

EVALUATION DU RISQUE INFECTIEUX AU LABORATOIRE D'ANALYSES MÉDICALES : EXEMPLE DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE-VIROLOGIE DU CHU DE YOPOUGON (ABIDJAN, CÔTE D'IVOIRE) EN 2006

MEITE¹ S., BONI-CISSÉ¹ C., M. C. GUÉI¹, HOUÉDANON¹ C, FAYE-KETTÉ^{1,2} H.

RESUME

Le but de cette étude était d'évaluer le risque infectieux lié aux bactéries multirésistantes et pathogènes spécifiques colonisant l'environnement du laboratoire de Bactériologie Virologie du CHU de Yopougon à Abidjan.

Deux cent dix (210) prélèvements de l'environnement à l'écouvillon stérile ont été réalisés sur 35 sites pendant 6 mois. Les techniques classiques de bactériologie ont été utilisées pour l'identification des germes. Au cours de cette étude, trois groupes de bactéries ont été isolées : en dehors de *Bacillus* de l'environnement. Il s'agissait d'Entérobactérie 39,5%, Cocci Gram positif 33% et bactéries aérobie stricte 27,5%. Le groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) représentait 58% des Entérobactéries isolées et 4,8% des Entérobactéries

était des pathogènes spécifiques de l'homme. 12,1% des Entérobactéries produisait une BLSE (Beta Lactamase à Spectre Elargie). Le genre *Staphylococcus* représentait 90% des Cocci Gram positif et 30,7% était résistant à la meticilline. Le poste de travail à faible risque de contamination était le plus contaminé. Au vu des germes isolés, l'environnement peut constituer un risque infectieux pour son personnel et également un risque de dissémination des germes fréquemment responsable d'infection hospitalière.

MOTS-CLÉS : ENVIRONNEMENT, BACTÉRIES, LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE VIROLOGIE, EVALUATION, CHU DE YOPOUGON ABIDJAN.

SUMMARY

The goal of this study was to evaluate the risk infectious related to the specific bacteria colonizing the environment of bacteriology and virology Lab of a teaching hospital in Yopougon, Abidjan. 210 samples were carried out on 35 sites for six months. Conventional methods of bacteriology were used for bacterial identification. During this study genus bacteria isolated were *Bacillus*, *Enterobacteria* 39,5 %, Gram positive Cocci 33 % and aerobic bacteria 27,5 %. *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Serratia* Group accounted for 58% of

enteric bacteria. Between enteric bacteria 4,8 % were specific pathogens. 12,1 % of *Enterobacteria* were ESBL producer. 30,7 % of *Staphylococcus* were meticillin resistant *Staphylococcus* (*MRS*). Station at the weak risk of contamination was most colonizing by multidrug resistant bacteria. Lab environment could constitute a risk for the personnel and indeed a risk for dissemination of germs responsive of nosocomial infections.

KEY WORDS : EVALUATION, LABORATORY, ASSOCIATED INFECTIOUS, CHU YOPOUGON ABIDJAN

1- Laboratoire Central du CHU de Yopougon, Abidjan

2- Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

Correspondant : M^r MÉITÉ Syndou

01 BP 8218 Abidjan 01

E mail : meitesynd@yahoo.fr

Abidjan - Côte d'Ivoire

INTRODUCTION

Le laboratoire de Bactériologie Virologie reçoit chaque jour des produits biologiques susceptibles d'héberger des germes potentiellement pathogènes pour l'homme. Ces produits sont analysés dans un environnement fermé. Les analyses effectuées nécessitent dans la majorité des cas l'utilisation de produits chimiques et agents physiques pour l'identification et les différents isolements. Ainsi, les personnes manipulant des produits biologiques dans ces laboratoires sont soumises à la fois à des risques infectieux, chimiques et physiques.

Plusieurs études portant sur le risque biologique confirment les risques liés à la manipulation des produits biologiques. En effet ces produits contiennent des microorganismes potentiellement pathogènes. De plus les tests et analyses réalisés sur ces produits mettent en contact le manipulateur et certains agents chimiques utilisés soit pour l'identification soit pour la destruction.

Le risque infectieux au laboratoire est bien connu pour les mycobactéries, les virus de l'hépatite B et C, le virus de l'immunodéficience humaine, etc. [1,9] et les virus des fièvres hémorragiques. Par contre, ce risque est peu ou pas connu pour les autres bactéries et les bactéries multi résistantes. Ces bactéries à travers les produits biologiques des services cliniques colonisent chaque jour l'environnement du laboratoire favorisant ainsi un contact étroit entre le personnel et ces germes. Cette situation pourrait constituer un risque d'infection pour le personnel travaillant dans cet environnement négligeant toutes mesures de biosécurité.

Ce travail se fixe comme but d'évaluer la colonisation de l'environnement du laboratoire par ces germes afin d'évaluer le risque encouru par le personnel en travaillant dans cet environnement.

METHODOLOGIE

Cadre et type qualitative d'étude : Il s'agit d'une étude transversale réalisée au laboratoire de Bactériologie Virologie du CHU de Yopougon de mars à septembre 2005. Elle a porté sur 210 prélèvements réalisés sur 35 sites répertoriés au laboratoire à l'aide d'écouvillons humides stériles.

Critère d'inclusion de site : Les sites les plus souvent utilisés par le personnel ont été inclus dans cette étude. Ils ont été subdivisés en trois grands postes : Sites à haut risque de contamination (sites de manipulation de bactéries vivantes et de produits biologiques), Sites à faible risque de contamination (sites de manipulation de bactéries tuées) et Sites d'utilisation fréquente par le personnel (sites non utilisés pour la manipulation des produits biologiques mais le plus souvent utilisés par le personnel) Tableau I.

Tableau I : Répartition des différents sites prélevés.

Caractéristiques des Sites	Sites prélevés
Sites à haut risque de contamination	Poste de travail, plateau de réception des prélèvements, étuves et bain marie.
Site à faible risque de contamination	Lavabos, robinets de salle technique, flacons pour la coloration de Gram, microscope optique, poste de gestion des données (bureau, combiné de téléphone, souris et clavier d'ordinateur)
Site d'utilisation fréquente	Sol, penderie, poignée, boîte à pipette pasteur, etc. de la salle technique

Méthodes : L'isolement des bactéries ont été effectués sur les milieux usuels de Bactériologie (EMB, Gélose nutritive, gélose Chapman, gélose BEA). L'identification des bactéries a été faite selon les techniques biochimiques classiques utilisées. Le profil de résistance des germes a été recherché par la méthode de l'antibiogramme par la technique de diffusion en milieu gélosé. L'interprétation

des diamètres d'inhibition a été réalisée selon les critères du comité français pour l'antibiogramme (CA-SFM), version 2005.

Méthodes statistiques : Au plan statistique l'analyse des données a été réalisée à l'aide de la version 6 Epi Info de CDC Atlanta. L'analyse statistique a été interprétée au seuil de significativité correspondant à un risque de 5 %.

RESULTATS

196 sites prélevés sur 210 étaient colonisés soit 93,3 % dont 58,2 % par les *Bacillus* sp et 41,8 % par d'autres bactéries. Les sites à faible risque de contamination concentraient 48,5 % des bactéries isolées, ceux à haut risque 34,7 % et ceux d'utilisation fréquente 44,4 %. Au niveau des autres germes rencontrés, trois groupes de bactérie ont été isolés. Il s'agissait de bactéries de la famille des Entérobactéries 36, soit 39,5 %, de Cocci Gram positif 30, soit 33 % et de bacilles Gram négatif aérobies stricts 25, soit 27,5 %. Concernant les Entérobactéries, les bactéries du groupe *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* représentaient 58 % avec 50 % de *Klebsiella* (19,4 % de *Klebsiella pneumoniae*) pour l'ensemble des entérobactéries isolés et 8 % d'*Enterobacter* (*E. gergoviae* et d'*E. cloacae*). 30,5 % *Escherichia coli*. Des Entérobactéries pathogènes spécifiques pour l'homme ont été retrouvées dans 4,8 % des cas dont 1 *Salmonella* sp, soit 2,8 % des cas et 1 *Shigella* sp, soit 2,8 %. Le genre *Staphylococcus*, 27 souches constituait 90 % des cocci gram positif isolés avec une prédominance de *Staphylococcus* à coagulase négative. 19,4 % des Cocci Gram positif était *Staphylococcus aureus*. Le genre *Streptococcus* dans 6,7 % des cas et le genre *Enterococcus* dans 3,3 % des cas. Quant aux bacilles Gram négatif aérobies stricts, 36 % des bactéries isolées

étaient du genre *Acinetobacter* (*Acinetobacter baumannii*, 77,8 % d'*Acinetobacter* isolé), 32% de *Flavobacterium* et 28 % du genre *Pseudomonas* (*Pseudomonas aeruginosa*, 14,9 %).

12,1 % d'Entérobactéries productrices de bêta lactamase à spectre élargi (BLSE), 30,7 % de *Staphylococcus* méticillino résistants et 16,7 % de *Pseudomonas* résistants à la Ceftazidime ont été isolés.

Les sites à faible risque de contamination concentraient 48,5 % des bactéries isolées. 30 % de ces bactéries étaient des Entérobactéries, 34% des bactéries aérobies strictes et 30 % de Cocci Gram positif. Les sites à haut risque de contamination concentraient 34,7 % des germes isolés avec 44 % d'Entérobactéries, 20 % de bacilles aérobies stricts et 36 % de Cocci Gram positif. Quant aux sites d'utilisation fréquente, il concentrait 44,4 % des germes isolés avec 62,5 % d'Entérobactéries, 18,8 % de bactérie aérobie stricte et 18,8 % de Cocci Gram positif. Une différence significative concernant les entérobactéries entre les sites à faible risque de contamination et les sites d'utilisation fréquente étaient constatés ($p = 0,0416$). (Tableau II).

Tableau II : Répartition des familles bactériennes en fonction des sites

	Entérobactéries N=36	Bactéries aérobies strictes N=25	Cocci gram positif
Sites à faible risque de contamination N=50	15 (30%)	17 (34%)	18 (36%)
Sites à haut risque de contamination N=25	11 (44%)	05 (20%)	09 (36%)
Sites d'Utilisation fréquentes	10 (62,5%)	03 (18,75%)	03 (18,75%)

Par contre au niveau des autres germes, la différence était non significative entre les sites.

Les lavabos étaient les sites les plus contaminés au niveau du poste à faible de contamination avec 38 % des germes de ce poste. Dans cette étude, nous avons noté une distribution hétérogène des bactéries multirésistantes et de pathogènes spécifiques pour l'homme au sein du laboratoire (Tableau III).

Tableau III : Répartition des bactéries multirésistantes et des pathogènes spécifiques de l'homme par mois et par site

	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Site à haut risque	-	<i>E coli</i> , BLSE	-	-	<i>S aureus</i> MetiR	-
	-	-	-	-	<i>S aureus</i> MetiR	-
	-	-	-	-	-	-
	-	-	<i>K pneumoniae</i> BLSE	-	-	-
Sites à faible risque	-	<i>E gergoviae</i> BLSE	<i>E gergoviae</i> BLSE	-	-	-
	-	-	-	-	<i>S aureus</i> MetiR	-
	-	-	-	-	-	-
Site d'utilisation fréquente	-	-	-	-	<i>S aureus</i> MetiR	-
	-	-	-	-	<i>S aureus</i> MetiR	-

M = Mois

Enterobacter gergoviae BLSE a été isolé au niveau du lavabo durant 2 mois de suite et *Salmonella sp* a également été isolé au niveau du lavabo. *Shigella sp* a été isolé au niveau du registre d'accueil. Au niveau du

plan de travail et au niveau de l'étuve 1 *E coli* BLSE 1 *Klebsiella pneumoniae* BLSE ont été isolés. *Staphylococcus* Meti-R a été isolé au niveau de plusieurs sites différents durant le même mois.

DISCUSSION

Cette étude porte sur l'évaluation des bactéries colonisant l'environnement du laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Yopougon. De part son activité, l'unité de Bactériologie est susceptible d'abriter des bactéries diverses provenant des différents produits biologiques, le plus souvent des patients hospitalisés. Le risque de propagation de bactéries multirésistantes au sein du laboratoire existe. En effet, 93,7% des sites étudiés ont permis l'isolement d'une bactérie. Parmi ces bactéries, 58,2% sont des *Bacillus*, germe de l'environnement. L'importance des cultures positives s'expliquerait par le fait qu'il s'agit de prélèvements de sites environnementaux habituellement colonisés, mais également par la méthodologie de prélèvement utilisé à savoir le passage fréquent et régulier à différents sites. La prédominance de *Bacillus* dans notre étude est conforme aux données de la littérature [3, 7].

Dans cette étude trois groupes de bactéries ont été isolés. Il s'agit des Entérobactéries représentant 39,5%, des bactéries Gram négatif aérobies stricts 27,5% et des Cocci Gram positif 33%. La prédominance de ces groupes de bactéries s'expliquerait par le fait que ce sont généralement des bactéries saprophytes très répandues dans l'environnement (eau, sol) y compris l'environnement hospitalier. L'environnement du laboratoire de Bactériologie Médicale n'échappe pas à cette règle.

Une légère prédominance des Entérobactéries a été notée. Ceci serait probablement dû aux taux élevés de ces germes isolés habituellement dans le laboratoire (58,4% des bactéries isolées dans le laboratoire en 2004) [10].

Concernant les Entérobactéries, 50 % sont *Klebsiella* sp et 30,5 % *E. coli*. La prédominance de ces deux genres serait due à leur fréquence élevée dans l'environnement en général et à l'hôpital en particulier. Ils sont très souvent responsables d'infections nosocomiales. *E. coli* représente 23 % des bactéries responsables d'infections nosocomiales [5]. *Klebsiella* sp

dans l'environnement dans notre étude est largement inférieure à celle de *Klebsiella* et de *E. coli*. Leur présence signale une absence d'hygiène des mains chez le personnel. *Shigella* a été mis en évidence au niveau du registre d'accueil. Ce germe a certainement bénéficié d'un transport manu porté par le personnel. Quant au genre *Salmonella*, il a été isolé au niveau d'un lavabo. Il aurait été probablement véhiculé soit par un produit biologique soit par un porteur sein travaillant au sein du laboratoire. La présence de ces deux bactéries dans l'environnement du laboratoire constitue un risque réel pour le personnel. En effet, ces bactéries sont responsables de gastro-entérites chez l'homme. D'après David et Sewelle [2], ces deux bactéries sont responsables chacune de 1,9% des infections acquises au laboratoire aux Etats-Unis. Il révèle que l'incidence de la salmonellose et de la shigellose chez le personnel de laboratoire en général est de 0,7 pour 1000 personnes et que cette incidence passe à 5,4 pour 1000 lorsqu'il s'agit du personnel de Laboratoire de Microbiologie. Leur présence serait probablement le témoin d'une hygiène défectueuse au sein du laboratoire.

Concernant la sensibilité des Entérobactéries vis à vis des antibiotiques, 12,1% des entérobactéries sont productrices de BLSE. Les Entérobactéries productrice de BLSE dans cette étude appartiennent au genre *Enterobacter*, *Klebsiella* et *E. coli*. La proportion élevée d'*Enterobacter* soit 66% des Entérobactéries productrice de BLSE pourrait être en rapport avec l'utilisation importante bêta lactamines à l'hôpital. *Enterobacter* est une bactérie productrice de cephalosporinase induite par les bêta lactamines [4].

Concernant les bactéries Gram négatif aérobies strictes, quatre genres ont été isolés à savoir *Pseudomonas* (28%), *Acinetobacter* (36%), *Flavobacterium* (32%). Ce sont des bactéries de l'environnement généralement non pathogènes pour le sujet immunocompétent. Elles sont naturellement résistantes à plusieurs antibiotiques et posent parfois des

problèmes thérapeutiques. Une émergence et une incidence croissante des bacilles à Gram négatif non fermentant (*Pseudomonas* surtout *Aeruginosa* et *Acinetobacter*) dans les infections nosocomiales est notée actuellement [4]. Les *Pseudomonas* sont responsables de 11% d'infections nosocomiales. Dans cette étude 14,3%, des *Pseudomonas* sont résistants à la ceftazidime.

Concernant les Cocci Gram positif, Ils sont représentés à 90% par le genre *Staphylococcus* dans notre étude. Ce sont des bactéries ubiquitaires très répandues dans l'environnement. Chez l'homme, ces bactéries sont le plus souvent des bactéries commensales de la peau mais elles peuvent être responsables d'infection surtout *Staphylococcus aureus*. Il représente 19% des *Staphylococcus* isolés dans notre étude. Ces germes ne constituent pas en général une menace véritable pour le personnel du laboratoire. Mais la production de certaines toxines telle que l'entérotoxine par ces bactéries peut constituer un risque réel de toxi-infection pour le personnel du laboratoire.

Une étude réalisée par Rusnak et aux Etats-Unis révèle 3 cas de toxi-infection chez le personnel de laboratoire entre 1989 et 2002 due à l'entérotoxine B de *Staphylococcus* [11]. 30,7% de ces *Staphylococcus* testés sont résistants à la méticilline. Il existe donc un risque probable de dissémination de ces *Staphylococcus aureus* méticillino résistants (SARM) dans les autres services hospitaliers. L'émergence des SARM au sein du laboratoire n'est pas spécifique à notre la laboratoire. Une étude réalisée en Chine [6] confirme cette émergence. Cependant cette étude ne note aucune infection chez le personnel compte

tenu du respect strict des règles d'hygiène observés par le personnel.

Concernant la circulation des bactéries multirésistantes, les deux *E gergoviae* productrices de BLSE ont été isolées au niveau du même lavabo pendant le mois d'avril et le mois de mai. Cette persistance au niveau de ce site s'expliquerait par une mesure de décontamination insuffisante durant ces mois. Les deux autres Entérobactéries productrices de BLSE ont été également isolées durant ces deux mois. Il s'agit d'un *Klebsiella pneumoniae* au niveau d'un plan de travail et *E coli* au niveau de l'étuve. La répartition hétérogène des ces germes au sein du laboratoire à différent mois pourrait être le résultat d'une hygiène collective défectueuse. La disparition des ces bactéries à partir du mois de juillet jusqu' à la fin de notre étude s'expliquerait par le renforcement des mesures à partir du mois de juillet.

Staphylococcus Meti-R a été isolé simultanément au niveau de quatre sites durant le même mois d'août. Il s'agit du plan de travail, conduit de ventilation situé juste à côté de ce site, la table de gestion des donnés et la poignée de la porte.

Les bactéries isolées au niveau de ces quatre sites pourraient appartenir au même clone mais ceci nécessite un génotypage. Ainsi, la même souche serait partie du plan de travail vers le poste de gestion des donnés puis la poignée de porte. Cette circulation pourrait permettre la dissémination des bactéries résistantes au sein des services cliniques par le biais de structure comme la poignée de porte. Afin de réduire ce risque de dissémination, les salles techniques doivent être séparée des salles de gestion des donnés.

CONCLUSION

Au total, l'environnement du laboratoire de bactériologie pourrait constituer un risque non seulement pour le personnel y travaillant mais également pour les visiteurs. Ce risque se traduit par la présence de bactéries pathogènes spécifiques et de bactéries multi

résistantes. A travers cette étude, la nécessité d'établir un plan d'hygiène au sein des laboratoires de microbiologie s'impose et doit faire l'objet de procédures clairement écrites et accessibles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AOKI M. Transmission of tuberculosis. *Kekkaku*. 2004,79 ; 12 : 693-703.
2. DAVID L, SEWELL. Laboratory-Associated infections and Biosafety. *Clin Microbiol Reviews*, 1995 : 389-40.
3. GOLSTEIN B, ABRUTYN E. Pseudo-outbreak of *Bacillus* species: related to fiberoptic bronchoscopy. *J Hosp Infect*, 1985, 6 ; 2 : 194-200.
4. JARLIER V. Mécanismes de résistance aux antibiotiques in *Précis de Bactériologie clinique*. Ed ESKA : 2000, 32 : 598-608
5. JEAN NOËL J. *Revue française des laboratoires* 2002 [338].
6. LI H, QU C, XU G, YAN C, ZHANG G, LI C, WANG J, XIA T. Safety surveillance and management of specimen associated with SARM in clinical laboratory. *Beijing Da Xue Xue Bao* ; 2003 ; 35 suppl : 92-4.
7. NIKODEMUSZ I, NADAI S. The contamination of a hospital with *Bacillus aureus* without an indication of case of infection, *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg*, 1988, 187 ; 1 : 87-89.
8. PITTET D. Nosocomial bloodstream infections in : WENZEL R.P (ed), *Prevention and control of nosocomial infections*, 2^{ème} ed ., Baltimore : Williams and Wilkins ; 1993 : 512-555.
9. PURO V, DE CARLI G, PETROSILLO N, IPPOLITO G. Risk of exposure to bloodborne infection for Italian healthcare workers, by job category and work area. Studio Italiano Rischio Occupazionale da HIV Group. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2001, 22 ; 4 : 206-210.
10. ANONYMES, RAPPORT D'ACTIVITÉ 2004, *Laboratoire de Bactériologie Virologie CHU de Yopougon*, 2004.
11. RUSNAK JM, KORTEPETER M, ULRICH R, POLI M, BOUDREAU E. Laboratory exposures to staphylococcal enterotoxin B. *Emerg Infect Dis*. 2004, 10 ; 9 : 1544-49.
12. SCHABERG D R, CULVER D H, GAYNES R P . Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am. J. Med* 1991, 91 : 72-5.