).

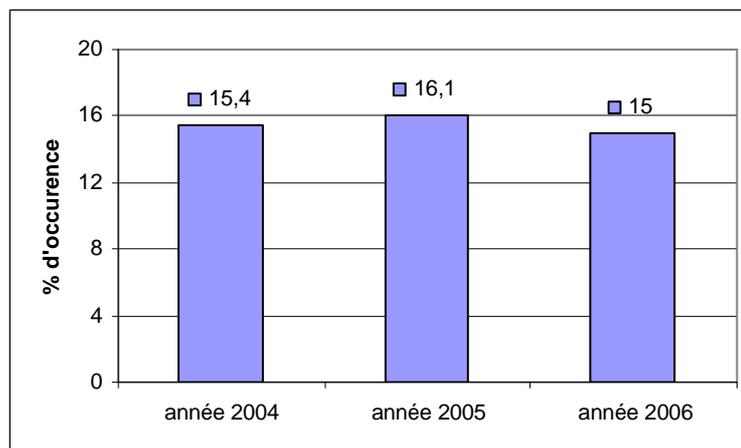


Figure 1 : Occurrence de *P. aeruginosa* dans les services de réanimation de 2004 à 2006

P. aeruginosa est capable de provoquer différents types de pathologies en fonction du point d'entrée de la bactérie. Il peut infecter toutes les parties de l'organisme. Dans la plupart des infections provoquées par cette bactérie, la perte d'intégrité d'une barrière physique (peau, muqueuse, etc) ou une faiblesse de la réponse immunitaire (patients neutropéniques ou immunodéprimés) en sont des facteurs favorisants^[95].

Les pathologies engendrées par *P. aeruginosa* sont multiples, mais les principales sont ^{[95][69][74]}:

- infections cutanées (ecthyma gangrenosum : lésions typiques de *P. aeruginosa*)
- infections urinaires
- pneumopathies
- bactériémies
- septicémie (passage de la bactérie dans le sang → atteinte systémique)

Pseudomonas aeruginosa est également un agent qui colonise et infecte les patients atteints de fibrose kystique, autrement appelée mucoviscidose.

La figure 2 représente les taux relatifs à chaque type d'infections provoquées par le *P. aeruginosa* (et leurs évolutions) entre 2005 et 2007(données CCLIN Sud-Ouest^{[82][82][84]}).

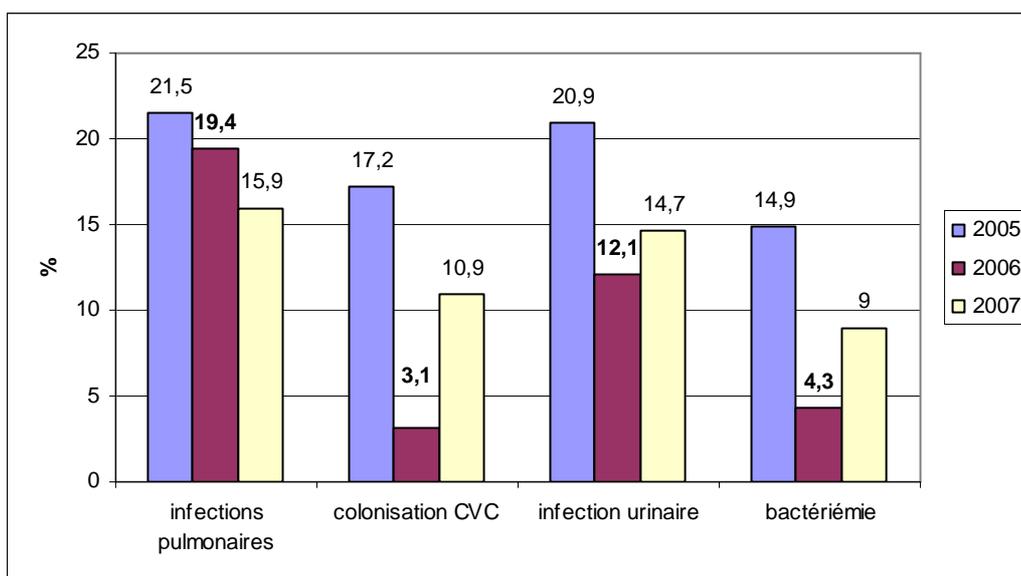


Figure 2 : Evolution des infections à *P. aeruginosa* de 2005 à 2007 (données CCLIN Sud-Ouest)

Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* sont souvent sévères avec un taux de mortalité qui atteint en moyenne 40 à 50%^[69]. Malgré l'utilisation d'antibiotiques dans les traitements pour les atteintes graves (telles que les pneumopathies), ce pourcentage de mortalité peut atteindre 76%^[17].

Ce fort taux de mortalité provient de la propriété intrinsèque de *P. aeruginosa* à avoir un « bagage » de facteurs de virulence, qui lui confère un caractère pathogène prononcé. *P. aeruginosa* utilise un flagelle polaire pour la mobilité et sécrète un lipopolysaccharide qui supprime les réponses immunitaires de l'hôte, en plus d'intervenir directement dans l'établissement d'infections persistantes.

Parmi les sécrétions de *P. aeruginosa* sont retrouvées des protéines (élastase et protéase) qui détruisent l'intégrité des tissus de l'hôte en dégradant leurs protéines telles que l'élastine, la collagène et les transférines. Des toxines de poids moléculaire faible comme la pyocyanine, affectant différents types de sites dans la cellule hôte, sont responsables de la formation de nécroses.

1.3 Facteurs de risques d'acquisition de *P. aeruginosa*

Plusieurs facteurs de risques d'acquisition de *P. aeruginosa* chez les patients de réanimation ont été identifiés et étudiés dans la littérature.

Le tableau 1 regroupe les valeurs de risque relatif ou d'odds ratio renseignés pour certains d'entre eux.

En addition des critères listés dans ce tableau; la lourdeur des soins, le temps de séjour, le nombre de dispositifs invasifs nécessaire au traitement du patient sont également des facteurs de risque identifiés.

Cependant, il s'agit d'éléments directement liés aux besoins médicaux du patient. Sur ces facteurs cités, les moyens de prévention restent limités^[36].

Tableau 1 : Risque relatif et odds ratio en relation avec les facteurs de risque d'acquisition de *P. aeruginosa*

		Risque Relatif (RR)	Odds Ratio (OR)	Intervalle de confiance [IC] à 95%	p value
Exposition antérieure à <i>P. aeruginosa</i> ^[8]		-	11,1	[1,4 - 85]	0,002
antibiotiques		-	5,2 ^[8]	[1,8 – 15,2]	0,002
		-	3,2 ^[3]	[1,7 – 7,9]	0,014
Dispositifs invasifs ^[63]	Sonde urinaire	2,35	-	[1,4 – 3,93]	0,0008
	Cathéters	1,71	-	[1,04 – 2,85]	0,032
	Sonde naso-gastrique	2,7	-	[1,6 – 4,51]	0,001
Ventilation mécanique		2,9 ^[3]	-	[1,78 – 4,71]	0,0001
		-	27 ^[8]	[3,6 – 198,9]	0,001
		-	8,2 ^[14]	[1,65 – 40,7]	0,001

ADER *et al* (2008) ont mis en évidence l'interaction pathogénique entre *P. aeruginosa* et *Candida albicans*. Il a été montré que *P. aeruginosa* exploite la forme filamenteuse de *C. albicans* en créant en parallèle une activité fongicide sur celui-ci.

Cette interaction permet donc à *P. aeruginosa* de pénétrer au sein des voies aériennes supérieures de l'homme et l'activité fongicide permet à la bactérie de limiter la croissance de *C. albicans* à son profit.

Une colonisation primaire à *C. albicans* est donc potentiellement un facteur de risque supplémentaire d'acquisition de *P. aeruginosa*.

Au cours de son hospitalisation, un patient peut être interné dans différents services d'un même hôpital en fonction de l'évolution de son état de santé et du bilan diagnostique qu'il lui est fait.

De manière générale, avant d'être hospitalisé en réanimation, le patient a été examiné au service d'urgences et dont le diagnostic médical nécessite le transfert en soins intensifs.

Il se peut également qu'un patient soit transféré d'un établissement hospitalier vers une autre structure hospitalière, plus à même de répondre aux besoins médicaux que nécessite ce patient. C'est notamment le cas des services de réanimation du CHU de Bordeaux qui accueillent des malades en provenance de centres hospitaliers régionaux.

P. aeruginosa est un pathogène qui survient principalement dans les services de réanimation, mais cela ne signifie pas qu'il n'est exclusivement présent que dans ces services.

En effet, des échantillonnages pour mesurer la qualité microbiologique de l'eau sont effectués sur l'ensemble du réseau d'eau, ainsi que l'ensemble des services du CHU de Bordeaux, par le service d'hygiène hospitalière. La détection de la bactérie dans différents services, bien qu'exceptionnelle, n'est pas pour autant un phénomène rare et isolé. LASHERAS *et al* (2006) estime de ce fait que 35,7% des cas d'infections à *P. aeruginosa* décelées en service de soins intensifs seraient importés d'autres services ou du domicile du patient.

P. aeruginosa a également été retrouvé dans les échantillons d'eau issus des services d'urgence^[30]. Cependant, le mode de la colonisation (primaire ou secondaire) de la portion de réseau d'eau en services d'urgences reste discuté dans la littérature. Cette colonisation pourrait être due à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau distribuée dans le réseau^[30] mais le phénomène de rétrocontamination par la flore endogène du patient est également documenté^[55].

Tout comme pour les voies de contamination en réanimation, l'origine de *P. aeruginosa* dans d'autres services hospitaliers n'apparaît pas comme étant unique, mais semble être la conséquence de la diversité de voies de colonisation du réseau par cette bactérie.

Face à une incidence de *P. aeruginosa* plus forte dans les services de soins intensifs que dans les autres services hospitaliers, à son occurrence stable malgré les diverses améliorations déjà apportées (pratiques médicales et de désinfection) et à la gravité des infections qu'il provoque, *P. aeruginosa* est un pathogène redoutable et redouté dans les services de réanimation.

Dans un premier temps, ce mémoire a ainsi pour objectifs d'identifier les foyers principaux de *P. aeruginosa* pouvant expliquer son occurrence dans les services de soins intensifs grâce à une étude bibliographique.

Ces recherches permettront également d'identifier les points dits critiques pour la maîtrise des infections liées à la bactérie.

Dans un deuxième temps, l'analyse des dangers liés à l'origine hydrique ainsi qu'aux différentes pratiques hospitalières, aura pour finalité d'envisager des mesures adaptées pour tenter d'endiguer la survenue d'infections nosocomiales par cette bactérie.

Ces mesures peuvent être de deux natures :

- à court terme ; pour traiter de façon rapide les foyers de contaminations potentiels.
- pérenne ; pour le « contrôle » relatif des risques d'occurrence du pathogène en réanimation.

Cette étude généraliste sur *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation s'inscrit en parallèle d'un projet de recherche national, le projet DYNAPYO, qui s'intéresse à la dynamique du pathogène dans ces services.

Ce projet de recherche multicentrique sera explicité ultérieurement dans ce rapport.

2 Pseudomonas aeruginosa : état des connaissances du pathogène

2.1 Caractéristiques microbiologiques

Pseudomonas aeruginosa (autrement connue sous le nom de bacille pyocyanique) est une espèce bactérienne qui appartient à la famille des *Pseudomonaceae*^[11]

Les critères phénotypiques de cette espèce sont : bacille (de 0.5 à 0.8 µm de large et de 1.5 à 3.0 µm de long) aérobic strict possédant une ciliature polaire monotriche lui conférant une forte mobilité. Cette espèce est caractérisée par une catalase et une oxydase positives, et ne fermente pas le glucose^[95].

Pour sa croissance en milieu gélosé, *P. aeruginosa* est une espèce dite non exigeante, qui pousse facilement sur milieu ordinaire (gélose nutritive classique) en donnant des colonies grasses à reflets métalliques et qui sont fluorescentes sous éclairage à ultra-violets.

Comme les autres espèces du genre *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* sécrète des pigments diffusibles dans le milieu :

- la pyocyanine (bleu-vert)
- la fluorescéine (jaune-vert fluorescent)
- la pyorubine (brun rouge)^[11]

En culture, la croissance de *P. aeruginosa* produit une odeur caractéristique de raisin et les isolats peuvent produire 3 types de colonies :

- Les isolats issus du milieu naturel forment de petites colonies.
- Les souches cliniques isolées quant à elles se caractérisent, en général, par la formation de colonies dites en forme d'« œuf au plat » (colonies larges, grasses et bombées).

- Lors d'isolements de souches responsables d'infections, les colonies sont dites « muqueuses » du fait de la production d'alginate. Ces colonies muqueuses sont suspectées de jouer un rôle concernant la virulence de *P. aeruginosa*^[95]. Ce point sera explicité ultérieurement au cours de ce rapport.

L'optimum de croissance pour sa culture est de 35°C^[6]. Cependant, elle est également capable de se développer à des températures allant de 2°C à 42°C^[11]. La capacité à croître à une température de 24°C permet de différencier *P. aeruginosa* des autres espèces appartenant au genre *Pseudomonas*.

Les souches de *P. aeruginosa* supportent de fortes variations de paramètres physicochimiques (notamment la température et la concentration en sels du milieu)^[61].

2.2 Foyers naturels

P. aeruginosa est une bactérie ubiquiste de l'environnement. Elle est retrouvée de manière privilégiée dans les milieux humides ou aqueux ainsi que dans les sols^{[11][47][73]}. Cette bactérie est également fréquemment rencontrée dans les plantes ou les fruits, où elle provoque des pourritures molles.

P. aeruginosa peut également faire partie de la flore endogène « normale » de l'Homme^{[8][47]}. Ce portage est peu fréquent car il est estimé que la proportion de porteurs de *P. aeruginosa* est de l'ordre de 2 à 10%^{[15][73]} dans la population. Les principaux sites de portage de la bactérie constituent la sphère ORL (nez et oropharynx), le tractus intestinal et la peau en plus faible proportion^{[4][8][9][73]}. Le tractus intestinal est toutefois considéré comme le réservoir endogène principal de la bactérie^[9]. Dans le cas de la présence de la bactérie sur la peau, il s'agit principalement d'un état transitoire du portage en tant que flore commensale. Ceci signifie que la bactérie peut être présente de façon accidentelle en surface de la peau mais n'y subsiste pas de façon pérenne.

Malgré le portage de *P. aeruginosa*, celle-ci est rarement pathogène pour la personne saine et en bon état de santé général^{[16][17]}. En revanche, dans le cas de personnes en état d'immunodépression ou de faible état de santé, *P. aeruginosa* agit alors comme un pathogène opportuniste et ainsi peut provoquer des infections^[73].

2.3 Les facteurs de virulence

P. aeruginosa est une bactérie « robuste » capable de résister à de grandes variations de paramètres physicochimiques. Elle est naturellement très résistante aux antibiotiques et s'adapte rapidement aux thérapeutiques médicamenteuses.

Ceci explique également la nature ubiquiste de cet organisme et les raisons de sa prédominance en temps que pathogène nosocomial en réanimation. Les propriétés naturelles de la bactérie qui sont présentées par la suite, contribuent indéniablement au succès de son écologie en milieu hospitalier comme un pathogène opportuniste.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste invasive (du fait de sa grande mobilité et sa diffusion rapide dans la circulation sanguine) et cytotoxique (du fait de la sécrétion de toxines telles que l'Exotoxine A ou encore par la sécrétion de protéases)^{[61][95]}.

2.3.1 La formation du biofilm

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie qui est capable de développer et de subsister au sein d'une structure particulière au monde microbien : le biofilm.

Le biofilm est défini comme étant une population microbienne adhérente à une surface et enrobée d'une matrice^[21]. Cette structure est également retrouvée dans les tissus pulmonaires chez les personnes atteintes de mucoviscidose^[11]. La matrice ainsi produite par *P. aeruginosa* est principalement constituée d'exopolysaccharides (dont 85% d'alginate), de protéines et d'ADN^{[21][54]}.

Cette couche d'alginate rend *P. aeruginosa* difficilement accessibles aux produits désinfectants^[62], aux antibiotiques^{[29][36]} ou encore aux défenses immunitaires^[36] de l'organisme.

La compréhension des mécanismes de formation du biofilm est importante car il est relaté dans la littérature scientifique que 65% des infections nosocomiales sont dues à des biofilms^[21].

La formation de cette structure est la conséquence de marqueurs environnementaux qui sont directement reliés au *quorum sensing* (QS). Les signaux transmis de cellule à cellule sont basés sur la perception de quorum, à partir d'une concentration seuil, ceci va déclencher des gènes cibles pour la formation du biofilm par la bactérie^[21].

Ce mode de vie de *P. aeruginosa* est observable à l'intérieur des tuyaux du réseau d'eau, et notamment dans les réseaux d'eau du secteur hospitalier. Sa formation est d'autant plus favorisée si l'écoulement des flux à l'intérieur de ces conduits est lent^[77], car la fixation de la bactérie est plus aisée du fait des faibles perturbations engendrées.

Le QS n'a pas uniquement le rôle d'initiateur de formation du biofilm, la communication cellulaire étant constante, en fonction de la concentration de molécules dues à la densité microbienne, le QS peut ainsi agir en tant que signal pour le relargage de bactéries hors du biofilm.

Pouvant se développer dans un biofilm, *P. aeruginosa* possède donc 2 états physiologiques :

- état planctonique : bactérie isolée capable de se déplacer.
- état sessile : bactérie fixée sur une surface ou présente dans un biofilm. Ces cellules sont moins actives métaboliquement que les bactéries planctoniques. Ceci permet d'expliquer la meilleure résistance aux perturbations environnementales et aux antibiotiques des bactéries d'un biofilm.

P. aeruginosa sous forme sessile est capable de se déplacer grâce à une ciliature polaire mais également la présence de pili (dits de type IV), qui sont des structures fibrillaires présentes aux pôles de certaines bactéries à Gram -. Ces pili de type IV confèrent à *P. aeruginosa* une mobilité particulière nommée « *twitching motility* ». Ceci consiste en une succession de contraction/rétractation de ces pili qui permet l'adhérence de la bactérie à des surfaces solides.

L'intégrité génétique (absence de mutations des gènes du flagelle et des pili) ainsi que leur intégrité physique sont primordiales pour la fixation de la bactérie sur une surface et ainsi initié le cycle de formation du biofilm^[21].

Lorsqu'une bactérie sessile se trouve sur une surface inerte, celle-ci va sécréter des molécules spécifiques pour permettre l'adhésion, ce sont les adhésines^{[21][34]}.

Une bactérie fixée sur une surface ne signifie pas pour autant qu'elle est immobile.

L'étude de TOLKER-NIELSEN *et al* (2000) permet d'illustrer ces propos. Elle montre qu'un biofilm formé par des espèces bactériennes différentes présente deux phases distinctes :

- la formation de micro-colonies séparées des différentes espèces sur le substratum
- des phénomènes de migrations entre les micro-colonies qui illustrent la mobilité bactérienne à l'intérieur d'un biofilm.

L'intérieur du biofilm est ainsi organisé en multitudes de micro colonies, séparées par des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation. Ce réseau permet l'apport d'oxygène, de nutriments et d'évacuation des déchets^[21]. Il est couramment observé au sein du biofilm la présence de bactérie aéro-anaérobie en périphérie et des bactéries de profil anaérobie dans les couches profondes.

La figure 3 illustre le cycle de formation du biofilm par *P. aeruginosa*.

Un biofilm étant une structure où se développent de multiples espèces microbiennes, le transfert horizontal de gènes y est également très présent. Il permet d'obtenir une diversité génétique très importante pour un biofilm donné^{[21][54]}. Ceci peut

expliquer les phénomènes de multi résistances et l'accumulation de mécanismes de défenses présents chez *P. aeruginosa* (isolés de souches cliniques). Ce point sera développé par la suite.

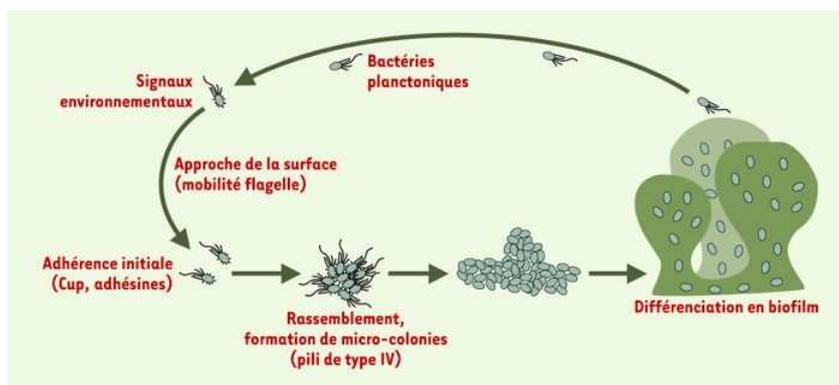


Figure 3: Cycle de formation du biofilm chez *P. aeruginosa*^[21]

La diversité génétique qui opère au sein d'un biofilm constitue un avantage de survie pour les bactéries relâchées ensuite dans l'eau du réseau, par rapport aux souches sauvages. C'est ce phénomène de relargage de bactéries sessiles qui peut expliquer la persistance et la récurrence des infections ayant pour cause un biofilm^[21].

Les bactéries ainsi relâchées présentent une virulence significativement supérieure à la virulence de bactéries de type sauvage ($p < 0,001$)^[21] et sont capables de produire plus d'alginate. Cette propriété leur donne une capacité d'infection supérieure grâce à une meilleure adhésion sur les surfaces que les souches sauvages^[53].

2.3.2 Quorum sensing

Au cours de ces dernières années, un mode de communication a été mis en évidence chez les bactéries, dont notamment *P. aeruginosa*. Celui-ci correspond en un partage d'informations (via des molécules) entre les bactéries d'une même espèce. Il s'agit du *quorum sensing* (QS)^{[19][21]}. Ce mode de communication de nature chimique^[78], est une preuve de la capacité des bactéries à avoir un comportement « sophistiqué » et de coopération.

Ce système est fondé, chez les bactéries à Gram négatif, sur la production de phéromones diffusibles qui donnent des indications de la densité cellulaire dans un environnement donné.

Ces molécules diffusent à travers la membrane bactérienne et, lorsque leur concentration atteint un certain seuil, elles provoquent l'activation de gènes cibles chez la bactérie^[21].

Cependant, la communication bactérienne (cellule à cellule) n'apparaît pas uniquement que pour de fortes densités de populations. Le terme QS a été adopté comme générique pour la description de n'importe quel type de communication inter bactéries^[78].

Le QS est considéré comme un mécanisme de régulation clé dans l'adaptation écologique et la pathogénéicité de *P. aeruginosa*.

10% du génome de la bactérie est dévoué à la régulation du QS. Il joue un rôle clé dans la formation du biofilm, la mobilité bactérienne ainsi que l'expression de pompes d'efflux pour la résistance aux antibiotiques. Ce mode de communication a également une influence directe sur le phénomène d'interactions hôte-pathogène^[78] ainsi que sur la production d'exo produits sécrétés par *P. aeruginosa* (tels que ; la pyocyanine, l'élastase, la lectine A, l'Exotoxine A ^[61] ou encore les protéases qui facilitent l'adhérence et l'invasion de l'organisme par la bactérie^[95]). L'action de l'Exotoxine A consistant à inhiber la synthèse protéique de la cellule hôte^[11] et ainsi interrompre tout fonctionnement cellulaire.

A ce jour, 3 systèmes de type *quorum sensing* ont été identifiés chez *P. aeruginosa* ^{[19][21][61][78]} :

- *lasR/lasI* ; induit les gènes de virulence *lasB*, *lasA* et *toxA*
- *rhlR/rhlI* ; régulateur de la production de rhamnolipides (qui ont une activité cytotoxique^[11]) et la production de LasB
- *qscR*

Ces systèmes sont connectés au sein d'une cascade génétique et contrôlent l'expression de la quasi totalité des gènes impliqués dans la virulence.

Une défaillance d'expression des gènes liés au *quorum sensing* a un rôle crucial quant à la non possibilité de la bactérie à former une structure de type biofilm^[78]. Pour illustrer ces propos, FILLOUX and VALLET (2003), rapportent qu'une souche de *Pyo* défectueuse concernant le gène *lasI* ne peut pas se fixer sur une surface, et de ce fait l'initiation de la formation du biofilm est avortée.

P. aeruginosa possède un éventail de facteurs de virulence dont le QS de type III^{[21][78]} qui permet la sécrétion de molécules directement dans le milieu extérieur (donc sans nécessiter le transfert par des vésicules)^[34].

Le type III à lui seul contribue à la virulence de *P. aeruginosa*, car il permet la formation d'un conduit (entre la cellule hôte et le pathogène) permettant ainsi la translocation d'effecteurs de la cellule hôte au profit de la bactérie.

Ce QS de type III est d'autant plus important qu'il peut être transmis de façon horizontale entre les différentes souches de *P. aeruginosa*^[17].

En revanche, certains éléments extracellulaires sont émis dans le milieu extérieur par la bactérie via des vésicules. La sécrétion de produits extracellulaires est le

mécanisme majeur utilisé par les pathogènes Gram négatif pour communiquer avec les cellules hôtes infectées.

Les vésicules sont de forme sphérique (de 50 à 250 nm de diamètre) avec une bicouche membranaire qui crée un centre de nature hydrophobe permettant le transport de molécules non solubles.

De manière générale, les souches pathogènes sécrètent plus de vésicules que les souches non pathogènes. Ceci est dû à la nécessité de transport des produits de pathogénicité de la bactérie vers la cellule hôte (enzymes, toxines, etc).

Les vésicules ne servent pas uniquement à transférer des molécules ou autres éléments à l'intérieur d'une cellule hôte. Elles permettent aussi le transfert de matériel (génétique ou enzymatique) et de résistance aux antibiotiques entre bactéries, ce qui contribue à la diversité génétique de la flore microbienne^[34].

2.3.3 La résistance aux traitements antibiotiques

Les infections à *P. aeruginosa* sont difficiles à traiter, en raison d'une capacité de résistance naturelle à un certain nombre d'antibiotiques^{[11][21]}. La résistance n'est pas reliée à un seul facteur, elle est au contraire le résultat de l'association et la mise en jeu de différents mécanismes, qui permettent d'aboutir à une résistance multiple.

Cette particularité de *P. aeruginosa* est liée à :

- des facteurs intrinsèques de résistance (faible perméabilité de la membrane, présence de nombreuses pompes d'efflux, production d'enzymes inhibitrices, production de biofilm)^{[21][30][36][40]}.
- des facteurs exogènes tels que l'acquisition horizontale de gènes ou de mécanismes de résistance^{[11][30][40]}.

P. aeruginosa est notamment capable d'acquérir ou de développer de nouveaux mécanismes de résistance, en cours d'antibiothérapie^[11]. Il n'est pas exceptionnel de retrouver pour une seule souche, plusieurs mécanismes de résistance. HOCQUET *et al* (2007) ont identifié 7 mécanismes différents pour une souche clinique de *P. aeruginosa* résistante à 11 antibiotiques.

Cette résistance multifactorielle et évolutive de *P. aeruginosa* envers les différents antibiotiques conduit à une multi-résistance. Tout comme *Staphylococcus aureus* auparavant, le traitement d'infection à *P. aeruginosa* par les antibiotiques conduit à l'apparition de Bactéries Multi Résistantes (BMR). Il a été estimé que 1% des souches de *P. aeruginosa* retrouvées en milieu hospitalier sont résistantes à tous les antibiotiques^[42].

LEPELLETIER *et al* (2006) ont démontré l'association significative entre la survie de *P. aeruginosa* et l'utilisation de différents antibiotiques, dont notamment les fluoroquinolones, l'ofloxacine, les imipénèmes et ceftazidime.

L'utilisation d'antibiotiques (dont des antibiotiques anti-Pseudomonas tels que la ciprofloxacine) ainsi que la durée du traitement jouent un rôle majeur dans l'acquisition de résistance^[47] par *P. aeruginosa*, qui possède une extraordinaire capacité d'adaptation à son environnement.

La pression de sélection créée par les antibiotiques, oblige les bactéries à une évolution rapide pour survivre. *P. aeruginosa*, pour perdre le phénotype sauvage en cas de nécessité de survie, est capable de créer des mutations chromosomiques sur son propre génôme sans nécessité d'ADN étranger^[30](via les plasmides) comme il l'est généralement le cas pour *Escherichia coli* ou *S. aureus*, par exemples.

A) Les porines

Les porines (protéines présentes dans la membrane bactérienne) constituent la première barrière de la cellule pour la résistance aux antibiotiques. Ces protéines particulières en forme de « tuyau » permettent la liaison entre le milieu extérieur et le cytoplasme bactérien, et donc permettent les échanges de différentes natures (molécules enzymes, éléments nutritifs, etc).

En présence de certains antibiotiques, *P. aeruginosa* est capable de réprimer l'expression de ces protéines et rendre ainsi la membrane imperméable à ces molécules. Pour illustrer ceci, en présence de carbapénèmes, imipénèmes ou encore méropénème (qui sont de antibiotiques dont le mode d'action nécessite la pénétration de la molécule au sein de la bactérie), *P. aeruginosa* ne synthétise plus la porine OprD (transporteur hautement spécifique). Ceci conduit à l'imperméabilité de la membrane bactérienne à ces constituants, et donc rend leur action inefficace contre *P. aeruginosa*^{[11][44]}.

La perte d'expression de ces protéines spécifiques est donc un phénomène induit par le milieu extérieur et plus précisément induit par la présence d'antibiotiques.

La résistance aux antibiotiques par sous expression de porines entraîne une diminution de la virulence de la souche, liée aux mutations génétiques. Cependant, des mutations secondaires peuvent réinstaurer la virulence initiale de la souche^[30].

B) Pompes d'efflux

En complémentarité de la faible perméabilité membranaire qui limite la pénétration d'antibiotiques à l'intérieur de la cellule, *P. aeruginosa* possède un mécanisme particulier qui augmente la capacité naturelle de résistance de cette espèce : les pompes d'efflux^{[11][19][21][52]}.

Ce mécanisme permet d'expulser les molécules d'antibiotiques présentes dans le cytoplasme de la bactérie vers le milieu extérieur.

Il est important de signaler que *P. aeruginosa* est capable d'acquérir de nouvelles résistances au cours d'une antibiothérapie, du fait de l'expression de certaines pompes d'efflux induit par les antibiotiques. Ceci augmente la difficulté de traitement de ses infections^[11].

Il existe différents types de pompes d'efflux présents chez *P. aeruginosa* (au nombre de 5 connus à ce jour)^[11].

Tous ces systèmes sont composés de 3 protéines selon le modèle suivant^{[11][52]} :

- protéine s'insérant dans la membrane cytoplasmique et joue le rôle de pompe à proton (transporteur)
- protéine périplasmique qui sert de lien
- protéine (porine) de la membrane externe formant des pores et permettant le rejet des molécules pompées.

La figure 4 illustre la conformation d'une pompe d'efflux ainsi que les différents systèmes possibles.

Il est important de souligner que chaque système d'efflux est capable d'éjecter vers le milieu extérieur des molécules structurellement non apparentées, tels des antibiotiques de différentes classes, entraînant, par conséquent, l'apparition de résistances multiples^[11].

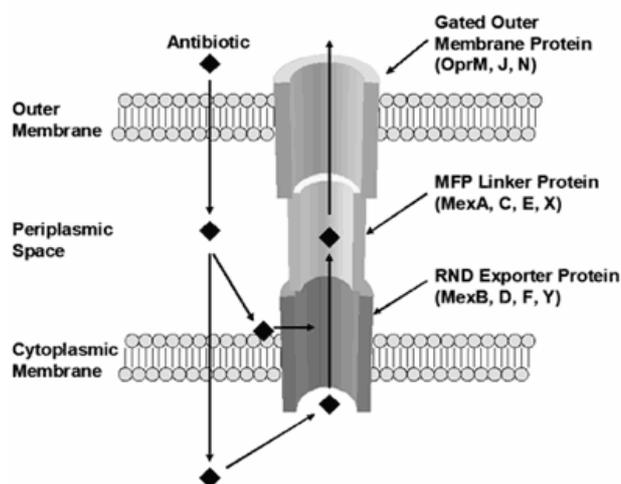


Figure 4 : Structure des pompes d'efflux de *P. aeruginosa*

Le tableau 2 illustre les résistances aux antibiotiques en fonction du système de pompe d'efflux^{[11][52]}.

Tableau 2 : Résistances aux antibiotiques en fonction du système d'efflux

Pompe d'efflux	Résistances associées	Expression
« Mex-AB-OprM »	β -lactames, quinolones, chloramphénicol, novobiocine, tétracycline, sulphonamide	Constitutive*
« Mex-CD-OprJ »	macrolides, chloramphénicol, novobiocine, tétracycline, β -lactames	Inductible**
« Mex-EF-OprN »	fluoroquinolones, chloramphénicol, carbapénèmes, triméthoprine	Inductible**
« Mex-XY-OprM »	tétracycline, aminoglycosides, erythromycine	NR

* : l'expression de ce système est initialement présente chez les souches sauvages (environnementales)

** : l'expression de ce système d'efflux est induite uniquement en présence d'un des antibiotiques correspondant

NR : non renseigné

Même si à ce jour leur fonction naturelle est inconnue, la contribution des pompes d'efflux à la résistance aux antibiotiques en font des cibles de recherche privilégiées pour les voies thérapeutiques futures^[52]. Cela consisterait à empêcher leur mise en place ou perturber le bon fonctionnement de ces pompes afin d'augmenter l'efficacité d'action des antibiotiques.

C) La production d'enzymes

Un autre facteur de résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* est la production d'enzymes inhibant l'action des certaines classes d'antibiotiques. Cette capacité est intrinsèque à *P. aeruginosa*, c'est à dire présente initialement dans le génome de la bactérie^[30].

Les principales enzymes sécrétées sont :

- céphalosporinases; inhibent l'action des céphalosporines et β -lactames. Elles sont produites par toutes les souches de *P. aeruginosa*, car résultent de l'expression génétique^{[19][30][44]}.
- pénicillases; inhibent l'action de la pénicilline. Il s'agit d'une expression qui est induite par la présence de pénicilline dans le milieu extérieur^[19].
- aminoglycosidases qui modifient la conformation spatiale des aminoglycosides et donc empêche la fixation de la molécule sur les récepteurs spécifiques de la bactérie^{[30][40]}.
- β -lactamases qui permettent la résistance aux β -lactames et aux aminoglycosides^{[30][40]}.

Depuis 1990, l'émergence de nouvelles enzymes appelées « metallo- β -lactamases » est de plus en plus répandue chez les souches de *P. aeruginosa*.

Ces enzymes (IMP, VIM, SPM, GIM principalement) confèrent une résistance aux antibiotiques β -lactames^[24]. Les souches productrices de metallo- β -lactamases entraînent un taux de mortalité supérieur aux autres souches de *P. aeruginosa*^[80] ce qui suscite l'intérêt du monde hospitalier pour mieux connaître et appréhender les moyens de lutte adaptés envers ces souches.

L'utilisation d'antibiotiques pour traiter les infections à *P. aeruginosa* peut s'avérer inefficace du fait de la forte résistance de la bactérie (via les différents facteurs énoncés précédemment).

La sensibilisation actuelle qui est faite autour des antibiotiques (« les antibiotiques c'est pas automatique ») est une illustration de la prise de conscience dans le milieu médical de l'influence de l'abus de ces molécules. L'apparition de BMR est directement due à la forte utilisation d'antibiotiques, dans le passé, pour traiter tout type d'infection. Ceci a engendré un phénomène de résistance et d'adaptation des bactéries pathogènes à ces molécules. Les résistances développées par *P. aeruginosa* en sont la parfaite illustration. Par exemple, l'utilisation de fluoroquinolones (qui sont des antibiotiques dits à large spectre, non spécifique d'une bactérie donnée) est un facteur d'acquisition de résistance par *P. aeruginosa*^[36].

L'exemple des fluoroquinolones n'est pas unique. L'évolution de la résistance chez *P. aeruginosa* parallèle à l'évolution de la consommation d'antibiotiques de manière générale. L'évolution de la résistance aux antibiotiques par *P. aeruginosa* peut également être observée chez un seul patient^[31].

MESSADI *et al* (2008) se sont intéressés à l'évolution de résistance en fonction de la consommation d'antibiotiques. Le traitement avec des fluoroquinolones induit la résistance de *P. aeruginosa* aux imipénèmes alors que la consommation d'imipénèmes n'entraîne pas de résistance envers eux-mêmes. La consommation de ciprofloxacine, quant à elle, est corrélée avec l'apparition de résistance à cette molécule.

Ces différents exemples illustrent le fait que la résistance à un antibiotique n'est pas uniquement dépendante de la présence de la molécule. Il s'agit d'un phénomène plus complexe et multifactoriel pour la pérennisation de la résistance chez une souche de *P. aeruginosa*.

Toutefois, il est clairement établi que le risque d'apparition de résistance augmente avec l'utilisation d'antibiotiques^{[23][41]}. Le tableau 3 suivant indique les OR pour l'acquisition de résistance à certains antibiotiques.

Tableau 3: Risque de résistance lié à l'utilisation d'antibiotiques^[23]

antibiotique	OR	IC à 95%
cefotaxime	9,3	[2,9 – 30,2]
imipénème	7,8	[3,4 – 18,1]
Piperacilline-tazobactame	3,9	[1,3 – 11,9]

Les souches cliniques de *P. aeruginosa* (souches qui sont responsables d'infections) sont plus résistantes^[59] et plus virulentes^[19]($p < 0,006$) que les souches sauvages (ou souches environnementales). La pression de sélection exercée par les antibiotiques en est une explication. Seules les souches capables de se développer en présence d'antibiotiques survivent en secteur hospitalier, et de ce fait créent des infections qui sont difficiles à traiter.

Les souches ayant une plus forte occurrence sont celles qui résistent le mieux aux antibiotiques. A terme, ces souches pourraient devenir des colonisatrices récurrentes du milieu hospitalier^[70].

Ce dernier point est redouté par le corps médical car ces souches BMR sont difficiles à traiter de manière efficace avec les traitements actuels, et pose un sérieux problème de gestion future des infections.

D) Impact du biofilm

Comme il l'a été expliqué précédemment, les bactéries présentes dans le biofilm ont un métabolisme « ralenti » comparé à des bactéries planctoniques. Ceci rend les antibiotiques moins efficaces dans ce cas de figure car la majorité des principes actifs nécessitent une activité cellulaire pour permettre l'assimilation de la molécule sur sa cible. En complément de cela, la couche d'alginate formée ralentie la diffusion des antibiotiques, ce qui diminue grandement la dose d'antibiotiques qui peut pénétrer dans la cellule et donc être à une teneur insuffisante pour avoir une action létale^[21].

A titre d'exemple, HETRICK *et al*(2009) ont rapporté qu'il faudrait une dose d'antibiotiques 1000 fois supérieure à la dose létale de *P. aeruginosa* sous forme de bactérie libre, pour avoir le même effet sur les bactéries étant dans le biofilm.

Pour estimer de manière optimale la dose d'antibiotiques efficace, il est essentiel de faire la différence entre la matrice du biofilm et les bactéries qui y sont incluses. Si un composé éradique les bactéries sessiles, il ne permet pas la dislocation de la matrice qui pourra être recolonisée par la suite, et ainsi observer une nouvelle vague de contamination.

Aucun antibiotique n'ayant une action d'éviction totale des résidus de la matrice formée par *P. aeruginosa*, le corps médical est au fait de la possibilité de récurrence des infections^[65], sans traitement dirigé contre la matrice.

2.3.4 Résistance aux produits désinfectants

L'usage seul des antibiotiques ne permet pas d'expliquer entièrement le phénomène d'adaptation de *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa a également développé des résistances aux produits désinfectants utilisés dans le milieu hospitalier, notamment grâce à la faible perméabilité de sa membrane mais également par la présence de biofilms.

Les ammonium quaternaires (utilisés en tant que désinfectants de surface), sont les produits les plus répandus pour la désinfections des locaux hospitaliers. Cependant leur efficacité est moindre sur les bactéries à Gram – (comme *P. aeruginosa*), du fait de la composition de leur paroi bactérienne^[39]. En effet, les ammoniums quaternaires ne parviennent pas à pénétrer à l'intérieur de la cellule ce qui les rend inefficaces. L'utilisation de désinfectants (comme le triclosane et autres ammonium quaternaires) qui sont très utilisés dans le secteur hospitalier jouent un rôle majeur dans l'acquisition de résistance par des mécanismes non enzymatiques^[71].

Pour éviter les phénomènes d'adaptation de *P. aeruginosa* au principe actif utilisé dans le produit désinfectant de surface (et ainsi favoriser l'émergence de souches résistantes), il est recommandé par les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, d'effectuer une rotation des principes actifs tous les deux ans.

ROUILLON *et al* (2006) ont réalisé une étude pour suivre l'évolution de la résistance de *P. aeruginosa* sur un produit désinfectant de surface après 10 ans d'utilisation, sans effectuer de rotation. Ils en concluent qu'il n'y a pas d'apparition de résistance ou d'adaptation de *P. aeruginosa* envers le produit désinfectant. Les concentrations inhibitrices de croissance de *P. aeruginosa* sont restées similaires malgré l'utilisation pendant 10 ans du même produit.

Cet exemple est à pondéré car il ne s'agit que d'une situation ponctuelle pour un établissement donné, il ne peut être généralisé au comportement de *P. aeruginosa* en milieu hospitalier.

Pour la désinfection du réseau d'eau, la SFHH (Société Française d'Hygiène Hospitalière) préconise au cours d'un avis publié en juin 2006, l'utilisation d'eau de javel comme désinfectant du réseau d'eau.

Le chlore est l'oxydant le plus largement utilisé pour la désinfection^[60].

La désinfection par le chlore peut être faite de deux manières :

- chloration continue dans le réseau
- hyperchloration (choc chloré grâce à l'injection d'une forte concentration de chlore dans le réseau) de manière ponctuelle au cours de l'année

La désinfection chimique via l'hyperchloration ne permet d'éliminer *P. aeruginosa* du réseau que sur une courte période^[69].

Le chlore pénètre dans les cellules planctoniques malgré la faible perméabilité et ainsi tue la bactérie en provoquant une oxydation des enzymes présentent dans le cytoplasme.

En revanche, lorsque *P. aeruginosa* se trouve à l'intérieur d'un biofilm, les hypochlorites ne pénètrent pas la matrice de polysaccharides et de glycoprotéines qui le constitue^[79].

Les bactéries au sein du biofilm sont donc toujours viables.

Tout comme pour le cas des antibiotiques, le chlore ne permet pas d'éradiquer la matrice formée par le biofilm ce qui rend sa recolonisation future possible. Un nouveau biofilm pourra alors subsister.

Le chlore, lui aussi, manque d'efficacité sur *P. aeruginosa* à cause de 3 facteurs principaux ; la sélection de bactéries résistantes (par les antibiotiques et les désinfectants), la diffusion limitée de l'oxydant dans les biofilms et l'adaptation de mécanismes génétiques au stress oxydant provoqué par le chlore^[60].

Les alginates synthétisés par *P. aeruginosa* dans le biofilm sont mis en cause dans la résistance au traitement par le chlore^[62].

3 Identification des réservoirs et voies de transmissions de *P. aeruginosa* : synthèse bibliographique.

3.1 Origine hydrique

La conclusion d'une origine hydrique repose sur le fait que, dans les études, le génotype d'une souche retrouvée dans les échantillons d'eau est ensuite identifié chez un patient.

Le mode d'acquisition de *P. aeruginosa* étant ainsi de l'eau vers le patient.

3.1.1 L'eau du réseau

De part sa capacité à former un biofilm et sa présence naturelle dans les milieux humides, *P. aeruginosa* apparaît comme un colonisateur potentiel de la tuyauterie des réseaux d'eau potable (ceci aussi bien dans le cas d'eau potable délivrée aux riverains que dans le cas du secteur hospitalier).

L'eau présente dans les réseaux des hôpitaux provient de l'eau de ville^[4] qui est soumise à la Directive Européenne 98/83/CE du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux de consommation humaine.

P. aeruginosa constitue un critère microbiologique pour la qualité de l'eau avec un seuil de recommandation fixé à <1 UFC/ml^[82], dont la conformité et la surveillance sont

assignées à la DDASS. Cette valeur réglementaire est également reprise lors d'un avis de la DGS^[94].

De nombreuses études s'accordent à identifier l'eau du robinet comme pouvant être le réservoir majeur de *P. aeruginosa*^{[10][13][18][66][73][77]} à l'hôpital, particulièrement du fait de la présence de biofilm dans les canalisations des services.

D'autant plus que les robinets les moins souvent désinfectés se révèlent être significativement plus contaminés par *P. aeruginosa* ($p < 10^{-5}$)^[35].

La formation de biofilm par cette bactérie est notamment favorisée par une température de l'eau aux alentours de 35°C^{[6][27]}, ainsi que par des flux d'écoulement lents à l'intérieur des canalisations^[76] ou la présence d'eau stagnante^[33].

Les flux lents créent peu de perturbations dans l'écoulement ce qui favorise l'adhésion de *P. aeruginosa* notamment au niveau des coudes formés par le réseau.

KOLMOS *et al*(1993) ont mis en évidence une épidémie de *P. aeruginosa* ayant pour origine les tuyaux et douchettes utilisées pour la toilette colonisés par la bactérie, du fait de la présence d'eau stagnante dans le tuyau après utilisation.

3.1.2 La robinetterie

Le type de la robinetterie présente également une influence sur la formation de biofilm par *P. aeruginosa*.

Il existe différents types de robinets utilisés en milieu hospitalier :

- robinet à commande manuelle
- robinet à commande au coude
- robinet à commande non manuelle

Il est fréquent que dans un même service hospitalier, les robinets ne soient pas tous de la même nature.

Il a été montré dans des études scientifiques que les robinets à commande non manuelle présentent des taux de colonisations par la bactérie supérieurs aux robinets manuels, et ont pu être mis en cause dans des cas d'épidémies d'infections nosocomiales à *P. aeruginosa*.

L'étude menée par BERTHELOT *et al* (2006) renseigne sur la gestion d'une épidémie liée à la robinetterie. En effet, des robinets à commande manuelle ont été remplacés par des robinets à détection électronique. Rapidement après l'installation des nouveaux robinets, une épidémie de *P. aeruginosa* s'est déclarée dans le service de réanimation concerné.

Ceci est expliqué par le fait que les matériaux qui constituent le système automatique (PVC, membrane magnétique) sont des surfaces favorables à l'adhésion de *P.*

aeruginosa et ainsi contribuent à la formation du biofilm^{[6][27]}. Ces mécanismes sont d'autant plus favorables au développement de la bactérie car ils sont testés par le fabricant avant d'être délivré pour l'installation. De ce fait, il peut rester de l'eau stagnante dans le mécanisme lors de l'installation. Ceci est potentiellement facteur du développement d'un biofilm à *P. aeruginosa*.

Ces observations ont eu pour conséquence l'interdiction de l'utilisation des robinets à commande non manuelle dans les chambres de réanimation.

Il paraît légitime, à la vue de ces éléments, de se demander pourquoi *P. aeruginosa* se déclare principalement en réanimation malgré sa présence dans l'eau du réseau hospitalier et de commande non manuelle dans d'autres services? D'autant plus que l'état d'immunodépression des patients n'est pas un critère spécifique des services de soins intensifs.

L'étude de BERT *et al* (1998) permet d'étayer cette question. Leurs expérimentations décèlent la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du service de réanimation, mais note l'absence d'échantillons d'eau positifs à la bactérie pour les autres services alimentés en eau par la même canalisation. Ils en concluent que la contamination et la colonisation du réseau ne s'est pas faite dans le sens de l'écoulement de l'eau.

Outre le fait que *P. aeruginosa* soit une bactérie très mobile, et de ce fait peut remonter le sens d'écoulement, des études font état de la possibilité d'une rétrocontamination de la robinetterie.

3.1.3 La rétrocontamination

Le phénomène de rétrocontamination consiste alors en une colonisation du mousser ou du réseau par *P. aeruginosa*, suite à son ascension à contre-courant (grâce à sa mobilité polaire).

La rétrocontamination peut avoir lieu de deux façons :

- par le contact direct des équipements de la robinetterie lorsqu'un soignant se lave les mains après avoir effectué un soin^[55].
- par contact indirect via les éclaboussures provoquées lors du nettoyage des mains (ou de la bassine servant à la toilette) qui sont potentiellement contaminées par *P. aeruginosa*^{[5][50]}.

Il est fréquemment décrit dans la littérature que les brise-jets, les siphons^[66] ainsi que les éviers^[5] soient contaminés par la bactérie, alors que les prélèvements d'eau effectués ne décèle pas *P. aeruginosa*. Ceci peut être révélateur d'une contamination

secondaire de l'eau (et non pas une origine primaire comme il l'a été décrit précédemment).

Pseudomonas aeruginosa étant une bactérie fortement mobile, celle-ci peut ainsi former un biofilm sur le mousseur ou bien plus en profondeur dans la canalisation.

Ce mode de contamination rétrograde permet d'expliquer dans certaines situations l'expansion horizontale de la contamination par *P. aeruginosa*^[26], c'est à dire la diffusion de la bactérie à plusieurs robinets d'un même service. Pour cela, une désinfection régulière des mousseurs ainsi que l'ensemble de la robinetterie est préconisée. Cependant ces mesures de désinfection ne permettent pas une pérennisation de l'absence de colonisation par *P. aeruginosa*^{[66][69]}.

La contamination de l'eau du réseau par *P. aeruginosa* peut donc être à la fois primaire (origine hydrique de la bactérie) ou secondaire (contamination des mousseurs et siphons due à la rétrocontamination)^[76]. Ainsi, la présence de la bactérie chez un patient est donc à la fois la cause et la conséquence de la contamination du réseau en réanimation^[56].

L'occurrence de *P. aeruginosa* ne peut être expliquée uniquement par une origine hydrique^[67]. De nombreuses études font état d'épisodes de contamination alors que *P. aeruginosa* n'est pas retrouvé ou identifié dans l'eau du réseau lors des échantillonnages. Ceci peut être expliqué par deux états de fait distincts :

- *P. aeruginosa* est présent dans le réseau sous forme de biofilm et relargue des bactéries planctoniques de façon aléatoire dans le temps. Partant de ce constat, il est probable que *P. aeruginosa* colonise le réseau via un biofilm mais qu'il n'y ait pas eu de libération de bactéries libres au cours du prélèvement, ce qui induit une non détection. Il y a donc un biais possible selon la méthode de prélèvement de l'eau pour l'analyse.
- L'origine hydrique de *P. aeruginosa* ne permet pas d'expliquer à elle seule l'apparition d'infections nosocomiales par cette bactérie. Ceci suppose l'existence d'autres foyers.

De nombreuses études s'accordent à démontrer ce dernier point, du fait de la nature ubiquiste de *P. aeruginosa* et de sa présence possible dans l'environnement proche (constitué par la chambre d'hospitalisation) du patient.

3.1.4 Virulence des souches environnementales

FENNER *et al* (2006) ont abordé l'étude de la virulence de souches de *P. aeruginosa* (d'origines cliniques et d'origines environnementales) à l'aide de la technique

de co-cultures avec des amibes libres. Les amibes dites libres sont couramment retrouvées dans l'eau distribuée dans les réseaux, et constituent un prédateur naturel pour les bactéries. Ces organismes eucaryotes internalisent les bactéries pour se nourrir au moyen de la phagocytose.

Leur conclusion est que les souches d'origine cliniques sont plus virulentes que les souches environnementales. Ceci peut s'expliquer par le fait que les bactéries ont développé une stratégie de survie face aux amibes dans le milieu naturel, stratégie qui les a aussi sûrement permis de lutter contre les bactéricides ou la phagocytose du système immunitaire humain, cette fois. D'où une virulence plus accrue de souches provoquant des infections.

Cependant, cette étude a utilisé des souches non reliées sur le plan épidémiologique, et ainsi n'appartiennent pas à un même environnement hospitalier. Ceci constitue une limite de ce travail et ne permet pas de considérer les conclusions émises comme un état de fait établi.

De nombreuses études s'accordent à démontrer que du fait de la nature ubiquiste de *P. aeruginosa* et de sa présence possible dans l'environnement proche (constitué par la chambre d'hospitalisation) du patient, l'origine hydrique de la bactérie n'est pas l'unique réservoir en milieu hospitalier.

3.2 Contamination croisée

La contamination croisée réside dans l'acquisition d'un germe pathogène chez une personne initialement naïve (absence du pathogène) par le biais de contact direct ou de transfert indirect (par les mains ou le matériel) de bactéries responsables d'infections nosocomiales.

Cette voie d'acquisition est notamment mise en cause et avérée dans la transmission de *Staphylococcus aureus* résistant à la métilicine (SARM) ou encore les Entérobactéries productrices de BétaLactamase à Spectre Etendu (EBLSE).

Plusieurs études scientifiques renseignent et mettent en évidence l'importance de la transmission croisée pour expliquer l'acquisition de *P. aeruginosa* et son expansion horizontale dans les services de réanimation^{[9][38][45][76]}.

BLANC *et al* (2004) ont identifié que environ la moitié des cas d'infections à *P. aeruginosa* dans leur service de réanimation étaient dus à la transmission croisée. La conclusion ainsi avancée a été rendu possible grâce au génotypage les différentes souches isolées des cas cliniques (76 au total). 37 d'entre elles correspondaient à des souches identifiées pour au minimum 2 patients dont l'origine n'est ni hydrique, ni environnementale.

La contamination fait intervenir des paramètres complexes mettant en relief les possibilités de d'acquisition du pathogène via des contacts directs ou indirects avec une source contaminée par la bactérie.

Ceci nécessite la différenciation de ses deux voies de transfert (directe et indirecte) pour caractériser le risque lié à la transmission croisée dans sa globalité.

3.2.1 Transmission croisée directe (transfert de patient à patient)

Certains patients peuvent être porteurs de *P. aeruginosa* dès leur arrivée dans les services de réanimation, dont les infections peuvent être la cause de l'hospitalisation.

Une transmission directe de patient à patient de la bactérie sous-entend qu'un patient porteur de la bactérie est contagieux. Hors la contagiosité n'est pas avérée pour *P. aeruginosa*.

Des cas de transmissions directes de *P. aeruginosa* ont été évoqués dans la littérature scientifique^{[46][77]}. Il est supposé que ce mode de contamination est d'autant plus favorisé que les patients se trouvent dans une même chambre ou un environnement proche. FESTINI *et al* (2006) montrent que les études faites à ce sujet manquent de puissance du fait de faibles données.

La transmission directe de la bactérie est ainsi très discutée mais pas démontrée à l'heure actuelle dans la littérature.

3.2.2 Transmission croisée indirecte

A) Contamination par le personnel

La transmission de bactéries pathogènes (telles que SARM), par le personnel médical, est un phénomène connu et mis en cause dans de nombreux cas d'infections nosocomiales.

Le vecteur majeur mis en cause étant le portage de ces bactéries sur les mains^{[7][8][33][35][55][59]} et la tenue^[26] des praticiens. Ce phénomène est également mis en évidence dans la transmission et la diffusion de *P. aeruginosa*.

Le manuportage de *P. aeruginosa* peut avoir différentes causes :

- Lors du lavage des mains (avant ou après des soins), la flore saprophyte de la peau est éliminée par l'action du savon désinfectant. Lors du rinçage avec de l'eau, si celle-ci présente la bactérie, alors elle pourra être présente de façon transitoire sur la peau du soignant^{[33][77]}. *P. aeruginosa* pourra ainsi être transmis par contact avec un patient lors des soins.
- La bactérie peut également se retrouver sur la tenue du personnel via les éclaboussures lors du lavage des mains^[26].

- Le personnel en contact avec un patient porteur de *P. aeruginosa* (lors de soins) peut acquérir de façon directe la bactérie sur les mains ou la tenue et ainsi être potentiellement vecteur de la dissémination du pathogène^[7].

Il est ainsi important de s'intéresser au lien qui peut être présent entre la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau et la possibilité de manuportage après utilisation de cette eau pour l'hygiène des mains.

L'étude menée par ROGUES *et al* (2007) montre que sur 7 prélèvements positifs à *P. aeruginosa* sur les mains du personnel, 6 ont été reliés à la souche du dernier patient manipulé. 1 seul cas de manuportage est lié à une souche identifiée dans un robinet contaminé par la bactérie. Cette étude permet de conclure que le manuportage de *P. aeruginosa* est ainsi rarement dû à une contamination des mains lors de l'hygiène des mains

B) Dispositif médical (DM)

En réanimation, les besoins en dispositifs médicaux (respirateurs, cathéters, perfusions, endoscopes, etc) pour le diagnostic et le traitement du patient sont importants, en nombre mais également pour l'efficacité des soins.

Face à la présence de ces dispositifs et à leur nature invasive, pour la majorité d'entre eux, des infections liées aux DM ont été mise en évidence dans la littérature scientifique.

Les appareillages de soins (ventilateurs mécaniques, endoscopes, etc) sont des appareils coûteux qui ne peuvent être à usage personnalisé à chaque patient. La nature invasive des appareils engendre un contact direct avec les différentes muqueuses du patient et ainsi avec la flore bactérienne qui y est présente.

Ces appareils sont soumis à des protocoles de stérilisation ou de désinfection s'ils ne peuvent subir un traitement stérilisateur (la fragilité des composants étant le facteur limitant).

KAYABAS *et al* (2008) ont pu, grâce à une analyse rétrospective, identifier comme source d'infection à *P. aeruginosa* un endoscope pour lequel le procédé de désinfection avait été défaillant.

La détection de biofilm à *P. aeruginosa* sur des cathéters après un temps de contact prolongé avec patient est également relaté dans la littérature, ou encore l'équipement de nettoyage utilisé dans les chambres qui était contaminé par *P. aeruginosa*^[18].

En réanimation, une attention particulière doit être apportée à la désinfection des endoscopes, humidificateurs et aérosols qui sont des sources de contaminations fréquemment identifiées lors d'épidémies à *P. aeruginosa*^[36].

Il ne peut être caractérisé ici une relation chiffrée entre le taux d'infections nosocomiales à *P.aeruginosa* et la part attribuée aux DM de façon prospective. En effet, il s'agit d'infections à caractère ponctuel/accidentel et qui sont la conséquence de dysfonctionnements au niveau du traitement de désinfection/stérilisation de ces appareils, qui se révèlent essentiellement sur un mode épidémique de la bactérie.

Les améliorations apportées aux pratiques médicales et à l'hygiène, du fait de la prise de conscience de leur part non négligeable pour limiter les IN, ont permis une diminution d'infections à *P. aeruginosa* liées à des origines environnementales et aux transmissions croisées^[8].

Malgré ces améliorations, l'occurrence reste toujours importante en service de réanimation, ce qui laisse supposer un autre foyer potentiel et/ou une origine endogène de *P. aeruginosa*.

L'étude menée par PETIGNANT *et al*, en 2007, permet d'illustrer ces propos.

Cette étude consiste à comparer l'occurrence de *P. aeruginosa* après avoir instauré des mesures d'amélioration concernant le traitement de l'eau et les pratiques d'hygiène du personnel.

Pour cela, 3 groupes de *P. aeruginosa* sont établis :

- groupe A : isolat de *P. aeruginosa* du patient dont le génotype est identique à celui d'une souche premièrement isolée du réseau d'eau.
- groupe B : isolat de *P. aeruginosa* du patient dont le génotype correspondant à celui d'une souche premièrement identifiée chez un autre patient.
- groupe C : isolat de *P. aeruginosa* unique au patient.

Le génotypage est ainsi le moyen de relier une souche à un foyer. Différentes méthodes peuvent être utilisées (RAPD par exemple). La méthode la plus fiable pour relier génétiquement deux souches de *P. aeruginosa* est la méthode de l'électrophorèse en champs pulsé, utilisé au cours de cette expérimentation.

Les améliorations apportées ont permis de diminuer significativement le nombre d'infections liées à des souches des groupes A et B ($p < 0,01$). En revanche, l'occurrence de souches appartenant au groupe C (souche ayant un génotype unique au patient infecté) reste inchangée, ce qui suppose un « bruit de fond » infectieux (de l'ordre de 13%) lié à une origine endogène de *P. aeruginosa*.

3.3 Origine Endogène

P. aeruginosa, bien qu'ayant une origine environnementale, fait partie de façon exceptionnelle de la flore endogène chez l'Homme, pour 2 à 10%^{[15][73]} de la population.

Ce portage de *P. aeruginosa* ne présente pas de risque pour la personne en bonne santé mais représente un risque de déclaration d'infections, parfois sévères, en cas de fragilisation.

Dans le cas d'infections liées à des souches endogènes, celles-ci ont un caractère sporadique ou endémique, les cas d'épidémies ayant plutôt une origine exogène^{[49][56]}.

Selon VALLES *et al* (2004) ainsi que BERTHELOT *et al* (2001), les infections chez les patients ventilés ou ayant des dispositifs invasifs sont principalement dues à une flore endogène.

L'acquisition de *P. aeruginosa* en temps que flore endogène n'est pas uniquement liée à l'hospitalisation. En effet, l'acquisition primaire de *P. aeruginosa* a en majorité lieu avant l'hospitalisation, et notamment au domicile du patient^[59]. Des gestes invasifs ainsi que le caractère fragilisé du patient constituent un contexte favorable au développement de *P. aeruginosa* présent dans la flore endogène, notamment au niveau de l'appareil respiratoire^[7].

L'exclusivité des origines endogènes pour les infections des personnes ventilées n'est pas démontrée ce qui tend à ne pas négliger une origine exogène potentielle dans certains cas d'acquisition de *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa n'est pas une bactérie exclusive au secteur hospitalier. Elle est également connue dans le secteur agroalimentaire en temps que contaminant des fruits et légumes en y créant des pourritures molles. C'est par ailleurs une des hypothèses pouvant expliquer le portage de la bactérie de façon endogène par le patient, lors de son arrivée en hôpital.

En service de réanimation, la déclaration d'infections à *P. aeruginosa* par la voie alimentaire serait due à l'ingestion de fruits ou légumes contaminés^[3], ce qui permet l'entrée de la bactérie dans la flore intestinale, et peut ainsi traverser la barrière gastrique (grâce à la sécrétion d'enzymes qui lui permettent de traverser les tissus^[b]) et provoquer des septicémies.

La contamination primaire des fruits et légumes est liée à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau servant à les nettoyer.

La survenue de contaminations d'origine alimentaire est le reflet indirect d'une origine hydrique primaire de *P. aeruginosa*.

Les cas d'infections par voie alimentaire ont un caractère « marginal » dans le mode infectieux de *P. aeruginosa* en réanimation. En effet, les patients hospitalisés dans ces services, en grande majorité, ne peuvent être nourris par voie orale du fait de la présence d'intubations, et sont par conséquent alimentés via une sonde nasogastrique ou encore par voie parentérale.

Le développement d'infections provoquées par *P. aeruginosa* d'origine endogène est ainsi multifactoriel.

Le traitement antibiotique élimine toute flore concurrente à la bactérie, qui elle est capable de subsister grâce à ses mécanismes naturels de résistance. L'état de santé du patient ainsi que la lourdeur des soins qu'il nécessite à son hospitalisation (ventilation mécanique ou non, nombre de dispositifs invasifs, nombres de jours d'hospitalisation) sont d'autant d'autres facteurs de risque permettant la colonisation de par la bactérie. C'est le mécanisme de sélection au sein de la flore du patient par les antibiotiques. Ceci est appelé « pression de sélection ».

3.4 Résumé

L'origine, ou plus précisément les origines, des infections liées à *P. aeruginosa* en réanimation sont encore très discutées dans la littérature scientifique. Certains auteurs privilégient uniquement la thèse de l'origine hydrique tandis que d'autres confrontent l'importance non négligeable d'une origine endogène ou encore de la transmission croisée, pour expliquer la survenue d'infections nosocomiales par cette bactérie.

Les conclusions apportées par les différents auteurs sont directement dépendantes du cas ou du type d'infections auxquels ils ont été confrontés au cours de leur étude, ou encore à la méthode d'analyse utilisée. Les résultats peuvent varier en fonction du type de prélèvements utilisés^[56] (prélèvement d'eau, dépistage en entrée, tests d'environnement, etc).

Il n'est donc pas possible avec les connaissances d'aujourd'hui de statuer sur une origine unique ou prédominante de *P. aeruginosa*.

La survenue d'infections nosocomiales à *P. aeruginosa* serait expliquée par la diversité possible de ses origines, et de ce fait de l'existence de différents foyers infectieux pouvant être mis en jeu lors d'épidémies. Il est donc plus pertinent de considérer un schéma de transmission plus complexe prenant en compte les différentes voies majeures renseignées dans la littérature scientifique, comme le suggèrent MATAR *et al* (2005) ainsi que THUONG *et al* (2003).

La figure 5 synthétise les renseignements, recueillis au cours de la synthèse bibliographique, sur *P. aeruginosa* et les foyers identifiés de la bactérie en milieu hospitalier.

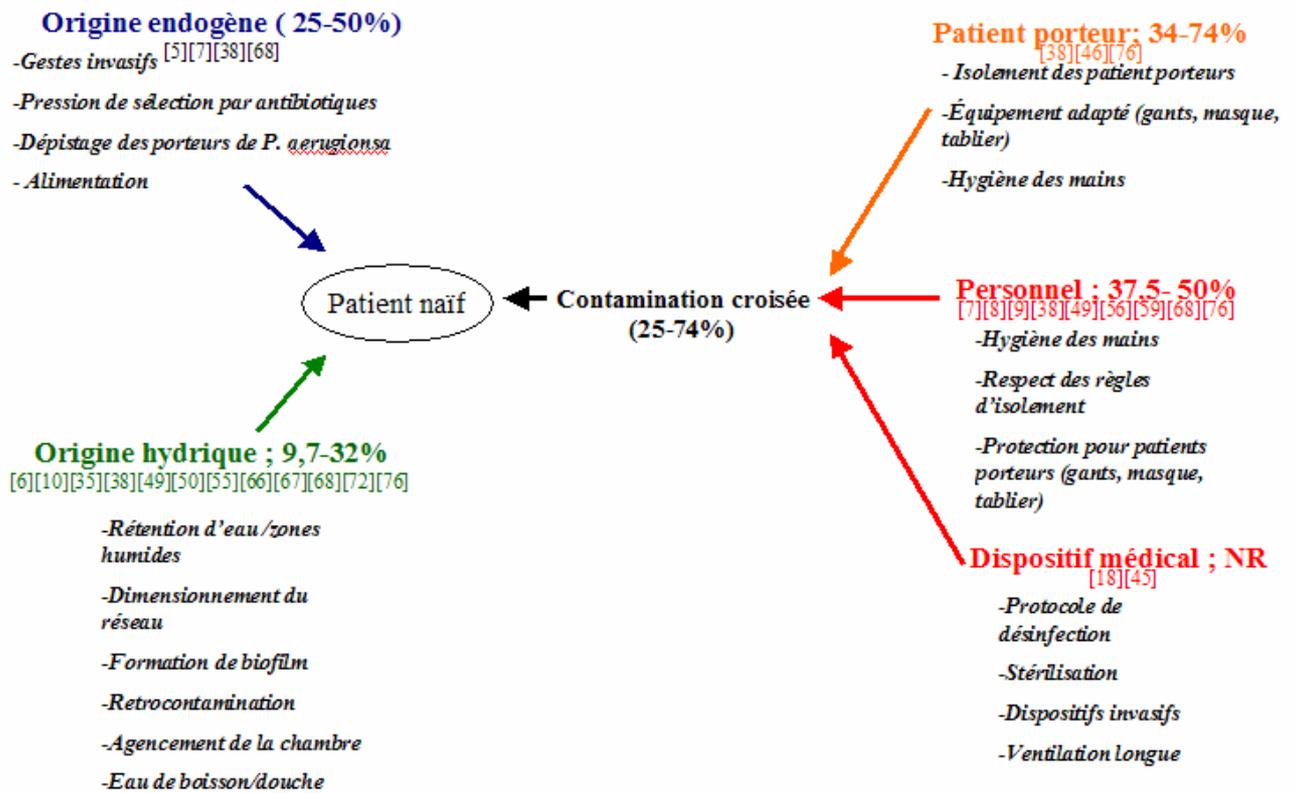


Figure 5 : Résumé des voies de transmission de *P. aeruginosa*

4 Contexte du mémoire

4.1 Présentation du service d'hygiène

L'étude, concernant l'analyse des risques liés à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du réseau d'eau hospitalier des services de réanimation, a été réalisée au sein du service d'hygiène hospitalière du CHU de Bordeaux.

Ce service, dirigé par le Pr Anne-Marie ROGUES a entre autres des missions de formation et de sensibilisation des personnels du CHU (à la prévention des IN et aux bonnes pratiques). de veille sanitaire en matière d'IN, d'investigation et de contrôle de la diffusion de pathogènes.

Ce service au CHU de Bordeaux s'intéresse notamment à *P. aeruginosa* et à son impact en réanimation. Pour cela, un Programme Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) national multicentrique, nommé DYNAPYO, est mis en œuvre depuis janvier 2009 afin d'étudier la dynamique de contamination des patients par cette bactérie dans les services de réanimation.

4.2 Présentation du projet DYNAPYO

4.2.1 Objectifs du projet de recherche

Ce projet vise à mesurer l'effet de la contamination de l'environnement hydrique dans l'acquisition de *P. aeruginosa* chez les patients hospitalisés en réanimation (en tenant en compte des facteurs individuels, des caractéristiques des services et des prescriptions d'antibiotiques).

Cette étude globale sur le risque d'acquisition de la bactérie aspire également à décrire la cinétique de contamination de l'environnement hydrique par *P. aeruginosa* et mesurer le taux de transmission croisée de la bactérie en réanimation.

Le suivi de la prescription de l'antibiothérapie permettra par ailleurs d'identifier les facteurs de risques d'apparition des souches de *P. aeruginosa* résistantes à la ceftazidime et/ou imipénème en réanimation (antibiotiques pour lesquels la bactérie montre des phénomènes d'adaptation et de résistance, leur conférant une inefficacité d'action en cas d'infection).

A terme, le projet DYNAPYO vise à établir différentes conclusions :

- Confirmer et mesurer l'impact de la contamination des points d'eau par *P. aeruginosa* sur l'acquisition de la bactérie chez des patients de réanimation et ainsi proposer des mesures de prévention pertinentes vis-à-vis de cet environnement.
- Mieux préciser l'effet de l'antibiothérapie sur les colonisations et infections à *P. aeruginosa* afin de proposer des stratégies thérapeutiques adaptées.
- Permettre aux équipes de réanimation d'identifier les patients et situations les plus à risque de transmission de *P. aeruginosa* et de prioriser les actions de prévention pour améliorer leur prise en charge

4.2.2 Méthode de l'étude

Pour atteindre ces différents objectifs, le projet DYNAPYO consiste en une étude de cohorte ouverte prospective multicentrique non interventionnelle. C'est à dire que les données ne peuvent être utilisées, au cours de l'étude, pour apporter des modifications sur le comportement du personnel ou bien sur les équipements mis en place (robinetterie notamment).

Ce projet mené par le CHU de Bordeaux centralise les données issues de 8 établissements hospitaliers français (CHU et CH), soit 10 services de réanimation (certains établissements présentant 2 services de réanimation participant à l'étude).

Pour établir la cohorte, l'effectif minimum nécessaire pour établir la représentativité de l'étude correspondait à 112 patients ayant acquis un *P. aeruginosa*. Cet effectif a été déterminé pour la mise en évidence de la contamination de l'environnement hydrique. Cela représente au total l'inclusion de 2000 patients (soit 200 patients par services) sur une durée de 6 mois, pour le recueil des données.

Les données ainsi relevées dans les différents services correspondent à un suivi chronologique (spatio-temporel) :

- de la colonisation des patients (via des prélèvements systématiques en entrée et sortie de chaque patient ainsi qu'un prélèvement hebdomadaire)
- de la colonisation de l'environnement hydrique (par des prélèvements et écouvillonnage de chaque point d'eau des services de façon hebdomadaire).

Toutes les souches de *P. aeruginosa* issues de ces différents prélèvements sont conservées en gélose pour analyse et comparaison génotypique.

C'est grâce à cette analyse génotypique que la dynamique de la contamination par la bactérie pourra être établie.

En parallèle du suivi des contaminations, le suivi de chaque patient inclus (adulte de 18 ans et plus hospitalisé dans le service plus de 24h) est réalisé de façon quotidienne afin de renseigner notamment:

- l'évolution de l'état de santé
- durée du séjour
- la nature des dispositifs invasifs (sonde urinaire, cathéters, voie veineuse centrale, etc) et leur durée
- l'évolution de la prescription d'antibiotiques

Ce recueil de données, sur une période de 6 mois, est ensuite analysé de façon rétrospective sur une période estimée de 12mois.

Initialement, le démarrage de l'étude était prévu de janvier à juillet 2009 pour tous les établissements participant. Des retards et des décalages ont été observés pour le suivi et le recueil des données par différents centres. La période d'étude ainsi que les données à disposition ne sont donc pas équivalentes pour les 8 établissements participants.

Cette limite a été prise en compte au cours de ce mémoire qui utilise la base de données fournie par DYNAPYO.

4.3 Objectifs de l'évaluation des risques

En exploitant certaines données du projet DYNAPYO et la synthèse bibliographique qui a été faite au cours de ce travail, les objectifs de cette étude consistent à:

- Etablir l'état des lieux du risque hydrique pour les 8 centres participant à DYNAPYO (en s'intéressant à la configuration du réseau, l'entretien et l'utilisation des points d'eau dans les services de réanimation)
- Confronter les contaminations entre les points d'eau et les patients au sein des différents services
- Etablir l'état des lieux du risque de transmission croisée pour le service de réanimation du CHU de Bordeaux (via des observations de contacts de surfaces et l'analyse des prélèvements de contrôle d'environnement)
- Evaluer le risque lié aux DM par une enquête sur les 8 centres hospitaliers précédents.

Initialement, le thème du mémoire était une évaluation des risques liés à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du réseau hospitalier en service de réanimation. Face au manque d'informations claires et établies sur la dose infectieuse et sur l'origine de *P. aeruginosa* responsable d'IN, ce travail s'inscrit dans l'étape de caractérisation du danger.

Ainsi ce mémoire pourrait apporter une aide quant à la connaissance de la bactérie et permettre une démarche d'évaluation des risques future.

5 Analyse des points critiques liés à *P. aeruginosa*

A la vue des éléments précédents, 3 points critiques sont majoritairement mis en cause (avec des proportions relatives variables selon les différentes études) pour expliquer l'occurrence de *P. aeruginosa*:

- un origine hydrique de la bactérie
- l'importance accordée à la transmission croisée (par le personnel et les DM)
- l'existence d'une origine endogène de la bactérie.

La figure 6, présentée ci-dessous, permet de schématiser les différentes voies de transmissions et les principaux réservoirs de *P. aeruginosa*.

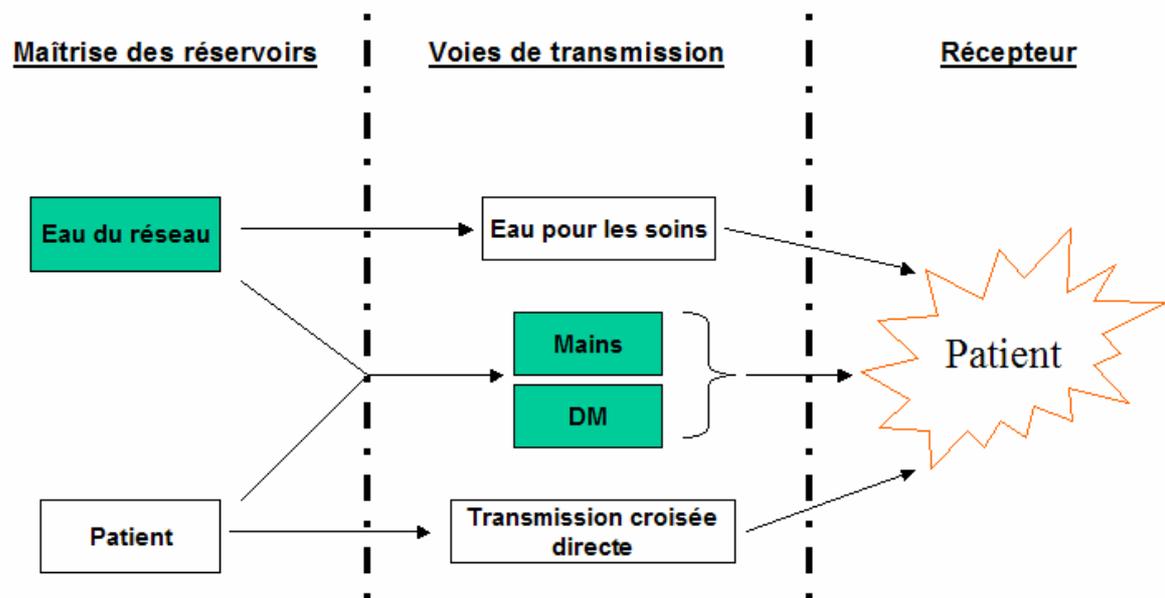


Figure 6 : Schéma conceptuel de l'origine exogène *P. aeruginosa*

Les dangers liés à l'eau et les dispositifs médicaux seront étudiés pour les 8 centres hospitaliers participant au projet DYNAPYO. Le danger lié à la transmission croisée via les mains du personnel sera investigué uniquement au sein du CHU de Bordeaux.

Pour des raisons d'anonymat, les services de réanimation participant au projet seront identifiés ici avec un numéro.

Le risque lié à l'origine endogène, quant à lui, ne sera abordé que sur le plan bibliographique.

5.1 Evaluation du risque hydrique

Afin d'analyser le danger lié à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau, une étude a été réalisée dans les centres participant au projet DYNAPYO. Pour cela, des questionnaires ont été établis pour recueillir :

- la configuration des réseaux et leur désinfection
- l'entretien et utilisations des points d'eau dans les services de réanimation

5.1.1 Références et problématiques

A) Configuration des réseaux

La synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence le rôle que jouent la configuration du réseau ainsi que leurs procédés de désinfection, dans la prolifération et la colonisation des réseaux par la bactérie.

En secteur hospitalier, il existe majoritairement 3 types de conformation de réseaux d'eau pour desservir les différents services :

- En colonne : l'écoulement de l'eau est fait de façon gravitaire à partir du point haut du bâtiment (grâce à des retenues d'eau). Chaque chambre de réanimation est ainsi desservie en eau par une conduite secondaire venant se greffer sur la conduite principale.
- En boucle : par cette configuration, les chambres d'un même service sont desservies en eau par une canalisation traversant l'ensemble des chambres (dessinant une boucle).
- En peigne : l'alimentation en eau des services est également faite par une conduite principale sur lesquelles des branchements secondaires sont effectués pour les points d'eau des chambres.

Ces différents réseaux sont représentés de façon schématique par la figure 7.

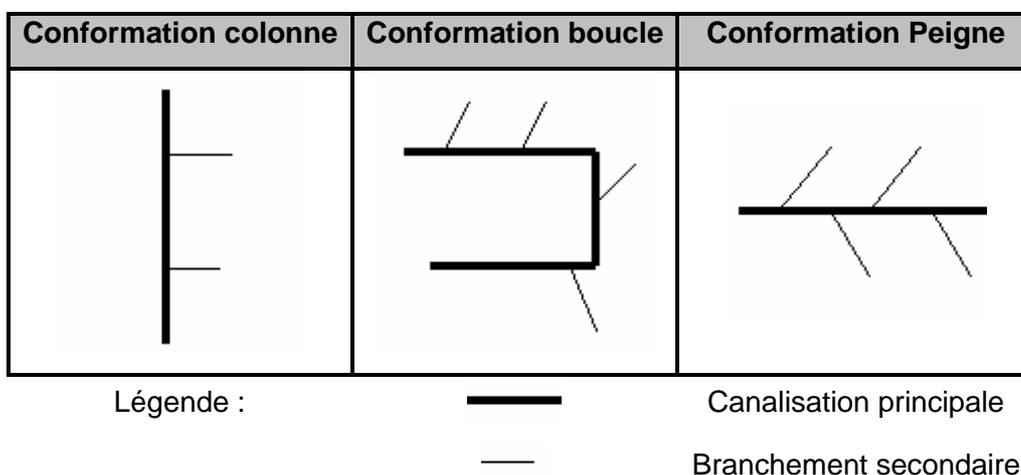


Figure 7 : Schématisation des conformations du réseau d'eau en milieu hospitalier

Les réseaux en boucle et en peigne sont des conformations qui sont plus sujettes à une expansion horizontale de la bactérie, liée au phénomène de rétrocontamination. En effet, dans le cas d'un réseau en colonne, l'écoulement se faisant de manière gravitaire, la bactérie ne peut se fixer de façon pérenne à la surface de la canalisation. De ce fait, la phase d'initiation du biofilm moins fréquent. En revanche, dans le cas d'un réseau en peigne ou en boucle, si une contamination (soit par contamination directe liée à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau soit par rétrocontamination) d'un point d'eau, situé en amont, est présente alors cette colonisation peut s'étendre aux autres branchements de la canalisation principale du fait du sens d'écoulement de l'eau.

Pour limiter les risques de contamination de l'eau dans le réseau hospitalier, un avis de la SFHH, concernant l'utilisation privilégiée du chlore pour la désinfection a été émis en juin 2006.

Cette désinfection peut ainsi avoir lieu en continu (trace constante de chlore dans l'eau) ou via l'hyperchloration ponctuelle (choc chloré). Il a été montré qu'avoir une chloration constante avait une meilleure efficacité pour endiguer le développement de contaminants dans l'eau, dont notamment *P. aeruginosa*. Le choc chloré ne permettant d'éliminer la flore microbienne que sur une période relativement courte.

Dans la littérature scientifique, certains auteurs mentionnent la possibilité d'empêcher le développement de microorganismes par traitement thermique. Pour cela, la température cible de l'eau doit être supérieure à 65°C. Cependant, ce mode de désinfection présente de nombreux inconvénients, le principal étant la difficulté rencontrée pour assurer le maintien de la température de l'eau sur l'ensemble du réseau. Si cette température diminue trop, au cours de la distribution dans le réseau, il y a un risque de créer des conditions de température optimales pour le développement de certaines bactéries.

B) Utilisation des points d'eau en réanimation

Dans les services de réanimation, seuls des points d'eau à commande manuelle sont autorisés dans les box des patients. En effet, les systèmes de commandes électriques (ou à détection photosensible) présentent des taux de contaminations supérieurs aux robinets à commande manuelle. BERTHELOT *et al* (2006) évoque notamment la composition des systèmes automatiques présentant des membranes en PVC qui favorise la fixation de la bactérie (et par voie de fait, la formation de biofilm).

Les brise-jets en forme d'étoile sont également les seuls autorisés au niveau des points d'eau. Les mousseurs traditionnels en forme de grille sont proscrits car sont plus favorables à la colonisation par *P. aeruginosa*. L'espace entre les grilles étant relativement faible, la fixation de la bactérie et la formation du biofilm se trouvent facilités. Concernant le nombre de points d'eau par chambre, le décret n°2002-465 du 5 avril 2002 relatif à la réanimation, aux soins intensifs et à la surveillance continue mentionne que les établissements hospitaliers doivent présenter 2 points d'eau par chambre dans les services de réanimation. Leur utilisation doit également être différenciée. Pour cela, un point d'eau est uniquement affecté pour le lavage des mains, le second pouvant servir au lavage du petit matériel.

Cette différenciation a ainsi pour but de limiter le risque de rétrocontamination des points d'eau utilisés pour le lavage des mains (et donc indirectement de limiter le manutentionnement de *P. aeruginosa* lors de l'hygiène des mains).

Cependant, la conférence de consensus de la SFAR (Société Française d'Anesthésie et de Réanimation) de novembre 2008 indique qu'il ne faudrait probablement plus qu'un seul point d'eau par chambre, du fait de l'essor de l'utilisation de produits hydro-alcooliques.

C) Confrontation points d'eau/ patient

Dans le but d'analyser le danger lié à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau, les renseignements issus des deux enquêtes précédentes sont recoupés avec les données DYNAPYO (concernant les prélèvements d'eau et les résultats des prélèvements hebdomadaires des patients), présentées dans le tableau 5.

5.1.2 **Méthode de l'évaluation**

Un questionnaire, présenté en annexe 1, a été envoyé par mail à chaque service technique des centres hospitaliers participants au projet DYNAPYO.

Il visait à renseigner les points suivants :

- conformation de l'alimentation en eau du(des) service(s) de réanimation
- le procédé de désinfection mis en place (chloration ou thermique) pour le réseau

En complément des renseignements demandés auprès des services techniques, une enquête s'axant sur l'utilisation des points d'eau dans les services de réanimation a également été conduite.

Comme il l'a été décrit précédemment au cours de la synthèse bibliographique, les robinets des chambres de réanimation peuvent être fréquemment contaminés par le *P. aeruginosa*. Cette contamination pouvant être directe (due à la présence de la bactérie dans l'eau) soit indirecte (via le phénomène de rétrocontamination). Ainsi, confronter les pratiques d'entretien des points d'eau avec le taux de contamination de chaque centre pouvait renseigner quant à celles qui sont plus pertinentes pour limiter la contamination par la bactérie.

Pour réaliser cette enquête, un tableau de relevé d'utilisation des points d'eau a été établi. Les principaux items demandés étaient :

- le système de commande des robinets (manuels ou électriques)
- la présence d'un mousseur par point d'eau
- le nombre de points d'eau par chambre
- la(les) utilisation(s) du(des) point(s) d'eau dans les chambres
- la présence de filtration terminale
- les pratiques de désinfection de la robinetterie
- les pratiques de désinfection des siphons.

Ces relevés ont été réalisés par Camille DUCERF (Attachée de recherche clinique et coordinatrice du projet DYNAPYO) lors de ses visites dans chaque établissement participant au projet.

Le questionnaire relatif aux points d'eau est présenté en annexe 2.

5.1.3 Résultats

Le tableau 4 synthétise les principales données recueillies à l'aide des deux questionnaires présentés précédemment.

A) Enquête configuration des réseaux

Les 3 types de conformation du réseau (colonne, boucle ou peigne) étaient présents. Dans la majorité des cas, les critères de choix d'une conformation par rapport à une autre sont souvent dépendants de la conception originelle d'un établissement hospitalier (lors de rénovations ou travaux) ainsi que des dimensions imposées pour un nouveau bâtiment.

Un réseau en colonne n'est pertinent dans cette conception que pour de hautes structures, comme c'est le cas par exemple au CHU de Bordeaux (bâtiment constitué de 13 étages). Il est également important de noter que le service n°6 (numéro DYNAPYO du service) ne présentait aucun protocole de désinfection du réseau. Ce centre hospitalier a « misé » et investi pour une meilleure circulation de l'eau dans ses réseaux. Les trois autres établissements, quant à eux, utilisaient uniquement la désinfection continue par le chlore. L'hyperchloration et la désinfection thermique n'étaient pas utilisées.

B) Enquête utilisation des points d'eau

Le questionnaire a pu être renseigné pour chaque centre hospitalier.

La figure 8 permet de visualiser une partie des pratiques observées dans les 10 services de réanimation participants.

En s'intéressant aux pratiques d'entretien de la robinetterie, la majorité des services de réanimation recensés désinfectaient les points d'eau avec une fréquence inférieure à 1 fois/mois. D'autant plus que pour certains services, une seule personne était en charge de la désinfection des points d'eau.

Tableau 4 : Tableau de synthèse des enquêtes réalisées sur l'origine hydrique de *P. aeruginosa*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Configuration du réseau	Colonne	NR	NR	NR	NR	Boucle	Colonne	Peigne	Peigne	NR
Désinfection du réseau	Chloration	NR	NR	NR	NR	Aucun	Chloration	Chloration	Chloration	NR
Eau du réseau utilisée pour l'hydratation des patients	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Entretien robinetterie	Bimensuel	Journalier	Hebdomadaire	-	<1 fois/mois	<1 fois/mois	<1 fois/mois	<1 fois/mois	<1 fois/mois	<1 fois/mois
Entretien siphons	Journalier	Journalier	Journalier	-	Hebdomadaire	Mensuel	<1 fois/mois	-	-	-
Commande robinet	Mains + coude	Mains	Mains	Mains + électronique	Mains	Coude	Mains	Mains	Mains + coude	Electronique
2 points eau/chambre	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Non
Utilité point d'eau de la chambre	Mains	Mains + bassine	Mains + bassine	Mains + matériel	Mains + bassine + matériel	Mains	Mains + matériel	Mains + matériel	Mains	Mains + bassine + matériel
Présence de filtration terminale	Non	Non	Non	Oui	Non	Non	Non	Non	Non	Non

NR : non renseigné

- :non réalisé

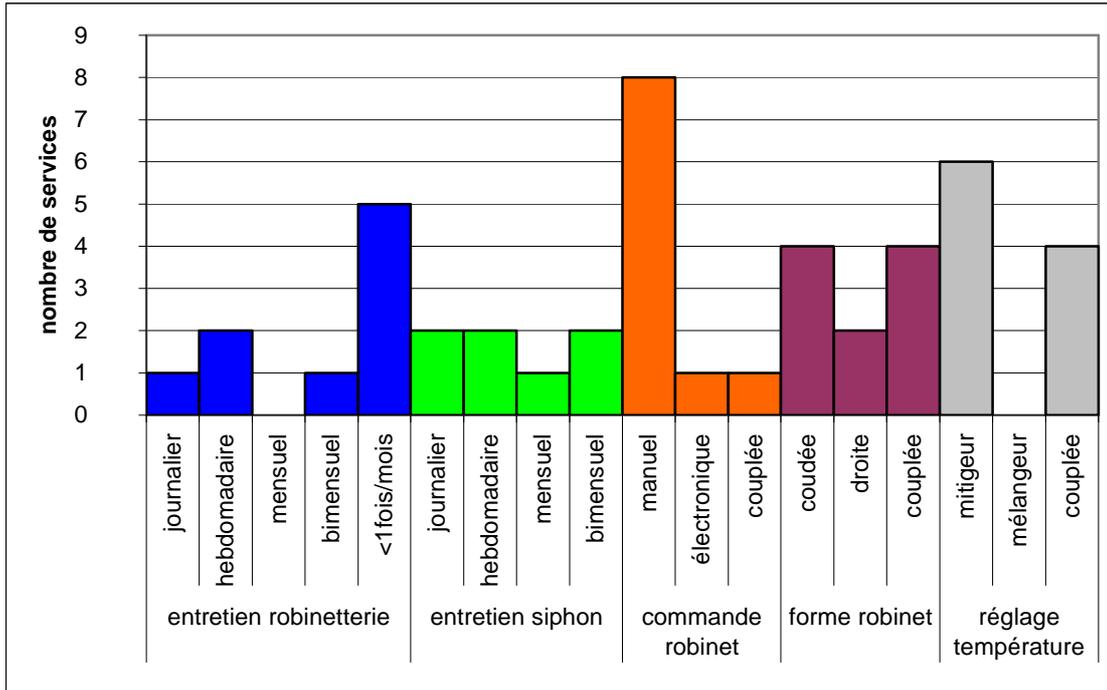


Figure 8 : Pratiques de désinfection et équipement des points d'eau

3 services de réanimation ne faisaient cependant aucun entretien de la robinetterie. Il s'agissait des services n°4, n°6 et n°8. Parmi ces 3 services, le n°4 possédait un moyen de lutte complémentaire contre la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau, en disposant d'une filtration terminale à chacun de ces points d'eau.

L'entretien des siphons était également très disparate entre les différents services de réanimation. Si certains faisaient un entretien quotidien des siphons, des services ne réalisaient aucune désinfection chimique à ce niveau.

Il est important de noter que deux services de réanimation présentaient des robinets à commande électrique. Pour l'un d'entre eux (service n°4) ces robinets à commande électronique correspondaient uniquement aux points d'eaux centraux dans les chambres, tandis que pour le service n°10, les commandes non manuelles étaient présentes également au niveau des points d'eau dans les chambres.

5.1.4 Confrontation des résultats des enquêtes avec les contaminations point eau/patient

A) Résultats

Tableau 5 : Données DYNAPYO concernant les points d'eau et les patients de chaque service de réanimation (données du 23 juillet 2009)

	Nombre de robinets	Nombre de robinets contaminés	Nombre de prélèvements positifs	Nombre de robinets positifs plusieurs fois	Nombre de patients inclus	Nombre de patients positifs	Nombre de prélèvements positifs	Patients positifs plusieurs fois
1	15	1	4	1	138	16	50	10
2	10	3	3	0	120	9	77	7
3	16	4	7	2	201	17	86	8
4	46	4	21	4	140	33	134	25
5	15	2	10	2	121	25	80	19
6	25	23	154	23	170	13	45	8
7	30	9	27	5	72	20	81	12
8	28	11	74	6	120	27	120	17
9	31	2	29	2	112	12	42	10

A partir des données de ce tableau, le taux de contamination des points d'eau ainsi que le taux de patients présentant *P. aeruginosa*, pour chaque service sont présentés dans la figure 9.

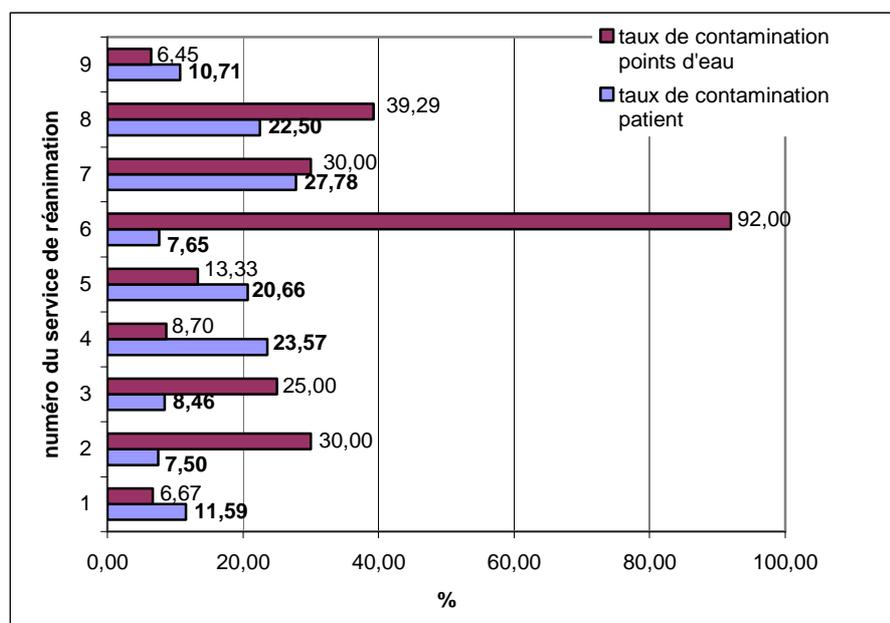


Figure 9 : Taux de contaminations (points d'eau et patients) des services DYNAPYO

Le service n°6 n'effectuait aucune désinfection de son réseau et présente un taux de contamination des points d'eau par le *P. aeruginosa* à 92%. Un fort de contamination

des patients par la bactérie était alors attendu pour ce service, d'autant plus que l'eau du réseau était utilisée pour l'hydratation des patients. Or le taux de contamination patient était de 7,65%, soit l'un des plus faibles parmi les 9 services présentant des données. Pour le service n°1, par exemple, le taux de contamination des patients était supérieur au taux de contamination des points d'eau. Ceci était également le cas pour les services n°4, n°5 et n°9. Pourtant ces trois services avaient des pratiques d'entretien très différentes :

Les variations de contamination des points d'eau peuvent être liées aux pratiques générales des services. Par exemple, pour les services n°8 et n°9 (qui font partie du même centre hospitalier), l'utilisation des points d'eau variait.

Sur les 46 points d'eau dont dispose le service n°4, seuls cinq étaient contaminés. Ces cinq points d'eau correspondaient aux robinets à commandes électroniques uniquement. Le fait que les commandes non manuelles présentent des contaminations supérieures aux commandes non manuelles est clairement visible dans ce cas de figure.

5.2 *Evaluation de la transmission croisée (mains et DM)*

Comme il l'a été décrit auparavant, l'origine hydrique de *Pseudomonas aeruginosa* ne suffit pas, à elle seule, à expliquer l'occurrence de la bactérie chez les patients en réanimation.

La transmission croisée est un terme générique qui caractérise le fait qu'un patient, initialement naïf de contamination par *P. aeruginosa*, puisse être atteint par cette bactérie au cours de son hospitalisation via :

- la contamination directe par un autre patient (discutée mais non démontrée)
- la contamination indirecte par le personnel par manuportage du pathogène (considéré comme la voie principale d'infections nosocomiales par plusieurs auteurs, notamment PITTET *et al* (1999)) du pathogène ou par l'utilisation de DM insuffisamment désinfectés.

Plusieurs publications, citées dans l'étude bibliographique, évoquent la contamination croisée, dans son ensemble, comme ayant un rôle non négligeable dans la dissémination et la transmission de ce pathogène. Au cours des soins, les mains (ou gants) du personnel se retrouvent contaminées par la flore du patient. PITTET *et al* (1999) estiment que cette contamination augmente linéairement de 16 UFC/min.

Dans le cadre de l'analyse des dangers effectuée au cours de ce mémoire, seule la notion de transmission indirecte a été abordée.

Pour cela, une étude pour déterminer les surfaces les plus manipulées par le personnel a été conduite au sein du service de réanimation du CHU de Bordeaux. Cela permet d'avoir une hypothèse de base : « les surfaces les plus manipulées sont susceptibles d'être les plus contaminées ».

Afin d'apporter une meilleure perception du danger lié au contact de ces différents éléments de la chambre, les résultats précédents ont été recoupés avec les contrôles de surfaces réalisés par le laboratoire du service d'hygiène hospitalière. Un test du Chi deux est ensuite réalisé afin de déterminer s'il existe ou non une différence significative entre le taux de contamination des surfaces situées dans le box patient (donc l'environnement proche du patient) et les surfaces situées hors du box.

Une deuxième partie de l'étude sur la contamination croisée indirecte consistera à analyser les pratiques liées aux dispositifs médicaux au sein des 8 centres hospitaliers participant au projet DYNYPYO.

5.2.1 Référentiels et problématiques

Au jour d'aujourd'hui, l'hygiène des mains des les services de réanimation se fait majoritairement à l'aide d'un produit hydroalcoolique (PHA) ayant une efficacité antiseptique. La désinfection des mains avec ce produit est ainsi appelé « friction ».

Pour obtenir une hygiène des mains efficace avec une solution hydroalcoolique, il faut que les mains soient sèches, non souillées, exemptes de poudres (due à l'utilisation de gants talqués) avec un temps de friction de 30s.

Outre l'avantage d'être un produit auto-évaporant, la solution hydroalcoolique possède une efficacité d'action supérieure au savon, car elle permet de détruire les bactéries Gram négatif aérobie (tel qu'il est le cas pour *P. aeruginosa*) à la surface de la peau, et ainsi éviter leur dissémination.

L'hygiène des mains en réanimation doit être faite^[92] :

- avant le contact avec un patient (en entrée de chambre par exemple)
- avant un geste aseptique
- après contact avec un patient
- après contact avec l'environnement immédiat du patient

La SFHH ne recommande pas le port systématique de protection (gants, tablier et masques à usage unique) lors de soins pour les patients, hormis dans le cas des précautions standards (pour se protéger des liquides biologiques) ou lors de précautions complémentaires (tels que les isolements de patients porteurs de germes pathogènes).

Il existe différents types d'isolement septique:

- isolement contact (patient porteur de germes pathogènes transmissibles) : le port de gants et de tablier est demandé si contact direct avec le patient et une hygiène des mains rigoureuse en sortie de box.
- isolement gouttelettes (patient émettant des sécrétions contenant des pathogènes) : le port d'un masque chirurgical est demandé au patient lors de ses déplacements et aux soignants en charge de ce patient.
- Précautions air : le port d'un masque chirurgical est demandé au patient lors de ses déplacements et le port d'un équipement de protection respiratoire est demandé aux soignants en charge de ce patient.

Il faut cependant rappeler que les gants, qu'ils soient stériles ou non stériles, doivent être non poudrés. En effet, la poudre des gants forme une pâte avec les PHA, qui impose alors le recours préalable au lavage de mains au savon doux^[93].

PITTET *et al* (1999) précisent que même avec le port des gants, une friction des mains est nécessaire. Le port de gants peut créer ainsi un faux sentiment de sécurité pour le personnel qui peut ainsi négliger le risque de manuportage de pathogènes.

En effet, le port de gants n'assure pas une protection totale et imparable de la contamination des mains (qui est favorisée par d'éventuels micros pores). La désinfection des mains reste donc indispensable avant et après le port de gants. De même, le mauvais usage des gants (port prolongé, non changement entre deux actes, entre deux patients, etc) représente une fausse sécurité et un risque majeur de contamination de l'environnement. Ce point fait apparaître la limite entre la sécurité pour le patient et la sécurité pour le personnel. De plus, le gant peut créer une zone humide et chaude qui peut permettre le développement de microorganismes sur la main qui le porte.

Le port abusif de gants peut également être perçu comme étant une protection, pour le personnel, contre les germes du patient, et non plus pour la protection du patient contre le manuportage de bactérie par le personnel.

L'enchaînement des soins (du propre vers le sale) est également un élément clé pour éviter le risque de transposition d'infection. Il est estimé que 10,6 % des sites non colonisés d'un patient le devenaient à la suite d'un contact avec les mains d'un soignant, contaminées après contact avec un site colonisé chez le même patient ou dans son environnement. Ce travail souligne le risque d'auto-contamination d'un site stérile à partir de la flore du patient lui-même ou celle de son environnement^[92] via les soins¹.

5.2.2 Enquête contact des surfaces

A) Méthodologie

L'enquête concernant les dangers liés à la transmission croisée manuportée a été réalisée au sein d'un des services de réanimation du CHU de Bordeaux.

Les objectifs de ces observations sont de :

- déterminer les surfaces qui sont les plus manipulées par le personnel médical, dans un box de patient, Ceci conduira à une hypothèse de travail ; les surfaces les plus manipulées sont susceptibles d'être les plus contaminées.
- caractériser les pratiques d'hygiène (hygiène des mains et port de protections) du personnel de réanimation au cours de la période d'étude
- confronter ces conclusions avec les résultats des prélèvements d'environnement réalisés par le service d'hygiène

La démarche de l'étude consiste à l'observation des pratiques exercées par le personnel médical concernant :

- l'hygiène des mains en entrée et sortie d'une chambre de patient
- le port de protections (gants, tablier) lors de l'entrée de la chambre pour effectuer les soins aux patients en isolement
- le recensement des zones ou surfaces touchées dans une chambre de patient
- et ainsi indirectement, l'enchaînement des soins apportés au patient par une même personne

Pour cela, le poste d'observance est constitué par la pièce centrale d'une chambre de réanimation (plan schématique donné en annexe 3) qui permet de visualiser l'ensemble des box de patient.

Afin d'obtenir une significativité suffisante, un effectif de 30 observations au minimum est nécessaire.

Par soucis d'éthique, les observations n'ont été faites que le matin, les après-midi étant consacrés à la visite des familles de patients.

Tout personnel soignant (médecins, kinésithérapeute, paramédicaux, etc) ont été compris dans l'étude. La fonction et le nom des personnes ainsi observées ont été anonymisés.

B) Résultats des observations

La grille des relevés est donnée en annexe 4.

a)Hygiène des mains et tenue professionnelle

A partir des observations effectuées, les résultats concernant l'hygiène des mains, en entrée et sortie de box patient, sont présentés par les figures 10 et 11.

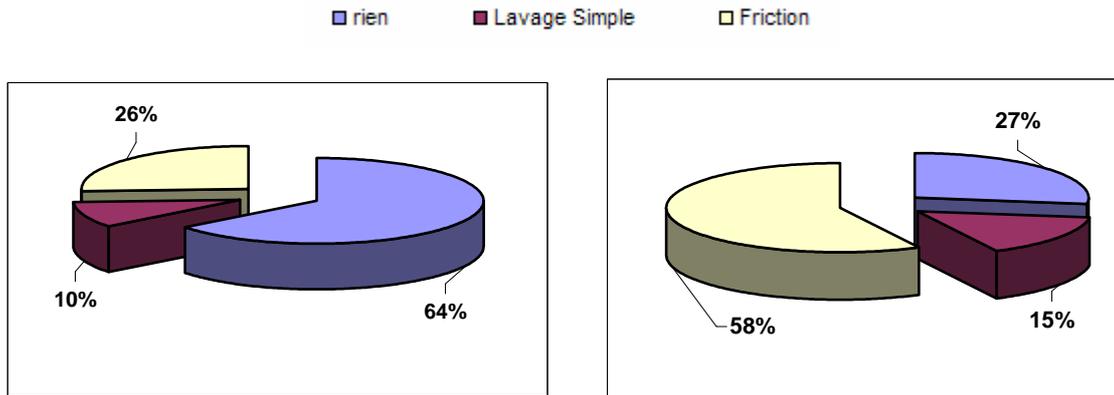


Figure 10 : Hygiène des mains en entrée de chambre de réanimation par le personnel (n=31)

Figure 11 : Hygiène des mains en sortie de chambre de réanimation par le personnel (n=31)

Le pourcentage de 64% de personne entrant dans un box patient sans faire d'hygiène des mains est à relativiser. Il paraît plus pertinent de se fier aux résultats obtenus en sortie de box, car il n'a pas été possible d'observer si une hygiène des mains avait été faite dans le couloir par le personnel avant d'entrer dans le box d'un patient.

En sortie de chambre, 58% du personnel a fait une friction avec du PHA et 15% une hygiène des mains avec du savon doux. Du fait de la proximité des box, un personnel qui a fait une friction en sortie de chambre ne ré-effectua pas une hygiène des mains lorsqu'il rentra directement dans un autre box patient.

Selon les pré-requis de la SFHH, une friction entre chaque patient étant exigée. La SFHH recommande également une hygiène des mains entre chaque soin ou geste contaminant lors de la succession de soins. Si ici entre chaque patient la recommandation pourrait être respectée, une friction n'est pas observée de façon systématique après des gestes contaminant par le personnel lors d'une série de soins sur un même patient.

Aucune hygiène des mains n'a été effectuée dans 27% des cas. En se fiant aux relevés des contacts, une grande partie de ces situations étaient dues au fait que la personne rentrait dans la chambre pour manipuler le placard ou encore faire la préparation d'injections, sans contact avec le patient ou son environnement proche.

La figure 12 ci dessous illustre le port de protection (gants, tablier) par le personnel lors de l'entrée dans un box patient.

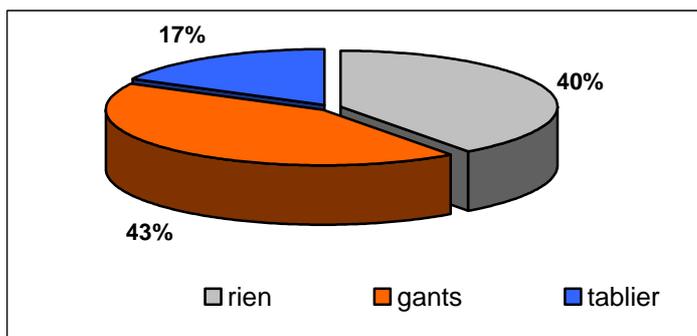


Figure 12 : Port d'équipement de protection par le personnel (n=31)

43% du personnel a mis des gants lors de l'entrée dans un box. 4 observations en situation d'isolement ont été faites (3 isolements contact et 1 isolement gouttelettes). Il s'avère que le port de protection a correctement été suivi deux fois.

La puissance de ces observations est très faible (seulement 4 observations), cependant la nécessité de respecter les mesures d'isolement par le personnel sont un point clé pour éviter la dissémination de bactéries pathogènes.

b) Contact avec les surfaces lors de la succession de soins

La figure 13 permet de visualiser les éléments ou surfaces les plus souvent manipulés par le personnel.

Il n'est pas surprenant d'observer que le lit et le patient sont les plus manipulés par le personnel. En effet, la grande majorité du personnel soignant entrant dans un box se dirige prioritairement vers le patient.

Au cours d'une journée, plusieurs soins sont réalisés pour un même patient, ce qui explique que les perfusions, les placards (qui contiennent différents petits matériels tels que les compresses, serviettes, matériels stériles) et portoir de médicaments soient également souvent touchés.

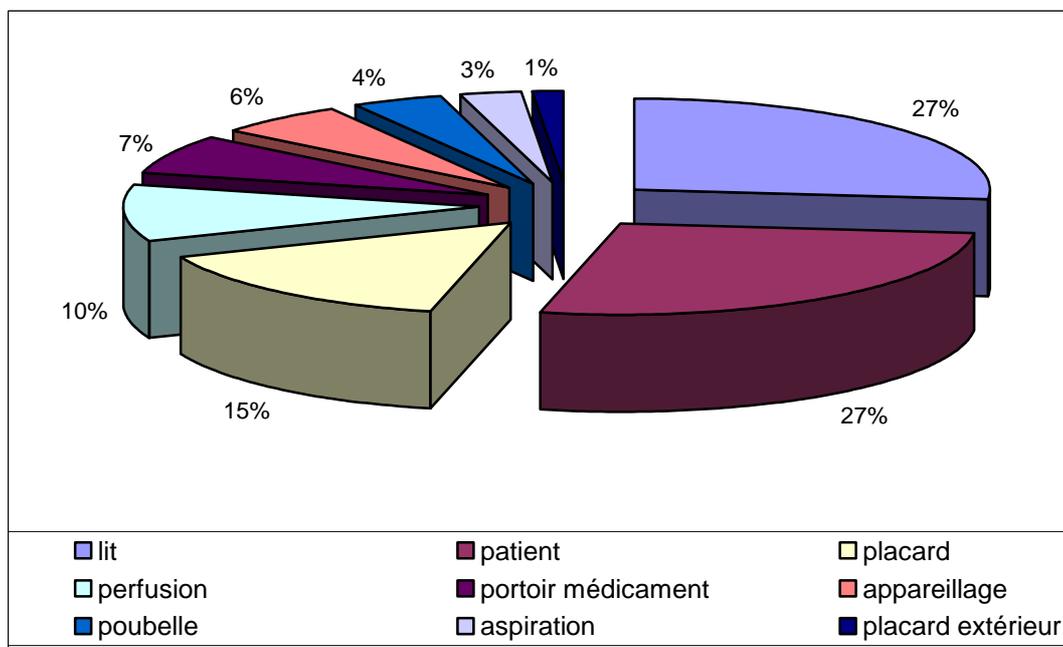


Figure 13 : Répartition des surfaces les plus touchées par le personnel médical dans une chambre de patient (n=104)

Il existe un nombre important de dispositifs invasifs et d'appareillages divers (monitoring, respirateur, appareil à ElectroCardioGramme, etc) dans la chambre. Le taux observé de 6% paraît faible. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'une fois ces appareils mis en fonctionnement, le personnel n'intervient que pour effectuer des réglages ou des ajustements. La nécessité de réglage est ainsi directement dépendante de l'état du patient qui peut exiger des modifications brèves des appareils.

Au cours de la période d'observation, peu d'interventions sur les appareillages ont été observées.

Il paraît important d'insister sur le cas de la poubelle. Une poubelle est présente dans chaque box de patient pour éliminer les déchets d'activité de soins à risque infectieux (DASRI). Pour limiter les risques de contamination du personnel, ces poubelles sont à commande au pied, ce qui leur permet d'éviter de les manipuler à la main. Le taux de contact soit de 4% pour cet élément est du au fait que le personnel saisit la poubelle pour la déplacer dans la chambre

Il s'agit ici d'un geste à fort risque contaminant à la fois pour la personne effectuant les soins puis le patient via le manuportage de potentiels pathogènes.

5.2.3 Relevé des surveillances environnementales

A) Méthode

Le laboratoire d'hygiène hospitalière, afin de contrôler la propreté de l'environnement dans les services de réanimation, réalise des analyses microbiologiques à raison d'une fois par an.

Des prélèvements de surface, par gélose contact et/ou écouvillonnage, sont ainsi effectués dans chaque chambre et box patient du service de réanimation. Les échantillons sont ensuite incubés puis analysés selon les paramètres suivants :

- dénombrement de colonies sur les géloses contact
- identification de chaque type de colonie jusqu'au genre voire l'espèce microbienne, selon les cas.

Un tableau récapitulatif des prélèvements environnementaux effectués entre 2006 et 2009 (présenté en annexe 5) a été réalisé. Seule l'identification des contaminants, retrouvés au cours des analyses, a été prise en compte dans ce récapitulatif.

Il est à noter que les bactéries *Staphylococcus* à coagulase négative, *Micrococcus sp* et *Bacillus* n'ont pas été considérées comme étant des contaminants, car ce sont des bactéries classiques de la flore environnementale.

Seuls les genres (ou espèces) microbiens appartenant à une flore humaine (entérobactéries, *Enterococcus*, etc) ou les espèces pathogènes (SARM, *P. aeruginosa*, etc) ont été comptabilisés en tant que contaminants.

B) Résultats

Le tableau 6 illustre le taux de contamination global des contrôles environnementaux du service de réanimation de Bordeaux.

Tableau 6 : Evolution annuelle de la contamination environnementale

	2006	2007	2008	2009	Global
Nombre total de prélèvements	31	27	27	36	121
Nombre de prélèvements contaminés	9	15	14	8	45
Moment des prélèvements	Début après-midi	Fin de matinée	Fin de matinée	Début après-midi	
Taux de contamination (%)	29,03	55,55	51,85	22,22	37,20%

Le taux moyen de contamination des surfaces en réanimation était ainsi de 37,20% ($\pm 16\%$) entre 2006 et 2009.

Les variations inter annuelles observées pouvaient résulter du moment auxquels ont été effectués les prélèvements. Le nettoyage des chambres de réanimation étant pluriquotidien, si les prélèvements ont été faits peu après le nettoyage/désinfection, peu

de contaminants sera retrouvé. C'est pour cela que les prélèvements effectués l'après-midi présentaient un plus faible taux de contamination que lorsqu'ils sont effectués en fin de matinée ; un nettoyage des chambres est fait vers 12h lors du changement d'équipes.

Un test du Chi deux (au seuil de risque $\alpha = 5\%$) a été réalisé pour comparer la contamination des points situés hors box patients avec les surfaces situées dans les box.

Tableau 7: effectifs pour le test du Chi deux

	Nombre de prélèvements contaminés	Nombre de prélèvements non contaminés
Surface Hors Box	25	27
Surface à l'intérieur du Box	20	49

Les résultats du test (chi deux= 2,83 ; chi deux seuil = 3,84) permettent de conclure qu'il n'existe pas de différence significative (au seuil de risque de 5%) entre les deux catégories de surfaces.

La figure 14 illustre la proportion des différentes espèces microbiennes contaminantes, identifiées au cours des analyses microbiologiques.

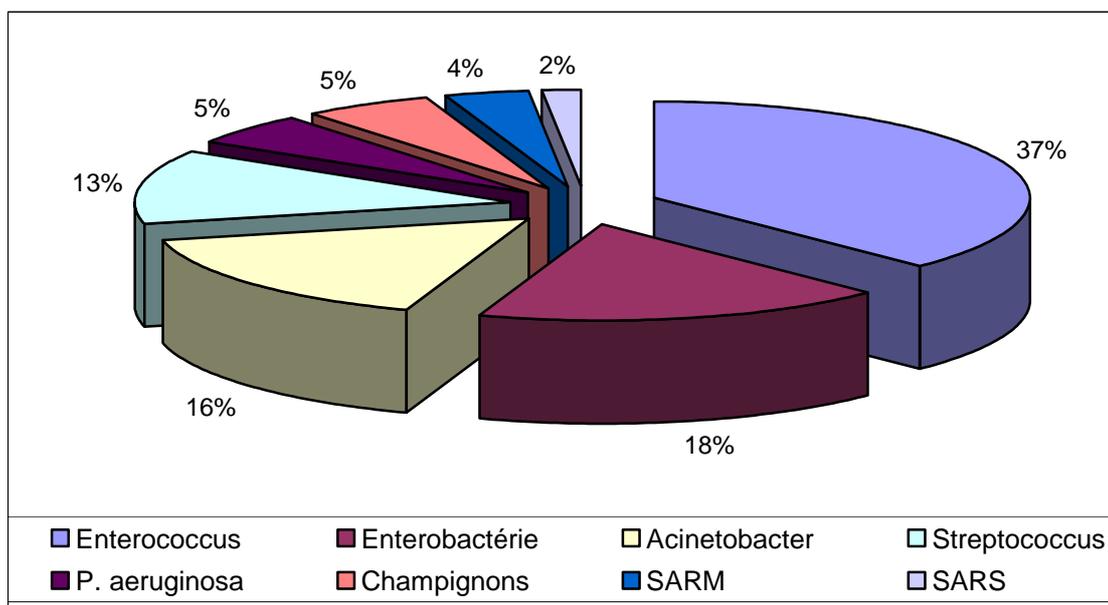


Figure 14 : Répartition des contaminants identifiés au cours des contrôles d'environnement (n=56)

Il a rapidement été observable que les contaminants retrouvés étaient majoritairement dus à des germes en provenance du patient :

- flore digestive (Entérobactéries, *Enterococcus*, etc)
- pathogènes pouvant être la cause de l'hospitalisation du patient ou bien contractés au cours de l'hospitalisation (SARM, SASM, *P. aeruginosa*)

Cette figure montre également que *P. aeruginosa* peut être retrouvé en tant que contaminant de surface (ici le taux est de 5%). Le pathogène a notamment été décelé au niveau du clavier d'ordinateur, de la bordure de lit de patient ainsi qu'un niveau du rideau séparant deux box.

5.2.4 Evaluation du risque lié aux dispositifs médicaux

Le manuportage de bactéries pathogènes, dont *P. aeruginosa*, est le vecteur majoritaire de transmission croisée indirecte. L'analyse bibliographique a également permis d'identifier les dispositifs médicaux (DM) et l'environnement proche comme vecteurs potentiel d'acquisition de *P. aeruginosa*.

A) Méthode

Dans le cadre de l'analyse de dangers liés au DM, l'ensemble des services de réanimation participant au projet DYNAPYO ont été pris en compte. Pour cela, un questionnaire spécifique (présenté en annexe 6) a été créé et envoyé aux Techniciens de Recherche Clinique (TEC) de chaque centre réalisant l'étude DYNAPYO. L'objet de ce questionnaire est ainsi de renseigner principalement les pratiques d'entretien des DM ainsi que l'environnement proche des patients (isolement de patients porteurs de *P. aeruginosa*, fréquence de nettoyage des chambres, etc).

B) Résultats

Les résultats de ce questionnaire sont présentés en annexe 7.

Tout comme pour les pratiques d'entretien de la robinetterie, la principale conclusion, concernant l'environnement proche du patient, est qu'il n'existait pas de ligne directrice commune dans la gestion des DM entre les différents centres hospitaliers. Quatre des huit établissements plaçaient les patients porteurs de *P. aeruginosa* en isolement de type contact. Les critères d'isolement n'étaient pas identiques entre les services. Certains plaçaient le patient isolement en raison d'une souche de *P. aeruginosa* multi-résistante, tandis que le service n°5 ne prenait en compte que le critère d'énumération. Si le dénombrement de la bactérie était supérieur à 10 000 germes/ml, alors le patient était placé en isolement.

Les pratiques de nettoyage et désinfections des chambres étaient également variables selon les centres.

En plus de la contamination d'origine hydrique et de la transmission croisée (directe et indirecte), un troisième réservoir de *P. aeruginosa* est identifié comme ayant un rôle majeur dans l'épidémiologie de la bactérie. Il s'agit de l'origine endogène de *P. aeruginosa*, présente dans la flore microbiologique de l'Homme.

5.3 Maîtrise du risque endogène

Le danger dû à l'origine endogène de *P. aeruginosa* n'a pas été évalué aux moyens de questionnaires ou d'audits, comme il a été le cas pour les points précédents. Il s'agit d'un paramètre sur lequel le domaine médical possède peu de moyens pour la gestion et la maîtrise du risque infectieux.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie retrouvée dans la flore « normale » pour une faible partie de la population (de 2 à 10% selon les publications). En revanche ce portage sain, comme son nom l'indique, ne signifie pas que la bactérie est pathogène pour la personne. *P. aeruginosa* peut exister en quantité modérée au niveau des muqueuses pharyngées et intestinales chez l'homme sain.

Le patient peut être admis en réanimation déjà porteur de la bactérie qui pourra ensuite, au cours du séjour hospitalier, être sélectionnée par une antibiothérapie et trouver l'opportunité de se multiplier de façon suffisante pour être à l'origine d'une complication infectieuse ; dite endogène.

En effet, la pression de sélection exercée par les antibiotiques annihile la flore microbiologique résidente du patient. *P. aeruginosa* ayant une capacité intrinsèque de résistance aux antibiotiques (de manière constitutive ou induite) peut alors se développer plus aisément en l'absence d'une flore microbiologique compétitive.

Le patient peut également acquérir la bactérie au cours des soins à partir d'un autre patient ou à partir de l'environnement hydrique, bactérie qui pourra ensuite être sélectionnée par une antibiothérapie et se multiplier de façon suffisante pour être à l'origine d'une complication infectieuse alors dite « secondairement endogène » mais évitable par des règles d'hygiène et par un usage approprié des antibiotiques.

L'usage des antibiotiques est ainsi un facteur de risque établi pour l'apparition d'infections chez des personnes portant la bactérie.

Toutefois, il n'existe pas dans la littérature d'études qui ont étudiés l'effet de la restriction d'antibiotiques (ou changement d'usage) sur la diminution de l'incidence du Pyo en réanimation

6 Discussion des points de maîtrise

6.1 Origine hydrique

Lors de l'analyse des différentes données, il était ainsi rapidement observable qu'il n'existait aucune ligne commune, concernant les pratiques d'entretien et de conception des réseaux d'eau, entre les différents services de réanimation des centres hospitaliers questionnés. Ceci était d'autant plus flagrant que pour deux services de réanimation d'un même centre hospitalier, des différences de pratiques sont observables. Il est donc supposable que sur le plan national, ces différences de pratiques soient également présentes.

Une hétérogénéité était également notée face à l'équipement en points d'eau des différents services. Si certains services présentaient deux points d'eau par chambre, tous ne différenciaient pas leur utilisation, ce qui pouvait être à l'origine de plus fortes contaminations ou un plus fort risque d'expansion horizontale de la bactérie.

En 2002, les services de réanimation avaient une obligation d'installer 2 points d'eau. La conférence de consensus réduit le nombre de points d'eau dans une chambre du fait de l'essai de PHA. Néanmoins, il ne s'agit que d'une recommandation donc les deux situations sont tolérées et peuvent être considérées comme conformes (même s'il semblerait plus logique de tendre vers les recommandations les plus récentes). Ceci permet d'illustrer les difficultés rencontrées par les centres hospitaliers face aux divergences de recommandations car les deux situations (un seul point d'eau ou deux point d'eau/box) était toléré.

Il semble qu'il n'existe pas de relation nette entre le taux de contamination des points d'eau et le taux de contamination des patients par *P. aeruginosa*.

Il semble donc difficile de pouvoir corréler le taux de colonisation des points d'eau avec les pratiques d'entretiens et de pouvoir ainsi « prédire » la contamination du patient par une souche environnementale.

Le service n°6 en est un exemple (plus fort taux de contamination des points d'eau mais plus faible taux de contamination des patients). Le service n°4 qui possède un faible taux de contamination par la bactérie des points d'eau (8,7%), présente un taux de contamination patient de 23,57%.

Ces deux situations, aux antipodes l'une de l'autre, illustrent la difficulté de prévoir l'incidence de *P. aeruginosa* chez les patients au regard de la contamination des points d'eau.

Le graphe suggère ainsi plusieurs hypothèses :

- il n'existe pas de corrélation forte entre contamination de l'eau du réseau par *P. aeruginosa* et contamination des patients
- l'origine hydrique seule ne peut expliquer la survenue de contamination à *P. aeruginosa* chez les patients. L'influence de la transmission croisée et de l'origine endogène de la bactérie méritent d'être prises en compte.

Néanmoins, L'entretien de la robinetterie était ainsi peu fréquent et laisse supposer que si la bactérie était présente au niveau du point d'eau, elle pourrait avoir le temps de développer un biofilm et de coloniser une partie de la robinetterie, pouvant ainsi provoquer un foyer infectieux potentiel.

6.2 La transmission croisée

6.2.1 Manuportage et environnement proche du patient

Les résultats obtenus quant à l'hygiène des mains et le port de protections par le personnel étaient proches de l'étude de PITTET *et al* (1999). Il serait également intéressant d'observer les modifications de comportement du personnel après avoir reçu une nouvelle formation sur l'hygiène des mains. Il serait alors attendu un pourcentage de frictions entre deux patients et entre deux soins plus élevé. Face à la répétition des gestes de soins quotidiens et les situations d'urgence auxquelles font face le personnel de réanimation, il n'était pas surprenant de voir une légère diminution de ce pourcentage au cours du temps. Ceci permet de montrer l'efficacité pour le personnel et l'importance de formations à l'hygiène, avec une périodicité stable.

Les résultats, présentés précédemment, illustraient également le phénomène de manuportage par le personnel. La présence de contaminants, en majorité issus d'une flore humaine, étayait d'autant plus la nécessité d'une bonne hygiène des mains en entrée et sortie de chambre de patient ainsi que la désinfection minutieuse des appareillages. Ainsi après avoir apporté des soins au patient ou après avoir touché des objets souillés (sonde, cathéters, etc), une friction des mains est nécessaire pour éviter tout risque potentiel de manuportage de bactérie.

Ces observations permettaient également de visualiser le phénomène de l'expansion horizontale. En effet, des contaminants étaient retrouvés sur différentes surfaces d'une chambre (placard, clavier d'ordinateur, adaptable, etc). Ainsi le transport

involontaire de bactéries potentiellement pathogènes par le personnel pourrait permettre à certaines d'entre elles de se développer pour créer de nouveaux foyers.

En recoupant les résultats de l'observation des contacts dans la chambre avec les relevés d'environnement, il était visible que la bordure du lit (surface la plus touchée par le personnel) correspondait à la zone présentant un plus grand nombre de contaminants.

Ceci s'explique par le fait que pour effectuer des soins, le personnel peut positionner le lit du patient pour faciliter les gestes. Pour cela, les commandes (permettant de lever/baisser le lit ou encore d'avoir une conformation assise ou allongée) sont situées sur le bord du lit.

Les appareils dédiés, quant à eux, étaient dans la majorité des cas désinfectés après chaque usage ce qui explique leur relative propreté sur le plan microbien.

Malgré le fait que la bactérie subsiste préférentiellement en milieu humide, il est donc possible de rencontrer la bactérie en tant que contaminant transitoire. En effet, *P. aeruginosa* ne peut pas former de biofilm qui s'établisse de façon pérenne sur ces types de surfaces. Il est d'ailleurs rare de retrouver dans la littérature scientifique des foyers infectieux à *P. aeruginosa* constitués sur des surfaces considérées « sèches ». Lorsque la bactérie est identifiée en tant que contaminant de surface, ceci résulte d'une contamination relativement « récente » (il n'existe pas d'études s'intéressant au temps de survie de la bactérie sur ces types de surfaces) liée au manuportage par le personnel.

Un scénario simple peut être imaginé pour illustrer ces propos. *P. aeruginosa* a été identifié sur le clavier d'ordinateur en 2006. Sa présence sur cette surface était donc la conséquence d'un manuportage par le personnel après avoir effectué des soins sur un patient ayant *P. aeruginosa* ou après s'être lavé les mains avec de l'eau contaminée.

Le poste informatique est très utilisé dans les chambres de réanimation car il permet de visualiser les radiographies, les prescriptions et les paramètres physiologiques des patients.

P. aeruginosa, présent en temps que contaminant transitoire sur le clavier, pouvait ainsi se retrouver sur les mains du personnel utilisant l'ordinateur puis être disséminé sur de nouvelles surfaces. A terme, ceci pourrait conduire à transposer la bactérie sur un milieu favorable à son développement (et ainsi avoir potentiellement un foyer infectieux) ou encore être transmise à un patient naïf. Par la suite, ce patient pourrait être colonisé voire infecté par le pathogène.

Cette enquête sur le point critique lié à la transmission croisée par le personnel montrait que le manuportage de *P. aeruginosa* est possible. Sa présence sur différentes

surfaces d'une chambre permettait également d'illustrer le rôle du manuportage dans la dissémination du pathogène.

L'importance du respect des règles d'hygiène par le personnel apparaît alors comme un facteur clé pour limiter l'expansion de la bactérie et le risque de transposition du pathogène entre deux patients.

6.2.2 Dispositifs médicaux (DM)

Concernant les DM, les pratiques des 8 centres hospitaliers ne présentaient pas la diversité observée précédemment pour l'entretien des points d'eau.

Cette observation était liée aux recommandations faites par la SFHH pour limiter les risques de contamination croisée^[93].

En effet, les recommandations établies préconisaient :

- l'individualisation du matériel ré-utilisable dans la chambre d'un patient.
- de ne pas effectuer d'autre traitement (en termes d'entretien) que celui habituellement préconisé pour les dispositifs médicaux ré-utilisables

Il était donc rapidement observable que lorsque des recommandations étaient émises par la SFHH (ou autre organisme national ayant une légitimité réglementaire), celles-ci étaient appliquées de manière quasi uniforme par les différents établissements hospitaliers.

Il est toutefois important de souligner que les services n°8 et n°9 (appartenant au même établissement) n'individualisaient pas l'usage de la bassine réservée à la toilette des patients.

La bassine est un élément considéré comme sale (car potentiellement chargé microbiologiquement au cours de la toilette). Son usage pour différents patients pourrait être un vecteur de transmission croisée de la flore d'un autre patient (d'autant plus si le patient précédent était placé en isolement de type contact).

Ainsi la mise en cause des DM lors d'épisodes épidémiques de *P. aeruginosa* relève d'une défaillance de nettoyage/désinfection de ces appareils. Ces événements sont certes possibles mais sont sporadiques. En effet, la présence de guides et de recommandations quant à l'usage et les pratiques d'entretien de ces matériels permet d'observer une conduite quasi uniforme des centres hospitaliers.

7 Recommandations et axes d'amélioration

Ce mémoire, concernant l'analyse des risques liés à la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du réseau hospitalier des services de réanimation, aspire ainsi à pouvoir établir des axes d'amélioration et des recommandations pour limiter l'occurrence de la bactérie dans ces services.

L'origine hydrique de *P. aeruginosa* est incontestable. Cette bactérie ne se développe, de manière naturelle, qu'exclusivement dans les aqueux ou les zones présentant une forte humidité. Cette bactérie est ainsi rencontrée dans l'eau distribuée dans le réseau. *P. aeruginosa* fait notamment l'objet de contraintes réglementaires (<1 UFC/ml) pour la qualité de l'eau.

Le foyer hydrique de la bactérie est majoritairement mis en cause dans la littérature pour expliquer son occurrence en réanimation. Cependant, son rôle quant à l'incidence de *P. aeruginosa* est très discuté.

Si l'hypothèse de transmission de *P. aeruginosa*, présent dans l'eau, vers le patient représente un véritable danger, alors deux niveaux de prévention sont possibles :

- la suppression permanente de la bactérie dans l'eau
- des mesures préventives pour éviter la transmission de la bactérie sans forcément son éviction stricte de l'eau

7.1.1 Mesures pour l'éviction de *P. aeruginosa* de l'eau

A) La désinfection

a) *Le réseau d'eau hospitalier*

La désinfection du réseau ainsi que de la robinetterie apparaît comme la première barrière pour empêcher le développement de *P. aeruginosa* dans les réseaux hospitaliers.

L'analyse des dangers liés à l'origine hydrique a permis de mettre en évidence l'importance de tels procédés.

Sur les 8 centres questionnés, un seul ne faisait aucune désinfection dans ses réseaux. Il en résulte que 92% des points d'eau du service de réanimation présentait une colonisation par *P. aeruginosa*. Suite à l'avis de la SFHH, publié en juin 2006, préconisant l'utilisation du chlore comme désinfectant, les autres établissements hospitaliers présentaient un protocole de chloration continu de leur réseau. SABA *et al* (2001) montrent toutefois que le chlore manque d'efficacité contre la bactérie (dû au phénomène

d'adaptation), et notamment en cas de présence de biofilm. En effet, le chlore ne peut pénétrer la matrice et ainsi ne rentre pas en contact avec la bactérie, ce qui le rend inefficace^[78].

Ces observations ont conduit les scientifiques à trouver de nouveaux principes actifs ayant une activité bactéricide contre *P. aeruginosa*. HETRICK *et al* (2009) ont notamment publié un article mentionnant l'efficacité de nanoparticules de silices relarguant de l'oxyde nitrique. L'oxyde nitrique est un radical libre sécrété par les neutrophiles et macrophages humains lors d'une infection microbienne.

Ainsi l'utilisation combinée des nanoparticules (pour casser la matrice du biofilm) et de l'oxyde nitrique (bactéricide) permet d'avoir une action efficace contre le biofilm et *P. aeruginosa* sous forme planctonique.

Il ne s'agit que de résultats expérimentaux mais les perspectives d'utilisation de tels produits pourraient être envisagées dans un futur proche. Toutefois, la polémique sanitaire actuelle autour de l'utilisation de nanoparticules laisse cette perspective en suspend.

A cela s'ajoute la question du devenir du biofilm une fois rompu par les nanoparticules. Ces débris de matrice suivront le sens d'écoulement de l'eau et ainsi se retrouveront en sortie des points d'eau, ce qui pourrait provoquer des infections avec de fortes charges microbiennes pour les patients (au cours de la toilette notamment).

b) Les points d'eau et siphons en réanimation

La désinfection régulière des points d'eau en réanimation ainsi que des siphons apparaît également nécessaire pour limiter leur colonisation par la bactérie

La présence de *P. aeruginosa* au niveau des points d'eau en réanimation peut être due à la présence primaire de la bactérie dans l'eau du réseau ou bien par le phénomène de rétrocontamination.

L'étude menée dans les services de réanimation participant au projet DYNAPYO montre une grande hétérogénéité des pratiques (mise en place ou non de désinfection des siphons, fréquence, produit utilisé) liées à des obligations légales anciennes (2002) et à une probable difficulté à réaliser les travaux en réanimation pour suivre les recommandations récentes (enlever un lavabo sans créer de bras mort et sans gêner les admissions). Toutefois, l'absence ou une désinfection irrégulière des points d'eau entraînent des taux supérieurs de colonisation par la bactérie.

Au sein de plusieurs services également, une seule personne est en charge de la désinfection de l'ensemble des points d'eau. En cas de congés ou pour des raisons autres, la désinfection des points d'eau peut être chuintée, et permettre le développement de *P. aeruginosa* au cours de cette période. Il apparaît alors judicieux de former plusieurs

personnels à la désinfection des points d'eau ceci afin de pouvoir maintenir la fréquence de désinfection en cas d'absence de la personne responsable.

B) Utilisation des robinets manuels

Les avancements de la technologie ont conduit les hôpitaux à s'équiper de robinets à commande non manuelle dans ses différents services, dont les services de réanimation. Il était judicieux de penser que sans contact des mains avec les robinets, il y avait moins de risque de manuportage ou de contamination de ceux-ci par les mains du personnel. C'est notamment pour cela que les robinets à commande non manuelle sont principalement utilisés dans les blocs opératoires.

Cependant, il a été montré que les systèmes de commandes non manuelles étaient plus favorables à la fixation de la bactérie (et ainsi à la formation de biofilm). Ceci a notamment été visible au cours de l'enquête sur l'entretien des points d'eau réalisée au cours de ce mémoire.

Ainsi l'utilisation de robinets à commande manuelle est préférable dans les services de réanimation et nécessitent un entretien régulier.

C) Utilisation d'une filtration terminale

Les robinets sont facilement accessibles pour des mesures préventives et l'installation des filtres à usages uniques apparaît comme un concept efficace pour réduire les transmissions eau-patient.

Ce moyen est ainsi très fréquemment cité dans la littérature.

Bien que le protocole DYNAPYO soit une étude de cohorte non interventionnelle, le service n°4 a mis en place la filtration terminale en cours du projet. Le tableau 8 permet ainsi de comparer le nombre de prélèvements d'eau présentant *P. aeruginosa* avant et après la pose de filtres.

Tableau 8 : Comparaison de la contamination de l'eau en sortie des points d'eau avant et après mise en place de la filtration terminale

robinet	date de mise en place de filtres	nombre de prélèvements positifs avant la filtration	nombre de prélèvements positifs après la filtration
10	18 mai 2009	8/8	0/6
20	6 avril 2009	4/4	0/10
30	6 avril 2009	4/4	0/10
40	6 avril 2009	3/4	0/10
50	6 avril 2009	3/4	0/2

L'efficacité de la filtration terminale est donc ici clairement visible, aucun prélèvement d'eau n'est contaminé par *P. aeruginosa* depuis la mise en place de filtres dans ce service.

L'étude de VONBERG *et al* (2005) permet d'avoir une puissance plus importante pour la mesure d'efficacité de la filtration. Avant filtration, le pourcentage d'échantillons contaminés était de 6% (2 échantillons positifs à *P. aeruginosa* sur 32 prélèvements d'eau). Après la pose de filtre, ce taux diminue à 1‰ (1 échantillon positif sur 735).

Pourtant, malgré sa relative efficacité, la filtration présente des inconvénients majeurs.

La pose de filtration peut créer un faux sentiment de sécurité car il ne résout pas le problème de la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du réseau. La filtration ne permet que de retenir la bactérie sur le filtre et ainsi ne contamine pas l'eau en sortie.

Ceci soulève un nouveau problème lié à la filtration ; le colmatage. Les filtres utilisés sont à usage unique et nécessitent d'être changés régulièrement, à cause du colmatage qui bouche le filtre. Selon les filtres utilisés, la période d'utilisation peut aller de 4 à 14j.

Cet équipement nécessite donc un investissement lourd du fait de la pose initiale des filtres, leur changement fréquent et le temps que cela nécessite pour le personnel.

Une analyse coût-bénéfice est ainsi nécessaire pour justifier de l'utilité réelle de la filtration^[49].

Sur le plan économique, BOU *et al* (2009) estiment le coût d'une IN provoquée par *P. aeruginosa* à 27 917 euros (soit 66% de plus que pour un patient non infectés ($p < 0,002$)) principalement due à l'augmentation de la durée d'hospitalisation à 70j ($p < 0,001$).

HALL *et al* (2006) renseignent que le coût de la filtration revient à 63 euros/semaine/point d'eau. Le coût de revient directement lié aux filtres est ainsi de 3276 euros/an/points d'eau.

TRAUTMANN *et al*(2008) ont observé une diminution des colonisations endémiques des patients par la bactérie de l'ordre de 85% ($p < 0,0001$), uniquement grâce à la filtration.

Il revient donc à chaque établissement de conduire cette analyse coût-bénéfice pour définir la pertinence de se munir de tels équipements.

D) Utilisation d'eau embouteillée pour l'hydratation des patients

Du fait de la présence naturelle de *P. aeruginosa* dans l'eau et le phénomène de rétrocontamination, il apparaît difficile d'inhiber la contamination des robinets par des mesures conventionnelles^[55].

Face au manque de recommandations par les guides nationaux pour la gestion de l'eau, une grande variation entre les services et les hôpitaux est observée (utilisation de l'eau du réseau, bouteille, fontaines à eau, ...). Afin de palier au danger potentiel que représente la présence de *P. aeruginosa* dans l'eau du réseau hospitalier, plusieurs publications préconisent l'utilisation d'eau embouteillée pour l'hydratation des patients^{[49][55][72]}.

L'utilisation d'eau en bouteille ne permet pas toutefois de s'abstenir des mesures d'entretien et de désinfection de la robinetterie. Cette utilisation permet uniquement de limiter l'exposition potentielle des patients à la bactérie présente dans l'eau.

L'eau embouteillée peut être de deux natures : eau embouteillée du commerce ou eau embouteillée stérile. L'eau stérile étant préférée pour des patients immunodéprimés.

HALL *et al* (2006) se sont également intéressés au prix de revient de telles mesures :

- eau embouteillée du commerce : 295 euros/semaine
- eau stérile : 540 euros/semaine

Tout comme pour la filtration, les coûts représentés par ces mesures sont lourds pour les établissements.

Synthèse des mesures d'éviction de *P. aeruginosa* :

- *Désinfection régulière du réseau et des points d'eau*
 - permet d'éviter la colonisation des canalisations par la bactérie
 - limite la formation de biofilm au niveau des mousseurs
 - mais réalisée par du personnel formé uniquement
- *Utilisation de robinets à commande manuelle*
 - moins favorable au développement de biofilm par la bactérie
- *Mise en place d'une filtration terminale*
 - permet d'éviter de retrouver *P. aeruginosa* après la filtration
 - mais faux sentiment de sécurité
 - phénomène de colmatage et nécessité de renouveler fréquemment les filtres
 - fort coût de gestion (3276 euros/an/point d'eau)
- *Favoriser l'utilisation d'eau embouteillée pour l'hydratation des patients*
 - permet de ne pas mettre le patient en contact avec l'eau du réseau
 - mais coût de revient de cette mesure également très élevé (supérieur à la filtration)

7.1.2 Mesures préventives pour éviter la transmission de *P. aeruginosa*

L'analyse des dangers réalisée au cours de ce mémoire ainsi que de nombreuses publications scientifiques montrent l'importance que jouent l'environnement proche du patient, le personnel et les dispositifs médicaux pour la transmission de *P. aeruginosa*.

A) Environnement proche du patient

La maîtrise de l'environnement proche du patient (constitué des éléments présents dans la chambre et à proximité du patient) constitue également un point clé dans la gestion des infections à *P. aeruginosa*.

En effet, ce mémoire a permis de montrer que l'origine hydrique ne suffisait pas à elle seule à expliquer l'occurrence de la bactérie, l'environnement de la chambre doit être pris en compte dans l'écologie de la bactérie.

Un nettoyage pluriquotidien de la chambre de patient, à l'aide de produits ayant une action détergente/désinfectante, permet de limiter la contamination des surfaces par des bactéries potentiellement pathogènes, dont *P. aeruginosa*.

Il est ainsi primordial d'effectuer un suivi des opérations de nettoyage et d'informer le personnel sur les surfaces présentant un risque plus élevé de contamination pour avoir un renforcement du nettoyage ciblé sur ces points spécifiques. Pour cela, il faut déterminer les surfaces les plus manipulées par le personnel et celles qui présentent des taux de contamination supérieurs, grâce à des séries d'observations sur l'exemple de celle menée au cours de ce projet.

B) Personnel

Le personnel, et plus particulièrement le respect des bonnes pratiques d'hygiène par le personnel, constitue un point clé pour endiguer l'expansion horizontale de la bactérie.

a) Respect des règles d'hygiène

Le manuportage de bactéries pathogènes par le personnel médical est un phénomène connu et documenté dans la littérature. Le transport de *P. aeruginosa* par les mains du personnel a pu être mis en évidence au cours de l'analyse des dangers (la bactérie étant retrouvée en temps que contaminant de surfaces lors des contrôles d'environnement).

Ce manuportage a pour conséquence la transmission horizontale de la bactérie vers des surfaces (et peut ainsi créer de nouveaux foyers de développement de *P. aeruginosa*) ou encore vers un patient initialement naïf d'infection.

La SFHH a élaboré des recommandations concernant l'hygiène des mains. Les principales exigences reposent sur une friction avec des PHA entre deux patients, et lors de gestes contaminants. La friction permet ainsi d'avoir une action antiseptique et d'éliminer toute flore transitoire potentiellement retrouvée sur les mains des personnels. Il est ainsi essentiel de veiller au bon respect de ces règles par le personnel au cours des soins. Pour cela, des formations à l'hygiène et une sensibilisation quant à leur implication pour limiter les IN à *P. aeruginosa* sont nécessaires.

b) La gestion des soins

Outre l'hygiène des mains, une gestion efficace des soins permet également de limiter le risque d'acquérir des infections à *P. aeruginosa*.

A ce sujet, la SFHH a déjà émis des recommandations impliquant d'ordonner les séries de soins des gestions les plus propres vers les plus sales. Ceci permet ainsi de ne pas étendre la contamination chez un même patient à des sites sains.

Il est également essentiel que le personnel prépare tout le matériel qui lui est nécessaire pour effectuer les soins avant d'entrer dans la chambre afin d'éviter au maximum d'interrompre les soins pour chercher le matériel manquant. Dans la pratique, lorsqu'un produit ou matériel manque pour les soins, le soignant sort de la chambre sans nécessairement effectuer une friction ou enlever les protections (gants et tablier). Ainsi, si le patient manipulé est porteur de *P. aeruginosa*, le transfert horizontal de la bactérie est possible.

C) Les dispositifs médicaux

En complémentarité des bonnes pratiques pour le personnel, la bonne gestion des DM permet également de réduire l'impact de *P. aeruginosa* en réanimation.

a) Utilisation d'un matériel dédié à chaque patient

Les dispositifs médicaux ont une implication directe quant au risque de transmission croisée de *P. aeruginosa* (et autres bactéries pathogènes telles que SARM, par exemple). La transmission croisée via les DM est basée sur le même principe que le manuportage par le personnel. Un DM peut acquérir des contaminants d'un patient lors de soins, et si ce dispositif est utilisé pour un autre patient sans désinfection intermédiaire, alors il y a un risque d'acquisition de bactéries par le patient naïf.

Ainsi, il est préférable d'avoir dans les chambres le maximum de matériel dédié à chaque patient et de suivre les recommandations de la SFHH pour limiter les transmissions croisées. C'est pourquoi, il est préférable que les stéthoscopes, thermomètres, bassines de toilettes et autres petits matériels ne soient pas utilisés pour plusieurs patients.

b) Préférence des usages uniques

Dans le but de limiter les risques d'acquisition de *P. aeruginosa* via les DM, l'utilisation des DM à usages uniques présente également un intérêt.

Les dispositifs à usage unique sont conditionnés dans des environnements stérilisés, ce qui permet de garantir leur innocuité lors de leur utilisation. Ainsi, le risque d'acquisition pour le patient de *P. aeruginosa* via ces DM est quasiment proche de 0. L'usage unique,

comme son nom l'indique, n'est voué à être utilisé qu'une seule fois sur un seul patient et sont ensuite éliminés en tant que DASRI. Le respect de ces règles d'usage permet de mieux contrôler le risque de transposition de bactéries pathogènes à un autre patient par le matériel médical.

c) Protocoles de nettoyage/désinfection

Certains DM ne peuvent être dédiés à un seul patient par chambre ou être à usage unique. Ceci est notamment le cas de matériel ayant un coût élevé et présent en nombre limité dans le service (appareil à échographie, électrocardiogramme, ventilateur mécanique, etc).

La maîtrise et la gestion des cycles de nettoyage/désinfection de ces dispositifs sont essentielles pour limiter le risque d'acquisition de la bactérie via les DM.

Il est nécessaire de pouvoir s'assurer de la bonne connaissance et de la maîtrise des protocoles par le personnel en charge, afin d'éviter toute défaillance ou insuffisance de désinfection (des publications scientifiques ont fait état d'épisodes épidémiques à *P. aeruginosa* du fait d'une défaillance dans la désinfection des DM).

Synthèse des mesures préventives sans abatement strict de *P. aeruginosa* dans l'eau:

- *maîtrise de l'environnement proche du patient*
 - nettoyage des chambres pluriquotidien (déterSION et désinfection)
- *règles de bonnes pratiques d'hygiène par le personnel*
 - hygiène des mains entre deux patients et après des gestes contaminants
 - respect des isolements et du port de protections adaptées
 - gestion des soins du geste propre vers le geste sale
 - organisation des besoins en matériel avant d'effectuer les séries de soins
- *gestion des dispositifs médicaux (DM)*
 - favoriser le matériel à usage unique
 - favoriser le matériel dédié pour chaque patient (stéthoscope, thermomètre, bassine, etc)
 - assurer la maîtrise des protocoles de nettoyage/désinfection des DM

Les mesures de prévention se réfèrent ainsi principalement au respect des bonnes pratiques d'hygiène en secteur hospitalier ainsi qu'à une implication renforcée du personnel.

Ces mesures ne prétendent pas à éliminer le risque d'acquisition de *P. aeruginosa* mais à réduire son incidence grâce à des pratiques de soins et d'entretien plus appropriées.

Dans le but d'avoir une politique de lutte optimale contre les IN provoquées par *P. aeruginosa*, il apparaît alors judicieux d'effectuer un consensus entre les deux niveaux de

Rémi ROUMAT - Mémoire de l'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique - 2009

recommandations présentés. C'est-à-dire avoir une action cumulée pour tenter de supprimer de façon permanente *P. aeruginosa* dans l'eau et une politique de surveillance des bonnes pratiques de soins.

Ainsi, agir sur 2 des vecteurs principaux de la dynamique d'infection par la bactérie permettrait de diminuer de façon plus efficace l'occurrence de *P. aeruginosa* en réanimation.

Un troisième vecteur de la bactérie, le portage endogène de la bactérie, reste cependant à tenter de contrôler.

7.1.3 Endogène

A) Vers un dépistage systématique ?

Une partie de la population (de l'ordre de 2 à 10% selon les études) est porteuse saine de la bactérie.

En réanimation l'apport d'un programme de dépistage par rapport aux seuls prélèvements réalisées à visée diagnostique est apprécié de façon variable selon les études ; certains auteurs estiment qu'en l'absence de dépistage, seule la moitié des patients porteurs de *P. aeruginosa* sont identifiés.

Actuellement il n'y a pas de prise de position nette sur les sites à prélever pour optimiser le dépistage (oral, trachéal, rectal) ni pour recommander la recherche de *P. aeruginosa* de façon systématique dans le cadre de programme de maîtrise de la diffusion des BMR dans les services de réanimation.

Ainsi, le dépistage de *P. aeruginosa*, dans l'état actuel des connaissances, peut être envisagé mais son coût de revient sur le long terme ainsi que le manque de données quant aux sites de prélèvements cibles conduisent à émettre des réserves quant à son utilité réelle.

B) Eviter la pression de sélection

Le principal moyen d'action du corps médical pour limiter la déclaration d'infections à *P. aeruginosa* d'origine endogène est d'éviter la pression de sélection, exercée par les antibiotiques.

Les centres hospitaliers utilisent un grand nombre d'antibiotiques pour traiter des infections ou à titre préventif lors d'interventions chirurgicales, par exemples. Cette pression exercée par les antibiotiques conduit à ne sélectionner que des bactéries résistantes à ces traitements chez les patients, et notamment *P. aeruginosa* qui possède de fortes aptitudes de résistance. Par exemple, l'utilisation de fluoroquinolones ou encore d'imipénème favorise la croissance et le développement de *P. aeruginosa*^[23]. Ainsi donc,

en l'absence de flore compétitive, *P. aeruginosa* peut aisément se développer et créer des infections.

Sélectionner des antibiotiques appropriés au traitement que nécessite le patient et optimiser leur utilisation sur la base du concept de pharmacodynamique sont préconisés. Ceci afin de ne pas sélectionner des BMR ou favoriser une espèce microbienne capable d'engendrer de nouvelles pathologies pour le patient.

Synthèse des mesures pour la maîtrise de l'origine endogène:

→ *utilité d'un dépistage systématique ?*

- permet de mieux identifier les porteurs de *P. aeruginosa*
- mais manque de recul sur les sites de prélèvements pertinents
- coût pour les hôpitaux sur le long terme ?

→ *éviter la pression de sélection*

- en ajustant les molécules d'antibiotiques pour limiter la sélection de flore pathogène
- en évitant l'utilisation abusive d'antibiotiques

7.1.4 Etude de la virulence des souches d'origine hydrique

P.aeruginosa est régulièrement identifié dans différents services des hôpitaux mais la réanimation présente un taux d'occurrence élevé de 15%. L'hypothèse d'un tel phénomène pourrait être celle d'une virulence plus accrue des souches de *P. aeruginosa* en réanimation.

L'étude de la virulence des souches hydrique semble donc être un élément intéressant pour pouvoir statuer sur ce point.

FENNER *et al* (2006) ont été les premiers à comparer la virulence de souches cliniques avec des souches d'origines environnementales. Ils en concluent que les souches cliniques présentent un caractère virulent plus prononcé que pour les souches environnementales (grâce à une technique de co-culture avec des amibes libres).

Initialement prévue au cours de ce travail, une expérimentation (se basant sur la technique de FENNER *et al*) n'a pu avoir lieu par faute de temps.

Lors d'une étude antérieure sur la bactérie faite au sein du CHU de Bordeaux, différentes souches (issues des prélèvements environnementaux et de prélèvements hebdomadaires chez les patients) ainsi que leur dynamique de contamination avaient été tracées par

génomique. De ce fait, il a pu être identifié des souches de *P. aeruginosa* ayant les dynamiques suivantes :

- des souches d'origine environnementale uniquement
- des souches principalement d'origine environnementales qui ont pu être reliées à des souches prélevées chez des patients
- des souches d'origine endogène qui sont ensuite retrouvées dans l'environnement
- des souches d'origine endogène retrouvées uniquement chez un seul patient

Ainsi observer les variations de virulence des différentes catégories de souches de *P. aeruginosa* aurait pu renseigner, ou du moins orienter, les mesures de gestion éventuelle du risque environnemental.

En effet, si les résultats montraient que les souches environnementales soient moins virulentes que les souches endogènes, il serait alors « illusoire » de n'axer les mesures correctives que sur le risque d'acquisition de la bactérie par une origine hydrique. Cela reviendrait à concentrer des investissements sur une part bénigne du problème que pose *P. aeruginosa* en réanimation.

La conduite d'une telle étude permettrait d'obtenir des conclusions claires quant au danger que représentent les souches environnementales dans l'épidémiologie de la bactérie, et semble être primordiale dans la lutte contre ce pathogène opportuniste.

Conclusion

P. aeruginosa reste à l'heure actuelle une bactérie problématique dans le cadre des infections nosocomiales, dont principalement dans les services de réanimation.

Le travail réalisé au cours de ce mémoire a permis de faire un état des lieux des connaissances concernant cette bactérie pathogène opportuniste ainsi que d'en identifier les principaux réservoirs et voies de transmission, en milieu hospitalier. Ainsi, définir une politique de lutte contre la bactérie uniquement axée sur une origine hydrique signifierait ne s'intéresser qu'à la partie immergée de l'iceberg. La dynamique de *P. aeruginosa* est bien plus complexe qu'un transfert unidirectionnel de l'eau vers le patient. Le portage endogène par une partie de la population et le phénomène de transmission croisée sont également impliqués dans le mode d'acquisition de *P. aeruginosa*.

L'évaluation du risque lié à l'origine hydrique de *P. aeruginosa* a alors été étendue à l'analyse des points critiques, liés aux pratiques médicales principalement, pouvant être source d'acquisition ou de transfert de la bactérie à un patient naïf.

L'observation des différentes pratiques dans plusieurs centres hospitaliers français permet d'obtenir une représentation des moyens mis en place au niveau national.

Les mesures de gestion proposées, en réponse aux points critiques relevés au cours de ce mémoire, aspirent ainsi à être applicables au sein des différents centres hospitaliers. Au regard du manque de caractérisation du risque hydrique, deux niveaux de mesures de prévention ont été évoqués :

- mesures pour l'éviction totale de *P. aeruginosa* dans l'eau
- mesures de prévention sans abattement strict de la bactérie

Pour optimiser l'efficacité de la politique de lutte contre les infections nosocomiales provoquées par *P. aeruginosa*, un consensus d'améliorations des pratiques répondant aux trois sources principales de la bactérie doit être envisagé.

Afin d'affiner les connaissances et d'avoir un regard plus pertinent sur les mesures de gestion ayant un impact certain sur l'occurrence de *P. aeruginosa*, une étude s'intéressant à la comparaison de la virulence de souches environnementales et endogènes doit être menée. Cela permettrait de déterminer si une souche environnementale représente ainsi un risque avéré de déclaration d'infection.

Les conclusions qui seront émises à partir des résultats du projet DYNAPYO permettront également d'apporter des renseignements pour la compréhension de la dynamique de *P. aeruginosa* en service de réanimation.

Les connaissances nouvelles que pourront apporter ces études permettront ainsi de palier au manque de positionnement clair de la part des scientifiques et du corps médical sur les dangers liés à une origine hydrique. Car au jour d'aujourd'hui, il n'est pas possible de pouvoir statuer sur la priorisation des moyens de lutte qui pourraient être appliqués sur le plan national, ce qui explique l'hétérogénéité des politiques mise en places dans les différents établissements hospitaliers français contre les infections nosocomiales à *P. aeruginosa*.

Bibliographie

Articles scientifiques :

[1] ADER F., FAURE K., GUERY B. and NSEIR S. (2008). Interaction de *Pseudomonas aeruginosa* avec *Candida albicans* dans les voies respiratoires: de la physiopathologie à une perspective thérapeutique. *Pathologie biologique*. **56** ; 164-169.

[2] ALIBAUD L., KOHLER T., COUDRAY A., PRIGNENT-COMBARET C., BERGERET E., PERRIN J., BENGHEZAL M., REIMMAN C., GAUTHIER Y., VAN DELDEN C., ATTREE I., FAUVARQUE M.-O. and COSSON P. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes identified in a *Dictyostelium* host model. *Cellular microbiology*. **10**(3); 729-740.

[3] ALOUSH V., NAVON-VENEZIA S., SEIGMAN-IGRA Y., CABILI S. and CARMELI Y. (2006). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. *Antimicrobiol agents and chemotherapy*. **50**(1) ; 43-48.

[4] ARICH C., AUBOYER C., BUSSY C., CARLET J., CHEMORIN C., DESCAMPS J.M., DUMAY M.F., GOTTOT S., GOUIN F., LEPAPE A., NOCILAS-CHANOINE M.H., NITENBERG G., PAIRAULT M., SOLLET J.P., THOMAS R. and LUCAS-BALOUP I. (1999). Guide pour la prévention des infections nosocomiales en réanimation, Paris. GlaxoWellcome, 287p.

[5] BERT F., MAUBEC E., BRUNEAU B., BERRY P. and LMABERT-ZECHOVSKY N. (1998). Multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreak associated with contaminated tap water in a neurosurgery intensive care unit. *Journal of hospital infection*. **39**; 53-62.

[6] BERTHELOT P., CHORD F., MALLAVAL F., GRATTARD F., BRAJON D. and POZETTO B. (2006). Magnetic valves as a source of faucet contamination with *Pseudomonas aeruginosa*? *Intense care medicine*. **32**; 1271.

[7] BERTHELOT P., GRATTARD F., MAHUL P., PAIN P., JOSPE R., VENET C., CARRICAJO., AUBERT G., ROS A., DUMONT., LUCHT F., ZENI F., AUBOYER C., BERTRAND J-C and POZETTO B. (2001). Prospective study of nosocomial colonization and infection due to *Pseudomonas aeruginosa* in mechanically ventilated patient. *Intensive care medicine*. **27**; 503-512.

[8] BERTRAND X., BLASCO G., BELLE E., BOILLOT A., CAPELLIER G. and TALON D. (2003). Importance de la transmission croisée dans l'épidémiologie de *Pseudomonas aeruginosa* en service de soins intensifs. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*. **22** ; 505-509.

[9] BERTRAND X., THOUVEREZ M., TALON D., BOILLOT A., CAPELLIER G., FLORIOT C. and HELIAS J.P. (2001). Endemicity, molecular diversity and colonisation routes of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit. *Intensive care medicine*. **27**; 1263-1268.

[10] BLANC D.S., NAHIMANA I., PETIGNAT C., WENGER A., BILLE J. and FRANCIOLI P. (2004). Faucets as a reservoir of endemic *Pseudomonas aeruginosa* colonization/infections in intensive care units. *Intensive care medicine*. **30**; 1964-1968

[11] BOFFI EL AMARI E. (2004). Traitement et pronostique des bactériemies à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse doctorat : médecine. Université de Genève. 43p.

- [12] BOU R., LORENTE L., AGUILAR A., PERPINAN J., RAMOS P. PERIS M. and GONZALEZ D. (2009). Hospital economic impact of an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Journal of hospital infection*. **71**; 138-142.
- [13] BUKHOLM G., TANNAES T., BRITT BYE KJELSBORG A. and SMITH-ERICHSEN N. (2002). An outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* associated with increased risk of patient death in an intensive care unit. *Infection control and hospital epidemiology*. **23**(8); 441-446.
- [14] CAO B., WANG H., SUN H., ZHU Y and CHEN M. (2004). Risk factors and clinical outcomes of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Journal of hospital infection*. **57**; 112-118.
- [15] CHOLLEY P., THOUVEREZ M., FLORET N., BRETRAND X. and TALON D.(2008). The role of water fittings in intensive care room as reservoirs for the colonization of patients with *Pseudomonas aeruginosa*. *Intensive care medicine*. **34**; 1428-1433.
- [16] DEFEZ C., FABBRO-PERAY P., BOUZIES N., GOUBY A., MAHAMAT A., DAURES J.P. and SOTTO A. (2004). Risk factors for multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection. *Journal of hospitalisation infection*. **57**; 209-216.
- [17] ENGEL J. and BALACHANDRAN P. (2009). Role of *Pseudomonas aeruginosa* type III effectors in disease. *Current opinion in microbiology*. **12**; 61-66.
- [18] ENGELHART S., KRIZEK L., GLASMACHER A., FISCHNALLER E., MARKLEIN G. and EXNER M. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a haematology-oncology unit associated with contaminated surface cleaning equipment. *Journal of hospital infection*. **52**; 93-98.
- [19] FENNER L., RICHET H., RAOULT D., PAPAZINA L., MARTIN C., and La SCOLA B. (2006). Are clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* more virulent than hospital environmental isolates in amebal co-culture test ? *Critical care medicine*. **34**(3); 823-828.
- [20] FESTINI F., BUZZETTI R., BASSI C., BRAGGION C., SALVATORE D., TACCETTI G. and MASTELLA G. (2006). Isolation measures for prevention of infection with respiratory pathogens in cystic fibrosis : a systematic review. *Journal of hospital infection*. **64**; 1-6.
- [21] FILLOUX A. and VALLET I. (2003). Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medecines sciences*. **19**(1) ; 77-83.
- [22] FONCECA A.P., EXTREMINA C., FONSAE A.F. and SOUSA J.C. (2004). Effect on subinhibitory concentration of piperacillin/tazobactam on *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of medical microbiology*. **52**; 903-910.
- [23] GEORGES B., CONIL J-M., DUBOUIX A., ARCHAMBAUD M., BONNET E., SAIVIN S., LAUWERS-CANCES V., CRISTINI C., COUGOTP; DECUN J-F., MAHE O., CAHBANON G., MARTY N., SEGUIN T. and HOUIN G. (2006). Risk of emergence of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to β -lactams antibiotics in intensive care units. *Critical care medicine*. **34**(6); 1636-1640.
- [24] GISKE C.G., LIBISCH B., COLINON C., SCOULICA E., PAGANI L., FUZI M., KRONVALL G. and ROSSOLINI G.M. (2006). Establishing clonal relationships between VIM-1-Like Metallo- β -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from four countries by multilocus sequence typing. *Journal of clinical microbiology*. **44**(12); 4309-4315.

- [25] GREUB G. and RAOULT D. (2004). Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clinical microbiology review*. **17**(2); 413-433.
- [26] GRUNDMANN H., KROPEC A., HARTUNG D., BERNER R. and DASCHNER F. (1993). *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: reservoirs and ecology of the nosocomial pathogen. *Journal of infectious diseases*. **168**; 943-947.
- [27] HALABI M., WIESHOLZER-PITTL M., SCHOBERL J. and MITTERMAYER H. (2001). Non-touch fittings in hospitals: a possible source of *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella spp.* *Journal of hospital infection*. **49**; 117-121.
- [28] HALL J., HODGSON G. and KERR K.G. (2004). Provision of safe potable water for immunocompromised patients in hospital. *Journal of hospital infection*. **58**; 155-158.
- [29] HETRICK E. M., HO SHIN J., PAUL H.S. and SCHOENFISCH M. H. (2009). Antibiofilm efficacy of nitric-releasing silica nanoparticles. *Biomaterials*. **30**; 2782-2789.
- [30] HOCQUET D., BERTHELOT P., ROUSSEL-DELVALLEZ M., FAVRE R., JEANNOT K., BAJOLET O., MARTY N., GRATTARD F., MARIANI-KURDJIAN P., BONGEN E., HUSSON M-O., COUETDIC G. and PLESIAT P. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* may accumulate drug resistance mechanisms without losing its ability to cause bloodstream infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **51**(10); 2531-3536.
- [31] JONAS D., MEYER E., SCHWAB F. and GRUNDMANN H. (2008). Genodiversity of resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in relation to antimicrobial usage density and resistance rates in intensive care unit. *Infection control and hospital epidemiology*. **29**(4); 350-357.
- [32] KAYABAS U., BAYRAKTAR M., OTLU B., UGRAS M., ERSO Y., BAYINDIR Y. and DURMAZ R. (2008). An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* because of inadequate disinfection procedures in a urology unit: A pulsed-field gel electrophoresis-based epidemiologic study. *American journal of infection control*. **8**; 33-36.
- [33] KOLMOS H.J., THUESEN B., NIELSEN S.V., LOHMANN M., KRISTOFFERSEN K. and ROSDAHL. (1993). Outbreak of infection in a burns unit due to *Pseudomonas aeruginosa* originating from contaminating tubing used for irrigation of patients. *Journal of hospital infection*. **24**; 11-21.
- [34] KUEHN M. J. and KESTY N.C. (2009). Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. *Genes & development*. **19**; 2645-2655.
- [35] LASHERAS A., GUISSSET O., BOULESTREAU H., ROGUES AM., FIORE M., SZAJNER S., BEZAIN MC, GABINSKI C. and GACHIE JP. (2006). Réservoirs et transmission de *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation médicale. *Médecine et Maladies Infectieuses*. **36**; 99-104.
- [36] LEPAPE A. (2003). Epidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales françaises d'anesthésie et réanimation*. **22**; 520-522.
- [37] LEPELLETIER D., CAROFF N., RIOCHET D., BIZOUARN P., BOURDEAU A., Le GALLOU F ; ESPAZE E., REYANAUD A., and RICHEL H. (2006). Role of hospital stay and antibiotic use on *Pseudomonas aeruginosa* gastrointestinal colonization in hospital patients. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. **25**(9) ;600-603.
- [38] MATAR G. M., CHAAR M. H., ARAJ G. F. (2005). Detection of a highly prevalent and potentially virulent strain of *Pseudomonas aeruginosa* from nosocomial infections in a medical center. *BMC microbiology*. **5**; 29

- [39] MASSI L., GUITTARD F., LEVY R. and GERIBALDI S. (2009). Enhanced activity of fluorinated quaternary ammonium surfactants against *Pseudomonas aeruginosa*. *European journal of medicinal chemistry*. **44**; 1615-1622.
- [40] MESAROS N., NORDMANN P., PLESIAT P., ROUSSEL-DELVALLEZ M., VAN ELDERE J., GLUPCZYNSKI Y., VAN LAETHEM Y., JACOBS F., LEBECQUE P., MALFROOT P.M. and VAN BAMBEKE F. (2007). *Pseudomonas aeruginosa* : resistance and therapeutic options at the turn of the new millenium. *Clinical microbiology and infectious diseases*. **13**; 560-578.
- [41] MESSADI A.A., LAMIA T., KAMEL B., SALIMA O., MONIA M. and SAIDA B. R. (2008). Association between antibiotic use and changes in suceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in an intensive care burn unit : a 5 year study, 2000-2004. *Burns*. **34**; 1098-1102.
- [42] MOHR J. F., JONES A. and WANGER Audrey. (2004). Associations between antibiotic use and changed in susceptibility patterns of *P. aeruginosa* in a private, university-affiliated teaching hospital: an 8 year-experience: 1995-2002. *International Journal of antimicrobial agents*. **24**; 346-351.
- [43] NASAR QURESHI M ; PEREZ A. A., MADAYAG R. M. and BOTTONE E. J.(1993). Inhibition of *Acanthamoebae* species by *Pseudomonas aeruginosa*: rationale for their selective exclusion in corneal ulcers and contact lens care systems. *Journal of clinical microbiology*. **31**(7); 1908-1910.
- [44] NORDMANN P. (2003) Mécanismes de résistance aux bêtalactamines de *Pseudomonas aeruginosa*. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*. **22** ; 527-530.
- [45] ORTEGA B., GROENEVALD A.B. and SCHULTSZ C. (2004). Endemic multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in critically ill patients. *Infectious control Hospital epidemiology*. **25**(10); 825-831.
- [46] ORSI G.B., MANSI A., TOMAO P., CHIARINI F. and VISCA P. (1994). Lack of association between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital wards. *Journal of hospital infection*. **27**; 49-60.
- [47] PARAMYTHIOTOU E., LUCET J-C., TIMSIT J-F., VANJAK D., PAUGMAN-BURTZ C., TROUILLET J-L., BELLOC S., KASSIS N., KARABINIS A. and ANDREMONT A. (2004).Acquisition of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients in intensive care units : role of antibiotics with antipseudomonal activity. *Clinical infection diseases*. **38** ; 670-677.
- [48] PICKUP Z. L., PICKUP R. and PERRY J. D.(2007). Effects of bacterial prey species and their concentration on growth of the amoebae *Acanthamoebae castellanii* and *Hartmannella vermiformis*. *Applied and environmental microbiology*. **73**(8); 2631-2634.
- [49] PETIGANT C., FRANCIOLI P., NAHIMANA I., WENGER A., BILLE J., SCHALLER M-D., REVELLY J-P., ZANETTI G. and BLANC D.S. (2007). Exogenous sources of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit patients : implementation of infection control measures and follow-up with molecular typing. *Infection control and hospital epidemiology*. **27**(9); 953-957.
- [50] PITTEN F-A., PANZING B., SCHRODER G., TIETZE K; and KRAMER A. (2001). Transmission of a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain at a german university hospital. *Journal of hospital infection*. **47**; 125-130.

- [51] PITTET D., DHARAN S., TOUVENEAU S., SAUVAN V. and PERNEGER T.V. (1999). Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Archives of internal medicine*. **159**; 821-826.
- [52] POOLE K. (2001). Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*. **3**(2); 255-264.
- [53] PRASAD S.V., BALLAL M. and SHIVANANDA P.G. (2009). Slime production a virulence marker in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical and environmental specimens: a comparative study of two methods. *Indian journal of pathology and microbiology*. **52**(2); 191-193.
- [54] RAMOS A.N., PERAL M.C. and VALDEZ J.C. (2008). Differences between *Pseudomonas aeruginosa* in a clinical sample and in a colony from it: comparison of virulence capacity and susceptibility of biofilm inhibitor. *Comparative immunology microbiology & infectious diseases*.
- [55] REUTER S., SIGGE A., WIEDECK H. and TRAUTMANN M. (2002). Analysis of transmission pathways of *Pseudomonas aeruginosa* between patients and tap water outlets. *Critical Care Medicine*. **30**(10); 2222-2227.
- [56] ROGUES A.-M., BOULESTREAU H., LESHERAS A., BOYER A., GRUSON D., MERLE C., CASTAING Y., BEBEAR C.M. and GACHIE J.-P. (2007). Contribution of tap water to patient colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in a medical intensive care unit. *Journal of hospital infection*. **67**; 72-78.
- [57] ROUILLON S., OURDANABIA S., JAMART S., HERNADEZ C and MEUNIER O. (2006). Etude de l'efficacité d'un produit détergent désinfectant pour sols et surfaces sur les souches bactériennes isolées à partir de l'environnement hospitalier. *Pathologie biologie*. **54** ; 325-330.
- [58] RUIMY R., GANAUZEAU E., BARNABE C., BEAULIEU A., TIBAYRENC M. and ANDREMONT A. (2001). Genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from ventilated patients with nosocomial pneumonia, cancer patients with bacteremia, and environmental water. *Infection and immunity*. **69**(1); 584-588.
- [59] RUIZ L., ANGELES DOMINGUEZ M., RUIZ N. and VINAS M. (2004). Relationship between clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital setting. *Archives of medical research*. **35**; 251-257.
- [60] SABY S., LEROY P., FRENEY J. and BLOCK J.-C. (2001). Les mécanismes de défense bactérienne en réponse à la désinfection par le chlore. *Hygienes*. **9**(4) ; 278-284.
- [61] SAWA T., OHARA M., KURAHASHI K., TWINNING S.S., FRANK D.W., DOROQUES D.B., LONG T., GROPPER M.A. and WIENER-KRONISH P. (1998). In vitro cellular toxicity predicts *Pseudomonas aeruginosa* virulence in lung infections. *Infection and immunity*. **66**(7); 3242-3249.
- [62] SCHRIVASTAVA R., UPRETI R.K., JAIN S.R., PRASAD K.N., SETH P.K. and CHATURVEDI U.C. (2002). Suboptimal chlorine treatment of drinking water leads to selection of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Ecotoxicology and environmental safety*.

- [63] THOUNG M., ARVANITI K., RUI MY R., De La SALMONIERE P., SCANVIC-HAMEG J.C. and REGNIER B. (2003). Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* and risk factors for carriage acquisition on an intensive care unit. *Journal of hospital infection*. **53**; 274-282.
- [64] TOLKER-NIELSEN T., BRINCH U. C., RAGAS P. C., ANDERSEN J. B., JACOBSEN C. S. and MOLIN S. (2000). Development and dynamics of *Pseudomonas sp*; biofilms. *Journal of bacteriology*; 6482-6489.
- [65] TOTE K., VANDEN BERGHE D., DESCHACHT M., De WIT K., MAES L. and COS P. (2009). Inhibitory efficacy of various antibiotics on matrix and viable mass of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *International journal of antimicrobials agents*. **33**; 525-531.
- [66] TRAUTMANN M. (2001) Tap water colonization with *Pseudomonas aeruginosa* in a surgical intensive care unit (ICU) and relation to *Pseudomonas* infections on ICU patients. *Infection control and hospital epidemiology*. **22**(1); 49-52.
- [67] TRAUTMANN M., BAUER C., SCHUMANN C., HAHN P., HOHER M., HALLER M. and LEPPER P.M. (2006). Common RAPD pattern of *Pseudomonas aeruginosa* from patients and tap water in a medical intensive care unit. *International journal of hygiene and environmental health*. **209**; 325-331.
- [68] TRAUTMANN M, HALDER S., HOEGEL J; ROYER H. and HALLER M.(2008). Point-of-use water filtration reduces endemic *Pseudomonas aeruginosa* infections on a surgical intensive care unit. *Association for professionals in infection control and epidemiology*. **36**(6); 421-424.
- [69] TRAUTMANN M., LEPPER M. and HALLER M. (2005). Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *American journal of infection control*. **33**(5); 41-49.
- [70] TSUKAYAMA D.T., VAN LOON H.J., CARTWRIGHT C., CHMIELEWSKI B., FLUIT A.C., VAN DER WERKEN C. and VERHOEF J. (2004). The evolution of *Pseudomonas aeruginosa* during antibiotic rotation in a medical intensive care unit : the RADAR-trial. *International journal of antimicrobial agents*. **24**; 339-345.
- [71] TUMEO E., GBAGUIDI-HAORE H., PATRY I., BERTRAND X., THOUVEREZ M. and TALON D. (2008) Are antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitalised patients recovered in the hospital effluents? *International journal of hygiene and environmental health*. **211**; 200-204.
- [72] VALAPIL S.P., READY D., ABOU NEEL E.A., PICKUP D.M., O'DELL L.A., CHRZANOWSKI W., PRATTEN J., NEWPORT R.J, SMITH M.E., WILSON M. and KNOWLES J.C. (2009). Controlled delivery of antimicrobial gallium ions from phosphate-based glasses. *Acta biomaterialia*. 1198-1210.
- [73] VALLES J., MARISICAL D., CORTES P., COLL P., VILLAGRA A., DIAZ E., ARIGAS A. and RELLO J.(2004). Patterns of colonization by *Pseudomonas aeruginosa* in intubated patients: a 3-years prospective study of 1607 isolates using pulsed-field gel electrophoresis with implications for prevention of ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med*; 30: 1768-75.
- [74] VIVES-FLOREZ M. and GARNICA D. (2006). Comparison of virulence between clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *International microbiology*. **9**; 247-252.

[75] VONBERG R.-P., ECKMANNS T., BRUDEREK J., RUDEN H. and GASTMEIER P. (2005). Use of terminal tap water filter systems for prevention of nosocomial legionellosis. *Journal of hospital infection*. **60**; 159-162.

[76] WEIT K., POLLEGE K., SCHULZ I., RUDEN H. and GASTMEIER P. (2002). How many nosocomial infections are associated with cross-contamination? A prospective cohort study in a surgical care unit. *Infection control and hospital epidemiology*. **23**(3); 127-132.

[77] WIDMER A.F., BLANC D., FRANCIOLI P. and TROILLET N. (2002). Eau potable en milieu hospitalier. *Swiss noso.* **9**(1).

[78] WILLIAMS P. and CAMARA M. (2009). Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Current opinion in microbiology*. **12**; 182-191.

[79] WIRTANEN G., SALO S., HELANDER I.M. and MATTILA-SANDHOLM T.(2001). Microbiological methods for testing disinfectant efficiency on *Pseudomonas* biofilms. *Colloids and surfaces : biointerfaces*. **20**; 37-50.

[80] ZAVASCKI AP., BARTH AL., GONCALVES AL., MORO AL., FERNANDES JF., RAMOS F. and GOLDANI LZ. (2006). The influence of metallo-beta-lactamase production on mortality in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Journal of antimicrobials and chemotherapy*. **58**(2); 387-392.

Rapports et normes:

[81] Avis de la Société Française d'Hygiène Hospitalière relative à l'utilisation de l'eau de javel dans les établissements de soins. Juin 2006

[82] CCLIN Sud-Ouest (2005). Enquête d'incidence des infections nosocomiales en réanimation.

[83] CCLIN Sud-Ouest (2006). Enquête d'incidence des infections nosocomiales en réanimation.

[84] CCLIN Sud-Ouest (2007). Enquête d'incidence des infections nosocomiales en réanimation.

[85] Conférence de consensus : prévention des infections nosocomiales en réanimation-transmission croisée et nouveau-né exclus. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation et Société de Réanimation de Langue Française (novembre 2008).

[86] Décret n° 2002-465 du 5 avril 2002 relatif à la réanimation, aux soins intensifs et à la surveillance continue

[87] Directive Européenne 98/83/CE du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux de consommation humaine

[88] Institut de veille sanitaire ENP 2006. Enquête nationale de prévalence 2007 [Page consultée le 24.05.2009] :
www.invs.sante.fr/publications/2008/enp2007_resultats_preliminaires

[89] REA-RAISIN (2004). Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte.

[90] REA-RAISIN (2005). Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte

[91] REA-RAISIN (2006). Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte

[92] SFHH. Recommandations de l'hygiène des mains. [Page consultée le 06.06/2009] :
http://www.sfhf.net/telechargement/recommandations_hygiენemain2009.pdf

[93] SFHH. Recommandations de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. [Page consultée le 06.06/2009].

http://www.sfhf.net/telechargement/recommandations_preventiontransmissioncroiseeSFHH.pdf

[94] Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé ; Air, eaux et surfaces. *Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN, 2002.*

Site Internet :

[95] Emedicine [page visitée le 16/05/2009] disponible sur internet.

<http://emedicine.medscape.com/article/226748-overview>

Liste des annexes

ANNEXE 1 : questionnaire entretien des réseaux

ANNEXE 2 : questionnaire entretien des points d'eau

ANNEXE 3 : schéma d'une chambre de réanimation au CHU de Bordeaux

ANNEXE 4 : grille de résultats des observations de l'enquête contact

ANNEXE 5 : tableau des prélèvements d'environnement (2006 à 2009)

ANNEXE 6 : questionnaire pour la gestion des dispositifs médicaux

ANNEXE 7 : tableau de résultats enquête sur la gestion des dispositifs médicaux

ANNEXE 1 : questionnaire entretien des réseaux

QUESTIONNAIRE SUR LE RESEAU DU SERVICE DE REANIMATION

1)La portion du réseau qui alimente le service de réanimation date-elle de plus de 10 ans ?	oui	
	non	
2)Quelle est la configuration du réseau dans le service de réanimation ?	En colonne	
	En boucle	
	En peigne	
3)Le dimensionnement du réseau est-il sous adapté aux besoins du service de réanimation (faible débit en sortie malgré l'ouverture maximale du robinet) ?	oui	
	non	
4)Existe-t-il un protocole de désinfection de l'ensemble du réseau, et notamment de la partie alimentant la réanimation ?	oui	
	non	
5)Si oui, en quoi consiste-t-il ?	Chloration	
	Traitement thermique	
	autre	
6) Dans le cas de la chloration , en quoi consiste-t-il ?	Traitement continu (trace constante de chlore dans l'eau circulante)	
	Hyperchloration (injection ponctuelle de fortes doses de chlore dans le réseau)	
7) Dans le cas de désinfection par traitement thermique , quelle est la température cible de l'eau circulante et le procédé utilisé ?		
8) Dans le cas d'autres procédés de désinfection , quel est leur nature ?		

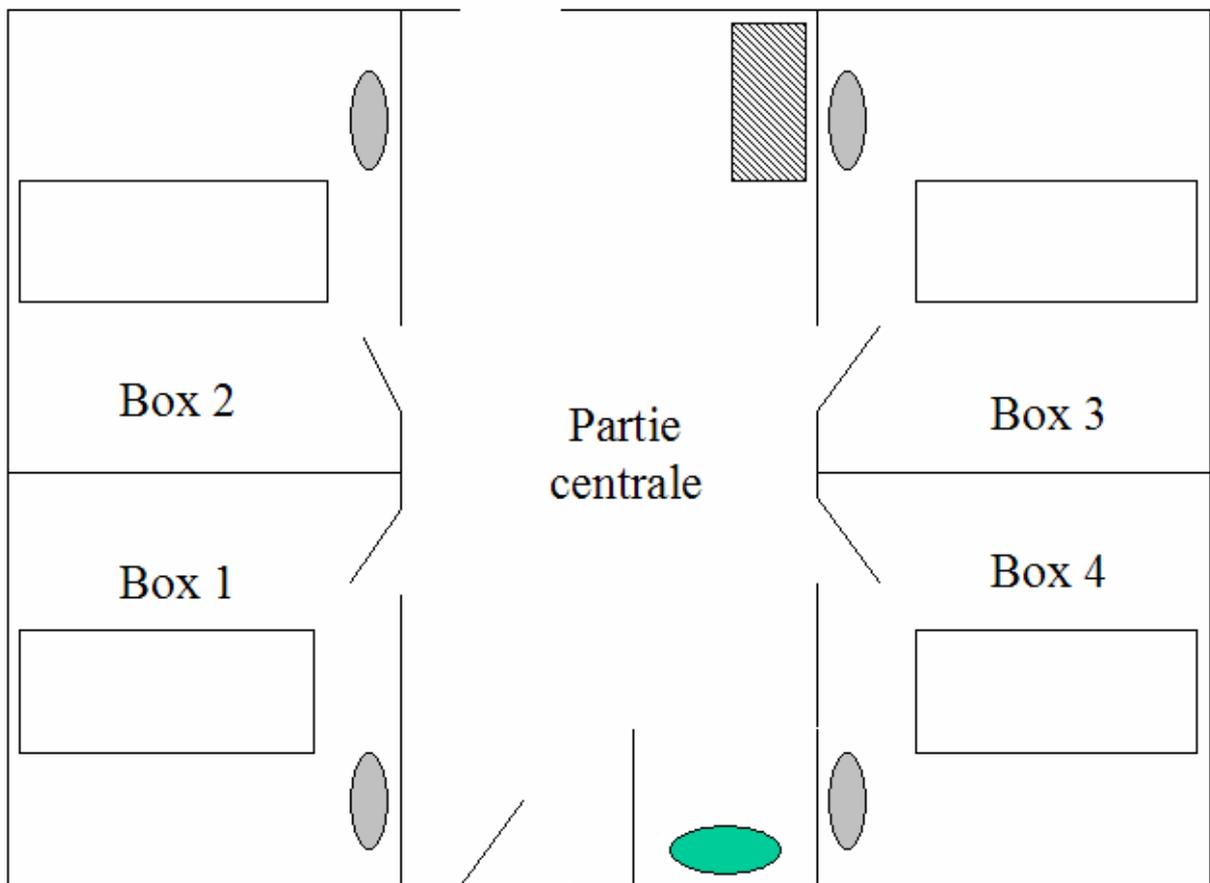
ANNEXE 2 : questionnaire entretien des points d'eau

Numéro du service correspondant:

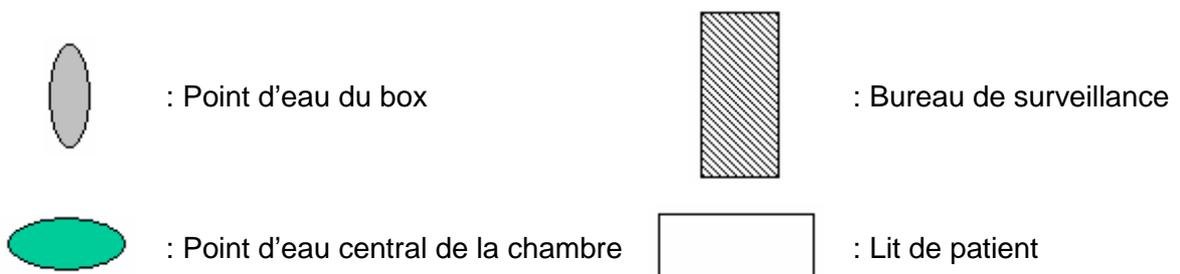
n°point eau																			
localisation		chambre																	
		autre																	
système de commande	manuelle	main																	
		coude																	
		genou																	
	non manuelle	électronique																	
		magnétique																	
autre																			
forme robinet		coudée																	
		droite																	
état robinetterie		propre																	
		tartre																	
présence mousseur	oui	mitigeur																	
		mélangeur																	
	non																		
utilisation(s) du point d'eau		mains																	
		bassine																	
		matériel																	
projections possibles		oui																	
		non																	
présence de filtration		oui																	
		non																	
fréquence changement filtre																			
une seule personne en charge		oui																	
		non																	
enregistrement		oui																	
		non																	

ANNEXE 3 : schéma d'une chambre de réanimation au CHU de Bordeaux

Plan d'une chambre de réanimation au CHU de Bordeaux



Légende :



ANNEXE 4 : grille de résultats des observations de l'enquête contact

	Isol	En entrée			Tenue			En sortie			Contact
		0	LS	F	0	G	Tab	0	LS	F	
1			X		X					X	Placard
2	C	X				X				X	portoir médicament - matériel stérile – stylo
3		X				X		X			lit – patient – sonde – perfusion – seringue – pompe perfusion –lit
4		X			X			X			Portoir médicament – ampoule – stylo
5		X			X				X	X	Lit – patient – gants – poubelle – sonde respirateurs – patient – sonde – lit –coussin
6		X					X			X	Portoir médicament – matériel stérile – stylo – placard
7				X			X		X		Thermomètre – patient – poubelle – patient
8		X			X					X	Monitoring
9			X		X					X	Rideau – lit - patient
10	C			X		X	X			X	Placard extérieur – monitoring – lit – patient – aspiration – patient – poubelle – patient
11				X		X	X			X	Lit – patient
12			X			X				X	Sonde urinaire
13		X			X					X	Matériel stérile – robinet – placard
14		X				X			X		Lit – patient – compresses
15		X			X			X			Portoir médicament – appareillage extérieur – patient – perfusion
16		X			X			X			Placard – autre chambre – placard
17		X			X			X			Placard – perfusion – placard
18				X		X				X	Lit – patient – lit – perfusion
19		X			X			X			Poubelle
20		X				X				X	Patient – lit
21		X				X				X	Appareillage extérieur – patient
22		X			X					X	Placard – portoir médicament
23	G	X				X	X		X		Placard – patient – perfusion – évier
24				X		X				X	Patient – placard extérieur – lit –monitoring – lit – patient
25		X				X			X	X	Perfusion – lit – patient
26				X	X			X			Perfusion – lit – patient
27		X				X				X	Sonde urinaire – patient
28	C	X			X					X	Thermomètre – patient – lit – placard
29				X		X				X	Patient – appareillage extérieur – lit – aspiration
30				X		X	X	X			Lit – patient
31		X			X			X			Patient – appareillage extérieur - lit

Légende :

C : isolement contact

LS : lavage simple

G : isolement gouttelettes

F : friction

ANNEXE 5 : tableau des prélèvements d'environnement (2006 à 2009)

ANNEXE 6 : questionnaire pour la gestion des dispositifs médicaux

QUESTIONNAIRE ENTRETIEN ET DISPOSITIFS MEDICAUX

n° de service DYNAPYO:

Indiquer le référentiel de nettoyage référence pour le service:

1) L'eau du réseau est-elle utilisée pour l'hydratation et bains de bouche des patients en réanimation ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

2) Lorsqu'un patient est porteur de *P. aeruginosa*, en entrée ou au cours du séjour, est-il placé en isolement septique?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

3) Y-a-t-il des précautions supplémentaires ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

Si oui, lesquelles ?

gants		tablier		masque	
-------	--	---------	--	--------	--

4) Quelle est la fréquence d'entretien des surfaces proches du patient des chambres de réanimation:

pluriquotidien		quotidien		hebdomadaire	
----------------	--	-----------	--	--------------	--

5) Merci de renseigner les informations demandées pour les produits de nettoyage utilisés en réanimation
(pour les choix multiples, cocher la ou les cases correspondantes)

nom du produit						
nature	détergent					
	désinfectant					
	détergent / désinfectant					
principe actif du produit	alcool					
	chlore					
	peroxyde					
	phénol					
	ammonium IV					
	tensioactif					
	autre					
temps de contact préconisé pour le produit						

7) L'enregistrement des opérations de nettoyage est-il fait?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

8) Pour les chambre des patients porteurs de *P. aeruginosa*, le nettoyage est-il renforcé lors de leur sortie?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

Dans quelle(s) mesure(s)?

.....
.....
.....
.....
.....

9) Un protocole de désinfection existe-il pour chaque type de dispositif médical ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

10) Y-at-il du matériel dédié à chaque patient (tensiomètre, stéthoscope, thermomètre) dans les chambres ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

11) La bassine de toilette est-elle individualisée ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

12) Ce matériel est-il désinfecté après chaque usage ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

13) La désinfection des dispositifs invasifs (ventilateur, endoscope, bronchoscope) est-elle renforcée après un patient porteur de *P. aeruginosa* ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

14) Les différentes procédures de nettoyage/désinfection des chambres et du matériel sont-elles évaluées ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

15) Ces procédures sont-elles et à disposition du personnel de réanimation ?

OUI		NON	
-----	--	-----	--

ANNEXE 7 : tableau de résultats enquête sur la gestion des dispositifs médicaux

ROUMAT

Rémi

Septembre 2009

Ingénieur du Génie Sanitaire

Promotion 2009

Analyse des risques liés à la présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'eau du réseau hospitalier des services de réanimation

PARTENARIAT UNIVERSITAIRE : CHU de Bordeaux

Résumé :

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquiste de l'environnement, retrouvée préférentiellement en milieu humide. Cette bactérie responsable d'infections nosocomiales, agit comme un pathogène opportuniste, notamment dans les services de réanimation où son occurrence avoisine 15%.

Le travail de synthèse bibliographique a permis de mettre en exergue le rôle de trois foyers principaux dans l'écologie de la bactérie : l'origine hydrique, la transmission croisée ainsi que son origine endogène pour une partie de la population.

Une démarche d'identification des points critiques a été entreprise pour chacun de ses foyers, à l'aide d'études multicentriques (dans 8 centres hospitaliers) et d'observations en service de réanimation, pour relever les pratiques pouvant favoriser l'acquisition de la bactérie. Cette identification a pour but d'émettre des propositions de mesures préventives adaptées pour améliorer la politique de lutte contre *P. aeruginosa* dans les services de réanimation.

Cependant, face au manque de données concernant la virulence des souches de *P. aeruginosa*, il ne peut être à l'heure actuelle être émis des recommandations précises pour la gestion du risque hydrique. Ceci induit une grande diversité des pratiques observées dans les centres hospitaliers, sur le plan national, concernant la gestion et la prévention du foyer hydrique de la bactérie.

Dans le but d'optimiser la politique de lutte contre les infections nosocomiales provoquées par *P. aeruginosa*, deux niveaux ont été évoqués et discutés dans ce mémoire : éviction totale de la bactérie dans l'eau – gestion et prévention sans abatement strict de la bactérie dans l'eau.

Il apparaît alors qu'un consensus de ses principales mesures ainsi qu'une politique de lutte s'axant sur les trois principaux vecteurs hospitaliers de la bactérie pourront permettre de réduire son occurrence dans les services de réanimation.

Mots clés :

Pseudomonas aeruginosa, infections nosocomiales, services de réanimation, foyers, voies de transmission, points critiques, moyens de maîtrise.

L'Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les mémoires : ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.