



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra



Département fédéral de l'intérieur DFI
Office fédéral de la santé publique OFSP

Directives sur l'exploitation et la surveillance des Heater-Cooler Devices (HCDs) en salle d'opération

Table des matières

| | |
|---|---|
| 1. L'important en bref | 4 |
| 2. Contexte | 5 |
| 3. Directives | 6 |
| 3.1 Mesures immédiates pour l'utilisation des HCDs au bloc opératoire..... | 6 |
| 3.2 Planification, documentation et contrôle qualité pour l'utilisation et la surveillance des HCDs | 6 |
| 3.3 Garantir la traçabilité | 6 |
| 3.4 Surveillance et suivi microbiologique..... | 7 |
| 3.5 Mesures d'exploitation ou d'agencement des lieux | 7 |
| 4. Informations complémentaires..... | 8 |
| 5. Références..... | 8 |

Annexe technique: Instructions pour la surveillance microbiologique des Heater-Cooler Devices (HCDs)

| | |
|--|---|
| 1. Généralités | 1 |
| 2. Préanalytique | 1 |
| 2.1 Matériel de prélèvements approprié pour la surveillance microbiologique | 1 |
| 2.2 Recommandations pour les prélèvements d'échantillons et de fréquence de contrôle concernant des appareils véhiculant de l'eau dans des zones critiques en matière d'hygiène (salles d'OP, soins intensifs) | 2 |
| 2.3 Prélèvements d'échantillons | 2 |
| 2.3.1 Prélèvement d'échantillons d'eau 50 ml..... | 2 |
| 2.3.2 Prélèvement d'échantillons d'eau 1 litre (sensibilité plus élevée)..... | 3 |
| 2.3.3 Prélèvement de frottis de la surface | 3 |
| 2.3.4 Prélèvement d'échantillons d'air | 3 |
| 3. Traitement des échantillons pour la recherche de <i>M. chimaera</i> en laboratoire | 4 |
| 3.1 Réalisation d'un prélèvement d'eau de 50 ml | 4 |
| 3.2 Réalisation d'un prélèvement d'eau d'1 litre | 4 |
| 3.3 Réalisation des frottis de surface | 5 |
| 3.4 Traitement des plaques d'accumulation d'air..... | 5 |
| 3.5 Suite de la procédure et établissement d'un rapport:..... | 5 |
| 3.5.1 Présence d'une croissance sur gélose (MGIT ou gélose 7H11 Middlebrook) | 5 |
| 3.5.2 Absence de croissance de mycobactéries au terme de 7 semaines | 6 |
| 4. Mise en évidence de la présence de légionnelles | 6 |

| | | |
|-----|---|---|
| 4.1 | Préanalytique | 6 |
| 4.2 | Réalisation d'examens en laboratoire..... | 6 |
| 5. | Analyses du nombre total de germes dans un échantillon d'eau..... | 7 |
| 5.1 | Préanalytique | 7 |
| 5.2 | Réalisation en laboratoire | 7 |
| 6. | Sources d'informations complémentaires | 8 |
| 7. | Références..... | 8 |

1. L'important en bref

L'Office fédéral de la santé publique et l'Institut suisse des produits thérapeutiques Swissmedic édictent les directives suivantes selon les recommandations du groupe d'expert composant la taskforce *Mycobacterium chimaera*.¹

1. Tous les Heater-Cooler Devices (HCDs)², c'est-à-dire les appareils d'hypothermie qui régulent la température de la circulation extracorporelle, doivent être exploités de façon à ce que l'air de la salle d'opération ne soit pas contaminé par les aérosols produits par ceux-ci.
2. Les HCDs peuvent être utilisés librement au bloc opératoire (OP) lorsque et seulement si les prélèvements microbiologiques mensuels de l'eau se trouvant dans l'appareil montrent l'absence de croissance de *M. chimaera*, de *Pseudomonas* et de légionnelles. La surveillance microbiologique est détaillée dans l'annexe technique. Les modèles de HCDs dont le système de circulation d'eau est prouvé être étanche ainsi que les appareils qui fonctionnent sans eau ne sont pas concernés par ces mesures.
3. Les institutions doivent clarifier si des mesures structurelles ou architecturales peuvent être entreprises pour éviter le risque microbiologique relatif à l'utilisation des HCDs, par exemple en installant l'HCDs dans une pièce adjacente au bloc opératoire.
4. Les consignes d'entretien des fabricants de HCDs doivent être respectées et doivent être complétées par la mise en application des présentes directives.
5. Les directives sur l'utilisation et l'entretien des HCDs doivent être décrites dans un document de référence (Standard Operating Procedure).
6. La documentation retraçant l'entretien et la surveillance des HCDs (contrôle qualité), ainsi que l'utilisation de HCDs auprès des patients doit permettre la traçabilité entre un cas d'infection et l'utilisation d'un appareil.
7. Le risque lié à l'utilisation de HCDs dans d'autres situations (par ex. aux soins intensifs) doit être évalué par l'hôpital lui-même.

¹ Erik C. Böttger, Zurich; Florian Banderet-Uglicioni, Bâle; Simon Costabile, Zurich; Samuel Erny, Berne ; Céline Gardiol, Berne; Achim Häussler, Zurich; Peter Keller, Zurich; Daniel Koch, Berne; Virginie Masserey, Berne; Rafael Moreno, Berne; Hugo Sax, Zurich; Matthias Schlegel, Saint-Gall; Bettina Schulthess, Zurich; Rami Sommerstein, Berne; Thomas Suter, Berne; Markus Wälti, Berne; Andreas Widmer, Bâle

² Synonyme : Heater-Cooler Units (HCUs)

2. Contexte

En juillet 2014, l'Office Fédéral de la Santé Publique (OFSP), conjointement avec Swissmedic, a informé l'opinion publique que des cas isolés d'infection causée par la bactérie *Mycobacterium chimaera* avaient été détectés après des chirurgies cardiaques avec implants (1). Cette bactérie qui fait partie des mycobactéries non-tuberculeuses (NTM), est présente naturellement dans l'environnement, et donc également dans l'eau potable. Auparavant, *M. chimaera* n'était connu comme pathogène que dans de rares cas de pneumonie chez des patients atteints de pneumopathies chroniques.

Depuis lors, la bactérie a été identifiée en Suisse chez dix patients présentant des symptômes cliniques d'une infection chronique systémique, ayant subi auparavant une intervention à cœur ouvert avec pose d'implant (par exemple implantation valvulaire ou endoprothèse aortique). Les interventions chirurgicales correspondantes avaient en moyenne été réalisées deux ans auparavant. Ces interventions avaient été réalisées en utilisant des dispositifs d'hypothermie respectivement des Heater-Cooler Devices (HCDs) de la société Sorin (désormais LivaNova) de type 3T (2,3,4).

Les recherches plus avancées ont démontré que les HCDs Sorin 3T utilisés présentaient au moment des interventions une contamination microbiologique. Les cultures microbiologiques réalisées chez les patients, ainsi que dans les circuits d'eau des appareils de cardioplégie, se sont avérés positifs pour *M. chimaera*. Il a pu être établi que lors d'utilisation des HCDs contaminés, leur système de ventilation diffusait dans l'environnement des aérosols contaminés par des bactéries *M. chimaera* capables de se multiplier (3). Environ 70 patients ayant contracté une infection à *M. chimaera* après une intervention à cœur ouvert ou cardio-vasculaire réalisée à l'aide d'un appareil Sorin/LivaNova 3T ont été recensés dans le monde (état en décembre 2016). Selon le nombre d'interventions cardio-vasculaires effectuées avec cet appareil, le risque d'une infection à *M. chimaera* se situe entre 1 :100 à 1 :1000 patients, dans les hôpitaux où des cas ont été décrits (5).

Des échantillons d'eau prélevés sur des HCDs d'autres fabricants se sont aussi avérés positifs pour la bactérie *M. chimaera*. A ce jour, aucune étude scientifique montrant que les prélèvements d'air de ces appareils pouvaient aussi être contaminés n'a été publiée. De plus, aucun cas d'infection à *M. chimaera* secondaire à l'utilisation d'appareils fabriqués par d'autres fabricants n'a été publié.

Le fabricant des appareils concernés, ainsi que différents instituts de santé publique tel que l'European Centers for Disease Prevention and Control (ECDC), la Food and Drug Administration (FDA) américaine et le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ont diffusé des messages d'alerte avec la recommandation urgente de respecter les instructions actualisées du fabricant en matière de maintenance et d'utilisation des appareils (5,6,7).

En raison de la formation d'un biofilm, une stérilisation permanente des HCDs contaminés par *M. chimaera* n'est en l'état actuel des connaissances pas possible (6). En cas de poursuite planifiée de l'exploitation d'appareils contaminés, il est recommandé, outre une maintenance périodique avec changement d'eau et désinfection selon les instructions du fabricant, de pratiquer une surveillance microbiologique des appareils (réservoirs d'eau), et spécifiquement de leur environnement au moyen d'échantillons d'eau et d'air.

Etant donné que ces infections sont difficiles à traiter et qu'elles n'ont pu être identifiées qu'au terme d'un délai de latence de deux à cinq ans, la priorité absolue est de prévenir toute nouvelle

contamination. Les recommandations qui suivent s'adressent en première ligne aux équipes de cardio-techniciens, qui ont la responsabilité de l'exploitation et de la maintenance des HCDs.

3. Directives

3.1 Mesures immédiates pour l'utilisation des HCDs au bloc opératoire

- Les hôpitaux réalisant des opérations à cœur ouvert doivent s'assurer que les instructions d'utilisation du fabricant les plus récentes en matière d'exploitation, de nettoyage périodique, de désinfection et d'entretien sont appliquées. Ces instructions doivent dès à présent être impérativement et scrupuleusement respectées. Elles concernent tous les appareils HCDs mais sont d'autant plus importantes lorsque des appareils Sorin (LivaNova) 3T sont utilisés.
- Mettre hors service immédiatement tout HCDs, quel que soit le fabricant, dont l'eau présente une coloration visible à l'œil (semblable à la présence d'algues) ou un aspect trouble car ceci peut être un signe de croissance bactérienne. Consulter le Service d'hygiène hospitalière ainsi que le représentant du fabricant de l'appareil, pour définir les mesures de suivi indispensables à prendre avant une remise en service éventuelle de l'appareil.
- Mettre hors service immédiatement tout appareil testé positif pour la bactérie *M. chimaera* et pour lequel il n'existe pas de résultat d'analyse d'air infirmant une contamination par des mycobactéries (se référer à l'annexe technique).
- Diriger la ventilation des HCDs hors du champ opératoire afin de minimiser le risque que des projections éventuelles d'eau pulvérisée rejetées par l'appareil n'atteignent le champ stérile et n'exposent le patient à un risque d'infection.
- N'utiliser aucune eau potable non filtrée pour rincer, remplir ou réalimenter en eau les HCDs et utiliser exclusivement de l'eau potable stérilisée ou de l'eau potable préalablement filtrée au travers d'un filtre avec une taille de pores $< 0.22 \mu\text{m}$. L'eau désionisée et l'eau stérilisée obtenue par osmose inversée ne sont pas recommandées, car elles peuvent favoriser la corrosion à l'intérieur du système.
- Ne pas ouvrir les couvercles des réservoirs d'eau des HCDs, car cette action peut conduire à une contamination des appareils, par exemple par des bactéries présentes dans l'environnement.

3.2 Planification, documentation et contrôle qualité pour l'utilisation et la surveillance des HCDs

- Mettre en place en coordination avec le Service d'hygiène hospitalière local la planification et qu'une procédure (Standard Operating Procedure, SOP) pour le nettoyage, la désinfection et la maintenance des HCDs.
- Mettre en place un programme de contrôle-qualité pour ces procédures d'entretien et de maintenance. Lesdites étapes et mesures d'entretien et de maintenance doivent être documentées et affectées aux collaborateurs/trices nominativement.

3.3 Garantir la traçabilité

- Introduire un système permettant, pour chaque patient, d'identifier précisément quel HCDs a été utilisé lors de l'intervention chirurgicale, par exemple en mentionnant le numéro de série de l'appareil dans la documentation médicale de l'intervention. Ceci peut être utilisé à des fins de traçabilité si nécessaire.

3.4 Surveillance et suivi microbiologique

- Mettre en place une surveillance microbiologique pour tout type d'appareil HCDs utilisés au bloc opératoire, contenant de l'eau et dont le système d'échappement de l'air n'est pas étanche. Vous trouverez des recommandations détaillées dans l'annexe technique sur la surveillance microbiologique.
- Jusqu'à nouvel ordre des prélèvements mensuels d'échantillons d'eau doivent être prélevés, afin de vérifier l'absence de mycobactéries, de légionnelles et d'évaluer la quantité globale de germes. En cas de résultat positif, il est recommandé d'effectuer des analyses microbiologiques plus avancées (échantillons d'air pendant l'utilisation, frottis de la surface).
- Les appareils HCDs, qui ont été contrôlés positifs à *M. chimaera* de façon réitérée et n'ont pas pu être décontaminés en appliquant les mesures de nettoyage recommandées par le fabricant (7), doivent être remplacés par des appareils HCDs microbiologiquement non contaminés.
- Dans le contexte de la problématique actuelle, toute détection de mycobactéries non-tuberculeuses, de légionnelles ou de bacilles à gram négatif non fermentatifs dans l'eau des appareils HCDs relève de la responsabilité du Service d'hygiène hospitalière et doit impérativement et sans retard faire l'objet d'un rapport adressé aux collaborateurs responsables des instances d'hygiène hospitalière compétentes au sein de chaque institution.
- Pour juger du risque microbiologique, les résultats des analyses mensuelles de l'eau présente dans les HCDs devraient être évalués en corrélation avec les résultats des analyses effectuées dans l'air et des analyses des frottis de surface.
- En l'état actuel des connaissances, la poursuite de l'exploitation d'un HCDs contaminé par *M. chimaera*, dont les prélèvements réalisés dans l'air sont aussi positifs pour *M. chimaera*, n'est pas sûre. L'appareil correspondant devrait être immédiatement mis hors service et faire l'objet d'une maintenance et d'une désinfection selon les recommandations du fabricant. Si les analyses de l'air et des frottis de surface s'avèrent négatives pour *M. Chimaera*, le risque microbiologique peut être estimé non significatif par l'équipe d'hygiène hospitalière compétente. Il peut alors être décidé, en collaboration avec le service chargé de l'hygiène hospitalière, de poursuivre l'utilisation des HCDs contaminés.
- Les cultures microbiologiques destinées à la surveillance devraient être réalisées tous les mois, même en cas de résultats répétés concluant à l'absence de *M. chimaera*, car une contamination des appareils lors d'un changement d'eau ne peut être exclue.
- Est responsable au sein de chaque institution l'instance compétente en matière d'hygiène hospitalière. C'est à elle qu'incombe l'organisation de la réalisation de la surveillance, l'élaboration de la documentation garantissant la traçabilité des analyses et la mise en application des présentes directives.

3.5 Mesures d'exploitation ou d'agencement des lieux

- Déterminer si des mesures d'exploitation ou d'agencement des lieux sont possibles en vue de réduire le risque microbiologique lié à l'utilisation des HCDs. Les HCDs contenant de l'eau peuvent être, selon l'évaluation des risques, mis en service dans un autre local que la salle d'opération. Tenir compte des indications du fabricant en matière de longueur maximale des tubulures et préciser avec le fabricant, si une utilisation de l'appareil avec installation dans un local annexe à la salle d'opération sans supervision visuelle directe, est techniquement possible.

- Tenir compte lors d'acquisition ou de remplacement de HCDs de toutes les indications techniques disponibles et choisir les appareils dont le flux d'air est le plus restreint. Respecter les instructions du fabricant en matière de précautions de maintenance et de nettoyage.

4. Informations complémentaires

Office fédéral de la santé publique

Office fédéral de la santé publique OFSP
Division Maladies transmissibles
Tél. +41 (0)58 463 87 06
epi@bag.admin.ch

Swissmedic

Institut suisse des produits thérapeutiques Swissmedic
Division dispositifs médicaux
Tél. +41 (0)58 462 02 23
questions.devices@swissmedic.ch

5. Références

1. Office fédéral de la santé publique. Communiqué de presse du 14.07.2014. Chirurgie cardiaque : des mesures pour renforcer la sécurité des patients
<https://www.admin.ch/gov/fr/accueil/documentation/communiques.msg-id-53774.html>
2. Kohler, P., S. P. Kuster, G. Bloemberg, B. Schulthess, M. Frank, F. C. Tanner, M. Rössle, C. Böni, V. Falk, M. J. Wilhelm, R. Sommerstein, Y. Achermann, J. Ten Oever, S. B. Debast, M. J. Wolfhagen, G. J. Brandon Bravo Bruinsma, M. C. Vos, A. Bogers, A. Serr, F. Beyersdorf, H. Sax, E. C. Böttger, R. Weber, J. van Ingen, D. Wagner, and B. Hasse. 2015. Healthcare-associated prosthetic heart valve, aortic vascular graft, and disseminated *Mycobacterium chimaera* infections subsequent to open heart surgery. *European Heart Journal* **36**:2745-2753.
3. Sax, H., G. Bloemberg, B. Hasse, R. Sommerstein, P. Kohler, Y. Achermann, M. Rössle, V. Falk, S. P. Kuster, E. C. Böttger, and R. Weber. 2015. Prolonged Outbreak of *Mycobacterium chimaera* Infection After Open-Chest Heart Surgery. *Clinical Infectious Diseases* **61**:67-75.
4. Sommerstein, R., C. Rüegg, P. Kohler, G. Bloemberg, S. P. Kuster, and H. Sax. 2016. Transmission of *Mycobacterium chimaera* from Heater-Cooler Units during Cardiac Surgery despite an Ultraclean Air Ventilation System. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1008-1013.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Health Alert Network. 13. Okt . 2016. CDC Advises Hospitals to Alert Patients at Risk from Contaminated Heater-Cooler Devices Used during Cardiac Surgery. <https://emergency.cdc.gov/han/han00397.asp>
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). 21. Nov 2016. Rapid risk assessment: Invasive cardiovascular infection by *Mycobacterium chimaera* associated with the 3T heater-cooler system used during open-heart surgery. <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/RRA-mycobacterium-chimaera-November-2016.pdf>
7. United States Food and Drug Administration (U.S. FDA). 13. Oktober 2016. UPDATE: *Mycobacterium chimaera* Infections Associated with LivaNova PLC (formerly Sorin Group Deutschland GmbH) Stöckert 3T Heater-Cooler System: FDA Safety Communication. <http://www.fda.gov/MedicalDevices/Safety/AlertsandNotices/ucm520191.htm>
8. Schreiber, P. W., S. P. Kuster, B. Hasse, C. Bayard, C. Rüegg, P. Kohler, P. M. Keller, G. V. Bloemberg, F. Maisano, D. Bettex, M. Halbe, R. Sommerstein, and H. Sax. 2016. Reemergence of *Mycobacterium chimaera* in Heater-Cooler Units despite Intensified Cleaning and Disinfection Protocol. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1830-1833.

Annexe technique

Instructions pour la surveillance microbiologique des Heater-Cooler Devices (HCDs)

1. Généralités

Ces instructions servent d'annexe technique aux « Directives sur l'exploitation et la surveillance des Heater-Cooler Devices (HCDs) en salle d'opération ». Les procédures décrites ci-après servent à la détection de mycobactéries non-tuberculeuses à croissance lente; en particulier de *M. chimaera*. Les mycobactéries à croissance rapide présentes dans les prélèvements environnementaux sont en règle générale inoffensives.

De même sont ici décrites des méthodes microbiologiques visant à la détection des légionnelles et à l'évaluation du nombre total de germes présents dans l'eau. Les analyses approfondies menées sur des échantillons d'eau provenant des HCDs ont en effet démontré qu'il peut exister une contamination microbiologique par des agents autres que des mycobactéries.

Les méthodes mentionnées pour les mycobactéries ont été développées, évaluées et validées au Centre national des mycobactéries (NZM, Université de Zürich, Institut de microbiologie médicale) en collaboration avec les Services d'hygiène hospitalière de l'Hôpital Universitaire de Zürich et des partenaires étrangers dans le cadre d'une collaboration internationale (entre autres les laboratoires de référence en matière de mycobactéries aux Pays-Bas et en Allemagne). Les méthodes utilisées ont été diffusées dans la littérature spécialisée (1, 3-6). Les procédures destinées à la détection des légionnelles et à la détermination du nombre total de germes s'orientent conformément aux mesures applicables en matière d'eau potable de l'Ordonnance sur l'hygiène (RS 817.024.1).

Les laboratoires expérimentés peuvent déroger aux méthodes d'identification énoncées ci-après. En cas d'utilisation de méthodes alternatives et de milieux nutritifs (par exemple Löwenstein-Jensen au lieu des milieux nutritifs Middlebrook mentionnés ci-dessous), des expérimentations de validation devraient être réalisées au préalable afin de définir la sensibilité analytique.

Les analyses doivent être réalisées dans des laboratoires munis d'un système de contrôle-qualité (laboratoire accrédité). Le laboratoire doit avoir une expérience dans les analyses d'échantillons environnementaux et les examens conduits sur ces échantillons doivent entrer dans le champ des activités assujetties à un contrôle-qualité.

2. Préanalytique

2.1 Matériel de prélèvements approprié pour la surveillance microbiologique

- Echantillon d'eau en tube stérile (par exemple Tube TTP 50 ml), volume 50 ml,
- Membrane filtrante en nitrate de cellulose avec un diamètre des pores de 0.45 µm (par exemple Sté. Sartorius, Numéro de commande: 13806-50- ACN) après filtration d'un échantillon d'eau de 1 litre analogue à la norme DIN EN ISO 11731-2:2008,

- Frottis de la surface en tube stérile (par exemple Tube TTP 50 ml),
- Préleveur d'air, boîtes de 90 mm gélose 7H10 Middlebrook après prélèvement d'un échantillon d'air.

2.2 Recommandations pour les prélèvements d'échantillons et de fréquence de contrôle concernant des appareils véhiculant de l'eau dans des zones critiques en matière d'hygiène (salles d'OP, soins intensifs)

Ci-après sont détaillées précisément les mesures préanalytiques à appliquer aux différents prélèvements environnementaux.

- Règle générale valable pour toutes les analyses d'échantillons environnementaux: le moment le plus propice pour réaliser l'analyse est fonction du problème posé, généralement il convient de choisir l'instant où le risque est le plus élevé (= avant la désinfection périodique ou un changement d'eau; pour les échantillons d'air, pendant l'utilisation du HCD).
- Transport des échantillons: le plus rapidement possible jusqu'au laboratoire (maximum 24 heures à partir du moment du prélèvement).
- Y joindre les formulaires de demande d'analyse du laboratoire dûment remplis.
- Conserver les échantillons le plus possible au frais.

2.3 Prélèvements d'échantillons

2.3.1 Prélèvement d'échantillons d'eau 50 ml

- Les appareils alimentés en eau utilisés dans des espaces critiques sur le plan de l'hygiène (salles d'opération, soins intensifs), doivent être vérifiés une fois par mois.
- Les analyses doivent être réalisées antérieurement aux mesures récurrentes de maintenance/désinfection prescrites par le fabricant.
- Doivent être documentés la spécification et les emplacements des sites de prélèvements (éventuellement avec un plan des installations) ainsi que le nom et la qualification du/de la spécialiste ayant entrepris cette vérification (par exemple par le cardio-technicien).
- Les sites de prélèvements doivent être, en vue des analyses, soigneusement identifiés afin d'éviter toute confusion.
- Chaque élément technique distinct d'un appareil contenant de l'eau doit être vérifié séparément (par exemple circuit cardio-vasculaire du patient, circuit cardioplégique des HCDs).
- Les éléments de l'appareil et les tubes à essai doivent être clairement étiquetés avant tout prélèvement d'échantillon.
- L'intérieur des tubes à essai doit être stérile et étanche à l'eau (transport en toute sécurité).
- La quantité minimale à prélever s'élève à 50 ml pour les échantillons d'eau.
- L'instant, les modalités et les résultats de l'analyse des échantillons doivent être documentés de manière traçable.

La documentation des échantillons à disposition du laboratoire et des Services d'hygiène hospitaliers compétents devrait inclure les indications suivantes (portées sur le bon de demande utilisé normalement par le laboratoire):

- Nom, adresse et numéro de téléphone du demandeur,
- Nom et identifiant de l'objet/appareil et du lieu de son site d'exploitation,
- Nom complet de la personne en charge du prélèvement (si possible en caractères d'imprimerie),
- Date et heure du prélèvement,
- Description claire des sites de prélèvement testés.

2.3.2 Prélèvement d'échantillons d'eau 1 litre (sensibilité plus élevée)

Processus analogue, utiliser des récipients stériles d'une contenance de 1 litre

2.3.3 Prélèvement de frottis de la surface

En cas de maintien en exploitation d' HCDs pour lesquels une contamination par *M. chimaera* a été démontrée, prélever des frottis de la surface des appareils en fonctionnement et dans leur environnement immédiat (même espace, emplacement de fonctionnement de l'appareil), afin d'évaluer le risque microbiologique encouru.

Les frottis de la surface sont réalisés à l'aide d'un écouvillon imbibé de NaCl à 0.9% sur une surface de 10x10 cm.

La documentation et la demande d'analyse de laboratoire sont à traiter comme les échantillons d'eau.

2.3.4 Prélèvement d'échantillons d'air

En cas de maintien en exploitation d'HCDs contaminés par *M. chimaera*, une recherche de germes sur des échantillons d'air dans l'environnement immédiat des appareils en fonctionnement (même espace, emplacement de fonctionnement de l'appareil) doit être réalisée, afin d'évaluer le risque microbiologique encouru.

La conception de l'appareil, son mode de fonctionnement et la direction d'expulsion de l'air froid du système de refroidissement de l'air jouent un rôle dans la contamination potentielle de l'air à proximité de celui-ci. Les échantillons d'air doivent donc être prélevés à proximité et dans la direction de leur sortie de l'appareil.

Les échantillons d'air sont collectés au moyen d'un préleveur d'air pour contrôle microbiologiques (par exemple: MAS-100 NT; MBV, Stäfa, Suisse), prévu pour fonctionner dans les conditions de collecte d'air suivantes:

- Durée de la collecte 2.5 minutes,
- Débit d'air: 100 litres/minute,
- Total de la collecte d'air: 250 litres,
- Support de prélèvement: boîte de 90 mm gélose 7H11 Middlebrook.

La documentation et la demande d'analyse de laboratoire sont à traiter comme les échantillons d'eau.

3. Traitement des échantillons pour la recherche de *M. chimaera* en laboratoire

3.1 Réalisation d'un prélèvement d'eau de 50 ml

1. Centrifuger l'échantillon (3'300 x g, 15 minutes, température ambiante) et décanter jusqu'à obtenir environ 5 ml
2. Ajouter 5 ml de solution de décontamination (MycoPrepKit Sté. BD N° de commande: 240862)
3. Bien agiter (Vortex) et retourner deux fois les tubes
Attention: une agitation trop importante oxyde et inactive le NALC (N-acétyl-L-cystéine) présent dans la solution de décontamination!
4. Laisser ensuite les échantillons reposer 15 minutes à température ambiante
5. Pour 30 ml de tampon phosphate (fourni sous forme de poudre à reconstituer dans le MycoPrepKit Sté. BD) remplir jusqu'à 40 ml (pour 20 ml d'échantillon, compléter jusqu'à 50 ml), reboucher soigneusement les tubes, retourner chacun des tubes plusieurs fois manuellement.
6. Centrifuger (3'300 x g, 15 minutes, température ambiante)
7. Décanter avec précaution le surnageant dans la solution désinfectante
8. Afin d'éviter toute contamination, nettoyer le bord avec un tampon imprégné d'alcool à 70%
9. Remettre en suspension le sédiment dans 2 ml de tampon phosphate, bien agiter (Vortex)
10. De cette préparation, transférer 0.5 ml dans un MGIT et ensemencer 0.25 ml sur la gélose 7H11 Middlebrook
11. Les boîtes sont incubées pendant 7 semaines à 37 °C sous 5-10% de CO₂
12. Le matériel restant est stocké en tant qu'échantillon de réserve à +4 °C et conservé jusqu'à obtention du résultat final des analyses.

3.2 Réalisation d'un prélèvement d'eau d'1 litre

Appareils requis:

- Pompe à vide Sartorius N° Art. SM 16692
- Fiole à vide 2 litres Sartorius N° Art. SM 16672
- Dispositif de filtration sous vide Sartorius N° Art. SM 16201
- Flacon de Woulff Sartorius N° Art. SM 16610

Réalisation pratique:

1. Filtrer l'échantillon d'eau (1 litre) sur une membrane filtrante en nitrate de cellulose avec un diamètre des pores de 0.45 µm (Sté. Sartorius N° de commande: 13806-50-ACN).
2. Placer la membrane filtrante en la centrant sur la boîte 90 mm gélose 7H10 Middlebrook et presser légèrement. Les boîtes sont incubées pendant 7 semaines à 37 °C sous 5-10% de CO₂.
3. Contrôler la croissance bactérienne 1x par semaine.

Pour les échantillons d'eau provenant d'appareils identifiés lors des premiers examens comme présentant une contamination polymicrobienne, il peut s'avérer indispensable de procéder à une décontamination préalable de la membrane filtrante:

1. Transférer la membrane filtrante dans un tube stérile (Sté. TTP, 50 ml)

2. Ajouter environ 7 ml de solution de décontamination (MycoPrep Kit Sté. BD - N° de commande: 240862) et traiter le tube dans un bain à ultrasons pendant 1 min. à 50-60 kHz
3. Placer 20 minutes sur l'agitateur-incubateur, puis retirer la membrane filtrante
4. Pour neutralisation, ajouter environ 7 ml de tampon phosphate
5. Centrifuger (3'300 x g, 15 minutes, température ambiante)
6. Eliminer le surnageant, remettre en suspension le sédiment dans 2 ml de tampon phosphate et en ensemercer 0.25 ml sur un milieu de culture solide et 0.5 ml dans un milieu de culture liquide (MGIT milieu liquide avec PANTA et supplément pour favoriser la croissance)
7. Incuber les milieux nutritifs pendant 7 semaines à 37 °C.

3.3 Réalisation des frottis de surface

1. Transférer le frottis dans un tube de 50 ml et compléter avec 5 ml d'eau stérilisée
2. Ajouter 5 ml de solution de décontamination (MycoPrep Kit Sté. BD - N° de commande: 240862)
3. Bien agiter (Vortex) et retourner 2 fois le tube à essai
4. Laisser reposer les échantillons 15 minutes à température ambiante
5. Remplir jusqu'à 40 ml avec 30 ml de tampon phosphate, à partir de cette étape éliminer le tampon ayant servi pour le frottis. Refermer le tube à essai, retourner plusieurs fois manuellement chaque tube.
6. Centrifuger (3'300 x g, 15 minutes, température ambiante)
7. Décanter avec précaution le surnageant dans la solution désinfectante
8. Afin d'éviter toute contamination, nettoyer le bord avec un tampon imprégné d'alcool à 70%
9. Remettre en suspension le sédiment dans 2 ml de tampon phosphate, bien agiter (Vortex)
10. De cette préparation, transférer 0.5 ml dans un MGIT et ensemercer 0.25 ml sur une gélose 7H11 Middlebrook
11. Incuber les milieux nutritifs pendant 7 semaines à 37 °C sous 5-10% de CO₂.
12. Le matériau restant est stocké en tant qu'échantillon de réserve à +4 °C et conservé jusqu'à obtention du résultat final des analyses.

3.4 Traitement des plaques d'accumulation d'air

Les plaques sont incubées durant 7 semaines à 37 °C sous 5-10% de CO₂.

Contrôle de la croissance 1x par semaine.

3.5 Suite de la procédure et établissement d'un rapport:

3.5.1 Présence d'une croissance sur gélose (MGIT ou gélose 7H11 Middlebrook)

1. Sur plaque ou MGIT jugé positif, faire la coloration de Ziehl-Neelsen.
2. En présence de bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR), faire une suspension des colonies dans 3 ml de NaCl à 0.9%.
3. Utiliser 0.5 ml des colonies en suspension pour l'identification moléculaire, extraction d'ADN à l'aide de InstaGene Matrix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) selon les instructions du fabricant
4. Réaliser une procédure d'identification moléculaire pour déterminer l'espèce; par exemple le protocole « RealTime-16S-rDNA-PCR » avec une sonde qui cible l'ARNr 16S du genre Mycobacterium, suivi par le séquençage de l'amplificat. (1, 2). Ensuite, l'analyse des homologues de séquences ARNr 16S à l'aide d'une base de données (par exemple SmartGene IDNS 16S rDNA Database; SmartGene AG, Zug ou NCBI GenBank). Les séquences 16S de *M.*

chimaera et de *M. intracellulare* diffèrent au niveau d'un seul nucléotide. Ceci permet la distinction des deux espèces (8).

Alternatives:

- a. Systèmes commerciaux d'identification de biologie moléculaire pour les mycobactéries non-tuberculeuses (AID Autoimmun Diagnostika GmbH Mykobakterien Line Blot ou HAIN GenoType Mycobacterium AS). **Attention:** *M. chimaera* est identifié de manière erronée comme *M. intracellulare* par les Line Blots commercialisés. Le NZM peut réaliser l'identification des espèces à la demande.
 - b. Identification MALDI-TOF MS: Bruker Daltonic MALDI Biotyper 3.1 Software, MALDI-Protocole selon A.B. Prana et al. (apranada@labmed.de).
5. Conserver la suspension de culture à 4 °C jusqu'au terme de l'identification de l'espèce.
 6. Utiliser 0.5 ml de cette suspension de pour inoculer un tube MGIT (avec supplément pour favoriser la croissance) et 0.25 ml pour ensemer une gélose 7H11 Middlebrook pour la collection de souches.
 7. En cas d'examen microscopique Ziehl-Neelsen positif à partir du MGIT, ensemer 0.25 ml de l'échantillon positif MGIT sur une gélose au sang cuit afin d'exclure les agents contaminants à croissance rapide.
 8. Conserver le MGIT positif jusqu'à ce que la collecte des souches soit réalisée.
 9. Etablir un rapport sur les mycobactéries identifiées et l'envoyer au demandeur de l'analyse.
 10. Conserver les isolats dans une collection de souches pour d'éventuelles analyses épidémiologiques.

Contamination des milieux nutritifs: Eliminer les milieux nutritifs si on observe une contamination sur > 1/3 des fractions avec des bactéries à croissance rapide, non acido-alcool-résistants ou des moisissures. Réclamer un nouvel échantillon et renouveler l'analyse.

3.5.2 Absence de croissance de mycobactéries au terme de 7 semaines

Etablir un rapport mentionnant "aucune croissance de mycobactéries", si, au terme de 7 semaines d'incubation, aucune croissance de bacilles acido-alcool-résistants n'est constatée.

4. Mise en évidence de la présence de légionnelles

Lors de tests de contrôle, la présence de légionnelles a été identifiée dans quelques appareils HCDs. Nous recommandons donc de réaliser des cultures de contrôle mensuelles avec des échantillons d'eau provenant d'appareils HCDs.

4.1 Préanalytique

Prélèvement d'échantillon d'eau (de 100 ml à 1 litre); analogue aux paragraphes 2.3.1 et 2.3.2.

4.2 Réalisation d'examen en laboratoire

Procédure de filtration selon DIN EN ISO 11731-2:2008:

1. Filtrer l'échantillon d'eau (1 litre) sur une membrane filtrante en nitrate de cellulose avec un diamètre des pores de 0.45 µm (Sté. Sartorius N° de commande: 13806-50-ACN)
2. Poser le filtre sur une gélose GVPC-*Legionella*
3. Incuber pendant 7 jours à 36 °C ± 2 °C sous 5-10% de CO₂
4. Dénumérer les colonies blanches/grises, bombées (= présomption de *Legionella*)

5. Préparer une sous-culture sur gélose au sang de mouton Columbia et gélose GVPC-*Legionella*
6. Incuber pendant 7 jours à 36 °C ±2 °C sous 5-10% de CO₂
7. Croissance sur GVPC/ Croissance sur sang = absence de *Legionella*
Croissance sur GVPC/absence de croissance sur sang = présomption de *Legionella*
8. Confirmation au moyen d'une identification moléculaire ou de tests d'agglutination au latex
9. Rapport sur l'espèce et les UFC/ml.
10. Faire collection de souches pour d'éventuelles analyses épidémiologiques.

5. Analyses du nombre total de germes dans un échantillon d'eau

Dans certains établissements, des HCDs dont l'eau présentait un aspect trouble ou une décoloration ont été utilisés. Les analyses de l'eau contenue dans ces appareils ont révélé une très forte contamination microbienne, avant tout par *Pseudomonas* sp. et d'autres bacilles à gram négatif non-fermentatifs.

Comme ces appareils doivent être remplis selon les instructions du fabricant avec de l'eau potable filtrée, on peut s'attendre, selon les manipulations techniques et les fonctions de filtration, à l'apparition d'une croissance microbienne. Avec les installations alimentées en eau potable survient une forte dispersion du nombre total de germes (de 0 jusqu'à 1'200 unités formant des colonies [UFC] /ml).

Dans l'appendice 2B de [l'Ordonnance sur l'hygiène suisse](#), le seuil de tolérance fixée pour l'eau potable est de < 300 UFC/ml.

Pour les analyses portant sur l'eau potable, l'OFSP a inclus «La détermination par cytométrie de flux du nombre total de cellules et du rapport quantitatif entre cellules à forte et à faible teneur en acides nucléiques dans l'eau douce» en tant que méthode d'analyse recommandée dans le Manuel Suisse des Denrées Alimentaires (MSDA).

Cette méthodologie a été développée à l'Eawag, Département de microbiologie environnementale, et a été validée en collaboration avec 14 institutions sises en Suisse et à l'étranger.

5.1 Préanalytique

Prélèvement d'échantillon d'eau (de 100 ml à 1 litre); analogue aux paragraphes 3.1 et 3.2.

5.2 Réalisation en laboratoire

Pour une description détaillée, voir:

[Office Fédéral de la Santé Publique 2012: Cytométrie en flux de l'eau potable \(en allemand\)](#)

<https://www.blv.admin.ch/dam/blv/fr/dokumente/lebensmittel-und-ernaehrung/lebensmittelsicherheit/verantwortlichkeiten/durchflusszytometrische-analyse-wasserproben.pdf.download.pdf/durchflusszytometrische-analyse-wasserproben.pdf>

Procédure alternative avec une sensibilité moindre:

Méthodes de filtration (voir paragraphe 4.2) et détermination du nombre de germes aérobies à 37 °C sur milieu nutritif non sélectif.

6. Sources d'informations complémentaires

Centre national des mycobactéries

Université de Zürich
Institut de Microbiologie médicale
Dr. Peter Keller, Directeur-adjoint
Gloriastrasse 30/32
8006 Zürich

Téléphone: +41 44 634 05 16

E-Mail: pkeller@imm.uzh.ch

7. Références

1. **Achermann, Y., M. Rossle, M. Hoffmann, V. Deggim, S. Kuster, D. R. Zimmermann, G. Bloemberg, M. Hombach, and B. Hasse.** 2013. Prosthetic valve endocarditis and bloodstream infection due to *Mycobacterium chimaera*. *Journal of Clinical Microbiology* **51**:1769-1773.
2. **Bosshard, P. P., R. Zbinden, S. Abels, B. Böddinghaus, M. Altwegg, and E. C. Böttger.** 2006. 16S rRNA gene sequencing versus the API 20 NE system and the VITEK 2 ID-GNB card for identification of nonfermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* **44**:1359-1366.
3. **Kohler, P., S. P. Kuster, G. Bloemberg, B. Schulthess, M. Frank, F. C. Tanner, M. Rössle, C. Böni, V. Falk, M. J. Wilhelm, R. Sommerstein, Y. Achermann, J. Ten Oever, S. B. Debast, M. J. Wolfhagen, G. J. Brandon Bravo Bruinsma, M. C. Vos, A. Bogers, A. Serr, F. Beyersdorf, H. Sax, E. C. Böttger, R. Weber, J. van Ingen, D. Wagner, and B. Hasse.** 2015. Healthcare-associated prosthetic heart valve, aortic vascular graft, and disseminated *Mycobacterium chimaera* infections subsequent to open heart surgery. *European Heart Journal* **36**:2745-2753.
4. **Sax, H., G. Bloemberg, B. Hasse, R. Sommerstein, P. Kohler, Y. Achermann, M. Rössle, V. Falk, S. P. Kuster, E. C. Böttger, and R. Weber.** 2015. Prolonged Outbreak of *Mycobacterium chimaera* Infection After Open-Chest Heart Surgery. *Clinical Infectious Diseases* **61**:67-75.
5. **Schreiber, P. W., S. P. Kuster, B. Hasse, C. Bayard, C. Rüegg, P. Kohler, P. M. Keller, G. V. Bloemberg, F. Maisano, D. Bettex, M. Halbe, R. Sommerstein, and H. Sax.** 2016. Reemergence of *Mycobacterium chimaera* in Heater-Cooler Units despite Intensified Cleaning and Disinfection Protocol. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1830-1833.
6. **Sommerstein, R., C. Rüegg, P. Kohler, G. Bloemberg, S. P. Kuster, and H. Sax.** 2016. Transmission of *Mycobacterium chimaera* from Heater-Cooler Units during Cardiac Surgery despite an Ultraclean Air Ventilation System. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1008-1013.
7. **Tortoli, E., L. Rindi, M. J. Garcia, P. Chiaradonna, R. Dei, C. Garzelli, R. M. Kroppenstedt, N. Lari, R. Mattei, A. Mariottini, G. Mazzarelli, M. I. Murcia, A. Nanetti, P. Piccoli, and C. Scarparo.** 2004. Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **54**:1277-1285.