



HAL
open science

Aspergillose invasive et aspergillose chronique nécrosante : apport du suivi épidémiologique et environnemental

Aurélie Fourneret

► **To cite this version:**

Aurélie Fourneret. Aspergillose invasive et aspergillose chronique nécrosante : apport du suivi épidémiologique et environnemental. Sciences pharmaceutiques. 2002. dumas-01404309

HAL Id: dumas-01404309

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01404309>

Submitted on 28 Nov 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



D

115 062442 8

1^{er} exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année 2002

N° d'ordre :

7021

**ASPERGILLOSE INVASIVE ET
ASPERGILLOSE CHRONIQUE NECROSANTE :
APPORT DU SUIVI EPIDEMIOLOGIQUE ET
ENVIRONNEMENTAL**

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES

conformément aux dispositions du décret n° 88-996 du 19 octobre 1988, tient lieu de

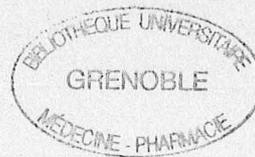
THESE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

Aurélie VIVIER

épouse FOURNERET

[Données à caractère personnel]



Thèse soutenue publiquement à la Faculté de Pharmacie de Grenoble
le 31 mai 2002 à 18 heures devant le jury composé de :

Madame le Professeur R. GRILLOT **Président du jury**
Madame le Docteur B. LEBEAU
Madame le Docteur M.R. MALLARET
Monsieur le Professeur J. FRENEY
Monsieur le Docteur H. SOULE

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 2002

N° d'ordre :

**ASPERGILLOSE INVASIVE ET
ASPERGILLOSE CHRONIQUE NECROSANTE :
APPORT DU SUIVI EPIDEMIOLOGIQUE ET
ENVIRONNEMENTAL**

**MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES**

conformément aux dispositions du décret n° 88-996 du 19 octobre 1988, tient lieu de

THESE

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT**

**Aurélie VIVIER
épouse FOURNERET**

[Données à caractère personnel]



Thèse soutenue publiquement à la Faculté de Pharmacie de Grenoble
le 31 mai 2002 à 18 heures devant le jury composé de :

Madame le Professeur R. GRILLOT Président du jury
Madame le Docteur B. LEBEAU
Madame le Docteur M.R. MALLARET
Monsieur le Professeur J. FRENEY
Monsieur le Docteur H. SOULE

**UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE**

Année 2002

N° d'ordre :

**ASPERGILLOSE INVASIVE ET
ASPERGILLOSE CHRONIQUE NECROSANTE :
APPORT DU SUIVI EPIDEMIOLOGIQUE ET
ENVIRONNEMENTAL**

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
PHARMACIE HOSPITALIERE ET DES COLLECTIVITES

conformément aux dispositions du décret n° 88-996 du 19 octobre 1988, tient lieu de

THESE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DU DOCTORAT EN PHARMACIE
DIPLOME D'ETAT

Aurélie VIVIER
épouse FOURNERET

[Données à caractère personnel]

Thèse soutenue publiquement à la Faculté de Pharmacie de Grenoble
le 31 mai 2002 à 18 heures devant le jury composé de :

Madame le Professeur R. GRILLOT **Président du jury**
Madame le Docteur B. LEBEAU
Madame le Docteur M.R. MALLARET
Monsieur le Professeur J. FRENEY
Monsieur le Docteur H. SOULE

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE
Domaine de la Merci 38700 LA TRONCHE

Doyen de la Faculté

M. le Professeur P. DEMENGE

Vice Doyen

M. le Professeur J. CALOP

PROFESSEURS DE PHARMACIE

ALARY	<i>Josette</i>	<i>Chimie Analytique</i>
BAKRI	<i>Abdelaziz</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>
BENOIT-GUYOD	<i>Jean-Louis</i>	<i>Chimie Toxicologie et Eco-toxicologie</i>
CALOP	<i>Jean</i>	<i>Pharmacie Clinique et Bio-technique</i>
CUSSAC	<i>Max</i>	<i>Chimie Thérapeutique</i>
DECOUT	<i>Jean-Luc</i>	<i>Chimie Générale</i>
DEMENGE	<i>Pierre</i>	<i>Physiologie/Pharmacologie</i>
DROUET	<i>Emmanuel</i>	<i>Microbiologie-Immunologie</i>
FAVIER	<i>Alain</i>	<i>Biochimie</i>
GOULON	<i>Chantal</i>	<i>Physique-Pharmacie</i>
GRILLOT	<i>Renée</i>	<i>Parasitologie</i>
MARIOTTE	<i>Anne-Marie</i>	<i>Pharmacognosie</i>
RIBUOT	<i>Christophe</i>	<i>Physiologie-Pharmacologie</i>
ROUSSEL	<i>Anne-Marie</i>	<i>Biochimie</i>
SEIGLE-MURANDI	<i>Françoise</i>	<i>Botanique et Cryptogamie</i>
STEIMAN	<i>Régine</i>	<i>Biologie Cellulaire</i>
WOUESSIDJEWÉ	<i>Denis</i>	<i>Pharmacie Galénique</i>

Remerciements

A Philippe, mon mari,

*Pour la tendresse, la patience, le réconfort et le soutien indispensable
Qu'il m'offre jour après jour,
Avec tout mon amour.*

A Mathias, notre fils,

*Il m'a fait découvrir la joie d'être Maman,
Pour l'immense bonheur qu'il nous communique au quotidien,
Avec toute ma tendresse.*

A mes parents,

*Pour leur affection, leur gentillesse, leur générosité et leur soutien,
Qu'ils trouvent dans ce travail le témoignage de toute ma reconnaissance
Et de ma profonde affection.*

A Sandrine, Alice et Romaric,

*Pour leur originalité, leur complicité et leur gentillesse,
Avec toute mon affection.*

A Violaine, Pierre et Eric,

Pour leur gentillesse et leur disponibilité.

A B.B.,

Pour son écoute attentive durant une grande partie de mes études.

A Madame le Professeur Renée Grillot,

*Vous me faites l'honneur de présider ma thèse,
Vos compétences et la qualité de votre enseignement
Sont reconnues de tous,
Et votre accueil toujours chaleureux, très apprécié.
Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère admiration.*

A Madame le Docteur Bernadette Lebeau,

*Tout au long de ce travail,
J'ai pu apprécier votre disponibilité, la qualité de votre encadrement
Et les précieux conseils que vous m'avez prodigués,
Sans oublier vos qualités humaines.
Qu'il me soit permis de vous témoigner toute ma reconnaissance.*

A Madame le Docteur Marie-Reine Mallaret,

*Vous me faites l'honneur d'accepter de juger ce travail
Dont vous êtes l'une des investigatrices.
Vous m'avez fait découvrir et apprécier l'Hygiène Hospitalière,
Grâce à vos compétences et votre rigueur scientifique.
Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude
Et de mon profond respect.*

A Monsieur le Professeur Jean Freney,

*Vous me faites l'honneur d'accepter de siéger à mon jury de thèse.
Je vous remercie d'accepter de juger ce travail.
Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.*

A Monsieur le Docteur Hervé Soule,

*Tu me fais l'honneur d'accepter de juger ce travail,
Tu m'as communiqué le goût de l'Hygiène Hospitalière.
Tes compétences sont pour moi un exemple.
Tu trouveras ici le témoignage de toute mon estime.*

A Monsieur le Professeur Jean Calop,

*Pour le dynamisme et l'enthousiasme qu'il transmet à ses internes,
Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance.*

A Marie Lebourg,

Pour sa disponibilité et son aide dans l'analyse de données.

A Jérôme Fauconnier,

Pour sa participation dans l'analyse statistique des données.

A tout le personnel du service de Parasitologie – Mycologie,

Pour sa gentillesse.

A tout le personnel de l'unité d'Hygiène Hospitalière,

Pour son accueil chaleureux.

Table des matières

I - Introduction	3
II - Revue de la littérature	5
1) Aspergillus species : quel danger ?	6
1-1) Définition - Réservoir	6
1-2) Pathologies	6
1-2-1) Population sensible	7
1-2-2) Physiopathologie - clinique	7
1-2-3) Diagnostic	7
1-2-4) Prévention - traitement	8
2) Données et études épidémiologiques et environnementales	9
2-1) Mise au point sur :	9
2-1-1) Les données épidémiologiques	9
2-1-2) Les études portant sur l'influence des travaux	10
2-1-3) Les études portant sur l'influence des saisons	10
2-1-4) Les études portant sur la relation contamination environnementale / incidence aspergillose	12
2-1-5) Intérêt du génotypage des souches aspergillaires	15
2-1-6) Les études portant sur l'efficacité des secteurs protégés	15
2-1-6-1) Sur la contamination environnementale	15
2-1-6-2) Sur la survenue des cas	16
2-2) En France, législation concernant le suivi épidémiologique et environnemental	17
2-2-1) Un suivi épidémiologique et environnemental nécessaire	17
2-2-2) Modalités de la surveillance	18
III Surveillance aspergillaire et fongique environnementale et épidémiologique au CHU de Grenoble	19
1) Objectifs de l'étude	20
2) Matériel et méthode	21
2-1) Suivi environnemental	21
2-1-1) Le service d'hématologie	21
2-1-2) Modalités du suivi environnemental	25
2-1-3) Questionnaire : recherche de facteurs de risque de contamination aspergillaire et fongique environnementale	26
2-2) Suivi épidémiologique	26
2-3) Analyse statistique	28
2-3-1) Suivi environnemental	28
2-3-2) Suivi épidémiologique	28
3) Résultats	29
3-1) Suivi environnemental	29
3-1-1) Récapitulatif des prélèvements réalisés – questionnaire	29
3-1-2) Niveau de contamination du secteur protégé	29
3-1-3) Niveau de contamination des secteurs conventionnels	31
3-1-4) Etude de l'influence de différents facteurs sur la contamination	31
3-1-4-1) Etude de l'influence du secteur protégé	31
3-1-4-2) Etude du secteur conventionnel	34
3-1-4-2-1) Le facteur « Unité »	34
3-1-4-2-2) Le facteur « Précautions relatives aux chambres des patients agranulocytaires »	36
3-1-4-2-3) Le facteur « Nombre de lits »	39
3-1-4-2-4) Le facteur « Empoussièremment »	44
3-1-4-2-5) Le facteur « Encombrement »	47
3-1-4-2-6) Le facteur « Visiteur »	47
3-1-4-2-7) Le facteur « Porte ouverte / fermée »	47
3-1-4-2-8) Analyse multivariée :	49
3-1-5) Etude de l'effet temps	51
3-1-5-1) Au niveau du secteur conventionnel de l'unité B :	52

3-1-5-2) Au niveau de l'unité C :.....	52
3-1-6) Etude de la relation <i>Aspergillus</i> / autres champignons filamenteux dans les prélèvements.....	57
3-1-7) Etude de la relation contamination de l'air / contamination des surfaces	59
3-2) Suivi épidémiologique.....	61
3-2-1) Densité d'incidence - Evolution dans le temps	61
3-2-2) Services concernés	64
3-2-3) Caractéristiques de la population - Facteurs de risque	67
3-2-4) Origine des cas.....	67
3-2-5) Evolution des cas	70
3-2-6) Le service d'hématologie.....	70
3-3) Relation cas / contamination environnementale dans le service d'hématologie.....	72
4) Discussion	76
4-1) Suivi environnemental.....	76
4-1-1) Place et originalité de cette étude dans le contexte de la littérature	76
4-1-2) Recherche des facteurs influençant la contamination	76
4-1-2-1) Efficacité de la prévention dans le secteur protégé.....	76
4-1-2-1-1) Influence du facteur secteur protégé.....	76
4-1-2-1-2) Comparaison à la littérature.....	78
4-1-2-2) Etude du secteur conventionnel	78
4-1-2-2-1) Le facteur « Unité ».....	78
4-1-2-2-2) Le facteur « Précautions relatives aux chambres des patients agranulocytaires ».....	79
4-1-2-2-3) Le facteur « Nombre de lits »	79
4-1-2-2-4) Le facteur « Empoussièrement »	80
4-1-2-2-5) Le facteur « Encombrement ».....	81
4-1-2-2-6) Les facteurs « Visiteur » et « Porte ouverte / fermée ».....	81
4-1-2-2-7) Comparaison à la littérature.....	82
4-1-2-3) Influence des travaux sur la contamination environnementale	82
4-1-3) La contamination fongique totale : un indicateur indirect de la contamination aspergillaire.....	84
4-1-4) Etude de la relation contamination de l'air / contamination des surfaces	84
4-2) Suivi épidémiologique.....	85
4-2-1) Différents types de cas	85
4-2-2) Evolution dans le temps	85
4-2-3) Origine des cas.....	86
4-2-4) Services concernés et facteurs de risque	87
4-2-5) Evolution à 15 jours.....	88
4-2-6) Le service d'hématologie.....	88
4-3) Relation cas / contamination environnementale dans le service d'hématologie.....	90
IV - Conclusion	91
VI - Bibliographie	94
VII - Annexes	100

I - Introduction

Introduction

Aspergillus est un champignon filamenteux microscopique environnemental incriminé dans différentes pathologies parmi lesquelles se distingue l'aspergillose invasive (AI), par son pronostic très réservé (22) et son origine nosocomiale possible. Pathologie opportuniste, elle affecte les patients profondément immunodéprimés. Elle représente la première cause de mortalité d'origine infectieuse en hématologie (22). L'aspergillose chronique nécrosante (ACN), autre pathologie liée à *Aspergillus*, survient également sur un terrain particulier (32), son profil clinique s'avère parfois proche de celui de l'AI, mais elle reste de pronostic moins sombre.

Le nombre grandissant de patients immunodéprimés lié à l'émergence de thérapeutiques nouvelles (chimiothérapies de plus en plus intensives, arrivée sur le marché de nouveaux immunosuppresseurs) et à la réalisation croissante de transplantations de moelle osseuse et d'organes, risque de générer une augmentation de l'incidence de l'AI (25, 65), déjà constatée (30). L'existence d'un réservoir environnemental aspergillaire cosmopolite, compatible avec les établissements de santé, est associée à un risque nosocomial. La responsabilité des hôpitaux peut donc être engagée.

En présence d'un risque de contamination aéroportée et d'une gestion thérapeutique peu efficace, la prévention est essentielle. Cette dernière repose sur l'isolement des patients à très haut risque dans un environnement protégé, équipé d'un système de traitement d'air efficace (14, 17, 26, 40, 55). Cependant le coût représenté par de telles structures, limite considérablement leur capacité d'accueil. Par conséquent, de nombreux malades à risque ne peuvent en bénéficier et restent en secteur conventionnel (65).

La conférence de consensus du 21 mars 2000, relative à la prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés (17), a d'abord recommandé le suivi épidémiologique des AI dans les établissements de santé. Le décret du 26 juillet 2001, relatif à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé et sa circulaire d'application, relative au signalement et à l'information des patients en matière d'infection nosocomiale, rendent désormais le suivi épidémiologique des AI nosocomiales obligatoire (16, 20). La conférence de consensus recommande d'associer à ce suivi épidémiologique, un suivi environnemental des secteurs protégés équipés d'un système de traitement d'air efficace. En revanche la surveillance environnementale des secteurs conventionnels accueillant des patients à risque, demeure aujourd'hui discutée (17).

Le travail que nous allons exposer comprend deux parties. La première, une revue de la littérature, nous permettra de resituer le danger représenté par *Aspergillus* et de faire le point sur les études épidémiologiques et/ou environnementales relatives à l'aspergillose. Dans la deuxième partie, nous présenterons une étude environnementale et épidémiologique réalisée au CHU de Grenoble. L'étude environnementale a été effectuée durant six mois au sein du service le plus à risque, le service d'hématologie, au niveau du secteur protégé et du secteur conventionnel. L'étude épidémiologique a porté sur tous les cas d'AI et d'ACN recensés au sein de notre institution sur une période de 24 mois.

II - Revue de la littérature

1) *Aspergillus* species : quel danger ?

1-1) Définition - Réservoir

Aspergillus species (sp.) est un champignon filamenteux microscopique. La spore, forme habituelle de conservation et de contamination de l'homme, a un diamètre compris entre 2 et 6 µm. Parmi les nombreuses souches d'*Aspergillus*, certaines sont opportunistes pour l'homme, il s'agit d'*Aspergillus fumigatus*, *flavus*, *niger*, *nidulans* et *terreus* (53).

Aspergillus sp. est un champignon ubiquitaire. Résistant et peu exigeant, il se développe sur des milieux très pauvres, ce qui lui confère une longue durée de vie. Un même génotype peut persister six à huit mois dans l'environnement (53).

A l'extérieur, le réservoir est représenté par les matières organiques en décomposition. A partir de celles-ci, les conidiophores du mycélium relarguent des quantités de spores aspergillaires dans l'air. Celles-ci sédimentent ensuite sur des surfaces. En présence d'eau, elles germent et forment un mycelium capable de produire à nouveau des spores (44).

En milieu hospitalier, les principales niches écologiques sont représentées par les systèmes de traitement d'air contaminés, les faux plafonds, les poussières (particulièrement dans les endroits peu accessibles au nettoyage) notamment celles issues de matériaux d'isolation anti-feu et secondaires aux travaux de rénovation ou de démolition, les plantes ornementales, les fleurs et les fruits. De plus certains produits alimentaires sont très riches en spores aspergillaires (thé, tisanes, poivre). L'air est le principal vecteur de contamination des patients (2, 18, 53, 55). En revanche, le rôle de l'eau et des aliments dans la contamination n'est pas clairement établi (53, 65)

1-2) Pathologies

Aspergillus sp. est impliqué dans différentes pathologies parmi lesquelles, se distinguent :

- l'aspergillose invasive (AI) : pathologie très grave de pronostic réservé, avec une mortalité élevée 50% à 85% (première cause de mortalité d'origine infectieuse en hématologie) (22). Elle représente 30 à 50% des mycoses invasives (17).
- l'aspergillose chronique nécrosante (ACN) : pathologie proche de la précédente, mais de pronostic moins sombre (32)
- d'autres pathologies : aspergillose broncho-pulmonaire allergique, aspergillome, alvéolite allergique extrinsèque aspergillaire (32). Elles ne mettent pas en jeu le pronostic vital.

La porte d'entrée de toutes ces pathologies est le plus souvent aéroportée (53). Seules l'AI et l'ACN font l'objet de ce travail en raison du risque d'acquisition à l'hôpital.

1-2-1) Population sensible

Elle est représentée pour :

- l'AI : par des patients profondément immunodéprimés, c'est-à-dire présentant une neutropénie prolongée, une hémopathie, une greffe de moelle, plus particulièrement une allogreffe et surtout en cas de maladie du greffon contre l'hôte, une transplantation d'organe, notamment en cas de rejet, une tumeur maligne, un SIDA, une corticothérapie au long court (32).

- l'ACN : par des patients atteints de pathologies respiratoires chroniques telles qu'une broncho-pneumopathie chronique obstructive, une tuberculose, dénutris, diabétiques, atteints de maladie de système, âgés (32).

1-2-2) Physiopathologie - clinique

Les spores aspergillaires sont véhiculées par les turbulences de l'air. Leur petit diamètre leur permet de pénétrer, jusqu'au niveau des alvéoles pulmonaires. Là en présence d'une déficience des facteurs de défense du patient, elles peuvent être responsables du développement d'une AI ou d'une ACN (32).

- l'AI : les spores aspergillaires inhalées arrivées au niveau des alvéoles pulmonaires vont émettre des filaments mycéliens qui vont envahir les bronches et le parenchyme pulmonaire. Leur caractère angio-invasif, leur permet ensuite de diffuser au niveau systémique. C'est une infection aiguë. Au niveau clinique, l'infection se traduit la plupart du temps par une pneumopathie associant des douleurs thoraciques, une toux, une dyspnée, une hyperthermie et des hémoptysies. D'autres formes cliniques de dissémination sont possibles : sinusiennes, cérébrales, cutanées etc. (32). L'évolution est souvent létale.

- l'ACN : après la contamination aérienne, se produit un envahissement lent du tissu pulmonaire déjà altéré. Ce dernier donne lieu à une inflammation pulmonaire chronique d'abord localisée, pouvant ensuite évoluer vers une nécrose parenchymateuse (32).

La dose minimale infectante (DMI) n'est pas connue à ce jour, pour les deux types de pathologies.

1-2-3) Diagnostic

Le diagnostic de l'AI est très difficile. Seule une biopsie de tissu positive en culture en *Aspergillus* permet de poser un diagnostic de certitude. Mais en pratique, la réalisation d'une biopsie sur des patients immunodéprimés n'est souvent pas réalisable, du fait du risque hémorragique lié aux taux plaquettaires fréquemment effondrés et du risque infectieux. Devant ces difficultés diagnostiques, une classification des cas d'AI en fonction de leur degré

de certitude diagnostique a été proposée par l'European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) et le Mycosis Study Group (MSG) (32). Cette classification distingue des AI prouvées, probables, ou possibles.

Un cas d'AI prouvée est défini par une culture positive avec identification d'*Aspergillus* à partir d'une biopsie tissulaire ou d'un liquide stérile.

Un cas probable est défini par l'association d'un critère terrain, d'un critère clinique majeur (ou deux critères cliniques mineurs) **ET** d'un critère microbiologique. Tous ces critères sont détaillés en annexe (cf. annexe procédure « Surveillance des cas d'aspergillose nosocomiale »).

Un cas possible est défini par l'association d'un critère terrain, d'un critère clinique majeur (ou deux critères cliniques mineurs) **OU** d'un critère microbiologique.

Etant donné l'incertitude relative à la période d'incubation de l'AI, de quelques jours à trois mois, il est très difficile d'évaluer le caractère nosocomial ou non des cas d'AI (17). De ce fait il n'existe toujours pas aujourd'hui de consensus quant à la définition de l'AI acquise à l'hôpital (65).

Le diagnostic de l'ACN n'a pas fait l'objet de définition comme pour l'AI. Il est également difficile à poser. Il repose sur un faisceau d'arguments, de terrain (pathologie respiratoire chronique, diabète, dénutrition, éthyliste, maladie de système etc.), radio-cliniques (image évolutive avec nécrose, excavation) et microbiologiques (32).

1-2-4) Prévention - traitement

Le traitement médicamenteux repose sur des antifongiques, l'amphotéricine B par voie parentérale, ses formes liposomales, l'itraconazole per os et depuis peu par une nouvelle molécule, la caspofungine (31). D'autres molécules ou formes galéniques n'ayant pas encore l'autorisation de mise sur le marché (AMM), ont une prescription limitée par une autorisation temporaire d'utilisation (ATU), le sporanox par voie injectable et le voriconazole (34). Le traitement par amphotéricine B, même sous forme liposomale, est peu efficace (3, 21). L'itraconazole, plus efficace (9), présente l'inconvénient d'une biodisponibilité variable interindividuelle, sous forme de gélules per os (21). La forme buvable a une meilleure biodisponibilité, mais pas l'AMM dans l'AI (9). Quant à la forme injectable, elle n'est disponible que sous forme d'ATU à ce jour. On dispose de peu de recul sur la caspofungine. Enfin les essais thérapeutiques sur la chimioprophylaxie par amphotéricine B ou itraconazole ne permettent pas de conclure à une efficacité (61).

Par conséquent la prévention de la contamination aéroportée joue un rôle fondamental. Cette dernière repose sur l'isolement des patients à très haut risque dans un environnement protégé, c'est-à-dire équipé d'un système de traitement d'air efficace. Il comprend une filtration de l'air à l'aide de filtres absolus ou à haute efficacité dits HEPA (High Efficiency Particulate Air), capables de retenir 99.97% des particules de plus de 0.3 µm. Cette filtration est accompagnée d'une surpression (d'au moins 15 pascals) par rapport aux autres pièces environnantes, d'une ventilation à haut renouvellement d'air (20 volumes par heure), avec au mieux un flux laminaire (14, 17, 26, 40, 55). Cet ensemble doit être assorti d'une maintenance

rigoureuse. Enfin, pour préserver l'efficacité de ce système, des procédures d'entretien des locaux, de décartonnage, de fermeture des portes des unités et d'habillement, doivent être également observées (26, 55).

2) Données et études épidémiologiques et environnementales

2-1) Mise au point sur :

2-1-1) Les données épidémiologiques

Il est difficile de rapporter des chiffres précis et reproductibles en terme d'incidence de l'AI pour différentes raisons. Les modalités d'expression des résultats diffèrent énormément en fonction des études. Les données d'incidence varient en fonction des différents facteurs de risque des patients, des chiffres différents étant observés au sein des services d'hématologie en fonction des différentes pathologies des patients (leucémies myéloblastiques ou lymphoblastiques, lymphomes, greffe de moelle) (18, 25). Enfin devant les difficultés diagnostiques, la définition d'un cas d'AI varie également en fonction des auteurs.

Les différentes modalités d'expression des résultats sont les suivantes. Certains expriment leurs résultats en cas incidents, sans aucun dénominateur. D'autres rapportent le nombre de cas incidents à un dénominateur qui varie en fonction des études et expriment alors leurs résultats en taux d'incidence ou même encore en densité d'incidence (25).

Dans un objectif d'alerte au niveau d'un hôpital ou d'un service, un simple dénombrement des cas est suffisant pour suspecter une augmentation anormale des cas (25). Il ne serait donc pas nécessaire de ramener ce nombre de cas à un dénominateur. Mais ce mode d'expression ne permet pas de comparer les données des différentes études entre elles, car il ne prend pas en compte l'activité des services et des établissements.

Afin d'obtenir des données comparables, il est nécessaire d'utiliser un dénominateur (25). Pour le calcul du taux d'incidence, le dénominateur correspond au nombre de patients à risque sur une période donnée (1 an). Les taux d'incidence de l'AI, retrouvés dans la littérature, sont compris entre 4 et 28% pour les patients allogreffés de moelle, entre 5 et 23% pour les leucémies aiguës, entre 1 et 18% pour les transplantés d'organe et entre 1 et 6% pour les patients corticothérapés au long cours (25).

Cependant le taux d'incidence ne prend pas en compte la durée de suivi des patients, ni la durée des différentes phases à risque (25). Le calcul de densité d'incidence permet d'éviter ces inconvénients. Le dénominateur utilisé pour le calcul d'une densité d'incidence peut être représenté par le nombre de jours d'hospitalisation mais aussi le nombre de jours d'aplasie. Les résultats retrouvés dans la littérature, exprimés en densité d'incidence en nombre de patients-jours, sont de 9.1 AI pour 10 000 patients-jours atteints de leucémies (25). Une étude réalisée par le réseau de surveillance épidémiologique de l'AI nosocomiale de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) rapporte une densité d'incidence de 1.16 (0.90-1.43) AI

probables d'origine nosocomiale pour 1000 patients-jours dans des services d'hématologie, entre 1990 et 1992 (8). Alberti et al. ont utilisé dernièrement ce mode d'expression dans une étude réalisée sur 4 ans en hématologie (1). Ils retrouvent des densités d'incidence comprises entre 0 et 1.67 AI nosocomiales pour 1000 patients-jours dans une unité conventionnelle et entre 0.99 et 2.57 AI nosocomiales pour 1000 patients-jours dans un secteur protégé d'une unité de greffe de moelle (1). Le choix du nombre de jours d'aplasie comme dénominateur est quant à lui critiquable. En effet il sous-entend que la neutropénie est le seul facteur de risque. D'autres utilisent encore d'autres dénominateurs tels que le nombre de cures de chimiothérapies ou encore le nombre d'épisodes d'aplasie (25).

2-1-2) Les études portant sur l'influence des travaux

De nombreuses études ont montré que la réalisation de travaux (en particulier de gros oeuvre, de démolition), dans ou à proximité des services de soins hébergeant des patients à risque, entraînaient une augmentation considérable de la concentration environnementale en spores, associée à la survenue d'AI et même d'épidémies (2, 4, 27, 36, 39, 41, 43, 49, 52, 54, 57, 64) (cf. tableau 1).

2-1-3) Les études portant sur l'influence des saisons

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence des saisons sur la contamination environnementale, mais les résultats des différentes études divergent.

Certains auteurs rapportent une augmentation de la contamination environnementale en hiver (7, 45, 47). Noble et al. constatent une augmentation de la contamination environnementale aspergillaire pendant l'automne et l'hiver dans un Hôpital Londonien (47). Mullins et al. observent un pic de concentration des spores en octobre, à Saint Louis aux Etats-Unis et en novembre, à Cardiff en Angleterre (45). Daniau et al. donnent une explication à ce constat : l'augmentation de la biomasse de substrat disponible pour la croissance (feuilles mortes) et l'augmentation des pluies pendant cette période entraîneraient une augmentation de la concentration en *Aspergillus fumigatus* (18).

A contrario, d'autres auteurs observent une augmentation de la contamination environnementale en été (2, 50). Jones et al. constatent une augmentation de la concentration en *Aspergillus fumigatus* en automne et en été, dans un hôpital de Washington (38). Solomon et al. montrent une augmentation de la concentration aspergillaire en été à l'extérieur mais plus limitée à l'intérieur, dans le Michigan aux Etats-Unis (59). Uddin et al. ont fourni une explication à ce constat, en montrant une influence réelle des travaux des champs l'été sur la mise en suspension dans l'air des spores aspergillaires (62).

Enfin d'autres études n'ont pas retrouvé d'influence des saisons sur la contamination environnementale (5, 29, 35). Evans et al. en utilisant une méthode de prélèvement gravimétrique, observent un nombre de spores relativement constant tout au long de l'année (23). En effet selon Daniau et al., les conditions pour la croissance abondante d'*Aspergillus* sont rarement toutes présentes en même temps (18).

Au vu de ces différentes études contradictoires, l'influence prédominante d'une saison hiver ou été sur la contamination environnementale et la survenue des cas d'AI, n'est pas établie.

Tableau 1

**Epidémies d'aspergillose liées à des travaux de construction dans l'établissement hospitalier
d'après Carter et al. (13)**

Référence	Facteurs intrinsèques de risque	Cause de l'épidémie et réservoir d' <i>Aspergillus</i> Facteurs intrinsèques	Nombre de cas d'AIN	Taux de mortalité en %	Souches d' <i>Aspergillus</i> identifiées	Mesures spécifiques de correction envisagées
(4) Arnow et al. Thorax. 1996	Immunosuppression (transplantation rénale)	Travaux de rénovation dans l'hôpital, moisissures des faux plafonds et des tuiles	3	33	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. sp.</i>	Barrière imperméable, aspiration, dépoussiérage humide
(57) Sarrubbi et al. Ann Rev Respir Dis. 1982	Carcinome poumons, pneumonie bactérienne	Travaux de construction, dysfonctionnement installations de traitement de l'air	22	5	<i>A. flavus</i>	Préfiltration et filtration
(39) Krasinsiki et al. Ann Rev Respir Dis. 1985	Néonatalogie enfants prématurés	Travaux de rénovation dans l'hôpital, moisissures et empoussièrment des faux plafonds	2	100	<i>A. sp.</i>	Aspiration (tuyaux ventilation et faux plafonds), filtres HEPA, désinfection (conduits d'air et surfaces ambiantes)
(49) Opal et al J Infect Dis. 1986	Hémopathies malignes et corticothérapie	Travaux de rénovation dans l'hôpital chantier de construction	11	100	<i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. sp.</i>	Barrière imperméable, désinfection, filtres HEPA, pression négative sur le chantier
(66) Weems et al. Infect Control. 1987	Hémopathies malignes	Grands travaux et rénovation intérieure, renouvellement des équipements de traitements de l'air et réfection des murs intérieurs, empoussièrment	5	100	<i>A. sp.</i>	Fenêtres scellées
(27) Gerson et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 1994	Hématologie et greffe de moelle	Travaux d'aménagement ou de construction	13	38	<i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i>	
(41) Lebeau et al. J Mycol Med. 1996	Hématologie, oncologie, réanimation	Travaux d'aménagement ou de construction	136	Taux global 75, imputable à l'AIN : inconnu	<i>A. fumigatus</i>	Flux protecteur
(43) Loo et al. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996	Hématologie, oncologie	Construction	36	47	<i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i>	Isolément obturation des ouvertures dans les unités à risque, filtres HEPA, désinfection au cuivre -8-quinolinolate

2-1-4) Les études portant sur la relation contamination environnementale / incidence aspergillose

(cf. tableau 2)

Plusieurs études ont étudié la relation entre la survenue des cas et le niveau de contamination environnementale. Parmi elles, se distinguent deux types d'études. Selon certaines, il n'existe pas de lien entre la concentration environnementale de spores aspergillaires et l'incidence de l'AI (35), alors que pour d'autres il existerait une véritable relation, que l'on pourrait même qualifier de corrélation (1, 5, 56, 58).

Dans le premier groupe d'étude, on retrouve l'étude d'Hospenthal et al. (35). La méthodologie de cette étude présente cependant des points critiques. Elle ne repose que sur des prélèvements d'air, sans aucun prélèvement de surface. Or les prélèvements de surface reflètent paradoxalement mieux que les prélèvements d'air, la contamination de l'air traité ou ambiant, selon la conférence de consensus (17). En effet il est plus difficile de mettre en évidence les spores aspergillaires dans l'air que sur les surfaces, de part leur durée de vie très courte dans l'air, celles-ci sédimentant rapidement sur les surfaces. Autre point critique, l'origine nosocomiale des cas rapprochés de la contamination environnementale n'est pas recherchée. C'est peut-être la raison pour laquelle, aucune corrélation n'est retrouvée entre les cas et la contamination environnementale, à défaut de cas nosocomiaux.

Selon le deuxième groupe d'étude, il semble exister un lien entre la quantité de spores aspergillaires, voir de champignons filamenteux totaux, dans l'environnement et le risque de colonisation aspergillaire ou de développement d'une AI (1, 5, 56, 58).

Deux études comprennent des prélèvements de surface, celles d'Alberti et al. et d'Arnou et al. (1, 5). La prise en compte de la contamination des surfaces reflète beaucoup mieux le véritable état de la contamination environnementale pour les raisons évoquées ci-dessus.

Les études de ce deuxième groupe, ont pris en compte le caractère nosocomial des cas dans l'étude de la relation entre les cas et la contamination, même si les critères de définition du caractère nosocomial ne sont pas tout à fait similaires entre les études. Ce point est fondamental.

La contamination environnementale précédant les cas est rapprochée de ces derniers, en particulier dans l'étude d'Alberti et al.(1). En effet ces derniers prennent particulièrement bien en compte l'incertitude quant à la période d'incubation de l'AI, puisqu'ils comparent la contamination à différents temps (0, 2, 4 et 6 semaines) avant la survenue des cas à ces derniers (1).

Les principaux résultats de ces différentes études sont les suivants. Tout d'abord, Sherertz et al. en 1987, dans l'étude la plus ancienne, constatent que la diminution de la concentration en *Aspergillus* sp. de 0.16-0.4 Unités Formant Colonies (UFC)/m³ à 0.009 UFC/m³ (par la mise en place de filtres HEPA), permet d'éliminer le risque d'AI (58). Dans l'étude la plus longue, d'une durée de 6 ans, publiée en 1991, Arnou et al., constatent qu'une augmentation de la concentration d'*Aspergillus fumigatus* et *flavus* dans l'air de 0.2 UFC/m³ à 1-2 UFC/m³ s'accompagne d'une multiplication par quatre du taux d'incidence de l'AI, de 0.3 à 1.2% (5). Dans une étude publiée en 2000, Richardson et al. avancent l'existence d'une corrélation entre la concentration en spores de l'air et le nombre de patients colonisés en *Aspergillus* sp. (56).

Dernièrement, Alberti et al. retrouvent à l'aide d'une méthodologie statistique rigoureuse, une corrélation entre l'incidence de l'AI et la présence d'*Aspergillus* sp. et d'autres champignons filamenteux, dans l'air et sur les surfaces de trois unités d'hématologie (dont une unité de greffe de moelle) (1). Ils constatent que cette corrélation n'est plus significative pour les prélèvements d'air, si l'on élimine les concentrations supérieures à 2 UFC/m³ d'*Aspergillus* sp.

Mais certaines de ces études présentent également des points critiques non négligeables. C'est en particulier le cas de l'étude de Richardson et al. (56). Tout d'abord on souligne que des éléments importants n'ont pas été mentionnés : le volume d'air prélevé par échantillon, la localisation des prélèvements, le nombre de prélèvements réalisés et surtout le mode d'expression des résultats des prélèvements qui reste flou. Un nombre moyen de colonies est avancé, sans préciser s'il s'agit du nombre par prélèvement ou par m³. De plus ces auteurs s'avancent un peu trop dans leur conclusion. Ils emploient le terme de corrélation pour qualifier la relation entre la contamination environnementale et la colonisation des patients alors qu'il n'ont pas réalisé de véritable test statistique justifiant l'emploi de ce terme, fort en signification. Leur conclusion ne repose que sur la comparaison de prélèvements correspondant à deux dates seulement et les cas associés, ce qui n'est pas suffisant pour prétendre à une corrélation.

Enfin l'étude d'Arnou et al. ne repose, quant à elle, que sur le constat d'une augmentation parallèle entre la concentration environnementale et les cas mais n'utilise aucun test statistique pour appuyer ce constat (5).

Selon Marjolein et al., l'existence de ces deux groupes d'études peut s'expliquer pour plusieurs raisons (44). Le prélèvement de volumes insuffisants d'air dans certaines études et des erreurs de prélèvement ont pu fausser les résultats. De plus l'utilisation de moyennes de concentrations, pour évaluer l'exposition des patients, n'est peut être pas un choix judicieux. En effet elle ne permet pas d'identifier les pics de concentration. Or de par leurs propriétés, les spores aspergillaires peuvent être à l'origine de pics de concentration aspergillaire. Ces derniers peuvent jouer un rôle majeur dans le développement d'une AI. Enfin la nature de la relation retrouvée entre les cas et la contamination environnementale dépend des caractéristiques de la population étudiée, à savoir des facteurs de risque de cette population, de son exposition antérieure à l'admission à une source aspergillaire, de l'utilisation préventive d'antifongiques, d'où l'importance de prendre en compte le caractère nosocomial des cas et de bien définir cette population (44).

Pour notre part, nous estimons que les études du deuxième groupe, plus nombreuses, apparaissent plus solides et plus rigoureuses méthodologiquement que celle du premier groupe. Nous observons également que leurs résultats convergent dans le même sens. Il semblerait en effet que pour des concentrations supérieures à 0.9-1-2 UFC/m³ d'air d'*Aspergillus* sp., l'incidence des cas augmente véritablement pour des patients à risque. Les études de la contamination des surfaces d'Alberti et al. et d'Arnou et al. n'ont malheureusement pas permis de déterminer un taux à partir duquel la concentration augmente, puisque les résultats sont exprimés en pourcentage de prélèvements positifs (1, 5).

Tableau 2 (AIN : aspergillose invasive nosocomiale)

		Etudes portant sur la relation contamination environnementale / incidence de l'aspergillose				
		Hospital (35)	Arnou et al. (5)	Alberti et al. (1)	Sherertz et al. (58)	Richardson et al. (56)
Hôpital		National Institutes of Health Clinical Center 1998	Bernard Mitchell Hospital Université Chicago 1991	Hôpital Saint Louis Paris 2000	Shands Hospital and University of Florida College of Medicine 1987	Moklands Hospital 2000
Année publication						
Durée étude		54 semaines	77 mois	4 ans	26 mois	5 mois
Service		Oncologie	Hématologie, Transplantation, Soins intensifs	Hématologie : 1 unité greffe moelle et 2 unités conventionnelles	Hématologie (greffe) et autres services	Hématologie
Prélèvements		air	air + surface (expérimental)	air + surface	air	air
Sites prélevés et protection de ces sites		Oncologie : chambres : air filtré non recyclé mais non HEPA	Hématologie, Soins intensifs, Transplantation air : 2 situations * 1983 à 85 : 3 filtres 40%, 50% et 60% * 1985 : changement dernier filtre 90%	-Unité greffe : sas , surpression, chambres HEPA +/- flux laminaire, autres pièces filtration à 85% - Unités conventionnelles : chambres soit HEPA +/- flux laminaire, soit filtration 85% , autres pièces filtration 85%	- hématologie unité greffe : chambres d'abord sans HEPA puis installation HEPA + flux laminaire - autres sites hôpital : (filtration partielle) - extérieur hôpital	Hématologie : 14 sites différents non précisés : air filtré par filtres HEPA portables
Technique : air / appareil surfaces / support		Andersen air sampler	- Air : Anderson Sampler - Surfaces : prélèvement matériaux, sol dans 3 à 4 ml NaCl et écouvillonnage poussière	- Air : Bio-Impactor 100-08 (Air Stratégie) - Surfaces : écouvillonnage surface 50 cm ²	Anderson Sampler	Casella air Sampler
Volume air		2.2m3	2 fois 0.57 m3	250 litres débit 100l/min	20 pieds cubes	-
Fréquence		-	1 fois par mois	1 à 2 fois/semaine à 1 fois/mois	ts les 15 j à 1 fois/ mois	tous les 15j
Milieu culture		Czapek-Dox agar + chloramphénicol	Sabouraud dextrose agar	Maltose-agar-chloramphénicol	Sabouraud agar + chloramphénicol	Sabouraud agar
T°C incubation		30°C	température ambiante	air : 30°C, surfaces : 37°C	ambiante et 37°C	-
Durée incubation		-	air : < 10 j, surfaces : 5 à 10 j	air, surfaces : 3 jours	-	-
Identification cas		-Biopsie autopsie -pas de recherche origine nosocomial	- AI : tissu + en A. sp, ou pneumopathie et A. sp dans crachats ou prélèvement invasif - nosocomial : signes > 7 j après entrée, ou hospitalisation pdt 2 semaines avant signes	- cas défini : biopsie poumon + en A. sp, ou LBA, ou crachats ou liquide sinusal, + scanner évocateur - cas probable : scanner évocateur - nosocomial probable : signes >7j après entrée	- présomptif : histologie + sans culture - évident : histologie et culture ou culture site stérile et clinique évocatrice - nosocomial pas d'infection à l'admission	colonisation nez, langue, péricrânée
Statistique		Comparaison moyenne géométrique Test Kruskal-Wallis	-	- relation contamination fongique totale / cas AIN : régression linéaire - relation contamination air / surfaces : régression linéaire	comparaison % isolement A. sp entre les ≠ sites ou du nb de cas : test Khi2 ou Fisher	- comparaison concentration air entre ≠ moments : test Student - comparaison échantillons patients : test Khi 2 ou Fisher
Résultats		- 6 cas autopsiés - chambre concentration moyenne: 1.83 CFU/m ³ (0-10.13) A. fumigatus et A. flavus - Pas de lien entre contamination et cas : survenue des cas non associée à changement concentration air	- 30 AI , 19 AIN -↑ de contamination de 0.2 à 1-2 UFC /m ³ A. fumigatus et A. flavus ⇒ ↑ taux incidence AI de 0.3% à 1.2%	-64 AIN, DI annuelle AIN pour 1000 patients j : * unité greffe : 0.99 à 2.59, * unités conventionnelles : 0.4 à 1.67, et 0 à 0.97 - contamination Air : *chambres HEPA : flux : 0, hors flux : 0.8 CFU/m ³ A. sp et CF * chambres conventionnelles : sans HEPA : 3.3 [2-4] UFC/m ³ A. sp et 6 [4-14] UFC/m ³ CF - contamination surface : % prélèvements positifs *chambres HEPA : flux 0, hors flux 5.5% A. sp., 18.1 % [5-39] CF *chambres conventionnelles : 16.6% [8-42] A. sp, 26 % [8-66] CF - observation corrélation entre contamination environnement et cas : * unité greffe : taux CF surfaces chambres HEPA / cas (p=0.03) * unité conventionnelles : taux A.sp et CF surface chambres / cas (A. sp : p<0.02, CF p<0.0001) - Pics concentration air > 2 UFC/m ³ = rôle déterminant dans corrélation - gradient contamination ↑ entre chambres conventionnelles, chambres HEPA et chambres HEPA + flux laminaire	- 38 AI, 31 (39%) AIN -nombre AIN parmi patients greffés en chambres filtres HEPA + flux (0 cas AIN sur 39) < nombre AIN pour patients avec mêmes facteurs risque en chambres sans filtres HEPA (14 AIN sur 74) (p<0.001) - nb moyen colonies A. sp extérieur hôpital > intérieur hôpital (p<0.001) - nb moyen colonies chambres HEPA + flux laminaire unité greffe 0.009+/- 0.044 CFU /m ³ < autres sites hôpital (p<0.03) - installation filtres HEPA + flux laminaire unité de greffe a permis ↓ concentration A. sp de 0.16-0.4 CFU/m ³ à 0.009 CFU/m ³ et élimination risque d'AI	- sur 70 patients prélevés 11.4 % sont colonisés pendant hospitalisation - contamination chambre HEPA (5.1 UFC de CF [0-15]) < chambres sans HEPA (99.1 CFU [36-206] (p=0.02) - nb moyen colonies (93 UFC) associé au moment où un % maximum de patients est colonisé (9/10) > nb moyen colonies (19 UFC) associé au moment où un % minimum (0/8) de patients est colonisé (p=0.01) ⇒ Corrélation entre contamination air et nombre de patients colonisés patient

2-1-5) Intérêt du géotypage des souches aspergillaires

La mise en évidence par des techniques de géotypage d'une souche commune entre l'environnement et les patients, est la meilleure méthode pour déterminer le caractère nosocomial de l'AI, à l'image de Chazalet et al. (15), Girardin et al. (28) ou encore Buffington et al. (11).

Mais la mise en évidence d'un lien génotypique entre patient et environnement est difficile et présente des limites. En effet l'extrême diversité des souches géotypiquement distinctes, pouvant être retrouvées au sein d'un même site environnemental et la possibilité pour les patients d'être infectés par plusieurs souches, implique de typer toutes les souches du patient et de nombreuses souches de l'environnement, pour pouvoir mettre en évidence une (des) souche(s) commune(s). Ceci représente un travail considérable. De plus, il n'existe pas de profil génétique propre aux souches incriminées dans l'AI. Toutes les souches sont potentiellement pathogènes (10).

Un même géotype peut être retrouvé dans différents endroits, à différents moments, il est par conséquent difficile de déterminer quand et où le patient a été contaminé. Enfin pour mettre en évidence la relation de cause à effet, il est nécessaire de mettre en évidence la(es) souche(s) environnementale(s) préalablement aux souches des patients. Finalement même la technique de géotypage ne permet pas d'affirmer avec certitude le caractère nosocomial et le fait de ne pas retrouver de souches communes entre l'environnement et le patient, ne permet pas d'exclure l'origine nosocomiale de l'AI (10).

2-1-6) Les études portant sur l'efficacité des secteurs protégés

2-1-6-1) Sur la contamination environnementale

L'efficacité sur l'abaissement de la contamination environnementale aspergillaire de l'association de filtres HEPA, d'une surpression, d'un taux élevé de renouvellement d'air et d'un flux laminaire, ne fait aucun doute, à condition bien sûr que ce système soit accompagné d'une maintenance rigoureuse.

En effet ces mesures de prévention permettent d'abaisser la concentration extérieure comprise entre 1 et 20 UFC/m³ en fonction des études (53, 55, 58), à des taux proches de 0 (1, 5, 55, 58, 60). Sherertz et al. retrouvent 0.009 UFC/m³ d'air d'*Aspergillus* sp. dans des chambres équipées de filtres HEPA et d'un flux laminaire horizontal (58). Alberti et al. ne retrouvent aucune souche aspergillaire au niveau de l'air comme des surfaces, sous le flux laminaire de chambres équipées de filtres HEPA et d'une surpression (1).

Leenders et al. et Sherertz et al. ont constaté l'existence d'un gradient de concentration entre l'extérieur des hôpitaux, les services conventionnels sans système de filtration ou avec filtration partielle de l'air et enfin les secteurs protégés équipés de filtres HEPA (42, 58). Alberti et al. ont constaté l'existence d'un gradient de contamination décroissant entre les chambres conventionnelles, les chambres avec filtres HEPA sans flux laminaire et les chambres avec filtres HEPA et flux laminaire (1). Malheureusement ils n'ont pas réalisé de test statistique pour montrer si ce gradient était statistiquement significatif. Ce dernier constat

montre l'intérêt de l'association des différentes mesures de prévention, en particulier de l'association des filtres HEPA à un flux laminaire. En effet les filtres HEPA seuls paraissent bien moins efficaces, si l'on considère les résultats observés par Alberti et al. dans les chambres équipées de filtres HEPA hors flux. Ils retrouvent en effet hors flux des concentrations égales à 0.8 UFC/m³ d'*Aspergillus* sp. et 5.5% de prélèvements de surface positifs en *Aspergillus* sp., alors qu'ils n'en retrouvent pas sous le flux laminaire (1).

2-1-6-2) Sur la survenue des cas

En 1987, Sherertz et al. ont comparé le nombre d'AI survenant au sein d'une population de 39 patients hébergés dans des chambres équipées de filtres HEPA avec flux laminaire horizontal, à une deuxième population composée de 74 patients, présentant les mêmes facteurs de risque que les premiers, mais hébergés en secteur conventionnel (58). Ils n'ont rapporté aucune AI parmi les patients du secteur protégé, versus 14 cas parmi les patients du secteur conventionnel ($p < 0.001$). Ils ont même évalué le nombre de cas attendus d'AI parmi les 33 patients allogreffés sur les 39 patients du secteur protégé, s'ils n'avaient pas été accueillis en secteur protégé, mais en secteur conventionnel. Ils ont alors montré que le secteur protégé aurait permis d'éviter 7.6 AI. Malheureusement on peut reprocher à cette étude de ne pas être randomisée (26).

D'autres auteurs ont montré que de tels systèmes de prévention permettent de diminuer considérablement l'incidence de l'AI pour les patients à risque (6, 12, 60, 64). Souillet et al. observent en effet une diminution de l'incidence de 0.44 à 0.10 AI par mois après installation d'un secteur protégé (60). Barnes et al. rapportent le contrôle d'une épidémie d'AI nosocomiale dans une unité de greffe de moelle de pédiatrie développée suites à des travaux de construction, grâce à l'installation de filtres HEPA et d'un flux laminaire (6).

Mais les résultats obtenus dernièrement par Alberti et al. laissent sous-entendre que ce système de prévention n'est pas infaillible (1). Ces derniers ont en effet rapporté, au sein d'une unité de greffés, 33 cas nosocomiaux probables (selon les critères qu'ils ont définis) sur une période de 4 ans. Or les chambres de cette unité de greffés étaient toutes pourvues de filtres HEPA et en surpression. Quatre de ces 5 chambres étaient également équipées d'un flux laminaire mais l'une ne possédait pas de flux. Alberti et al. ne précisent malheureusement pas si ces cas sont survenus dans les chambre équipées de flux ou dans l'unique chambre sans flux. Etant donné l'incertitude sur la période d'incubation de l'AI, on peut toujours remettre en cause le caractère nosocomial de ces cas et évoquer une colonisation avant l'admission de ces patients.

Devant les difficultés (notamment éthiques) de réaliser une étude randomisée entre deux populations à même risque, l'une en secteur protégé, l'autre en secteur conventionnel, il est difficile de rapporter un taux d'efficacité précis de l'ensemble de ce système de prévention, comme le souligne Gardembas dans son analyse de la littérature (26). Il est encore plus difficile de déterminer la contribution de chacun des différents modes de prévention, les filtres HEPA, le flux laminaire, la surpression et le haut renouvellement d'air, dans la réduction de l'incidence de l'AI. Mais on peut malgré tout considérer que les filtres HEPA seuls sont moins efficaces. En effet dans l'étude de Panutti et al., l'ajout de flux laminaires à des filtres HEPA, a permis de réduire l'incidence de l'AI de 20 à 13.4%(51).

Enfin il faut également souligner que l'incidence de l'AI n'est pas forcément nulle même au sein de telles structures, du fait de la possible colonisation des patients avant leur admission en secteur protégé (26).

2-2) En France, législation concernant le suivi épidémiologique et environnemental

2-2-1) Un suivi épidémiologique et environnemental nécessaire

Nous l'avons évoqué dans l'introduction, l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés, liée à l'émergence de thérapeutiques nouvelles et la réalisation croissante de transplantations de moelle osseuse et d'organe, risque de générer une augmentation de l'incidence de l'AI (25, 30, 65). Or les périodes critiques d'immunodépression coïncident souvent avec le séjour hospitalier des patients (agranulocytoses post-chimiothérapies, suites immédiates de transplantation en particulier de moelle osseuse, rejets de greffes). Il existe donc réellement un risque acquisition hospitalière de l'AI.

La conférence de consensus portant sur la prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés, tenue en mars 2000 à Paris, préconise la surveillance des AI dans les hôpitaux, en particulier des cas prouvés et probables (17). Elle recommande également la surveillance environnementale des services à risque équipés de systèmes efficaces de traitement d'air. Cette surveillance environnementale s'inscrit dans une démarche assurance qualité, on surveille ce que l'on maîtrise. En revanche la mise en place d'une surveillance environnementale dans les services à risque mais dépourvus de système de traitement d'air est discutée, dans la mesure où la maîtrise de la contamination environnementale est difficile (17).

Dernièrement, le décret du 26 juillet 2001, relatif à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé et sa circulaire d'application relative au signalement et à l'information des patients en matière d'infection nosocomiale, instaurent le signalement de certaines infections nosocomiales, par tout personnel de santé, à l'équipe opérationnelle d'hygiène hospitalière (16, 20). Cette dernière informe, après validation des cas, la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DDASS) et le Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN). Parmi les infections nosocomiales à signaler, figurent celles liées à l'environnement et donc l'AI et l'ACN (16, 20). Le suivi épidémiologique des AI et ACN nosocomiales revêt donc un caractère obligatoire.

2-2-2) Modalités de la surveillance

- **Le suivi environnemental**

Les modalités de la surveillance environnementale ne sont pas standardisées. Cependant la conférence de consensus a tout de même déterminé des grandes lignes (17).

Les prélèvements de surface constituent une priorité avant les prélèvements d'air, bien que la littérature rapporte très peu d'études comportant des prélèvements de surface. En effet du fait de leurs propriétés physico-chimiques, les spores en suspension dans l'air se déposent en quelques heures sur les surfaces. Par conséquent les surfaces reflètent mieux le véritable état de la contamination fongique environnementale. L'empreinte sur gélose est la méthode de référence pour les surfaces planes, remplacée pour les surfaces non planes, par une technique d'écouvillonnage. Les prélèvements d'air sont réalisés de préférence à l'aide de biocollecteurs à impaction directe avec un débit supérieur ou égale à 100 litres par minute. Le milieu de culture et la température d'incubation ne font l'objet d'aucun consensus à l'heure actuelle. La température d'incubation utilisée la plupart du temps est soit de 25°C pour étudier la flore fongique totale ou de 37°C pour cibler *Aspergillus fumigatus*. Il n'existe pas de recommandation quant à la fréquence des prélèvements. L'objectif attendu pour les secteurs protégés équipés de filtres HEPA est le « 0 » *Aspergillus* et « 0 » champignon filamenteux (17).

- **Le suivi épidémiologique**

La création d'une « Cellule Aspergillose », groupe d'experts, conseillée par la conférence de consensus, se généralise aujourd'hui dans les établissements de santé. Cette « Cellule Aspergillose » a pour objectif de détecter des épidémies, ou plutôt cas groupés et de les investiguer (17).

III Surveillance aspergillaire et fongique environnementale et épidémiologique au CHU de Grenoble

1) Objectifs de l'étude

Les différents objectifs de notre étude sont les suivants :

- A travers une étude épidémiologique, mesurer l'incidence de l'aspergillose invasive et de l'aspergillose chronique nécrosante, nosocomiale ou non, au CHU de Grenoble.
- A travers le suivi fongique environnemental du service le plus à risque, le service d'hématologie, identifier des facteurs influençant la contamination environnementale (ou confirmer leur rôle), tels que :
 - l'existence d'un secteur protégé équipé de filtres HEPA, d'une surpression avec ou sans flux laminaire, grâce à la comparaison d'un secteur protégé à deux unités conventionnelles
 - le niveau d'empoussièrement, la présence d'un ou deux lits par chambre, différents modes comportementaux (fermeture des portes, nettoyage des mains etc.) grâce à la comparaison de deux unités conventionnelles, dont les pratiques de soins relatives à la prévention du risque infectieux peuvent différer.
 - la survenue de divers évènements (travaux, modification du personnel d'entretien)

La présence de ces différents facteurs est étudiée à l'aide d'un questionnaire.

- A travers la période commune de suivi épidémiologique et environnementale du service d'hématologie, étudier la relation entre la survenue des cas d'AI nosocomiale et le niveau de contamination fongique environnementale.

Nous n'avons pas limité notre étude de la contamination environnementale aux seuls *Aspergillus* espèces à l'image d'Alberti et al. (1). Ces derniers ont en effet montré une relation entre l'incidence des cas d'AI et la contamination fongique totale, pas seulement aspergillaire. C'est pourquoi nous nous sommes également intéressés à la contamination fongique totale.

2) Matériel et méthode

2-1) Suivi environnemental

2-1-1) Le service d'hématologie

Ce service est situé au cinquième étage dans le groupe central du CHU Michallon. Il est composé de deux unités distinctes :

- l'unité C qui n'est pas protégée, elle est dite conventionnelle.

- l'unité B qui est composée de deux secteurs :

* un secteur non protégé, dit conventionnel

* un secteur protégé ou secteur de greffe, réservé à la réalisation des transplantations de moelle osseuse.

Les différents paramètres relatifs à ces différents secteurs, susceptibles d'avoir des répercussions sur la contamination aspergillaire et fongique environnementale, sont les suivants :

- **Conditions atmosphériques**

Le secteur protégé est équipé d'un système de traitement d'air efficace comprenant des filtres à haute efficacité (HEPA), une surpression par rapport aux autres pièces et une ventilation à haut renouvellement d'air par flux laminaire (2 chambres) ou turbulent (2 chambres).

L'unité C et le secteur conventionnel de l'unité B, bénéficient tous deux d'une maîtrise partielle de l'air. En effet la climatisation de l'hôpital comprend un système de filtration opacimétrique, correspondant à une filtration de l'air extérieur à 85%, permettant d'assurer un environnement partiellement maîtrisé d'un point de vue fongique. Aucune fenêtre ne peut être ouverte dans les deux unités.

- **Conditions architecturales**

Le secteur protégé de l'unité B est composé de 4 chambres et d'un office infirmier. Il est précédé par un sas permettant de revêtir une tenue spécifique et d'accéder dans un premier temps à l'office infirmier. Les chambres ont une superficie inférieure à celles du secteur conventionnel, le mobilier est réduit à son strict minimum. L'ensemble des surfaces est lisse, sans recoin pour faciliter l'entretien et la désinfection. Les murs sont lavables partout.

L'unité C est composée de 14 chambres, soit 22 lits, avec une majorité de chambres à deux lits, 10 chambres et 4 chambres à un lit. Les chambres à deux lits sont situées à proximité de la porte d'entrée du service (environ 4 mètres pour les premières) alors que les chambres à un lit sont situées au fond du service et sont donc plus éloignées de la porte d'entrée du service.

Le secteur conventionnel de l'unité B contient 6 chambres soit 6 à 8 lits, avec 4 chambres à 1 lit et seulement 2 chambres à 1 ou 2 lits en fonction des possibilités du service. Les chambres sont toutes situées à distance de la porte d'entrée (au moins 20 mètres pour les premières).

Le secteur conventionnel de l'unité B et l'unité C possèdent tous deux les pièces présentes dans un service conventionnel (couloir central, bureaux, office d'entretien, office infirmier, réserves, salles de bains, tisanerie, vestiaires).

- **Entretien des locaux**

Le protocole d'entretien des locaux est identique pour le secteur conventionnel de l'unité B et l'unité C, il est propre à l'ensemble du service d'hématologie. Il faut souligner qu'il est beaucoup plus rigoureux que celui des autres services du CHU.

Le protocole d'entretien du secteur protégé de l'unité B est le même que celui du secteur conventionnel mais comprend en plus le nettoyage quotidien des murs.

Le personnel affecté à l'entretien est commun à l'ensemble du service d'hématologie, il est composé de 8 agents de service hospitaliers (ASH) qui tournent entre le secteur conventionnel de l'unité B, le secteur protégé de l'unité B et l'unité C. Les temps de présence des ASH dans l'unité B et l'unité C sont identiques. L'effectif en ASH affecté à l'entretien des locaux diffère entre les secteurs, si l'on considère la capacité d'accueil de chacun. En effet :

- le secteur protégé de l'unité B, dispose d'1 ASH, soit 1 pour 4 chambres :
soit 1 pour 4 lits
- le secteur conventionnel de l'unité B dispose d'1 ASH, soit 1 pour 6 chambres,
soit 1 pour 8 lits
- l'unité C dispose de 2 ASH, soit 2 pour 14 chambres. Mais la répartition des lits n'est pas homogène entre les 2 ASH avec :
 - * **1 ASH pour 14 lits** (correspondant à la majorité des chambres à deux lits)
 - * **1 ASH pour 10 lits** (correspondant à la majorité des chambres à 1 lit).

- **Approvisionnement des unités et décartonnage**

Tout matériel ou objet introduit au niveau du secteur protégé de l'unité B est au préalable désinfecté. L'entrée du matériel se fait par l'intermédiaire du sas ou d'un trabichet séparant l'office infirmier du secteur protégé, du secteur conventionnel. Nous soulignons cependant que l'introduction du matériel de radiographie, trop volumineux, ne peut s'effectuer par le trabichet ou le sas. Elle implique par conséquent d'ouvrir une porte séparant directement l'office infirmier du secteur protégé, du secteur conventionnel, ce qui peut limiter l'efficacité du secteur protégé.

Au niveau de l'unité C, il existe une procédure de décartonnage visant à diminuer la contamination aspergillaire environnementale : le matériel et les solutés sont retirés des cartons juste avant leur entrée dans le service.

Au niveau du secteur conventionnel de l'unité B, le matériel et les solutés ne sont retirés des cartons qu'après leur entrée dans le service. En effet il est impossible de réaliser le décartonnage juste avant l'entrée pour des raisons architecturales. Cependant le décartonnage a lieu au début du couloir, donc à distance des chambres.

- **Gestion de l'accès aux unités**

L'accès au secteur protégé de l'unité B se fait obligatoirement par un sas dont les portes sont maintenues fermées en permanence.

Les portes d'entrée des deux secteurs conventionnels sont munies d'un système de fermeture automatique, elle sont donc fermées en permanence. Dans les deux services il n'existe que des recommandations orales (parfois signalées par un panneau sur les portes) concernant le maintien de la fermeture de certaines portes de locaux à risque.

Au niveau de l'unité C, à la différence du secteur conventionnel de l'unité B, les réserves de matériel sont également munies de systèmes de fermeture automatique.

- **Précautions relatives aux chambres des patients**

Les conditions d'accès aux chambres des patients sont très strictes pour le secteur protégé de l'unité B. Dans le sas, le changement de tenue est obligatoire avec nettoyage des mains, port d'une surblouse, d'un calot, d'un masque et de surchaussures. Avant d'entrer dans les chambres, un nouveau nettoyage des mains dans l'office infirmier est exigé. La tenue précédemment décrite suffit pour entrer dans la chambre, si l'on ne dépasse pas le périmètre de sécurité autour du malade. Le cas échéant une tenue stérile (deuxième surblouse, gants stériles) est nécessaire. Les visites sont limitées au maximum. Chaque patient est en chambre à un lit. Les portes des chambres sont maintenues fermées en permanence.

Pour l'unité C et le secteur conventionnel de l'unité B, hors période d'agranulocytose, il n'existe pas de recommandation pour accéder aux chambres des patients.

En revanche les chambres hébergeant des patients en agranulocytose (période la plus à risque de développer une aspergillose invasive), font l'objet de recommandations. Dans le secteur conventionnel de l'unité B, les patients en agranulocytose sont isolés dans des chambres à un lit, la porte de la chambre doit être tenue fermée en permanence, le port d'un masque et le nettoyage des mains nécessaires pour y accéder et le nombre de visiteurs limité à deux maximum. Ces conditions sont signalées par un panneau sur la porte.

Dans l'unité C, dans la limite des disponibilités d'accueil les patients en agranulocytose sont placés en chambre à un lit, mais cela n'est pas souvent possible. Hormis cette précaution pas toujours observée, les chambres des patients en agranulocytose ne font l'objet d'aucune recommandation dans l'unité C.

- **Conditions de circulation des patients dans le service**

Dans le secteur protégé de l'unité B, les patients ne peuvent pas sortir de leur chambre, sauf cas exceptionnel (réalisation d'un examen médical imposant la sortie du secteur comme un scanner par exemple etc.). Dans ce cas ils sont protégés par un masque, une surblouse, un calot et des surchaussures.

Au niveau du secteur conventionnel de l'unité B, les patients en agranulocytose ne sont pas autorisés à sortir de leur chambre.

Au niveau de l'unité C, les patients en agranulocytose sont autorisés comme les autres patients à sortir de leur chambre, mais doivent porter un masque.

Dans l'unité C et le secteur conventionnel de l'unité B, l'accès des patients aux pièces suivantes (tisanerie, office infirmier, office d'entretien du matériel, et réserve) est interdit.

- **Recommandations relatives à l'alimentation**

Dans le secteur protégé de l'unité B, les aliments non fournis par l'établissement sont interdits. La nourriture des patients est contrôlée et préparée de façon microbiologiquement pauvre.

Dans le secteur conventionnel de l'unité B et l'unité C, la nourriture des patients en agranulocytose est également contrôlée et il est déconseillé à ces patients de se faire apporter des aliments provenant de l'extérieur.

- **Recommandations relatives à l'introduction d'objets de l'extérieur**

Dans le secteur protégé de l'unité B, aucun objet provenant de l'extérieur ne peut être introduit s'il n'a pas été stérilisé.

Dans le secteur conventionnel des unités B et C, les objets provenant de l'extérieur peuvent être introduits. Les plantes et fleurs sont interdites dans l'ensemble du service d'hématologie.

- **Recommandations relatives au linge**

Dans le secteur protégé de l'unité B, le linge est stérile (draps, pyjamas) et changé quotidiennement.

Au niveau du secteur conventionnel, les draps sont changés tous les jours et le changement quotidien de vêtements est recommandé pour les patients agranulocytaires.

2-1-2) Modalités du suivi environnemental

Nous avons réalisé le suivi environnemental pour chaque unité et chaque secteur une fois toutes les trois semaines. La stratégie d'échantillonnage est la suivante :

- dans le secteur conventionnel (unités B et C), chaque campagne comprend des prélèvements au niveau :
 - d'une chambre d'un patient agranulocytaire (période la plus à risque d'AI). et dont le choix est fixé au hasard
 - d'une chambre d'un patient quelque soit son immunitaire et dont le choix est fixé au hasard.
 - du couloir : lieu de passage des malades, du personnel médical et des visiteurs
 - d'une pièce du service autre que les chambres ou couloir (office d'entretien, office infirmier, réserve, salle de bain, tisanerie, vestiaire, bureau)
- dans le secteur protégé de l'unité B, chaque campagne comprend des prélèvements au niveau des quatre chambres et de l'office infirmier. La surveillance de ce secteur est totale car il est indispensable de vérifier le bon fonctionnement du système de protection dans l'intégralité du secteur.

Les campagnes se déroulent sans information préalable du personnel des services quant à la date et l'heure des prélèvements, afin de ne pas modifier leur comportement.

Le protocole de prélèvement est celui du Groupe de Recherche sur les Infections Fongiques (GRIF) de la Région Rhône-Alpes. Deux catégories de prélèvements sont réalisées dans chaque pièce, des prélèvements d'air et de surface.

Les prélèvements d'air sont réalisés à l'aide d'un biocollecteur à impaction directe, le Sampl'air® (AES). Dans chaque pièce prélevée, deux prélèvements successifs de 500 litres sont réalisés. Le milieu de culture utilisé est une gélose Sabouraud-chloramphénicol.

Les prélèvements de surface sont réalisés par application de boîtes « géloses contact Sabouraud-chloramphénicol + neutralisant » (Merck®) à l'aide d'un applicateur standardisé (10 secondes, avec une force correspondant à 200 grammes). Ils doivent être réalisés au minimum quatre heures après le ménage. Dix prélèvements (dix boîtes) par pièce sont réalisés.

La température d'incubation est de 27°C et de 42°C seulement pour un certain nombre de prélèvements de surface. La durée d'incubation est au minimum de cinq jours. La lecture des prélèvements s'effectue au minimum un jour sur deux. Les résultats sont exprimés en Unités Formant Colonies (UFC) par prélèvement et par m³ d'air, d'*Aspergillus* sp. et de champignons filamenteux.

2-1-3) Questionnaire : recherche de facteurs de risque de contamination aspergillaire et fongique environnementale

Il a pour objectif de recenser et tester l'influence sur la contamination fongique environnementale du secteur conventionnel de différents facteurs :

- l'**empoussièrément** pour les prélèvements de surface : ce facteur est évalué pour chaque prélèvement. En fonction de la présence ou l'absence de poussière observée à l'œil nu au niveau du site de prélèvement, une note, 0 (pas de poussière) ou 1 (présence de poussière) est attribuée à chaque prélèvement

- pour les chambres :

* la présence d'un patient **agranulocytaire** ou non puisque cet élément influence le comportement du personnel pour le secteur conventionnel de l'unité B (cf. chapitre consacré à la description du service d'hématologie)

* le **nombre de lits** par chambre

* le degré d'**encombrement** de la chambre avec des objets provenant de l'extérieur : en fonction du niveau d'encombrement de la chambre, au moment où les prélèvements sont réalisés, une note, 0 (chambre non encombrée) ou 1 (chambre encombrée) est affectée aux prélèvements réalisés dans cette pièce

* le **nombre de visiteurs** présents dans la chambre au moment de la réalisation des prélèvements

* la **fermeture ou ouverture de la porte** de la chambre des patients au moment de la réalisation des prélèvements

- la survenue d'événements à risque entre les différentes campagnes de prélèvements (travaux, modifications de l'effectif d'agents affectés à l'entretien, maintenance des filtres à air).

2-2) Suivi épidémiologique

• Méthodologie

Tous les cas d'AI ou d'ACN du CHU de Grenoble sont recensés depuis janvier 2000 dans le cadre de la «Cellule Aspergillose». Ce recensement suit une procédure qui a été validée par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) du CHU de Grenoble (cf. annexe procédure « Surveillance des cas d'aspergillose nosocomiale »). Il est permis grâce à la centralisation dans le service de Parasitologie-Mycologie des signes biologiques d'alerte aspergillaire c'est-à-dire, l'isolement de souches provenant de prélèvements biologiques de patients (biopsies de tissus, broncho-aspirations, lavages bronchioalvéolaires, nez, trachées,

crachats, etc.), la présence d'anticorps anti-aspergillaires ou d'antigénémies positives, mais également l'appel des cliniciens devant toute suspicion clinique.

Chaque alerte est suivie d'un appel téléphonique du service hébergeant le patient, à la recherche de facteurs de risque d'AI ou d'ACN. En présence de ces derniers, une enquête est réalisée à la recherche des signes radio-cliniques évocateurs, ainsi que du caractère nosocomial. Chaque cas retenu fait ensuite l'objet d'une validation collective par la «Cellule Aspergillose». Cette dernière existe depuis janvier 2000. Multidisciplinaire, elle est composée d'hygiénistes, de mycologues et des cliniciens les plus impliqués dans le suivi de ces patients. Elle se tient mensuellement. Après validation, chaque cas est classé en fonction de la probabilité diagnostique et de son caractère nosocomial.

Les cas d'AI sont classés conformément aux critères de l'EORTC, en AI prouvée, probable ou possible (cf. annexe procédure « Surveillance des cas d'aspergillose nosocomiale ») (32). Le critère sérologie aspergillaire n'est pas retenu comme critère microbiologique par l'EORTC, mais nous n'avons pas voulu écarté de l'étude les cas de patients avec sérologies positives isolées et les avons étudiés séparément.

L'origine des cas est classée en non nosocomiale, indéterminée ou nosocomiale probable, en fonction du moment d'apparition des signes cliniques et biologiques. Il n'existe actuellement pas de critère reconnu permettant d'affirmer le caractère nosocomial de l'AI, du fait de l'incertitude sur la période d'incubation. Les données de la littérature rapportent des durées oscillant entre quelques jours et trois mois (17, 65). La « Cellule Aspergillose » a donc élaboré un arbre décisionnel (cf. annexe procédure « Surveillance des cas d'aspergillose nosocomiale »). Elle considère une AI d'origine nosocomiale probable, une aspergillose dont les signes apparaissent après dix jours d'hospitalisation. Elle considère l'aspergillose d'origine indéterminée, si les signes sont survenus entre un et dix jours d'hospitalisation ou si le patient a été hospitalisé dans les trois mois précédents. En dehors de ces cas, l'AI est considérée comme non nosocomiale.

Pour l'ACN, il n'existe pas de critère reconnu permettant de classer cette affection. Les cas d'ACN sont donc classés en ACN prouvée, probable ou possible selon des critères élaborés par la « Cellule Aspergillose » (cf. annexe procédure « Surveillance des cas d'aspergillose nosocomiale »).

- **Expression des résultats**

Les résultats de l'étude épidémiologique sont exprimés en densité d'incidence (rapport du nombre de cas incidents au nombre de jours d'hospitalisation).

2-3) Analyse statistique

2-3-1) Suivi environnemental

Les données ont été enregistrées et analysées à l'aide du logiciel Epinfo® version 5.01.

L'analyse des prélèvements repose sur la comparaison entre les différents prélèvements, d'une part pour les surfaces et d'autre part pour l'air du :

- pourcentage de prélèvements (boîtes) positifs en *Aspergillus* sp. et en champignons filamenteux totaux. Le test statistique utilisé, pour les analyses bivariées, est le test du Khi2, avec correction de Yates en cas d'effectif attendu compris entre 3 et 5 et le test de Fisher, quand l'effectif attendu est inférieur à 3. Dans les chambres, du secteur conventionnel, une analyse multivariée étudiant l'influence de l'ensemble des facteurs sur la contamination (nombre de lits par chambre, empoussièrement, précautions relatives aux chambres des patients agranulocytaires, fermeture de la porte, encombrement et présence de visiteurs) est également réalisée, à l'aide d'une régression logistique.

- nombre moyen de colonies d'*Aspergillus* sp. et de champignons filamenteux, par prélèvement (boîte), par le test de Kruskal-Wallis.

2-3-2) Suivi épidémiologique

Les densités d'incidence sont comparées entre elles par le test du Khi2.

3) Résultats

3-1) Suivi environnemental

3-1-1) Récapitulatif des prélèvements réalisés – questionnaire

(cf. tableau 3)

Les prélèvements ont été réalisés entre le 10 octobre 2000 et le 30 avril 2001, soit environ 28 semaines.

Durant l'étude, 22 campagnes de prélèvements ont été réalisées : 6 campagnes de prélèvements dans le secteur protégé de l'unité B, 8 dans le secteur conventionnel de l'unité B et 8 dans l'unité C. Ceci représente un total de 822 prélèvements de surfaces, 259 pour le secteur protégé de l'unité B, 269 pour le secteur conventionnel de l'unité B et 294 pour l'unité C et un total de 166 prélèvements d'air, 60 pour l'unité C, 54 pour le secteur conventionnel de l'unité B et 52 pour le secteur protégé de l'unité B.

- **Evènements particuliers**

Des travaux hautement à risque de part leur proximité du service d'hématologie et leur nature (abattage de cloisons), ont été réalisés entre le 07/02/01 et le 06/03/01 au même étage mais géographiquement plus proche de l'unité B que de l'unité C.

Des modifications du personnel d'entretien des locaux ont été observées : deux nouveaux agents ont été présents du 02/01/01 au 15/04/01 et du 02/03/01 au 15/04/01.

Un changement des filtres à air du secteur protégé a eu lieu entre le 26 et le 28/03/01.

A chaque campagne, on retrouve la présence de cartons de matériel et solutés en attente de décartonnage au niveau du couloir du secteur conventionnel de l'unité B. On ne retrouve jamais de carton dans le couloir de l'unité C.

3-1-2) Niveau de contamination du secteur protégé

(cf. tableaux 4, 5, 6 et 7)

La totalité du secteur protégé (chambres et office infirmier) est exempte de toute contamination aspergillaire. Dans les chambres, la contamination en champignons filamenteux totaux est quasiment inexistante, à l'exception d'une seule colonie retrouvée dans un seul prélèvement d'air. Au niveau de l'office infirmier, seuls 2 prélèvements de surface sur 60 se révèlent positifs en champignons filamenteux ainsi qu'un prélèvement d'air.

Tableau 3

Récapitulatif des prélèvements réalisés

Lieu		Nombre de	Total	SPB	B	C
		campagnes	22	6	8	8
Toutes pièces confondues		pièces	83	26	27	30
		PS	822	259	269	294
		PA	166	52	54	60
Chambres		pièces	51	20	14	17
		PS	508	199	140	169
		PA	101	39	28	34
Couloirs		pièces	15	-	8 fois le même	7 fois le même
		PS	150	-	80	70
		PA	30	-	16	14
Pièces autres que chambres et couloirs		pièces	17	6 fois l'office	5 pièces différentes	6 pièces différentes
		PS	164	60	49	55
		PA	23	11	10	12
Facteur empoussièrément connu pour 517/563 prélèvements	Prélèvements empoussiérés	PS	436	-	15	66
	Prélèvements non empoussiérés	PS	81	-	233	203
Facteur nombre de lit connu pour 31/31 des chambres	Chambres à 1 lit	pièces	40	20	13	7
		PS	399	199	130	70
		PA	79	39	26	14
	Chambres à 2 lits	pièces	11	0	1	10
		PS	109	0	10	99
		PA	22	0	2	20
Facteur agranulocytose connu pour 29/31 chambres	Chambres patients non agranulocytaires	pièces	38	-	8	10
		PS	379	-	80	100
		PA	75	-	16	20
	Chambres patient agranulocytaires	pièces	11	-	5	6
		PS	109	-	50	59
		PA	22	-	10	12
Facteur porte ouverte / fermée connu pour 29/31 chambres	Chambres porte fermée	pièces	12	-	9	3
		PS	120	-	90	30
		PA	24	-	18	6
	Chambres porte ouverte	pièces	17	-	4	13
		PS	169	-	40	129
		PA	33	-	8	25
Facteur visiteur connu pour 22/31 chambres	Pas de visiteur	pièces	11	-	5	6
		PS	110	-	50	60
		PA	22	-	10	12
	1 visiteur	pièces	11	-	5	4
		PS	110	-	50	40
		PA	22	-	10	8
	2 visiteurs	pièces	2	-	0	2
		PS	20	-	0	20
		PA	4	-	0	4

SPB : secteur protégé unité B ; B : secteur conventionnel unité B ; C : unité C

PS : prélèvements de surface ; PA : prélèvements d'air

3-1-3) Niveau de contamination des secteurs conventionnels

- **Unité B :** (cf. tableaux 4, 5, 6 et 7).

Si très peu de chambres se révèlent contaminées en *Aspergillus*, aucune en surface et une seule dans l'air (7%) sur les 14 chambres prélevées, un nombre bien plus important de chambres est contaminé en champignons filamenteux totaux, 6 chambres sur 14 (43%) en surface et 7 sur 14 (50%) dans l'air.

Le couloir, lieu de passage des patients, se révèle très souvent contaminé en surface en *Aspergillus*, 5 campagnes sur 8 (63%) et constamment en champignons filamenteux, 8 campagnes sur 8 (100%).

- **Unité C :** (cf. tableaux 4, 5, 6 et 7).

Un nombre important de chambres est contaminé en *Aspergillus* en surface, 7 sur 17 (41%), beaucoup moins pour l'air, 2 sur 17 (12%). Une quantité de chambres encore plus conséquente est contaminée en champignons filamenteux, 14 sur 17 (82%) en surface et 10 sur 17 (59%) dans l'air.

Le couloir, à l'image de celui de l'unité B, est très souvent contaminé en surface en *Aspergillus*, 4 campagnes sur 7 (57%) et constamment en champignons filamenteux, 7 campagnes sur 7 (100%). L'air du couloir est également très fréquemment retrouvé contaminé en champignons filamenteux totaux, 6 campagnes sur 7 (86%).

3-1-4) Etude de l'influence de différents facteurs sur la contamination

Toutes les comparaisons ont été réalisées sur la base du pourcentage de prélèvements positifs (PPP) en *Aspergillus* sp. et en champignons filamenteux et du nombre moyen de colonies d'*Aspergillus* sp. et de champignons filamenteux par prélèvement (NMCP).

3-1-4-1) Etude de l'influence du secteur protégé

Nous avons comparé le secteur conventionnel et le secteur protégé seulement sur des pièces comparables et non pas toutes pièces confondues, afin d'écartier tout biais. La comparaison a donc été réalisée d'une part au niveau des chambres et d'autre part au niveau de l'office infirmier.

Tableau 4

Résultats contamination surfaces <i>Aspergillus</i>				
Sites	Mode expression résultats	SPB	B	C
Toutes pièces confondues	% prélèvements positifs	0/259=0%	14/269=5%	35/294=12%
	% pièces contaminées	0/26=0%	8/27=30%	15/30=50%
	NMC / prélèvement	0	0.12 [0.01-0.24]	0.46 [0-1.11]
	NMC / pièce	0	1.2 [0-2.6]	3.9 [0.38-7.4]
Chambres	% prélèvements positifs	0/199=0%	0/140=0%	17/169=6%
	% pièces contaminées	0/20=0%	0/14=0%	7/17=41%
	NMC / prélèvement	0	0	0.28 [0.03-0.52]
	NMC / pièce	0	0	2.8 [0-5.9]
Couloir	% prélèvements positifs	-	7/80 = 9%	8/70=11%
	% pièces contaminées	-	5/8=63%	4/7=57%
	NMC / prélèvement	-	0.13 [0.07-0.39]	0.19 [0.08-0.30]
	NMC / pièce	-	1.3 [0.2-2.3]	1.9 [0.4-3.3]
Autres pièces	% prélèvements positifs	0/60=0%	7/49=14%	6/45=13%
	% pièces contaminées	0/6=0%	3/5=60%	4/6=67%
	NMC / prélèvement	0	0.47 [0-1.1]	0.2 [0.01-0.35]
	NMC / pièce	0	4.6 [0-11.7]	9.3 [0-24.6]

SPB : secteur protégé unité B ; B : secteur conventionnel unité B ; C : unité C, NMC : nombre moyen de colonies

Tableau 5

Résultats contamination surfaces champignons filamenteux				
Sites	Mode expression résultats	SPB	B	C
Toutes pièces confondues	% prélèvements positifs	2/259=1%	45/269=17%	84/294=29%
	% pièces contaminées	2/26=8%	19/27=70%	27/30=90%
	NMC / prélèvement	0.02 [0-0.06]	0.46 [0.26-0.66]	1.5 [0.86-2.21]
	NMC / pièce	0.2 [0-0.56]	4.6 [1.9-7.3]	15 [7.3-22.7]
Chambres	% prélèvements positifs	0/199=0%	8/140=6%	40/169=24%
	% pièces contaminées	0	6/14=43%	14/17=82%
	NMC / prélèvement	0	0.07 [0.02-0.14]	1.07 [0.25-1.9]
	NMC / pièce	0	0.7 [0.1-1.3]	10.6 [2.3-18.9]
Couloirs	% prélèvements positifs	-	20/80=25%	25/70=36 %
	% pièces contaminées	-	8/8=100%	7/7=100%
	NMC / prélèvement	-	0.73 [0.36-1.1]	1.46 [0.04-2.9]
	NMC / pièce	-	7.3 [3.5-11]	14.3 [0.9-27.7]
Autres pièces	% prélèvements positifs	2/60=3%	7/49=14%	6/45=13%
	% pièces contaminées	2/6=33%	5/5=100%	6/6=100%
	NMC / prélèvement	0.1 [0-0.24]	1.14 [0-3.7]	2.2 [0-11.6]
	NMC / pièce	1 [0.58-1.42]	11.2 [0.2-22.2]	28.2 [2-54.3]

Tableau 6

Résultats contamination air <i>Aspergillus</i>				
Sites	Mode expression résultats	SPB	B	C
Toutes pièces confondues	% prélèvements positifs	0/50=0%	2/54=4%	4/60=7%
	% pièces contaminées	0/26=0%	2/27=7%	4/30=13%
	NMC / prélèvement	0	0.04 [0-0.09]	0.07 [0-0.13]
	NMC / m ³	0	0.07 [0-0.1]	0.13 [0-0.26]
Chambres	% prélèvements positifs	0/39=0%	1/28=4%	2/34=6%
	% pièces contaminées	0/20=0%	1/14=7%	2/17=12%
	NMC / prélèvement	0	0.04 [0-0.11]	0.06 [0-0.12]
	NMC / m ³	0	0.07 [0-0.21]	0.12 [0-0.28]
Couloir	% prélèvements positifs	-	m ³	2/14=14%
	% pièces contaminées	-	1/8=13%	2/7=29%
	NMC / prélèvement	-	0.06 [0-0.19]	0.14 [0.17-0.48]
	NMC / m ³	-	0.13 [0-0.38]	0.29 [0-0.65]
Autres pièces	% prélèvements positifs	0/11=0%	0	0
	% pièces contaminées	0/6=0%	0/5=0%	0/6=0%
	NMC / prélèvement	0	0	0
	NMC / m ³	0	0	0

SPB : secteur protégé unité B ; B : secteur conventionnel unité B ; C : unité C, NMC : nombre moyen de colonies

Tableau 7

Résultats contamination air champignons filamenteux				
Sites	Mode expression résultats	SPB	B	C
Toutes pièces Confondues	% prélèvements positifs	2/50=4%	15/54=29%	28/60=47%
	% pièces contaminées	2/26=8%	12/27=44%	18/30=60%
	NMC / prélèvement	0.04 [0-0.1]	0.43 [0.2-0.65]	1.92 [0-4.06]
	NMC / m ³	0.08 [0-0.18]	0.82 [0.35-1.28]	3.77 [0-8.03]
Chambres	% prélèvements positifs	1/39=3%	9/28=32%	13/34=38%
	% pièces contaminées	1/20=5%	7/14=50%	10/17=59%
	NMC / prélèvement	0.03 [0-0.08]	0.61 [0.21-1]	0.47 [0.25-0.69]
	NMC / m ³	0.05 [0-0.15]	0.94 [0.45-1.4]	1.21 [0.41-2]
Couloirs	% prélèvements positifs	-	9/16=6%	2/14=14%
	% pièces contaminées	-	3/8=38%	6/7=86%
	NMC / prélèvement	-	0.25 [0.03-0.46]	6.57 [0-15.5]
	NMC / m ³	-	0.5 [0-1.2]	12.9 [0-30.3]
Autres pièces	% prélèvements positifs	1/11=9%	2/10=20%	3/12=25%
	% pièces contaminées	1/6=17%	2/5=40%	2/6=33%
	NMC / prélèvement	0.09 [0-0.27]	0.2 [0-0.46]	0.58 [0-1.3]
	NMC / m ³	0.17 [0.08-0.73]	0.4 [0-0.88]	1.17 [0-3.09]

- **Les chambres** (cf. tableau 8, figure 1)

Au niveau des surfaces, le secteur protégé est significativement moins contaminé que le secteur conventionnel au niveau de la contamination aspergillaire ($p < 10^{-3}$ PPP et NMCP) et fongique totale ($p < 10^{-7}$ PPP et $p = 0$ NMCP).

Au niveau de l'air, le secteur protégé est à nouveau significativement moins contaminé en champignons filamenteux totaux que le secteur protégé ($p < 10^{-3}$ PPP et NMCP). Mais il n'existe pas de différence significative entre les deux secteurs pour la contamination aspergillaire.

- **L'office infirmier** : (cf. tableau 8, figure 1)

Au niveau des surfaces, la contamination fongique totale est significativement moins importante dans le secteur protégé par rapport au secteur conventionnel ($p < 10^{-2}$ PPP et NMCP). Mais on n'observe pas de différence dans la contamination aspergillaire entre les deux secteurs. Il faut souligner que l'effectif des prélèvements de l'office infirmier du secteur conventionnel est faible (19 prélèvements contre 60 pour le secteur protégé), d'où le très probable manque de puissance du test.

Nous n'avons pas pu réaliser de comparaison au niveau de l'air car l'effectif de prélèvements est trop faible.

3-1-4-2) Etude du secteur conventionnel

3-1-4-2-1) Le facteur « Unité » (cf. tableau 9, figures 2, 3 et 4)

Différentes catégories de pièces composent ces services, les chambres, les couloirs et autres pièces. Ces trois catégories de pièces diffèrent énormément entre elles pour de multiples raisons, d'où le risque de biais si l'on réalise une comparaison des deux unités toutes pièces confondues. Nous avons donc comparé l'unité B et l'unité C au niveau de pièces comparables c'est-à-dire au niveau des chambres, au niveau des couloirs et au niveau des autres pièces. Nous avons regroupé les autres pièces dans un même groupe, sans introduire de biais car exactement le même type de pièce a été prélevé le même nombre de fois dans les deux unités, (à l'exception d'une pièce supplémentaire pour l'unité C que nous avons enlevée de la comparaison).

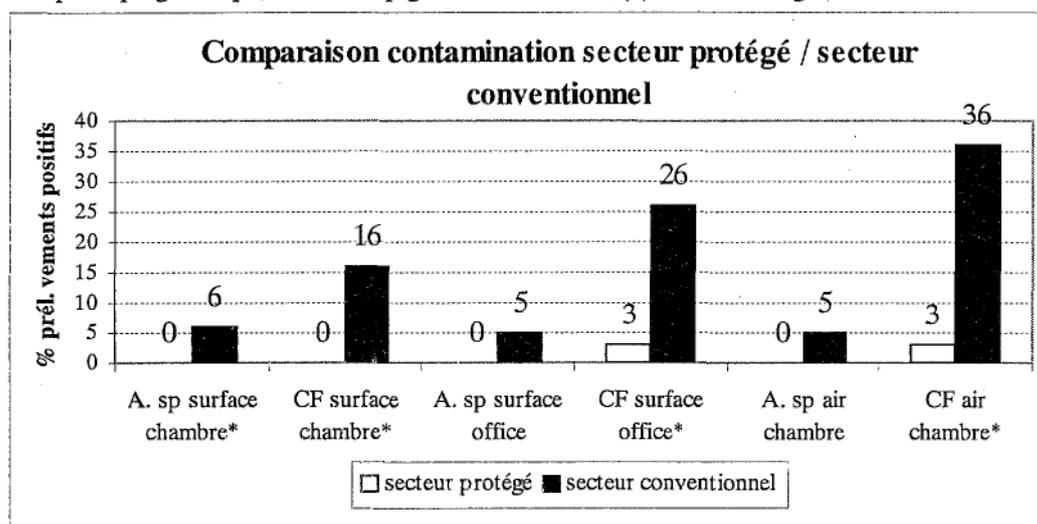
Tableau 8

Comparaison contamination secteur protégé / secteur conventionnel									
Type pièce	Nature prélèvements	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
			SPB	SC	RR	p<	SPB	SC	p<
Chambres	Surfaces	Aspergillaire	0% n=199	6% n=309	22.6 [13.2-38.7]	10^{-3}	0	0.15 [0-0.28]	10^{-3}
		CF	0% n=199	16% n=309	62.6 [49.4-79.2]	10^{-7}	0	0.62 [0.17-1.1]	0
	Air	Aspergillaire	0% n=39	5% n=62	impossible	0.3 NS	0	0.05 [0-0.11]	0.2 NS
		CF	3% n=39	36% n=62	13.8 [1.9-98.6]	10^{-3}	0.03 [0-0.08]	0.5 [0.3-0.8]	10^{-3}
Offices infirmiers	Surfaces	Aspergillaire	0% n=60	5% n=19	impossible	0.2 NS	0	0.053 [0-0.16]	0.07 NS
		CF	3% n=60	26% n=19	7.9 [1.7-37.4]	10^{-2}	0.1 [0-0.24]	0.37 [0.1-0.64]	10^{-2}

SPB : secteur protégé unité B ; SC : secteur conventionnel unité B et C réunies
 CF : champignons filamenteux, RR : risque relatif

Figure 1

A. sp : Aspergillus sp. ; CF : champignons filamenteux, (*) différence significative



- **Dans les chambres** (cf. tableau 9, figure 2)

Au niveau des surfaces, l'unité C est significativement plus contaminée que l'unité B en *Aspergillus* sp. ($p < 10^{-3}$ PPP et $p < 0.01$ NMCP) et en champignons filamenteux totaux ($p < 10^{-4}$ PPP et $p < 10^{-5}$ NMCP).

En revanche, dans l'air, il n'existe pas de différence significative entre les deux unités au niveau des deux types de contamination, aspergillaire et fongique totale.

- **Dans les couloirs** (cf. tableau 9, figure 3)

Au niveau des surfaces, on n'observe pas de différence significative au niveau des deux types de contamination entre les deux unités.

Au niveau de l'air, il n'existe pas de différence significative au niveau de la contamination aspergillaire. En revanche, pour la contamination fongique totale, l'unité C est significativement plus contaminée que l'unité B ($p < 10^{-3}$ PPP et NMCP).

- **Dans les autres pièces** (cf. tableau 9, figure 4)

Au niveau des surfaces comme de l'air, on n'observe pas de différence significative au niveau des deux types de contamination, aspergillaire et fongique totale, entre l'unité B et l'unité C.

3-1-4-2-2) Le facteur « Précautions relatives aux chambres des patients agranulocytaires » (cf. tableau 10, figure 5)

Nous l'avons évoqué dans le chapitre consacré à la description du service d'hématologie, les habitudes des services relatives aux chambres hébergeant des patients agranulocytaires diffèrent entre le secteur conventionnel de l'unité B et l'unité C. En effet au niveau de l'unité B seulement, des précautions particulières sont observées dans les chambres des patients agranulocytaires. Ces mesures comprennent le placement des patients en chambre à un lit, le maintien de la porte fermée en permanence, la limitation du nombre de visiteurs à deux maximum, le nettoyage des mains et le port d'un masque pour y accéder.

Afin d'évaluer l'influence de ces mesures sur la contamination fongique environnementale, nous aurions pu comparer la contamination des chambres des patients agranulocytaires de l'unité B, à toutes les autres (chambres des patients non agranulocytaires de l'unité B et toutes les chambres de l'unité C). Mais cette comparaison peut comporter un biais. Nous remarquons en effet que des patients non agranulocytaires de l'unité B et des patients de l'unité C peuvent être également hébergés dans des chambres à un lit, l'une des mesures de précaution observées dans les chambres des patients agranulocytaires de l'unité B.

Tableau 9

Comparaison contamination secteur conventionnel : unité B / unité C

Type pièce	Nature prélèvements	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvements		
			B	C	RR	p≤	B	C	p≤
Chambres	Surfaces	Aspergillaire	0% n=140	10% n=169	29 [18-46.5]	10⁻³	0	0.28 [0.03-0.52]	0.01
		CF	6% n=140	24% n=169	4.1 [2-8.6]	10⁻⁴	0.07 [0.02-0.14]	1.07 [0.25-1.88]	10⁻⁵
	Air	Aspergillaire	4% n=28	6% n=34	1.65 [0.2-17.2]	1 NS	0.04 [0-0.11]	0.06 [0-0.12]	0.7 NS
		CF	32% n=28	38% n=34	1.2 [0.6-2.36]	0.7 NS	0.61 [0.21-1]	0.47 [0.25-0.69]	0.9 NS
Couloirs	Surfaces	Aspergillaire	9% n=80	11% n=70	1.3 [0.5-3.4]	0.6 NS	0.13 [0.07-0.39]	0.19 [0.08-0.30]	0.5 NS
		CF	25% n=80	36% n=70	1.4 [0.9-2.3]	0.2 NS	0.73 [0.36-1.1]	1.46 [0.04-2.88]	0.2 NS
	Air	Aspergillaire	6% n=16	14% n=14	2.3 [0.2-22.5]	0.6 NS	0.06 [0-0.19]	0.14 [0.17-0.48]	0.5 NS
		CF	25% n=16	86% n=14	3.4 [1.4-8.2]	10⁻³	0.25 [0.03-0.46]	6.57 [0-15.5]	10⁻³
Autres pièces	Surfaces	Aspergillaire	14% n=49	13% n=45	0.9 [0.3-2.6]	0.9 NS	0.47 [0-1.08]	0.18 [0.01-0.35]	0.7 NS
		CF	35% n=49	33% n=45	1.04 [0.59-1.83]	0.9 NS	1.143 [0-3.7]	2.178 [0-11.55]	0.9 NS
	Air	Aspergillaire	0% n=10	0% n=12	-	NS	0	0	NS
		CF	20% n=10	25% n=12	1.3 [0.3-6.1]	1 NS	0.2 [0-0.46]	0.58 [0-1.3]	0.7 NS

Figure 2 (* différence significative)

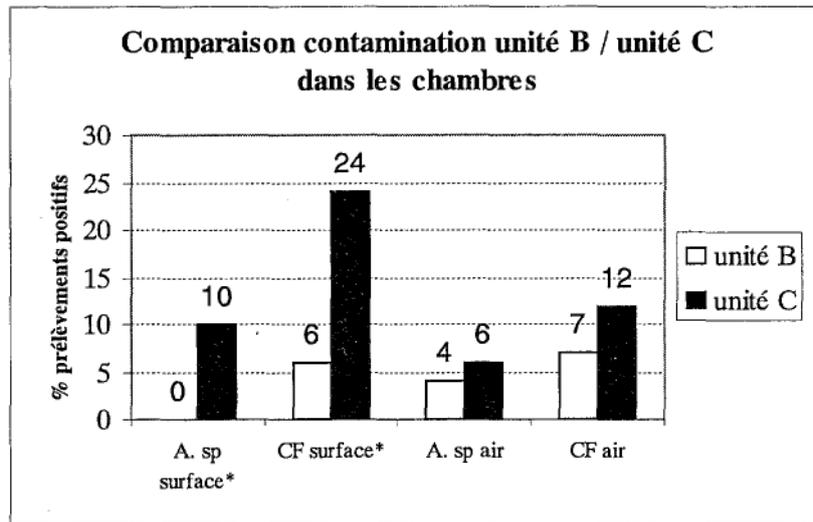


Figure 3 (* différence significative)

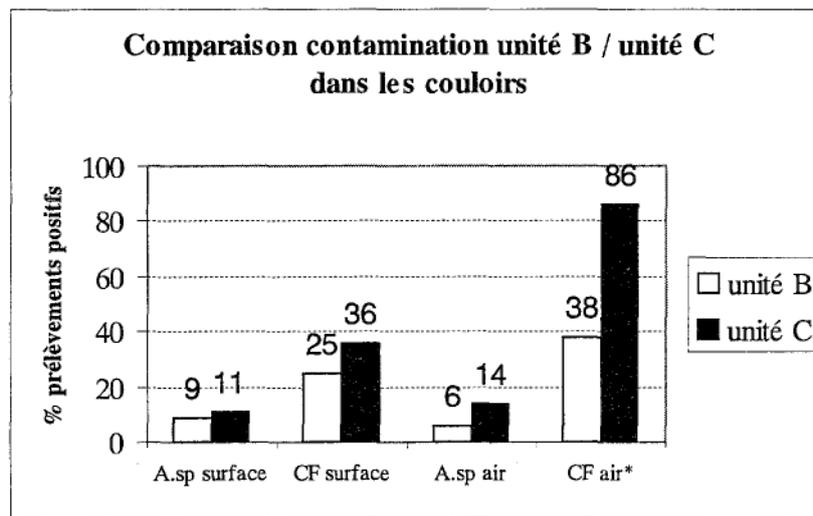
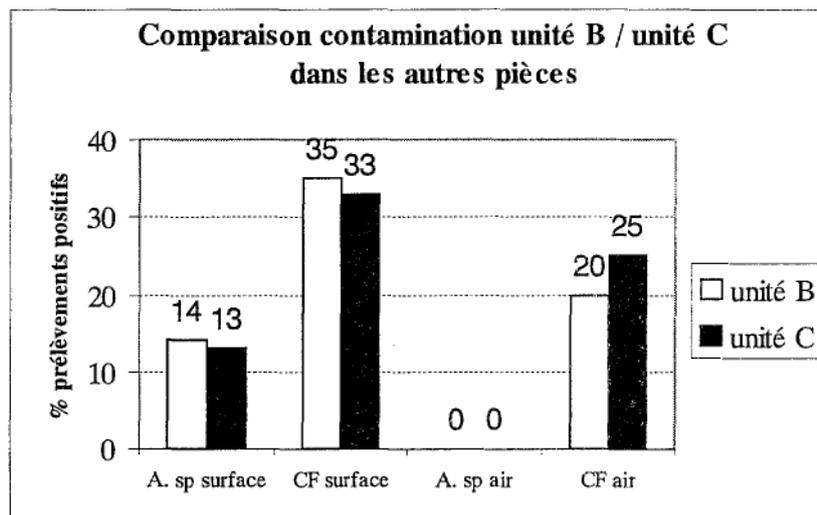


Figure 4 (* différence significative)



Afin de supprimer ce biais, nous avons dissocié l'étude de l'influence des mesures de prévention autres que le placement en chambre à un lit, de celle de ce dernier, qui sera étudié ultérieurement dans un chapitre spécifique.

Afin d'étudier l'influence des mesures de prévention autres que le placement en chambre à un lit, nous avons limité la comparaison à toutes les chambres à un lit. Nous avons donc comparé la contamination des chambres des patients agranulocytaires de l'unité B, à toutes les autres chambres à un lit (chambres à un lit des patients non agranulocytaires de l'unité B et toutes les chambres à un lit de l'unité C).

Au niveau des surfaces, nous n'observons pas de différence significative au niveau de la contamination aspergillaire et de la contamination fongique totale (cf. tableau 10).

En revanche, au niveau de l'air, nous observons une différence significative mais seulement pour la contamination fongique totale ($p < 0.05$ PPP et NMCP). Nous soulignons cependant que les effectifs comparés sont très faibles.

3-1-4-2-3) Le facteur « Nombre de lits »

(cf. tableaux 11, 12 et 13, figures 6, 7 et 8)

- **Surfaces :**

Les résultats obtenus ci-dessus ont montré que les mesures de prévention autres que le placement en chambre à un lit, n'ont pas d'influence significative sur la contamination des surfaces. Devant ces résultats, afin d'étudier l'effet du seul placement en chambre à un lit, nous avons pu nous permettre de comparer toutes les chambres à un lit (en regroupant les chambres de l'unité B des patients agranulocytaires, les chambres à un lit de l'unité B des patients non agranulocytaires et les chambres à un 1 lit de l'unité C) et les comparer aux chambres à deux lits.

Les deux unités confondues, les chambres à deux lits sont significativement plus contaminées que les chambres à un lit, en *Aspergillus* ($p < 10^{-6}$ PPP et $p = 0$ NMCP) et en champignons filamenteux totaux ($p < 10^{-7}$ PPP et $p = 0$ NMCP) (cf. tableau 11).

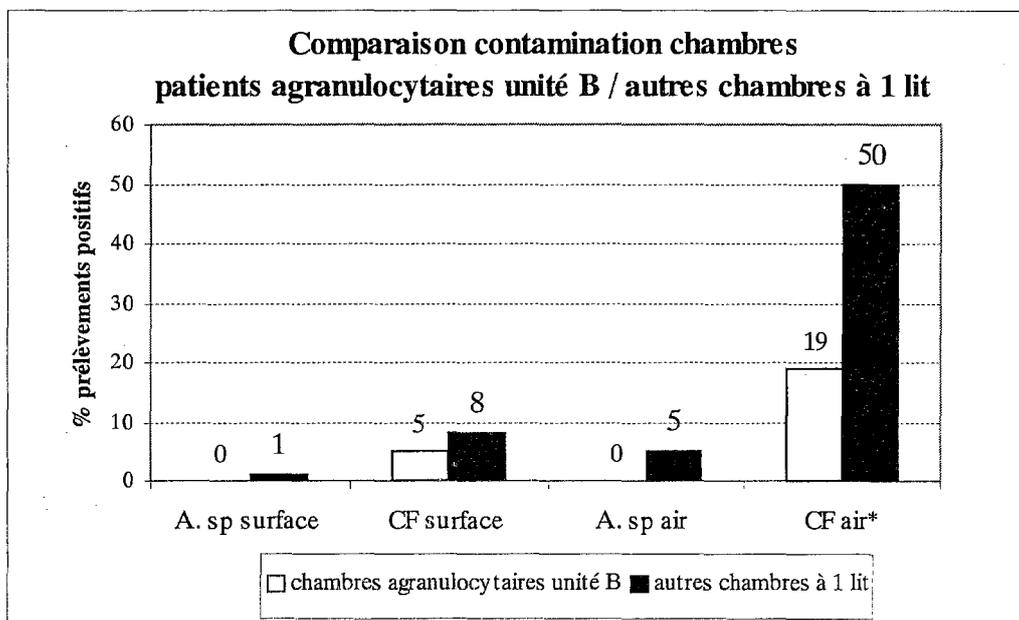
Mais il s'agit d'être prudent face à ce résultat. En effet très peu de prélèvements dans les chambres à deux lits ont été réalisés au niveau de l'unité B, seulement 10 sur 140, 90% des prélèvements des chambres à deux lits proviennent donc de l'unité C. Or nous avons observé précédemment une différence de contamination entre les chambres de l'unité B et de l'unité C. Nous sommes peut-être en présence d'un biais. Pour le vérifier nous avons comparé la contamination des chambres à un et à deux lits dans chaque unité, afin de vérifier si l'influence du nombre de lits persiste.

Tableau 10

**Comparaison contamination secteur conventionnel :
chambres patients agranulocytaires unité B / autres chambres à 1 lit unités B et C**

Nature prélèvements	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
		chambres B agranulocytaires	autres chambres 1 lit	RR	p≤	chambres B agranulocytaires	autres chambres 1 lit	p≤
Surfaces	Aspergillaire	0% n=80	1% n=110	impossible	1 NS	0	0.01 [0-0.03]	0.4 NS
	CF	5% n=80	8% n=110	1.6 [0.5-5.1]	0.4 NS	0.08 [0-0.16]	0.11 [0.02-0.20]	0.4 NS
Air	Aspergillaire	0% n=16	5% n=22	impossible	1 NS	0	0.05 [0.01-0.44]	0.4 NS
	CF	19% n=16	50% n=22	2.7 [0.9-8]	0.05	0.25 [0-0.53]	0.82 [0.36-1.28]	0.05

Figure 5 (* différence significative)



Au sein de l'unité C, les chambres à deux lits sont significativement plus contaminées que les chambres à un lit, aussi bien en *Aspergillus* ($p < 10^{-2}$ PPP et $p < 10^{-3}$ NMCP) qu'en champignons filamenteux totaux ($p < 10^{-3}$ PPP et NMCP) (cf. tableau 11, figure 6). Malheureusement cette comparaison n'a pas pu être réalisée au niveau de l'unité B, à défaut de prélèvements dans les chambres à deux lits (10 prélèvements dans les chambres à deux lits versus 130 dans les chambres à un lit).

En raison de la différence dans le nombre de prélèvements réalisés dans les chambres à un et deux lits entre les deux unités, nous avons recherché si le facteur nombre de lits ne constituait pas le facteur explicatif de la différence de contamination entre les deux unités. Nous avons donc comparé la contamination des deux unités dans des chambres à nombre de lits équivalent, afin de vérifier si la différence entre les deux unités persiste (cf. tableau 12 et figure 7).

Dans les chambres à un lit, on n'observe plus de différence significative entre les deux unités pour les deux types de contamination (cf. tableau 12 et figure 7). Malheureusement nous n'avons pas pu réaliser cette comparaison dans les chambres à deux lits, à nouveau à défaut de prélèvements réalisés dans les chambres de l'unité B. En effet la comparaison de l'unité B à l'unité C dans les chambres à deux lits s'effectuerait entre 10 prélèvements seulement (pour l'unité B) et 99 (pour l'unité C) et l'on manque terriblement de puissance pour conclure.

Au vu de ces résultats il apparaît que les chambres à deux lits de l'unité C sont significativement plus contaminées que les chambres à un lit de cette même unité et que la contamination de ces dernières ne diffère pas de celle des chambres à un lit de l'unité B.

- **Air :** (cf. tableau 13 et figure 8)

Nous avons montré précédemment une différence dans la contamination fongique totale de l'air, entre les chambres des patients agranulocytaires de l'unité B (associées à des mesures de prévention autres que le placement en chambre à un lit) et toutes les autres chambres à un lit. Pour n'étudier que l'effet du nombre de lits, sans prendre en compte l'influence des autres mesures de prévention, nous avons donc comparé les chambres à un lit autres que les chambres des patients agranulocytaires de l'unité B (c'est-à-dire les chambres à un lit des patients non agranulocytaires de l'unité B associées aux chambres à un lit de l'unité C), aux chambres à deux lits. Etant donné qu'il n'existe pas de différence entre la contamination de l'air des chambres des unités B et C, nous n'introduisons pas de biais lié au fait que la majorité des prélèvements des chambres à deux lits proviennent de l'unité C.

Il n'existe pas de différence significative entre les chambres à un lit (non assorties des mesures de prévention relatives à l'agranulocytose) et les chambres à deux lits, au niveau de la contamination aspergillaire et fongique totale. Mais nous soulignons que les effectifs sont faibles et que par conséquent, l'on manque de puissance.

Tableau 11

Comparaison contamination secteur conventionnel surfaces : chambres à 1 lit / chambres à 2 lits								
Lieu	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
		1 lit	2 lits	RR	p≤	1	2	p≤
Toutes unités confondues	Aspergillaire	1% n=200	15% n=109	29.4 [4-218]	10^{-6}	0.005 [0.001-0.01]	0.42 [0.28-0.56]	0
	CF	7% n=200	31% n=109	4.5 [2.5-7.9]	10^{-7}	0.09 [0.07-0.12]	1.57 [0.96-2.18]	0
Unité C	Aspergillaire	1% n=70	16% n=99	11.3 [1.5-83.3]	10^{-2}	0.01 [0-0.04]	0.47 [0.15-0.79]	10^{-3}
	CF	10% n=70	33% n=99	3.3 [1.57-7.1]	10^{-3}	0.14 [0.03-0.25]	1.7 [0.33-3.1]	10^{-3}
Unité B	Aspergillaire	0% n=130	0% n=10		manque puissance	0	0	manque puissance
	CF	5% n=130	10% n=10		manque puissance	0.07 [0.01-0.13]	0.1	manque puissance

Tableau 12

Comparaison contamination secteur conventionnel surfaces : chambres unité B/ unité C, en fonction du nombre de lits / chambre								
Nombre de lit par chambre	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
		B	C	RR	p≤	B	C	p≤
Chambres à 1lit	Aspergillaire	0% n=130	1% n=70	5.5 impossible	0.4 NS	0	0.01 [0-0.04]	0.2 NS
	CF	5% n=130	10% n=70	1.9 [0.78-5.1]	0.3 NS	0.07 [0.01-0.13]	0.14 [0.03-0.25]	0.2 NS
Chambres à 2 lits	Aspergillaire	0% n=10	16% n=99	3.6 [0.4-37.7]	manque puissance	0	0.47 [0.15-0.79]	manque puissance
	CF	10% n=10	33% n=99	3.3 [0.5-21.85]	manque puissance	0.1	1.7 [0.33-3.1]	manque puissance

Tableau 13

**Comparaison contamination secteur conventionnel air :
chambres 1 lit (autres que chambres patients agranulocytaires unité B) / chambres 2 lits**

Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
	1 lit	2 lits	RR	p≤	1 lit	2 lits	p≤
Aspergillaire	5% n=22	1% n=19	2.3 [0.2-23.6]	0.6 NS	0.05 [0-0.13]	0.11 [0.17-0.24]	0.5 NS
CF	50% n=22	42% n=19	0.8 [0.4-1.7]	0.70 NS	0.82 [0.36-1.26]	0.58 [0.23-0.57]	0.6 NS

Figure 6 (* différence significative)

Figure 7

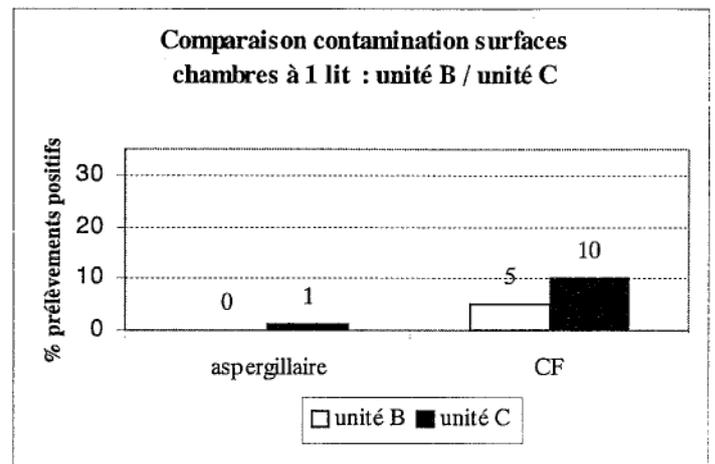
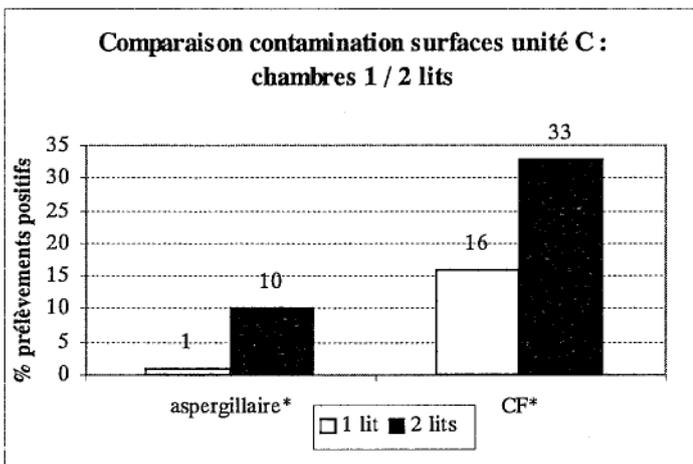
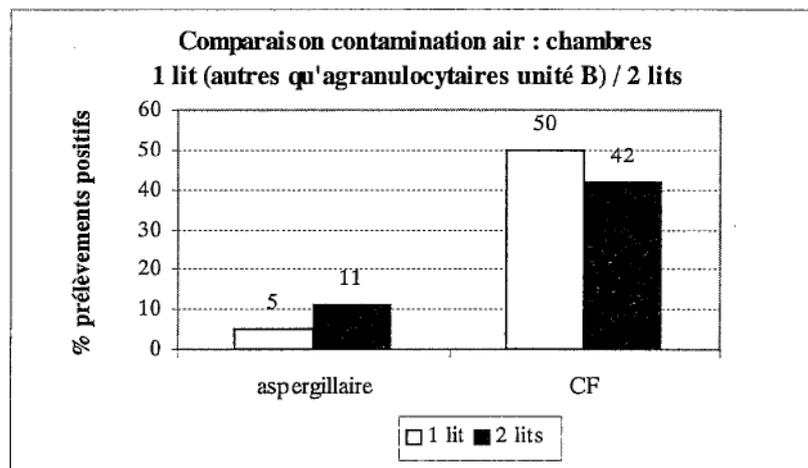


Figure 8



3-1-4-2-4) Le facteur «Empoussièremment»

(cf. tableau 14, figure 9)

Toutes pièces confondues, les prélèvements empoussiérés sont significativement plus contaminés que les prélèvements non empoussiérés au niveau de la contamination aspergillaire ($p < 10^{-5}$ PPP et NMCP) et fongique totale ($p < 10^{-4}$ PPP $p < 10^{-5}$ et NMCP). Les mêmes résultats sont observés au niveau des chambres.

Relation facteur « Empoussièremment » / facteur « Nombre de lits »

(cf. tableaux 14, 15, 16)

Nous avons recherché si le facteur empoussièremment ne permet pas d'expliquer la différence de contamination des surfaces que nous venons de mettre en évidence entre les chambres à un lit (des unités B et C réunies) et les chambres à deux lits de l'unité C. Les chambres à deux lits de l'unité C sont justement significativement plus empoussiérées que les chambres à un lit (unité B et C réunies) ($p < 10^{-5}$) (cf. tableau 15). Nous avons donc comparé la contamination des chambres à un lit (unité B et C réunies) aux chambres à deux lits de l'unité C dans des chambres à empoussièremment équivalent, afin de vérifier si l'influence du nombre de lits persiste (cf. tableau 16).

Dans les chambres empoussiérées, on n'observe pas de différence significative au niveau de la contamination aspergillaire et fongique totale entre les chambres à un lit (unités B et C réunies) et les chambres à deux lits de l'unité C (cf. tableau 16). Mais il faut souligner que les effectifs sont faibles et que l'on manque par conséquent de puissance. En revanche dans les chambres non empoussiérées, la différence entre les chambres à un et à deux lits persiste, au niveau des deux types de contamination aspergillaire ($p < 10^{-2}$ PPP) et fongique totale ($p < 10^{-6}$ PPP). Il est donc difficile de se prononcer sur la responsabilité de l'empoussièremment dans la différence de contamination entre les chambres à un et à deux lits.

Suspectant un biais dans l'influence de l'empoussièremment sur la contamination, nous avons recherché si la différence entre les prélèvements empoussiérés et les prélèvements non empoussiérés persiste dans des chambres à nombre de lits équivalent (cf. tableau 14). Au niveau des chambres à un lit, les prélèvements empoussiérés, sont significativement plus contaminés que les prélèvements non empoussiérés en champignons filamenteux totaux ($p < 0.03$ PPP et $p < 0.02$ NMCP). En revanche pour la contamination aspergillaire, nous retrouvons une différence significative seulement pour le NMCP ($p < 10^{-2}$) et non pas pour le PPP. Mais nous soulignons que l'effectif de prélèvements empoussiérés dans les chambres à un lit est réduit, on manque donc de puissance. Dans les chambres à deux lits, on ne retrouve pas de différence significative entre les prélèvements empoussiérés et les prélèvements non empoussiérés.

Devant ces derniers résultats, nous avons craint l'existence d'un biais : les prélèvements empoussiérés ne seraient-ils pas « faussement » plus contaminés parce qu'ils sont associés à des chambres à deux lits ? Nous avons donc recherché si dans les couloirs et autres pièces, on retrouve une influence de l'empoussièremment sur la contamination, afin de supprimer l'influence du nombre de lits. Nous avons regroupé les prélèvements des couloirs et autres pièces et à nouveau comparé la contamination des prélèvements empoussiérés aux prélèvements non empoussiérés (cf. tableau 14).

Tableau 14

Comparaison contamination secteur conventionnel surfaces : prélèvements empoussiérés / non empoussiérés								
Lieu	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
		Non Empoussiérés	Empoussiérés	RR	p≤	Empoussiérés	Non empoussiérés	p≤
Toutes pièces confondues	Aspergillaire	7% n=436	23% n=81	3.5 [2.1-5.9]	10⁻⁵	0.50 [0.33-0.67]	4.1 [1.84-6.36]	10⁻⁵
	CF	19% n=436	40% n=81	2.1 [1.5-2.9]	10⁻⁴	0.14 [0.05-0.23]	1.33 [1.06-1.61]	10⁻⁵
Chambres	Aspergillaire	4% n=237	14% n=52	2.1 [1.5-2.9]	0.02	0.09 [0.01-0.17]	0.48 [0-1]	0.01
	CF	12% n=237	27% n=52	2.2 [1.3-3.9]	10⁻²	0.30 [0.09-0.51]	2.06 [0-4.51]	0.004
Chambres à 1 lit	Aspergillaire	0% n=170	5% n=20	-	NS	0	0.05 [0-0.15]	10⁻²
	CF	5% n=170	20% n=20	3.8 [1.3-11.2]	0.03	0.07 [0.02-0.12]	0.30 [0.07-0.53]	0.02
Chambres à 2 lits	Aspergillaire	15% n=67	19% n=32	1.3 [0.5-3.2]	NS	0.33 [0.07-0.58]	0.75 [0-1.59]	0.6 NS
	CF	30% n=67	31% n=32	1.1 [0.6-2]	NS	0.88 [0.16-1.6]	3.16 [0-7.1]	0.6 NS
Couloirs + autres pièces	Aspergillaire	10% n=199	59% n=29	4.3 [2.4-8]	10⁻⁴	0.19 [0-0.39]	2.9 [0-17.9]	10⁻⁵
	CF	27% n=199	66% n=29	2.4 [1.7-3.4]	10⁻⁴	0.73 [0.17-1.29]	7.69 [0-59.69]	10⁻⁶

Tableau 15

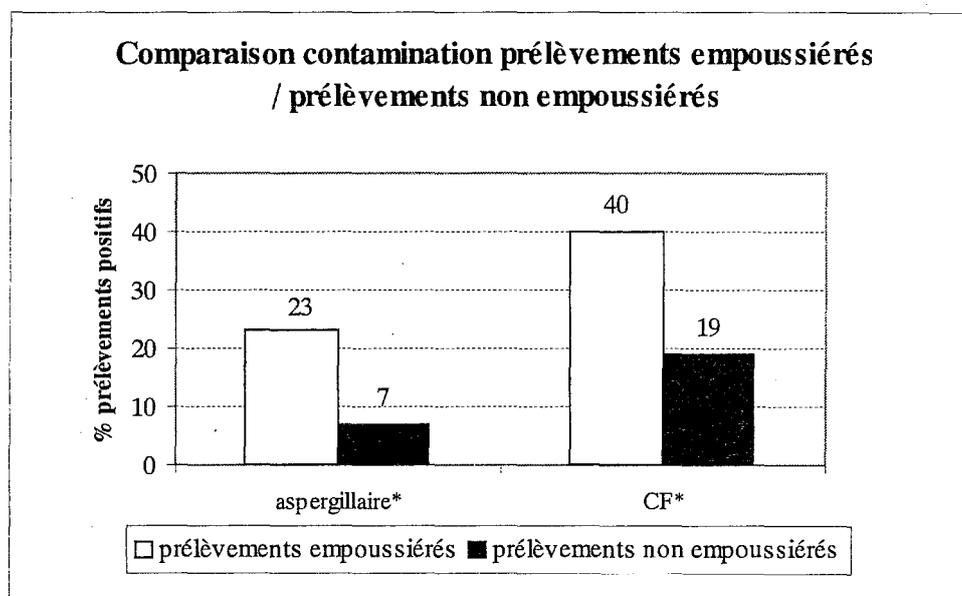
Association prélèvements empoussiérés / chambres à 1 et à 2 lits				
Lieu	Pourcentage de prélèvements empoussiérés			
	chambres à 1 lit (B et C)	chambres à 2 lits C	RR	p≤
Toutes unités	11% 20/190	34% 30/89	2.9 [1.7-4.8]	10⁻⁴

Tableau 16

**Comparaison contamination secteur conventionnel surfaces chambres :
1 lit (unité B et C) / 2 lits (unité C) en fonction de l'empoussièrment des chambres**

Lieu	Nature contamination	Pourcentage de prélèvement positifs			
		chambres à 1 lit (B et C)	chambres à 2 lits C	RR	p≤
Chambres empoussiérées	Aspergillaire	5% n=20	20% n=30	4 [0.52-30.8]	NS
	CF	20% n=20	33% n=30	1.25 [0.45-3.49]	NS
Chambres non empoussiérées	Aspergillaire	0% n=170	17% n=59	-	10 ⁻⁶
	CF	5% n=170	32% n=59	6.08 [2.91-12.70]	10 ⁻⁶

Figure 9



Les prélèvements empoussiérés se révèlent significativement plus contaminés que les prélèvements non empoussiérés au niveau de la contamination aspergillaire ($p < 10^{-4}$ PPP et $p < 10^{-5}$ NMCP) et de la contamination fongique totale ($p < 10^{-4}$ PPP et $p < 10^{-6}$ NMCP). Nous écartons donc le biais : les prélèvements empoussiérés sont réellement plus contaminés que les prélèvements non empoussiérés.

3-1-4-2-5) Le facteur « Encombrement »

(cf. tableau 17)

Aucune différence significative n'est observée entre la contamination aspergillaire et fongique totale des prélèvements des chambres encombrées et ceux des chambres non encombrées, au niveau des surfaces comme de l'air.

3-1-4-2-6) Le facteur « Visiteur »

(cf. tableaux 18)

- **Surfaces :**

Les chambres associées à la présence de deux visiteurs **au moment de la réalisation des prélèvements** sont significativement plus contaminées en *Aspergillus* que les chambres ne comprenant pas de visiteur ou associées à la présence d'un seul visiteur ($p < 0.05$). Les mêmes résultats sont observés pour la contamination fongique totale ($p < 0.02$ pour 2 visiteurs / 0 visiteur et $p < 0.001$ pour 2 visiteurs / 1 visiteur). En revanche il n'existe pas de différence significative dans la contamination aspergillaire et fongique totale entre les chambres sans visiteur et les chambres comprenant un seul visiteur.

- **Air :**

Il n'existe pas de différence significative entre les chambres comprenant aucun, un ou deux visiteurs au moment de la réalisation des prélèvements, au niveau de la contamination aspergillaire et fongique totale.

3-1-4-2-7) Le facteur « Porte ouverte / fermée »

(cf. tableaux 19, 20 et 21)

- **Surfaces :**

A première vue, les chambres dont la porte est ouverte **au moment de la réalisation des prélèvements** sont significativement plus contaminées que les chambres dont la porte est fermée, en *Aspergillus* ($p < 10^{-2}$ PPP et NMCP) et en champignons filamenteux totaux ($p < 10^{-2}$ PPP et NMCP) (cf. tableau 19).

Tableau 17

Comparaison contamination secteur conventionnel : chambres encombrées / chambres non encombrées								
Nature Prélèvement	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
		chambres non encombrées	chambres encombrées	RR	p≤	chambres non encombrées	chambres encombrées	p≤
Surfaces	Aspergillaire	6% n=120	7% n=60	1.1 [0.4-3.7]	NS	0.24 [0-0.49]	0.07 [0.01-0.13]	0.03
	CF	11% n=120	18% n=60	1.7 [0.8-3.6]	NS	0.34 [0.08-0.61]	0.42 [0.14-0.69]	NS
Air	Aspergillaire	4% n=24	8% n=12	2 [0.1-29.3]	NS	0.04 [0-0.12]	0.08 [0-0.24]	NS
	CF	36% n=24	50% n=12	1.7 [0.8-3.6]	NS	0.5 [0.19-0.66]	0.67 [0.23-1.11]	NS

Tableau 18

Comparaison contamination secteur conventionnel chambres :
0 visiteur / 1 visiteur / 2 visiteurs

Nature prélèvement	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs					Nombre moyen de colonies par prélèvement			
		0 visiteur	1 visiteur	2 visiteurs	RR	p≤	0 visiteur	1 visiteur	2 visiteurs	p≤
Surfaces	Aspergillaire	6% n=110	2% n=90	30% n=20	(1) - (2) 5.5 [2-15.4] (3) 2.3 [0.5-11.3] (4) 13.5 [2.9-63]	(1) - (2) 0.05 (3) NS (4) 0.05	0.26 [0-0.53]	0.02 [0-0.12]	0.50 [0.06-0.94]	10 ⁻⁴ (1)
	CF	11% n=110	11% n=90	35% n=20	(1) - (2) 2.9 [1.4-6.5] (3) 1.1 [0.5-2.3] (4) 3.2 [1.4-7.3]	(1) - (2) 0.02 (3) NS (4) 0.001	0.36 [0.08-0.65]	0.22 [0.06-0.39]	1.75 [0-4]	0.02 (1)
Air	Aspergillaire	5% n=22	6% n=18	0% n=4	(1) - (2) - (3) 1.2 [0.1-18.2] (4) -	(1) - (2,3,4) NS	0.05 [0-0.13]	0.06 [0-0.11]	0	0.9 NS (1)
	CF	32% n=22	56% n=18	0% n=4	(1) - (2) - (3) 1.8 [0.8-3.7] (4) -	(1) - (2,3,4) NS	0.46 [0.2-0.71]	0.78 [0.37-1.18]	0	0.1 NS (1)

(1) comparaison globale 0 visiteur / 1 visiteur / 2 visiteurs

(2) comparaison 1 visiteur / 2 visiteurs

(3) comparaison 0 visiteur / 1 visiteur

(4) comparaison 1 visiteur / 2 visiteurs

Mais ces résultats sont en contradiction avec les précédents. Nous avons en effet montré précédemment que les mesures de prévention observées dans les chambres des patients en agranulocytose de l'unité B, comprenant le maintien de la porte fermée en permanence, n'ont pas d'influence significative sur la contamination des surfaces.

Nous avons donc recherché l'existence d'un biais. Nous constatons justement que 92% des prélèvements réalisés dans des chambres dont la porte est fermée correspondent à des chambres à un lit et seulement 8% à des chambres à deux lits (cf. tableau 20). Les chambres dont la porte est fermée paraissent peut-être « faussement » moins contaminées parce qu'elles correspondent, pour une grande majorité à des chambres à un lit. Pour le mettre en évidence, nous avons donc recherché si dans des chambres à nombre de lits équivalent, l'influence de la fermeture de la porte persiste. (cf. tableau 19).

Au niveau des chambres à un lit, on n'observe pas de différence entre les prélèvements correspondant à des chambres à porte ouverte et ceux correspondant à des chambres à porte fermée, pour les deux types de contamination et les effectifs sont assez grand. Au niveau des chambres à deux lits, la comparaison est limitée par le trop faible effectif de prélèvements correspondant à des chambres à porte fermée. L'influence de la fermeture/ouverture de la porte, au moment de la réalisation des prélèvements semble donc bien biaisée par l'association des chambres à porte fermée aux chambres à un lit.

Afin de confirmer que la différence entre les chambres à un lit et à deux lits n'est pas liée à la fermeture/ouverture de la porte, au moment de la réalisation des prélèvements, nous avons étudié l'influence du nombre de lits, au niveau des chambres à ouverture/fermeture de porte équivalente (cf. tableau 21). Dans les chambres à porte ouverte, la différence entre les chambres à un et à deux lits persiste pour la contamination aspergillaire et la contamination fongique totale ($p < 10^{-3}$ PPP et NMCP). Dans les chambres à porte fermée, la différence entre les chambres à un lit et à deux lits persiste, malgré la faiblesse de l'effectif pour les prélèvements des chambres à deux lits. L'effet du nombre de lits est donc totalement indépendant de la fermeture/ouverture de la porte.

- **Air :**

Il n'existe pas de différence significative entre les chambres à porte ouverte et à porte fermée, au moment de la réalisation des prélèvements, au niveau de la contamination aspergillaire et fongique totale (cf. tableau 19).

3-1-4-2-8) Analyse multivariée :

Nous avons réalisé une analyse multivariée étudiant dans les chambres, le niveau de contamination aspergillaire et fongique totale des surfaces, en fonction des différents facteurs, le nombre de lits, l'empoussièremment, les mesures relatives aux chambres des patients agranulocytaires, la fermeture/ouverture de la porte et la présence de visiteurs. Nous précisons que l'analyse s'est faite seulement sur le PPP et non pas sur le NMCP et que le facteur unité n'a pas pu être pris en compte.

Tableau 19

**Comparaison contamination secteur conventionnel :
chambres porte ouverte / chambres porte fermée**

Lieu	Nature Prélèvement	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
			fermée	ouverte	RR	p≤	fermée	ouverte	p≤
Toutes chambres confondues	Surfaces	Aspergillaire	1% n=120	10% n=169	11.4 [1.5-84.5]	10⁻²	0.01 [0-0.02]	0.27 [0.08-0.46]	10⁻²
		CF	8% n=120	20% n=169	2.7 [1.3-5.4]	10⁻²	0.11 [0.03-0.19]	0.98 [0.17-1.78]	10⁻²
	Air	Aspergillaire	4% n=24	6% n=33	1.3 [0.6-2.5]	NS	0.04 [0-0.12]	0.06 [0-0.14]	NS
		CF	33% n=24	42% n=33	1.4 [0.1-15]	NS	0.5 [0.17-0.83]	0.64 [0.32-0.95]	NS
chambres 1 lit	Surfaces	Aspergillaire	0% n=110	1% n=80	-	0.4 NS	0 [0-0.04]	0.013 [0-0.04]	0.2 NS
		CF	n=110 5.4%	n=80 8.7%	1.6 [0.6-4.6]	0.2 NS	0.073 [0.01-0.14]	0.12 [0.02-0.22]	0.3 NS
chambres 2 lits	Surfaces	Aspergillaire	10% n=10	17% n=89	1.7 [0.3-11.5]	1	0.100 0.316	0.51 [0.15-0.86]	0.5 NS
		CF	30% n=10	30% n=89	1.01 [0.4-2.7]	1	0.5 0.972	1.74 [0.22-3.26]	0.9 NS

Tableau 20

Association chambres porte ouverte / fermée et chambres 1 / 2 lits

	Porte fermée	Porte ouverte	p
1 lit	110/120=92%	80/169=47%	0
2 lits	10/120=8%	89/169=53%	

Tableau 21

**Comparaison contamination secteur conventionnel surfaces :
chambres 1 lit / 2 lits, en fonction de la fermeture de la porte**

Lieu	Nature contamination	Pourcentage de prélèvements positifs				Nombre moyen de colonies par prélèvement		
		1 lit	2 lits	RR	p≤	1 lit	2 lits	p≤
Porte ouverte	Aspergillaire	1% n=80	17% n=89	13.5 [1.8-99.8]	10⁻³	0.01 [0-0.04]	0.51 [0.15-0.89]	10⁻³
	CF	9% n=80	30% n=89	3.5 [1.6-7.5]	10⁻³	0.12 0.02-0.23]	1.74 [0.14-3.35]	10⁻³
Porte fermée	Aspergillaire	0% n=110	10% n=10	-	10⁻³	0	0.10 [0-0.19]	10⁻³
	CF	5% n=110	30% n=10	-	10⁻³	0.07 [0.01-0.13]	0.500 [0-1.1]	10⁻³

Au niveau de la contamination aspergillaire, le seul facteur influençant significativement la contamination est le nombre de lits, avec un odds ratio ajusté sur les autres variables $OR=22$ (2.6-183.6). Il apparaît dans cette analyse que l'influence observée dans l'analyse bivariée des facteurs empoussièremment et porte, est en fait liée à leur association aux chambres à un lit ou à 2 lits et que dans les chambres à nombre de lits équivalent leur influence disparaît.

Ces résultats sont en accord avec nos résultats d'analyse bivariée. En effet, lorsque nous avons comparé d'une part dans les chambres à un lit et d'autre part dans les chambres à deux lits, les prélèvements empoussiérés et non empoussiérés, nous n'avons pas retrouvé de différence significative (pour le PPP). De même la comparaison des chambres à porte ouverte aux chambres à porte fermée ne révélait pas de différence significative dans les chambres à un lit et dans les chambres à deux lits.

Au niveau de la contamination fongique totale, à nouveau le seul facteur influençant significativement la contamination est représenté par le nombre de lits, avec un odds ratio ajusté sur les autres variables $OR=4.4$ (1.9-10.2). Il apparaît dans cette analyse que l'influence sur la contamination observée dans l'analyse bivariée des facteurs empoussièremment et porte est en fait liée à leur association aux chambres à un lit. Cette fois ces résultats ne sont en accord que partiellement avec nos résultats d'analyse bivariée.

En effet dans cette dernière, dans les chambres à un lit, les prélèvements empoussiérés sont significativement plus contaminés en champignons filamenteux que les prélèvements non empoussiérés. Ce résultat n'est pas retrouvé dans l'analyse multivariée, car celle-ci n'a pas pris en compte tous les prélèvements et notamment tous les prélèvements empoussiérés. En effet celle-ci prend en compte seulement les prélèvements pour lesquels tous les items (porte fermée/ouverte, encombrement, lit, agranulocytose) sont renseignés. Or pour certains prélèvements empoussiérés (les prélèvements qui étaient contaminés), certains items n'étaient pas connus. Ils ont donc été exclus de l'analyse multivariée, ce qui peut expliquer que le facteur empoussièremment ne soit pas significatif dans celle-ci.

3-1-5) Etude de l'effet temps

La comparaison des différentes campagnes de prélèvements entre elles n'a porté que sur les prélèvements de surface car le nombre de prélèvements d'air réalisé par campagne, est trop faible. Les pièces autres que les chambres et les couloirs ont été exclues de la comparaison, car elles n'ont pas été prélevées systématiquement à chaque campagne et pour supprimer le biais lié au changement de type de pièce d'une campagne à l'autre.

La comparaison a été réalisée à deux niveaux :

- au niveau de l'ensemble « chambres + couloir » : nous nous sommes permis de rassembler les chambres et couloirs. Nous avons pour cela sélectionné les campagnes comprenant le même nombre de prélèvements de chambre et de couloir (car des fluctuations malgré le protocole ont pu avoir lieu), on réalise donc un appariement.
- au niveau des chambres

Nous n'avons pas étudié le couloir seul, en raison du trop faible effectif de prélèvements réalisés à chaque campagne dans le couloir.

3-1-5-1) Au niveau du secteur conventionnel de l'unité B :

- **Dans les chambres** (cf. tableau 22, figures 10 et 11)

La contamination aspergillaire est restée négative tout au long des campagnes. Pour la contamination fongique totale, on n'observe pas de différence significative entre les campagnes et on n'observe pas de pic de contamination.

- **Dans l'ensemble « chambres + couloir »** (cf. tableaux 23 et 24, figures 10 et 11)

Bien que la comparaison entre les différentes campagnes ne montre pas de différence significative pour la contamination aspergillaire et fongique totale, on observe un pic de contamination le 22/02/01. Nous avons donc comparé le PPP en champignons filamenteux de la campagne du 22/02/01, à l'ensemble des autres campagnes réunies (cf. tableau 24). On observe une différence significative ($p < 0.05$).

3-1-5-2) Au niveau de l'unité C :

- **Dans les chambres** (cf. tableaux 25 et 26, figures 12 et 13)

Pour la contamination aspergillaire, la comparaison entre les différentes campagnes donne des résultats à la limite de la significativité ($p = 0.06$). On est tenté de conclure à une différence car le test de Kruskal-Wallis utilisé est un test non paramétrique. Or les effectifs ne sont pas très élevés et les tests non paramétriques peuvent manquer de puissance. De plus on observe un pic au cours de la campagne du 27/03/01, avec un NMCP à 1.35 (0-2.78) alors qu'il oscille entre 0 et 0.30 colonies par prélèvement pour les autres campagnes. Nous avons alors comparé le PPP en *Aspergillus* de la campagne du 27/03/01 à celui de l'ensemble des autres campagnes réunies (cf. tableau 26). Nous observons une différence significative ($p = 0.05$).

Pour la contamination fongique totale, bien que la comparaison du NMCP ne montre pas de différence entre les campagnes, on observe deux pics, le 29/11/00 et à nouveau le 27/03/01. De plus si l'on considère le PPP, deux pics se distinguent, un le 03/11/00 et à nouveau un pic le 27/03/01.

Apparemment on assiste à une augmentation de la contamination pour les deux types de contamination aspergillaire et fongique totale le 27/03/01 au niveau des chambres.

Tableau 22

Comparaison contamination secteur conventionnel unité B, chambres : différentes campagnes

Nature contamination	Unité comparaison	13/10/00	29/11/00	12/12/00	09/01/01	06/02/01	22/02/01	13/03/01	03/04/01	p≤
Aspergillaire	PPP	0% n=10	0% n=10	0% n=20	0% n=20	0% n=20	0% n=20	0% n=20	0% n=20	NS
	NMCP	0	0	0	0	0	0	0	0	NS
CF	PPP	10% n=10	0% n=10	0% n=20	10% n=20	10% n=20	5% n=20	5% n=20	5% n=20	impossible
	NMCP	0.1 [0-0.3]	0	0	0.1 [0-0.2]	0.2 [0-0.5]	0.05 [0-0.15]	0.05 [0-0.15]	0.05 [0-0.15]	0.8 NS

PPP : pourcentage de prélèvements positifs, NMCP : nombre moyen de colonies par prélèvement

Tableau 23

Comparaison contamination secteur conventionnel unité B, ensemble chambres + couloir : différentes campagnes

Nature contamination	Unité comparaison	12/12/00	09/01/01	06/02/01	22/02/01	13/03/01	03/04/01	p≤
Aspergillaire	PPP	3% n=30	10% n=30	0% n=30	0% n=30	3% n=30	0% n=30	impossible
	NMCP	0.03 [0-0.01]	0.1 [0-0.21]	0	0	0.03 [0-0.01]	0	0.1 NS
CF	PPP	3% n=30	17% n=30	10% n=30	27% n=30	13% n=30	7% n=30	impossible
	NMCP	0.07 [0-0.2]	0.2 [0.03-0.37]	0.33 [0-0.76]	0.67 [0.07-0.66]	0.37 [0-0.8]	0.13 [0-0.33]	0.1 NS

Tableau 24

Comparaison contamination CF secteur conventionnel unité B, ensemble chambres + couloir : campagne du 22/02/01 / autres campagnes réunies

Unité comparaison	22/02/01	Autres campagnes	RR	p≤
PPP	8/30= 27%	15/150= 10%	2.67 [1.2-5.7]	0.05

Figure 10

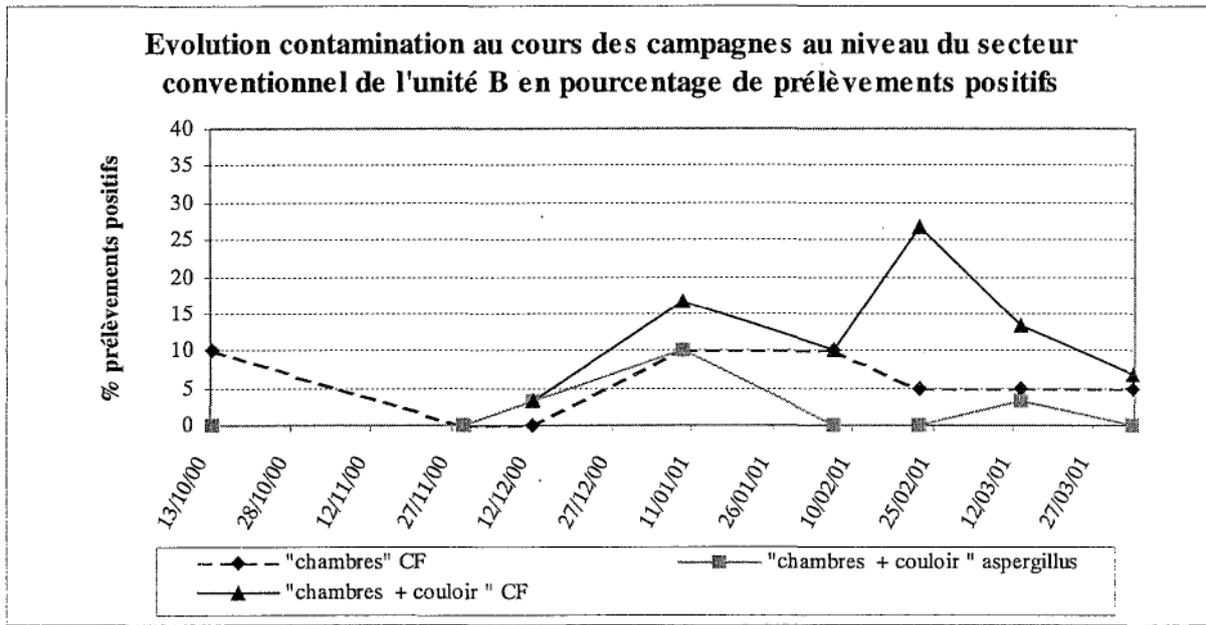


Figure 11

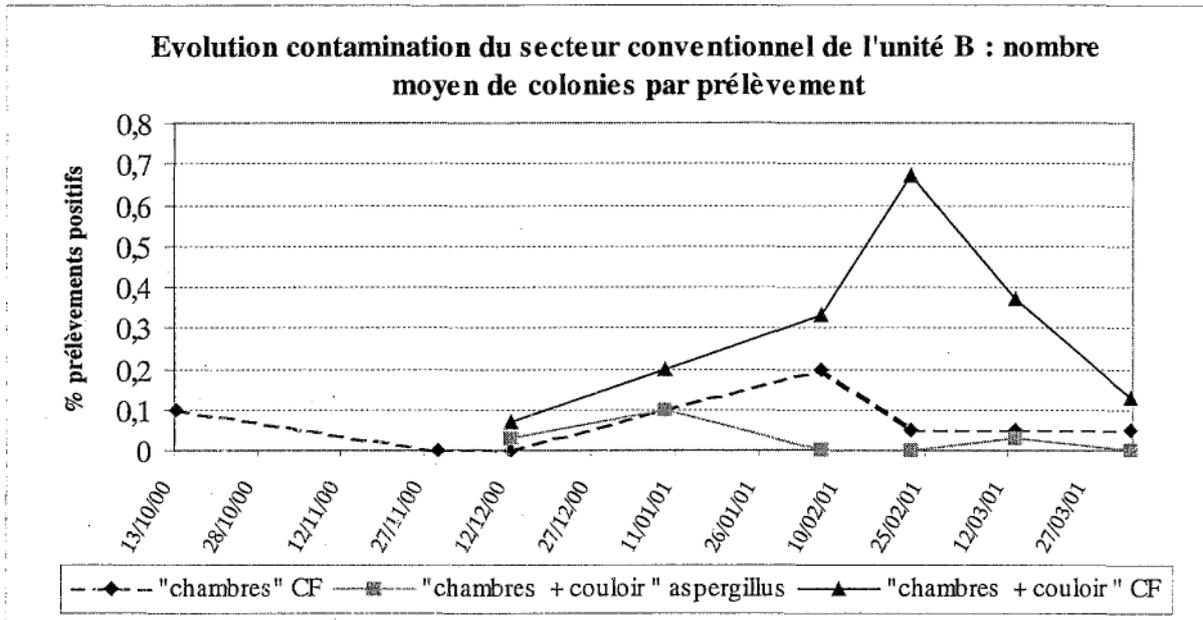


Tableau 25

Comparaison contamination unité C, chambres : différentes campagnes										
Nature contamination	Unité comparaison	03/11/00	29/11/00	27/12/00	25/01/01	14/02/01	06/03/01	27/03/01	23/04/01	p≤
Aspergillaire	PPP	0% n=10	10% n=30	0% n=19	17% n=30	0% n=20	15% n=20	25% n=20	5% n=20	impossible
	NMCP	0	0.23 [0-0.47]	0	0.30 [0.05-0.55]	0	0.15 [0.09-0.12]	1.35 [0-2.78]	0.05 [0-0.15]	0.06
CF	PPP	40% n=10	33% n=30	16% n=19	17% n=30	10% n=20	25% n=20	35% n=20	20% n=20	impossible
	NMCP	1.10 [0.1- 1.1]	2.60 [0- 6.8]	0.26 [0.59]	1 [0-2.5]	0.40 [0-1]	0.50 [0-1]	1.55 [0.1-3]	0.30 [0.1-0.5]	0.3 NS

Tableau 26

Comparaison contamination CF unité C, chambres : campagne du 27/03/01 / autres campagnes réunies				
Unité comparaison	27/03/01	Autres campagnes	RR	p≤
PPP	5/20= 25%	12/169= 7.1%	3.5 [1.4-9]	0.05

Tableau 27

Comparaison contamination unité C, ensemble chambre + couloir : différentes campagnes								
Nature contamination	Unité comparaison	27/12/00	25/01/01	14/02/01	06/03/01	27/03/01	23/04/01	p≤
Aspergillaire	PPP	0% n=29	20% n=40	3% n=30	13% n=30	23% n=30	7% n=30	impossible
	NMCP	0	0.33 [0.08-0.57]	0.03 [0-0.1]	0.93 [0-2.56]	0.97 [0-1.94]	0.07 [0-0.16]	0.02
CF	PPP	21% n=29	23% n=40	20% n=30	33% n=30	37% n=30	20% n=30	0.5 NS
	NMCP	0.31 [0.05-0.57]	1.03 [0-2.28]	0.83 [0.16-1.5]	2.20 [0-5.5]	1.17 [0.19-2.14]	0.40 [0-0.78]	0.6 NS

Tableau 28

Comparaison contamination en <i>Aspergillus</i> unité C, ensemble chambre + couloir : campagne du 27/03/01 / autres campagnes réunies :				
	27/03/01	Autres campagnes	RR	p≤
PPP	7/30= 23%	11/129= 9%	2.7 [1.2-6.5]	0.05

Figure 12

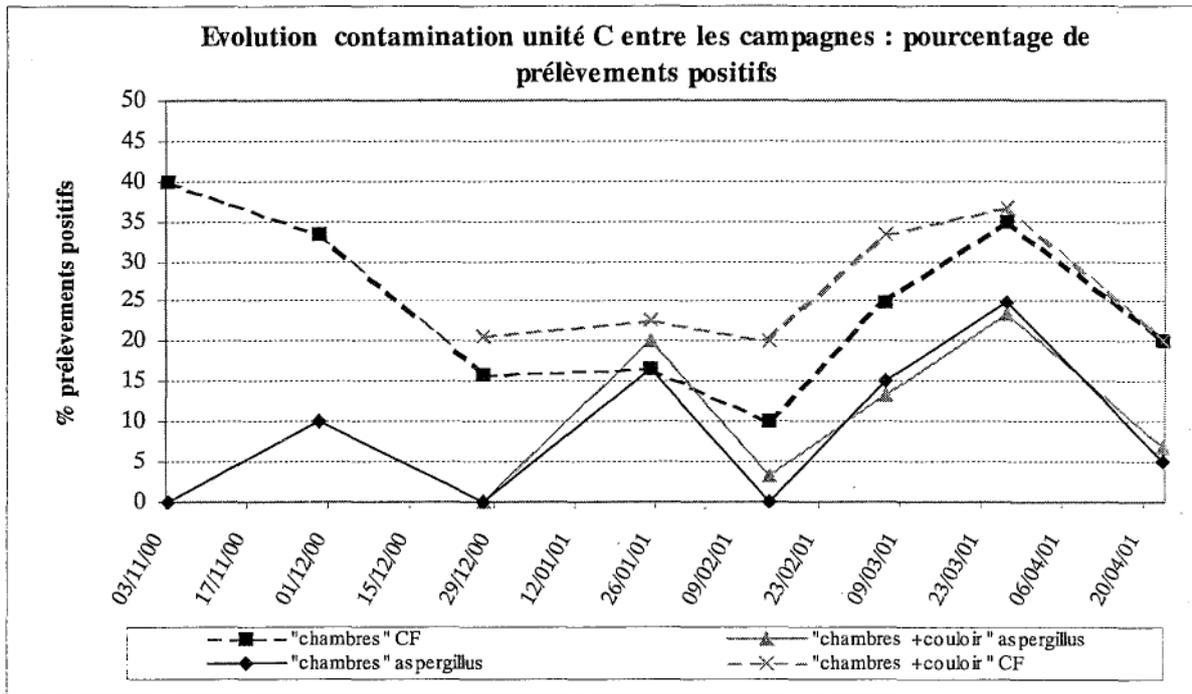
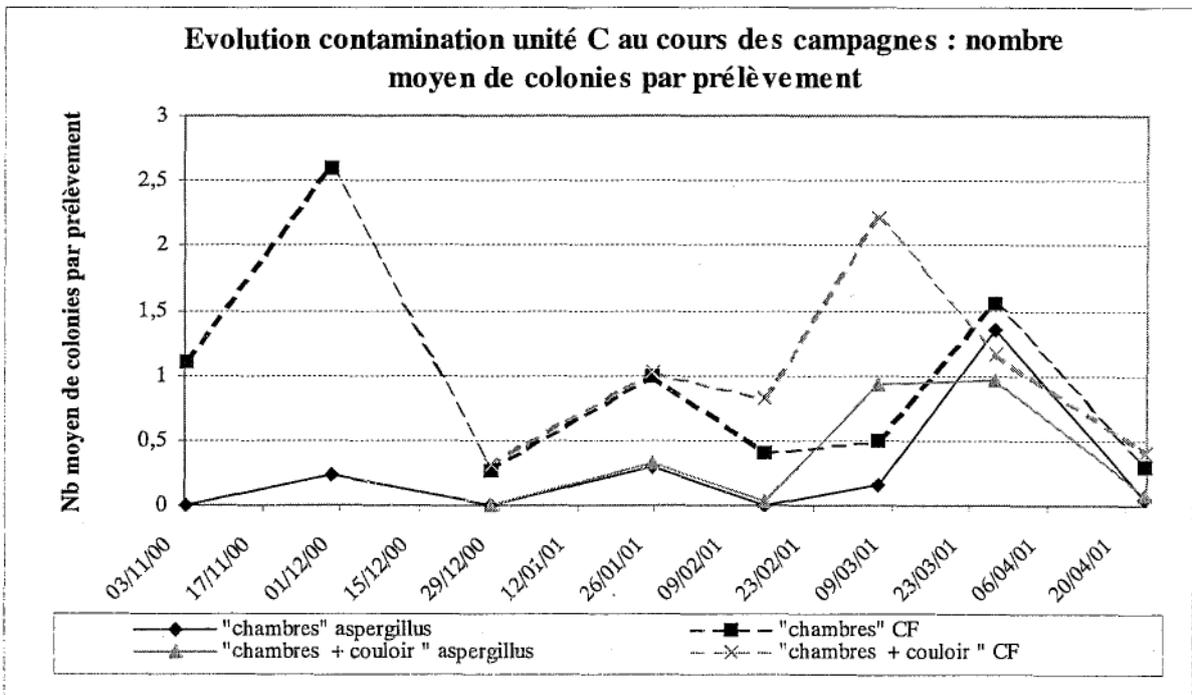


Figure 13



- **Dans l'ensemble « chambres + couloir »** (cf. tableau 27 et 28, figures 12 et 13)

On observe une différence significative ($p < 0.02$) dans le NMCP d'*Aspergillus*. On observe à nouveau un pic le 27/03/01 avec un NMCP à 0.97 (0-1.94) et un second le 06/03/01 à 0.93 (0-2.56) alors qu'en dehors de ces pics, le NMCP oscille entre 0 et 0.3. Nous avons alors comparé le PPP en *Aspergillus* de la campagne du 27/03/01 à celui de l'ensemble des autres campagnes réunies. On observe une différence significative ($p < 0.05$) (cf. tableau 28).

Pour la contamination fongique totale, bien que l'on n'observe pas de différence significative entre les campagnes, on remarque un pic de contamination le 27/03/01 et un second le 06/03/01 (cf. tableau 27).

On assiste donc à une augmentation de la contamination pour les deux types de contamination aspergillaire et fongique totale, le 27/03/01 et le 06/03/01, même si la comparaison entre les campagnes n'est pas forcément significative, comme pour la contamination fongique totale.

3-1-6) Etude de la relation *Aspergillus* / autres champignons filamenteux dans les prélèvements

(cf. tableau 29, figures 14 et 15).

Dans notre suivi environnemental, nous nous sommes intéressés à la fois à la contamination aspergillaire, mais également à la contamination fongique totale, comprenant des *Aspergillus* et des champignons filamenteux non aspergillaires, suite aux travaux de Alberti et al. Ces derniers ont en effet mis en évidence une relation entre le nombre de cas d'AI nosocomiales et la flore fongique non aspergillaire (1). Cette dernière pourrait constituer un indicateur indirect du risque aspergillaire.

Nous avons recherché l'existence d'une association entre la présence d'*Aspergillus* et celle de champignons filamenteux non aspergillaires (cf. tableau 29, figure 14). Les prélèvements positifs en champignons filamenteux non aspergillaires sont significativement plus contaminés en *Aspergillus*, que les prélèvements négatifs en champignons filamenteux non aspergillaires ($p=0$). Il existe donc une association entre la présence de champignons filamenteux non aspergillaires et la présence d'*Aspergillus* au niveau des prélèvements.

Nous avons ensuite recherché s'il existe une corrélation entre le nombre de champignons filamenteux non aspergillaires et le nombre d'*Aspergillus* au niveau de chaque prélèvement (cf. figure 15). La représentation du nuage de points ne ressemble en aucun cas à une droite. Il n'existe donc pas de corrélation.

Tableau 29

Association prélèvements : présence <i>Aspergillus</i> / présence champignons filamenteux non aspergillaires				
	Prélèvements positifs en CF non aspergillaires	Prélèvements négatifs en CF non aspergillaires	RR	p≤
Prélèvements positifs en <i>Aspergillus</i>	32/153= 21%	23/833= 2.8%	7.6 [4.6-12.6]	0
Prélèvements négatifs en <i>Aspergillus</i>	121/153= 79%	810/833= 97%		
Total	153	833		

Figure 14

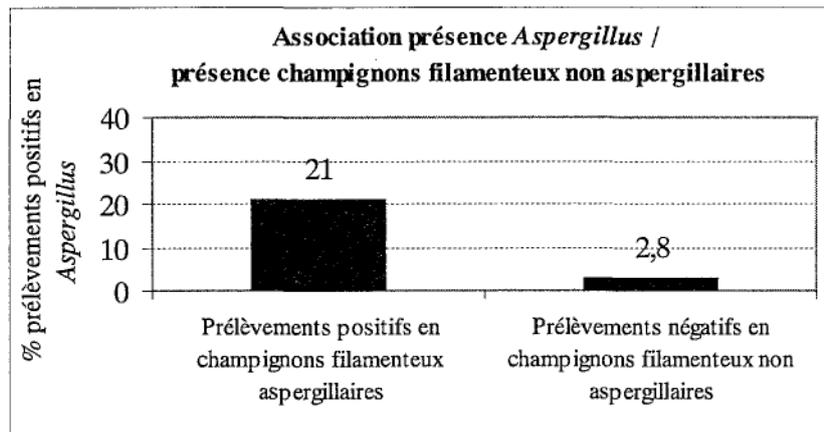
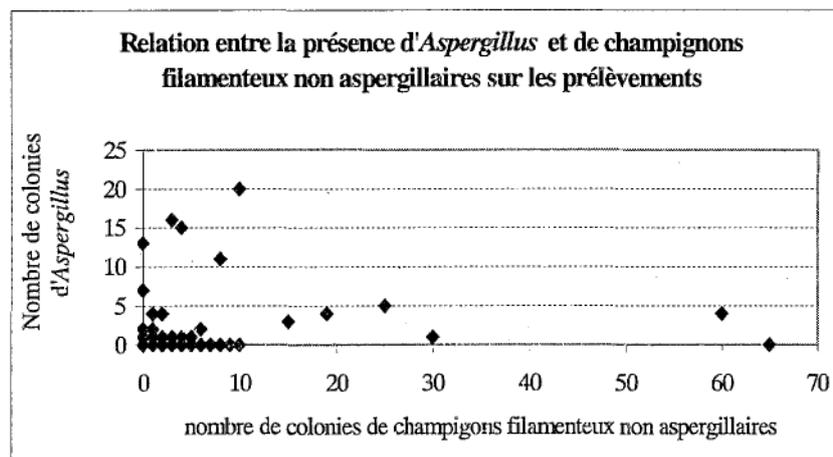


Figure 15



3-1-7) Etude de la relation contamination de l'air / contamination des surfaces

Nous avons recherché s'il existe une relation entre la contamination fongique des pièces de l'air et celle des surfaces.

Pour la contamination aspergillaire, nous n'avons pas retrouvé d'association (cf. tableaux 30, figure 16 et 17).

En revanche pour la contamination fongique totale, les pièces positives en surface sont significativement plus contaminées dans l'air, que les pièces non contaminées en surface ($p < 0.05$) (cf. tableaux 31, figure 18).

Nous avons recherché l'existence d'une corrélation entre le nombre de champignons filamenteux dans l'air et dans les surfaces. Le nuage de points ne ressemble en aucun cas à une droite (cf. figures 18 et 19), il n'existe donc pas de corrélation.

Tableau 30

Association présence *Aspergillus* : air / surfaces

	Pièces positives sur les surfaces	Pièces négatives sur les surfaces	RR	p≤
Pièces positives dans l'air	33/23=13%	2/60=3.3%	3.9 [0.7-21.9]	0.1 NS
Pièces négatives dans l'air	20	58		

Figure 16

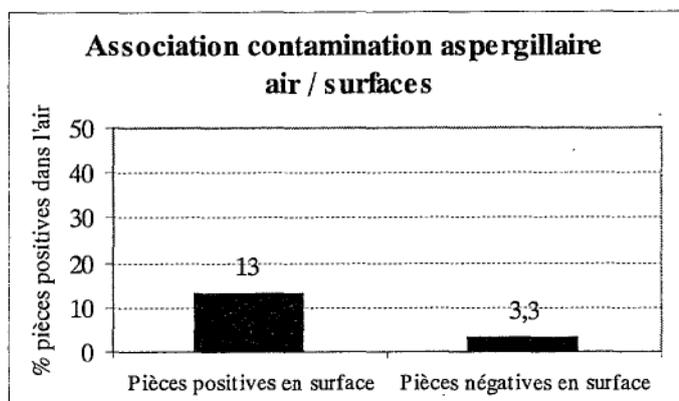


Figure 17

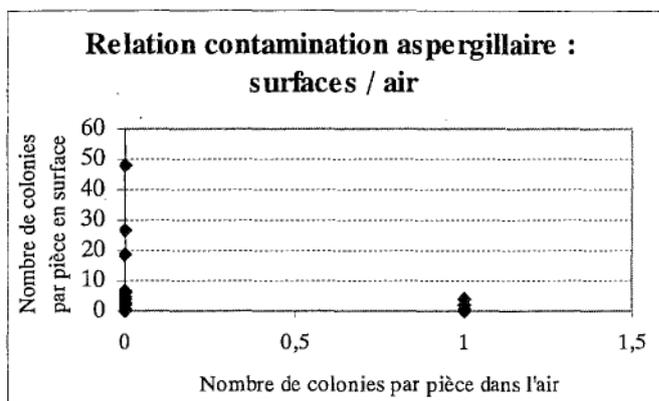


Tableau 31

Association présence champignons filamenteux : air / surfaces

	Pièces positives sur les surfaces	Pièces négatives sur les surfaces	RR	p≤
Pièces positives dans l'air	23/48=47.9%	8/35=22.9%	2.10 [1.1-4.1]	0.02
Pièces négatives dans l'air	25	27		

Figure 18

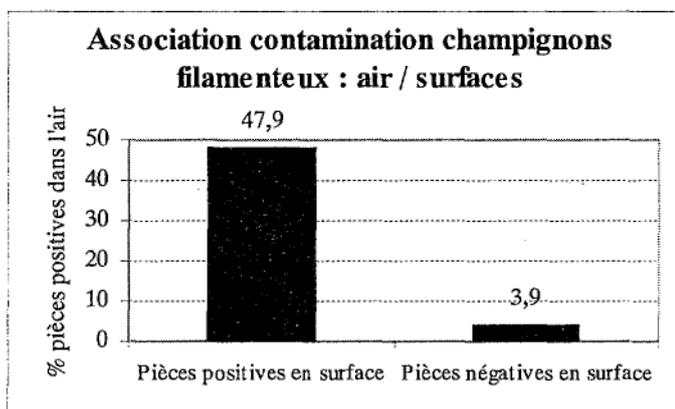
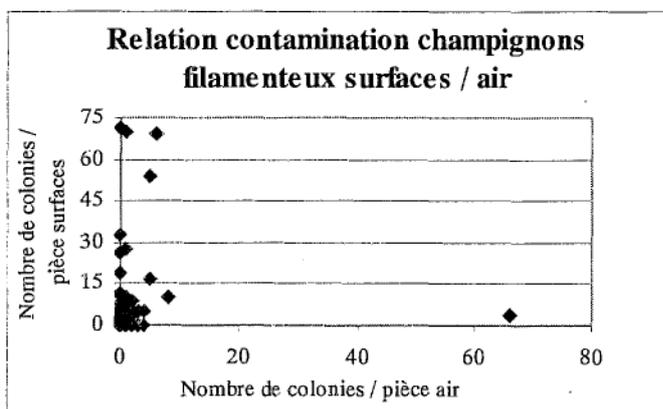


Figure 19



3-2) Suivi épidémiologique

3-2-1) Densité d'incidence - Evolution dans le temps

Le suivi épidémiologique a été réalisé entre le 1^{er} janvier 2000 et le 31 décembre 2001, soit une période de 24 mois. Durant cette période, on recense 49 AI, 46 ACN, 9 cas non classables (la classification de ces cas en AI ou en ACN n'étant pas possible) et 32 sérologies positives isolées chez des patients à risque d'AI (cf. figure 20).

Parmi les AI, on distingue 3 cas prouvés (6%), 25 cas probables (51%) et 21 cas possibles (43%) (cf. figure 21). Parmi les ACN, on distingue 0 cas prouvés, 8 cas probables (17%) et 38 cas possibles (83%) (cf. figure 22).

Si l'on considère tous les cas (prouvés, probables et possibles), la densité d'incidence (DI) pour les 24 mois de suivi épidémiologique est de 4.3 (3.1-5.5) AI pour 100 000 patients-jours et de 4.0 (2.9-5.2) ACN pour 100 000 patients-jours (cf. tableau 32).

Si l'on considère seulement les cas de plus forte certitude diagnostique (prouvés et probables), la DI est de 2.2 (1.3-3.0) AI pour 100 000 patients-jours et de 0.7 (0.2-1.2) ACN pour 100 000 patients-jours (cf. tableau 32).

Durant ces 24 mois de suivi épidémiologique, on observe pour l'AI un pic en mars 2000, avec 7 cas incidents, soit une DI de 14.0 (3.6-24.4) cas pour 100 000 patients-jours pour ce mois (cf. tableaux 32 et figure 23). On observe également deux petits pics en juillet et en septembre 2001, avec 5 cas incidents chacun, soit une DI respective de 10.6 (1.3-19.9) et 11.0 (1.3-20.7) cas pour 100 000 patients-jours. En dehors de ces pics, la DI pour tous les autres mois, oscille entre 0 et 8.0 (0.2-15.9) cas pour 100 000 patients-jours (0 à 3 voir 4 cas mensuels) (cf. tableau 32 et figure 23). Nous n'avons pas pu évaluer si l'augmentation de la DI pour ces mois est statistiquement significative par rapport aux autres mois car le test du Khi2 ne peut pas s'appliquer (en raison de valeurs attendues inférieures à 3).

Les 7 AI recensées en mars 2000 sont représentées par des patients issus de différents services : 2 cas en pédiatrie, hématologie et médecine infectieuse et 1 cas en rhumatologie. Parmi ces 7 cas, seuls 2 sont d'origine nosocomiale probable, les cas de pédiatrie. On remarque que ce pic n'est pas retrouvé en mars 2001 (cf. tableau 32 et figure 23).

Les 5 AI de juillet 2001 sont issues, pour 3 d'entre elles, du service d'hématologie et pour 1, du service d'infectieux et du service d'hépatogastroentérologie. Parmi ces 5 cas, aucun n'est d'origine nosocomiale probable.

Les 5 AI de septembre 2001 sont issues, pour 4 d'entre elles, du service d'hématologie et pour 1, du service de réanimation. Parmi elles, seul un cas est d'origine nosocomiale probable.

Tableau 32

Densité d'incidence (DI) des cas pour 100 000 patients-jours

Mois	Nombre de jours hospit	Aspergillose invasives				Aspergillose chroniques nécrosantes				Sérologies isolées à risque AI	
		Tous les cas	DI totale	Cas prouvés probables	DI cas prouvés probables	Tous les cas	DI totale	Cas prouvés probables	DI prouvés probables	cas	DI
janv-00	49724	4	8.0 [0.2-15.9]	4	8.0 [0.2-15.9]	2	4.0 [0-9.5]	2	4.0 [0-9.5]	2	4.0 [0-9.5]
févr-00	47859	1	2.1 [0-6.2]	1	2.1 [0-6.2]	1	2.1 [0-6.2]	-	-	-	-
mars-00	49868	7	14 [3.6-24.4]	3	0.60 [0-12.8]	-	-	-	-	-	-
avr-00	46020	1	2.2 [0-6.4]	1	2.2 [0-6.4]	1	2.2 [0-6.4]	-	-	1	2.2 [0-6.4]
mai-00	46469	3	6.4 [0-13.8]	2	4.3 [0-10.2]	3	0.6 [0-13.8]	1	2.2 [0-6.4]	1	2.2 [0-6.4]
juin-00	45365	1	2.2 [0-6.5]	1	2.2 [0-6.5]	1	2.2 [0-6.5]	1	2.2 [0-6.5]	-	-
juil-00	44704	1	0.2 [0-0.66]	1	2.2 [0-6.6]	-	-	-	-	1	2.2 [0-6.6]
août-00	42884	3	7.0 [0-14.9]	1	2.3 [0-4.7]	1	2.3 [0-6.9]	-	-	1	2.3 [0-6.9]
sept-00	44558	1	2.2 [0-6.6]	1	2.2 [0-6.6]	-	-	-	-	-	-
oct-00	48861	3	6.1 [0-10.9]	2	4.1 [0-9.8]	1	2.0 [0-6.1]	-	-	-	-
nov-00	47372	1	2.1 [0-6.2]	-	-	4	8.4 [0.1-16.7]	1	2.1 [0-6.2]	1	2.1 [0-6.2]
déc-00	47135	-	-	-	-	4	8.5 [0.2-16.8]	1	2.1 [0-6.2]	3	0.6 [0-13.6]
janv-01	50582	2	3.9 [0-9.4]	1	2.0 [0-5.9]	1	2.0 [0-5.9]	-	-	4	7.0 [0.2-15.7]
févr-01	46293	1	2.1 [0-6.0]	1	2.1 [0-6.0]	5	10.8 [1-20.3]	1	2.1 [0-6.0]	4	8.6 [0.2-17]
mars-01	51399	-	-	-	-	4	7.8 [0.2-15.4]	-	-	2	3.9 [0-9.3]
avr-01	47592	2	4.2 [0-10]	1	2.1 [0-6.2]	3	6.3 [0-13.4]	-	-	1	2.1 [0-6.2]
mai-01	48163	2	4.1 [0-9.9]	1	2.1 [0-6.1]	1	2.1 [0-7.8]	-	-	3	6.2 [0-13.2]
juin-01	45532	2	4.4 [0-10.4]	1	2.2 [0-6.5]	1	2.2 [0-6.5]	-	-	2	4.4 [0-10.4]
juil-01	47082	5	10.6 [1.3-19.9]	1	2.1 [0-6.2]	3	0.4 [0-13.6]	-	-	-	-
août-01	44113	-	-	-	-	1	0.23 [0-6.7]	-	-	1	2.3 [0-6.7]
sept-01	45286	5	11.0 [1.3-20.7]	2	4.4 [0-10.5]	2	4.4 [0-10.5]	-	-	-	-
oct-01	48892	1	2.0 [0-6.1]	1	2.0 [0-6.1]	-	-	-	-	-	-
nov-01	47554	2	4.2 [0-10.0]	1	2.1 [0-6.2]	3	6.3 [0-13.4]	-	-	2	4.2 [0-10.0]
déc-01	47090	1	2.1 [0-6.4]	-	-	4	8.5 [0.2-17.0]	1	2.1 [0-6.4]	3	6.4 [0-13.5]
Total	1130397	49	4.3 [3.1-5.5]	28	2.2 [1.3-3.0]	46	4.0 [2.9-5.2]	8	0.7 [0.2-1.2]	32	2.8 [1.9-3.8]
Total 2000	560819	26	4.6 [2.8-6.4]	17	3.0 [1.6-4.5]	18	3.2 [1.7-4.7]	6	4.9 [3.1-6.7]	10	1.8 [0.6-2.9]
Total 2001	569578	23	4.0 [2.4-5.7]	11	1.9 [0.1-03.0]	28	4.9 [3.1-6.7]	2	3.2 [1.7-4.7]	22	3.9 [2.2-5.4]

Figure 20

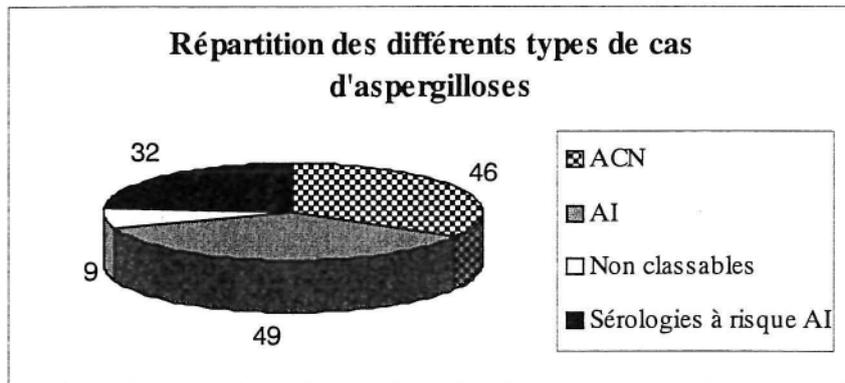


Figure 21

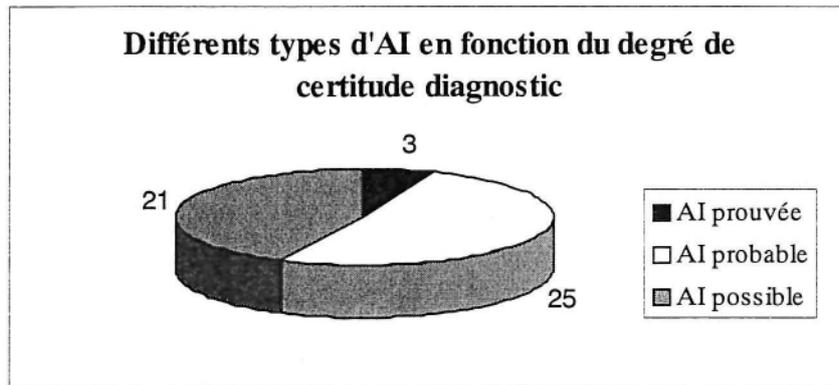
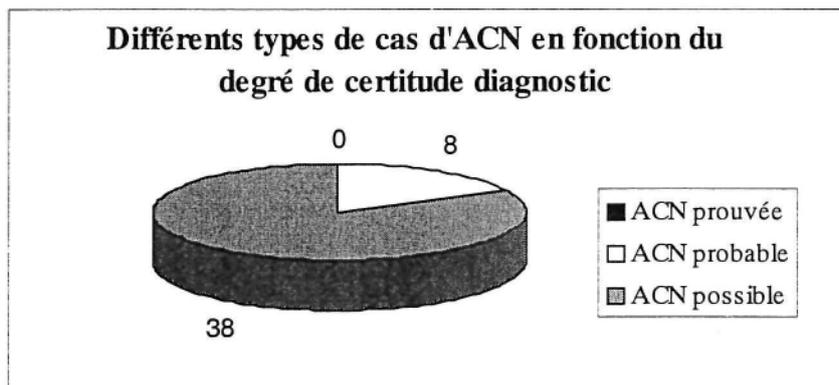


Figure 22



Si l'on ne considère que les AI de plus grande certitude diagnostique (prouvées et probables), on observe alors des pics d'incidence en janvier 2000 (4 cas), avec une DI de 8.0 (0.2-15.9) cas pour 100 000 patients-jours et à nouveau en mars 2000, avec une DI de 6.0 (0-12.8) (3 cas) (cf. tableaux 32). En dehors de ces mois, la DI oscille entre 0 et 4.3 (0-10.2) cas pour 100 000 patients-jours (0 à 2 cas mensuels). Nous n'avons à nouveau pas pu montrer que les DI des mois de janvier et mars 2000 étaient significativement supérieures à celles des autres mois, car le test du Khi2 ne peut pas s'appliquer. Les cas de janvier sont issus pour 1 d'hématologie et pour 2 de réanimation. Aucun d'eux n'est d'origine nosocomiale probable.

Pour l'ACN, on n'observe pas de pic en janvier et mars 2000 comme pour l'AI. On remarque une augmentation de l'incidence des cas à la fin de l'année 2000 (novembre, décembre), début de l'année 2001 (février, mars), mais aucun de ces cas n'est d'origine nosocomiale. Si l'on ne considère que les cas de plus forte certitude diagnostique (prouvés et probables), on n'observe pas de cas groupés, les 8 cas sont disséminés entre les 24 mois (cf. tableau 32, figure 24)

La DI de l'AI pour l'année 2000, de 4.6 (2.8-6.4) cas pour 100 000 patients jours (26 cas), n'est pas statistiquement significativement différente de celle de l'année 2001, de 4.0 (2.4-5.7) cas pour 100 000 patients jours (23 cas) ($p=0.6$). La DI de l'ACN pour l'année 2000, de 3.2 (1.7-4.0) cas pour 100 000 patients jours (18 cas) paraît inférieure à celle de l'année 2001, de 4.9 (3.1-6.7) cas pour 100 000 patients jours (28 cas), mais on ne retrouve pas de différence significative entre les deux années ($p=0.2$).

3-2-2) Services concernés

La répartition des AI entre les différents services est la suivante : 21 cas (43%) sont survenus chez des patient hospitalisés en hématologie, 8 cas (16%) en réanimation médicale, 6 cas (12%) en médecine infectieuse et en pneumologie, 2 cas (4%) en pédiatrie et en oncologie et 1 cas (2%) en rhumatologie, hépatogastroentérologie, médecine interne et néphrologie (cf. figure 25).

La répartition des ACN entre les services est la suivante : 21 cas (46%) sont survenus chez des patient hospitalisés en pneumologie, 11 cas (24%) en médecine interne, 6 cas (13%) en réanimation, 3 cas (7%) en médecine infectieuse et en cardiologie et 2 cas en gériatrie (4%) (cf. figure 26).

Figure 23

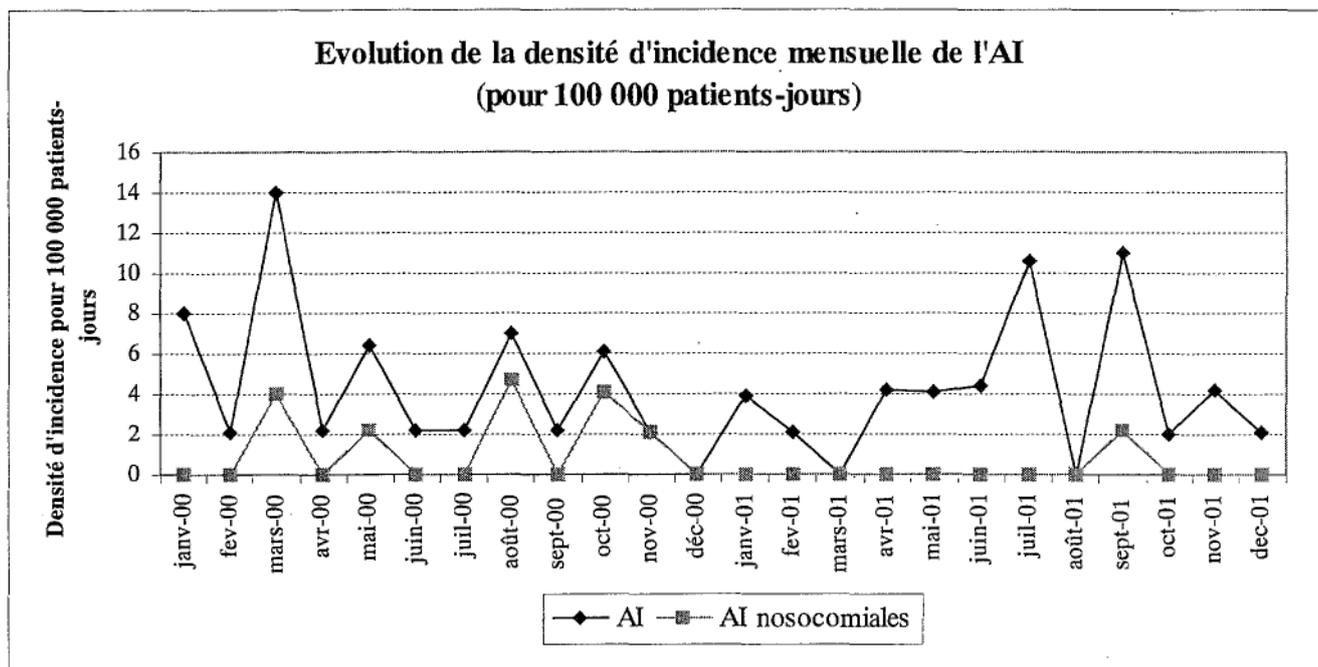


Figure 24

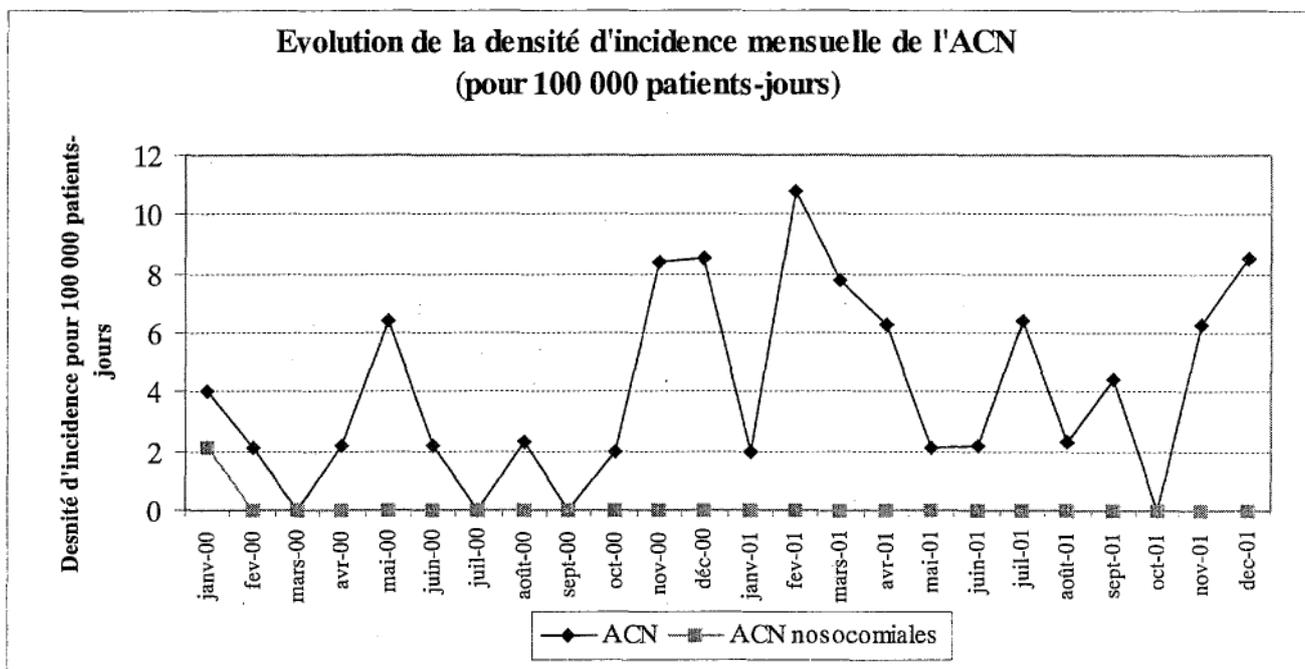


Figure 25

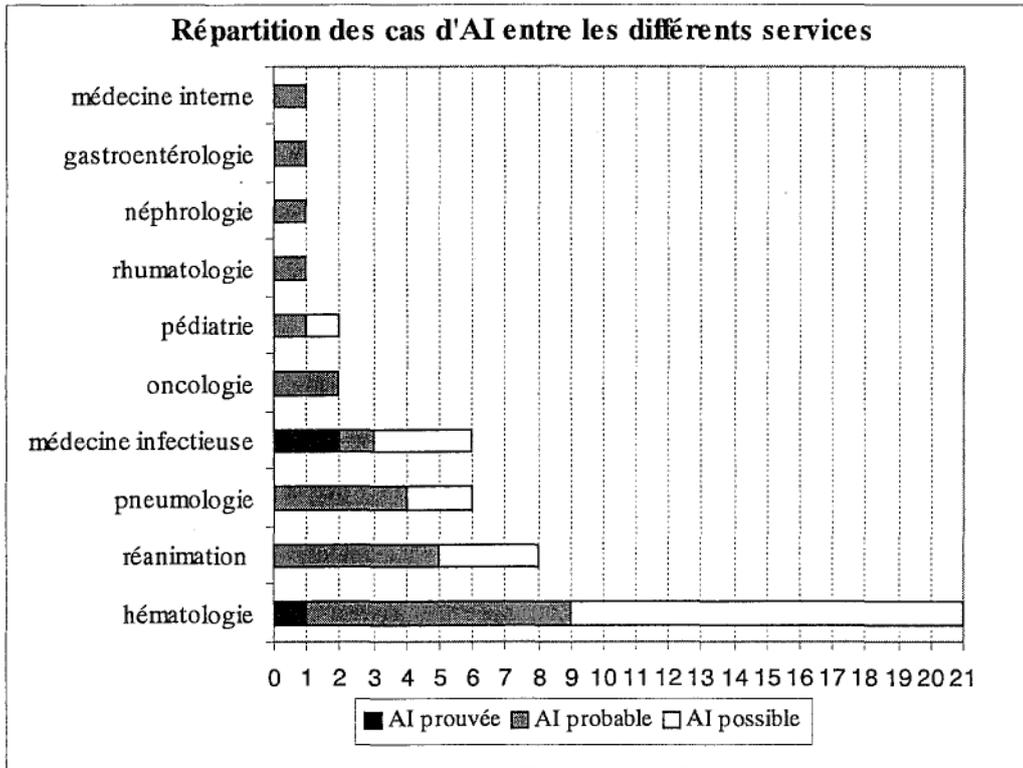
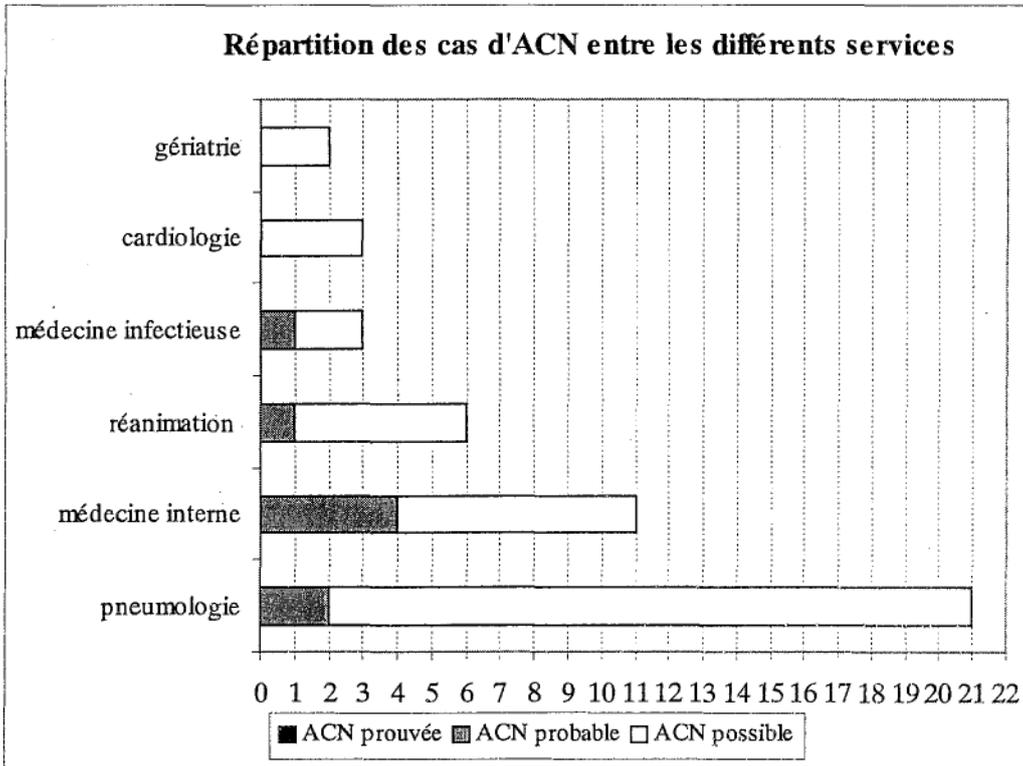


Figure 26



3-2-3) Caractéristiques de la population - Facteurs de risque

L'âge moyen pour les AI est de 56 ans (51-61 ans) et le sexe ratio de 34 hommes (69%) pour 15 femmes (31%). L'âge moyen pour les ACN est de 72 ans (69-75 ans) et le sexe ratio de 39 (85%) hommes pour 7 femmes (15%).

Parmi les 49 AI, 34 cas (69%) sont des patients atteints d'hémopathie maligne, 5 (10%) des patients sous corticothérapie systémique uniquement (à forte dose au long cours), 5 (10%) des patients atteints de cancers (différents d'une hémopathie) associée à une chimiothérapie, 4 (8%) des transplantés d'organes et 1 est un patient (non transplanté) sous association corticoïdes-immunosuppresseurs (cf. tableau 33). Une agranulocytose est retrouvée, au moment ou dans le mois précédant la suspicion d'AI, pour 26 patients (53%). Parmi les patients atteints d'hémopathie maligne, on recense 7 (20%) transplantés de moelle osseuse.

Parmi les 48 ACN, 41 (85%) sont des patients atteints de pathologie respiratoire chronique.

3-2-4) Origine des cas

L'origine des AI est nosocomiale probable pour 10 cas (20%), avec 9 cas acquis au CHU de Grenoble et 1 cas acquis dans un autre établissement, non nosocomiale pour 11 (22%) cas et indéterminée pour 28 cas (57%) (cf. tableau 34, figure 27). La DI des AI nosocomiales (acquises au CHU de Grenoble) pour les 24 mois du suivi épidémiologique est de 0.8 (0.3-1.3) cas pour 100 000 patients-jours (cf. tableau, figure 23).

Néanmoins parmi les 9 cas nosocomiaux, seuls 5 sont des AI de plus grande certitude diagnostique (prouvées ou probables), ce qui représente une DI pour les AI prouvées ou probables d'origine nosocomiale probable, de 0.4 (0-0.8) cas pour 100 000 patients-jours.

Parmi les ACN, l'origine est nosocomiale probable pour 2 cas (4%), avec 1 cas contracté au CHU de Grenoble et 1 cas contracté dans un autre établissement, non nosocomiale pour 23 cas (50%) et indéterminée pour 21 cas (46%) (cf. tableau 35, figure 28). La DI des ACN nosocomiales (acquises au CHU de Grenoble) pour les 24 mois du suivi épidémiologique est de 0.1 (0-0.3) cas pour 100 000 patients-jours (cf. tableau 36, figure 24). Si l'on ne considère que les cas de plus grande certitude diagnostique (prouvés et probables), on ne retrouve pas d'ACN d'origine nosocomiale probable.

Les AI nosocomiales sont survenues deux fois sous forme de deux cas groupés dans un même service et dans un même espace temps, à savoir en mars 2000 en pédiatrie et en octobre 2000 en hématologie. Pour les autres il s'agissait de cas isolés, 1 en néphrologie en mai 2000, 2 en août 2000 mais dans deux services différents, en hématologie et en réanimation, 1 en pneumologie en novembre 2000 et enfin 1 en hématologie en septembre 2001 (cf tableau 36, figure 23).

La DI des AI d'origine nosocomiale probable (acquises au CHU de Grenoble) de l'année 2000, de 1.4 (0.4-2.4) cas pour 100 000 patients-jours (8 cas), est significativement supérieure à celle de l'année 2001, avec une DI de 0.2 (0-0.5) (1 cas) ($p < 0.05$) (cf. tableau 36).

Tableau 33

Facteurs de risque AI		
	Cas prouvés, possibles et probables	Cas prouvés et probables
Hémopathie maligne	34 dont 24 agranulocytose	17 dont 7 agranulocytose
Corticothérapie systémique (long court) seule	5	4
Autres cancers + chimiothérapie	5 dont 1 agranulocytose	3 dont 1 agranulocytose
Transplantation d'organes	4 dont 1 agranulocytose	3 dont 1 + agranulocytose
Immunosuppresseur + corticoïdes (patient non transplanté)	1	1

Tableau 34

Origine des cas d'AI				
Service	Nosocomiale CHU	Nosocomiale autre CH	Non nosocomiale	Indéterminée
Hématologie	4	0	5	12
Réanimation	1	1	3	3
Pneumologie	1	0	2	3
Médecine infectieuse	0	0	0	6
Oncologie	0	0	0	2
Pédiatrie	2	0	0	0
Rhumatologie	0	0	1	0
Néphrologie	1	0	0	0
Médecine interne	0	0	0	1
Hépto-gastroentérologie	0	0	0	1
Total	9	1	11	28

Tableau 35

Origine des cas d'ACN par service				
Service	Nosocomiale CHU	Nosocomiale Autre CH	Non nosocomiale	Indéterminée
Pneumologie	0	0	12	9
Médecine interne	0	0	6	5
Réanimation	1	1	2	2
Médecine infectieuse	0	0	2	1
Cardiologie	0	0	0	3
Gériatrie	0	0	1	1
Total	1	1	23	21

Figure 27

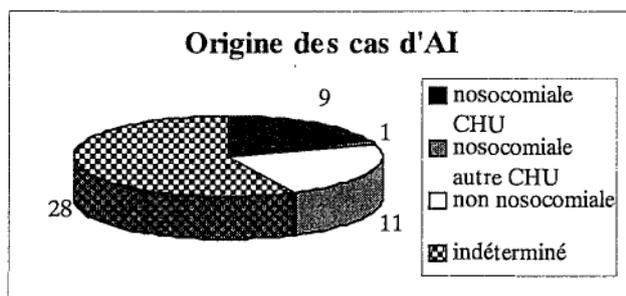


Figure 28

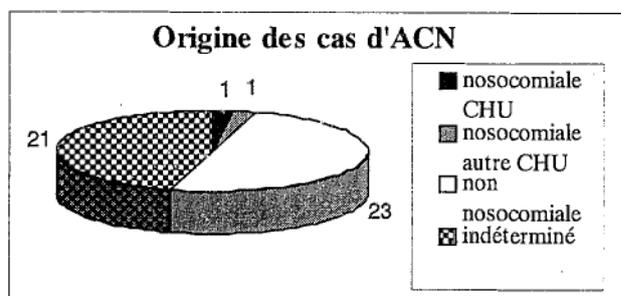


Tableau 36

**Densité d'incidence pour 100 000 patients-jours des cas nosocomiaux
(contractés au CHU de Grenoble)**

Mois	Nombre jours hospitalisation	Aspergilloses invasives				Aspergilloses chroniques nécrosantes			
		Cas	DI	Cas prouvés probables	DI prouvés probables	Cas	DI	Cas prouvés probables	DI prouvés probables
janv-00	49724	-	-	-	-	-	-	-	-
févr-00	47859	-	-	-	-	1	2.1 [0-6.2]	-	-
mars-00	49868	2	4.0 [0-9.6]	1	2.0 [0-5.9]	-	-	-	-
avr-00	46020	-	-	-	-	-	-	-	-
mai-00	46469	1	2.2 [0-6.3]	1	2.2 [0-6.3]	-	-	-	-
juin-00	45365	-	-	-	-	-	-	-	-
juil-00	44704	-	-	-	-	-	-	-	-
aout-00	42884	2	4.7 [0-11.1]	1	2.3 [0-6.9]	-	-	-	-
sept-00	44558	-	-	-	-	-	-	-	-
oct-00	48861	2	4.1 [0-9.8]	1	2.0 [0-6.1]	-	-	-	-
nov-00	47372	1	2.1 [0-6.2]	-	-	-	-	-	-
déc-00	47135	-	-	-	-	-	-	-	-
janv-01	50582	-	-	-	-	-	-	-	-
févr-01	46293	-	-	-	-	-	-	-	-
mars-01	51399	-	-	-	-	-	-	-	-
avr-01	47592	-	-	-	-	-	-	-	-
mai-01	48163	-	-	-	-	-	-	-	-
juin-01	45532	-	-	-	-	-	-	-	-
juil-01	47082	-	-	-	-	-	-	-	-
aout-01	44113	-	-	-	-	-	-	-	-
sept-01	45286	1	2.2 [0-6.5]	1	2.2 [0-0.65]	-	-	-	-
oct-01	48892	-	-	-	-	-	-	-	-
nov-01	47554	-	-	-	-	-	-	-	-
déc-01	47090	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	1130397	9	0.8 [0.3-1.3]	5	0.4 [0-0.8]	1	0.1 [0-0.3]	0	0
Total 2000	560819	8	1.4 [0.4-2.4]	4	0.7 [0-1.4]	1	0.2 [0-0.5]	0	0
Total 2001	569578	1	0.2 [0-0.5]	1	0.2 [0-0.5]	0	0	0	0

3-2-5) Evolution des cas

L'évolution à 15 jours des 49 AI a été fatale pour 21 cas (43%), stable pour 5 cas (10%), favorable pour 19 cas (39%) et inconnue pour 4 cas (8%) (cf. tableau 37, figure 29). Parmi les 28 AI de plus grande certitude diagnostique (prouvées et probables), on recense 14 (50%) décès à 15 jours.

L'évolution à 15 jours des ACN a été fatale pour 4 cas (9%), défavorable sans décès pour 5 cas (11%), stable pour 6 cas (13%), favorable pour 18 cas (39%) et inconnue pour 13 cas (29%) (cf. tableau 37 et figure 30). Parmi les cas prouvés et probables on ne recense que deux décès.

3-2-6) Le service d'hématologie

On recense durant les 24 mois du suivi, 21 AI dont 1 (5%) prouvée, 8 (38%) probables et 12 (57%) possibles (cf. figure 25). La DI est de 1.06 (0.61-1.51) cas pour 1000 patients-jours pour les 24 mois de suivi (cf. tableau 39 et figure 31). La DI pour les seules AI prouvées et probables est de 0.46 (0.16-0.75) cas pour 1000 patients-jours.

On observe une augmentation de la DI en juillet et en septembre 2001, avec respectivement 3 cas, soit une DI de 4.39 (IC 0-9.35) et 4 cas, soit une DI de 4.98 (0.1-9.86) cas pour 1000 patients-jours (cf. tableau 39, figure 31). En dehors de ces mois, la DI mensuelle oscille entre 0 et 2.56 (0-3.55) cas pour 1000 patient-jours (0 à 2 cas mensuels). Nous n'avons pas pu montré si l'augmentation de la DI des mois de juillet et septembre 2001 était statistiquement significative, car l'on ne peut appliquer le test du Khi2. Les cas de ces deux mois sont tous regroupés au niveau de l'unité C. Parmi eux, seul un cas est d'origine nosocomiale probable (cf. tableau 40 et figure 32).

On recense 14 (67%) AI au niveau de l'unité C, soit une DI de 1.04 (0.49-1.59) cas pour 1000 patients-jours, 7 (33%) AI au niveau secteur conventionnel de l'unité B, soit une DI de 1.65 (0.42-2.87) cas pour 1000 patients-jours et aucune AI au niveau du secteur protégé de l'unité B (cf. tableau 40 et figure 32).

L'origine est nosocomiale probable pour 4 (19%) cas, non nosocomiale pour 5 (24%) cas et indéterminée pour 12 cas (57%) (cf. tableau 34). La DI des AI nosocomiales, est de 0.20 (0.01-0.40) cas pour 1000 patients-jours pour les 24 mois de suivi épidémiologique (cf. tableau 39). Si l'on ne considère que les AI prouvées et probables, la DI des cas d'origine nosocomiale, est de 0.15 (0-0.32) cas pour 1000 patients-jours (3 cas) pour les 24 mois de suivi épidémiologique.

Les cas nosocomiaux sont survenus sous forme d'1 cas en août 2000 au niveau de l'unité C, de 2 cas groupés en octobre 2000 au niveau du secteur conventionnel de l'unité B et enfin un dernier cas au niveau de l'unité C en septembre 2001 (cf. tableau 40 et figure 32).

La DI des cas nosocomiaux du secteur conventionnel de 0, est inférieure à celle du secteur conventionnel (unités B et C réunies) de 0.19 (0-0.41) cas pour 1000 patients-jours (4 cas). Mais nous n'avons pas pu réalisé de comparaison statistique entre le secteur protégé et le secteur conventionnel (pour les mêmes raisons qu'évoquées ci-dessus)

Tableau 37

Evolution à 15 jours des cas d'AI par service					
Service	Amélioration	Stabilité	Aggravation	Décès	Inconnue
Hématologie	9	3	0	7	2
Réanimation	1	0	0	7	0
Pneumologie	2	1	0	2	1
Médecine infectieuse	4	1	0	1	0
Oncologie	0	0	0	2	0
Pédiatrie	1	0	0	0	1
Rhumatologie	1	0	0	0	0
Néphrologie	0	0	0	1	0
Médecine interne	1	0	0	0	0
Hépatogastroentérologie	0	0	0	1	0
Total	19	5	1	20	4

Tableau 38

Evolution à 15 jours des cas d'ACN par service					
Service	Amélioration	Stabilité	Aggravation	Décès	Inconnue
Pneumologie	7	2	4	1	7
Médecine interne	8	2	0	0	1
Réanimation	2	1	1	2	0
Médecine infectieuse	1	0	1	0	1
Cardiologie	0	0	0	1	2
Gériatrie	0	0	0	0	2
Total	18	5	6	4	13

Figure 29

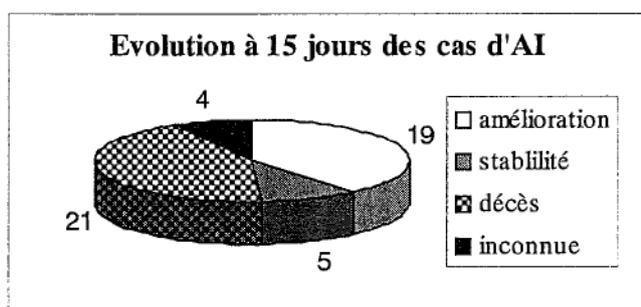
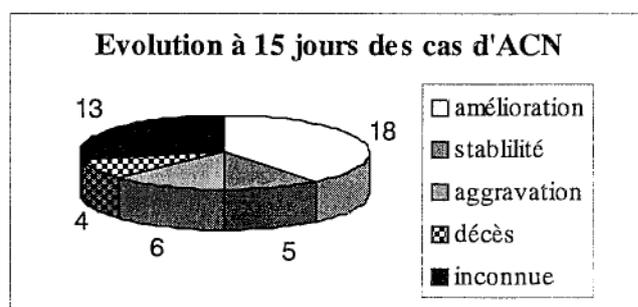


Figure 30



La DI des cas nosocomiaux au niveau de l'unité C de 0.15 (0-0.44) cas pour 1000 patients-jours (2 cas probables) est inférieure à celle du secteur conventionnel de l'unité B qui est soit de 0.47 (0-1.13) pour les cas prouvés, probables et possibles (2 cas), soit de 0.24 (0-0.7) cas pour 1000 patients-jours pour les seules AI prouvées et probables (1 cas). Nous n'avons à nouveau pas pu réaliser de comparaison statistique entre les deux unités (pour les mêmes raisons qu'évoquées ci-dessus).

La DI de l'année 2001, de 1.45 (0.67-2.21) cas pour 1000 patients-jours (14 cas) est supérieure à celle de l'année 2000, de 0.69 (0.18-1.21) (7 cas), mais la différence n'est pas significative ($p=0.1$). Néanmoins si l'on ne considère que les AI de plus grande certitude diagnostique (prouvées et probables), la DI est relativement stable entre les deux années, 0.46 (0.06-0.75) cas pour 1000 patients-jours en 2000 (5 cas) et 0.42 (0.01-0.82) cas pour 1000 patients-jours en 2001 (4 cas) (cf. tableau 39).

On remarque également une augmentation significative de la découverte de sérologies positives isolées chez des patients à risque, avec une DI de 0.40 (0.01-0.78) cas pour 1000 patients-jours en 2000 (4 cas) et de 1.35 (0.61-2.08) cas pour 1000 patients-jours en 2001 (13 cas) ($p<0.02$).

3-3) Relation cas / contamination environnementale dans le service d'hématologie

Durant les 6 mois de suivi environnemental (entre le 1^{er} novembre et le 30 avril 2001), on ne recense aucune AI nosocomiale dans le service d'hématologie.

Tableau 39

Densité d'incidence dans le service d'hématologie pour 1000 patients jours

Mois	Nb jours hospit	Toutes les AI		AI prouvées probables		AI nosocomiales		Sérologies isolées à risque AI	
		AI	DI	Cas	DI	Cas	DI	Cas	DI
janv-00	878	1	1.14 [0-3.37]	1	1.14 [0-3.37]	-	-	-	-
févr-00	828	-	-	-	-	-	-	-	-
mars-00	899	2	2.22 [0-5.3]	1	-	-	-	-	-
avr-00	796	-	-	-	-	-	-	-	-
mai-00	864	-	-	-	-	-	-	-	-
juin-00	777	-	-	-	-	-	-	-	-
juil-00	894	1	1.12 [0-3.31]	1	1.12 [0-3.31]	-	-	-	-
aout-00	862	1	1.16 [0-3.43]	1	1.16 [0-3.43]	1	1.16 [0-3.43]	1	1.16 [0-3.43]
sept-00	864	-	-	-	-	-	-	-	-
oct-00	850	2	2.35 [0.04-4.66]	1	-	2	2.35 [0.04-4.66]	-	-
nov-00	789	-	-	-	-	-	-	1	1.27 [0-3.75]
déc-00	798	-	-	-	-	-	-	2	2.51 [0-6.26]
janv-01	866	1	1.07 [0-3.18]	-	-	-	-	2	2.14 [0-5.12]
févr-01	837	-	-	-	-	-	-	3	3.62 [0-7.72]
mars-01	862	-	-	-	-	-	-	1	1.11 [0-3.29]
avr-01	839	1	1.26 [0-3.72]	1	1.26 [0-3.72]	-	-	-	-
mai-01	850	1	1.18 [0-3.49]	-	-	-	-	3	3.53 [0.7-5.2]
juin-01	782	2	2.56 [0-3.55]	1	-	-	-	2	2.56 [0-3.55]
juil-01	684	3	4.39 [0-9.35]	-	-	-	-	-	-
aout-01	781	-	-	-	-	-	-	1	1.28 [0-3.79]
sept-01	803	4	4.98 [0.09-9.86]	1	1.24 [0-3.67]	1	1.24 [0-3.67]	-	-
oct-01	877	-	-	-	-	-	-	-	-
nov-01	780	1	1.28 [0-3.79]	1	1.28 [0-3.79]	-	-	1	1.28 [0-3.79]
déc-01	701	1	1.42 [0-4.22]	-	-	-	-	-	-
Total	19761	21	1.06 [0.61-1.51]	9	0.46 [0.16-0.75]	4	0.20 [0.040-0.40]	17	0.86 [0.45-1.26]
Total 2000	10099	7	0.69 [0.18-1.21]	5	0.46 [0.06-0.71]	3	0.30 [0-0.63]	4	0.40 [0.01-0.78]
Total 2001	9662	14	1.45 [0.67-2.21]	4	0.42 [0.01-0.82]	1	0.10 [0-0.31]	13	1.35 [0.61-2.08]

Tableau 40

**Densité d'incidence dans le service d'hématologie pour 1000 patients-jours
en fonction des différents secteurs et unités**

Mois	Secteur conventionnel unité B					Unité C					Secteur protégé B		
	Nb jours hospit.	Tous les cas	DI tous les cas	Cas noso	DI noso	Nb jours hospit.	Tous les cas	DI tous les cas	Cas Noso	DI noso	Nb jours hospit	cas	DI
janv-00	174	-	-	-	-	601	1	1.66 [0-4.93]	-	-	103	-	-
févr-00	173	-	-	-	-	550	-	-	-	-	105	-	-
mars-00	173	2	11.56 [0-27.58]	-	-	591	-	-	-	-	135	-	-
avr-00	127	-	-	-	-	566	-	-	-	-	103	-	-
mai-00	210	-	-	-	-	575	-	-	-	-	79	-	-
juin-00	167	-	-	-	-	539	-	-	-	-	71	-	-
juil-00	193	1	5.18 [0-15.33]	-	-	595	-	-	-	-	106	-	-
août-00	149	-	-	-	-	612	1	1.63 [0-4.84]	1	1.63 [0-4.84]	101	-	-
sept-00	212	-	-	-	-	572	-	-	-	-	80	-	-
oct-00	219	2	9.13 [0-21.18]	2	9.13 [0-21.18]	565	-	-	-	-	66	-	-
nov-00	170	-	-	-	-	530	-	-	-	-	89	-	-
déc-00	197	-	-	-	-	550	-	-	-	-	51	-	-
janv-01	204	-	-	-	-	574	1	1.74 [0-5.16]	-	-	88	-	-
févr-01	188	-	-	-	-	550	-	-	-	-	82	-	-
mars-01	175	-	-	-	-	610	-	-	-	-	77	-	-
avr-01	193	-	-	-	-	575	1	1.74 [0-5.16]	-	-	71	-	-
mai-01	216	-	-	-	-	561	1	1.78 [0-5.28]	-	-	73	-	-
juin-01	185	2	10.81 [0-25.79]	-	-	504	-	-	-	-	93	-	-
juil-01	196	-	-	-	-	421	3	7.13 [0-15.19]	-	-	67	-	-
août-01	183	-	-	-	-	536	-	-	-	-	62	-	-
sept-01	178	-	-	-	-	558	4	7.17 [0.01-14.19]	1	1.79 [0-5.22]	64	-	-
oct-01	182	-	-	-	-	540	-	-	-	-	70	-	-
nov-01	180	-	-	-	-	521	1	1.92 [0-5.68]	-	-	68	-	-
déc-01	182	-	-	-	-	457	1	2.19 [0-6.47]	-	-	62	-	-
Total	4232	7	1.65 [0.42-2.87]	2	0.47 [0-1.13]	13397	14	1.04 [0.49-1.59]	2	0.15 [0-0.44]	2132	0	0

Figure 31

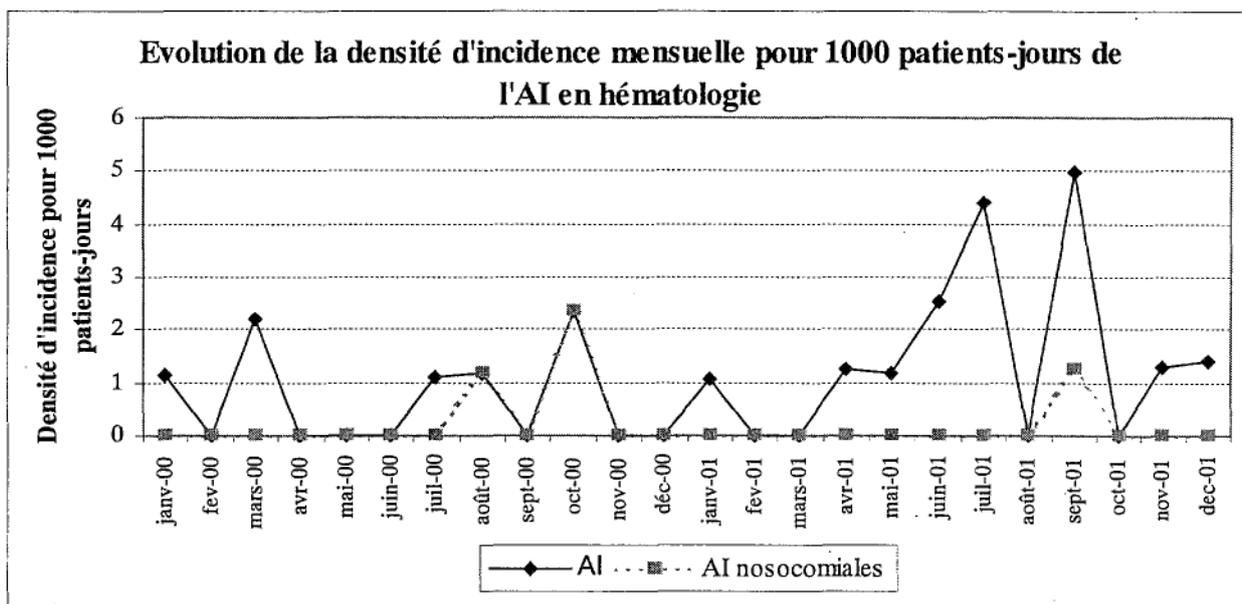
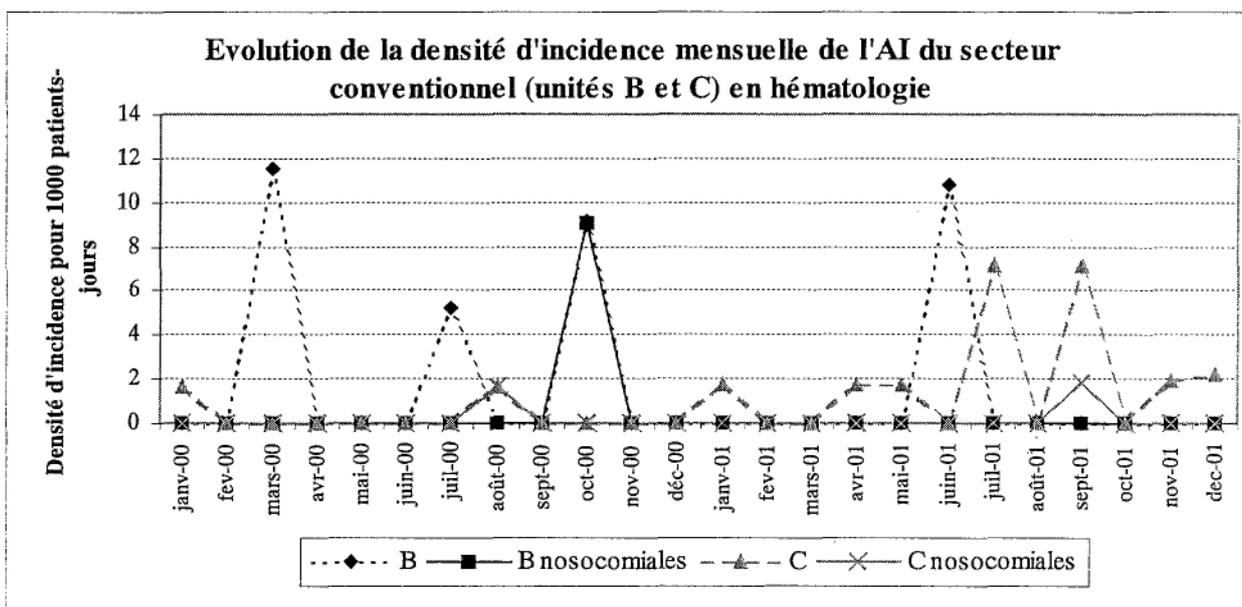


Figure 32



4) Discussion

4-1) Suivi environnemental

4-1-1) Place et originalité de cette étude dans le contexte de la littérature

S'il ne s'agit pas de la première étude à étudier la contamination environnementale fongique et aspergillaire et son impact sur l'incidence des cas d'AI, elle se distingue néanmoins des autres. En effet, elle figure parmi les rares études qui comportent des prélèvements de surface, après celles d'Alberti et al. et Arnow et al. (1, 5). C'est également la première étude qui a étudié l'influence de certains éléments (nombre de lits par chambre, empoussièrement, nombre de visiteurs, fermeture de la porte des chambres) sur la contamination environnementale des secteurs conventionnels.

La méthodologie utilisée pour réaliser les prélèvements est conforme à celle recommandée par la conférence de consensus (17). En effet les prélèvements d'air ont bien été réalisés à l'aide d'un biocollecteur à impaction direct, avec un débit supérieur à 100 litres par minute.

Cependant avant de comparer les résultats obtenus dans notre étude à ceux de la littérature, il sera nécessaire de prendre en considération l'étude de Nesa et al (46). En effet ces derniers ont comparé les performances de différents biocollecteurs, Sampl'air® (AES), Air Test Omega® (LCB), Air Samplair Mas 100® (Merck) et Bio-Impactor® 100-08 (Air Statégie). Or le Sampl'air® utilisé dans notre étude, ne s'est pas fait remarquer par son efficacité, alors que les performances des autres appareils se sont révélées équivalentes.

Le support utilisé pour les prélèvements de surface, l'empreinte sur gélose à l'aide de géloses contacts correspond également aux recommandations de la conférence de consensus qui ne recommande l'écouvillonnage, utilisé par Alberti et al. et Arnow et al., qu'en deuxième intention (1, 5). Notre étude est la première à utiliser ce support qui permet d'obtenir des résultats qualitatifs et semi-quantitatifs.

4-1-2) Recherche des facteurs influençant la contamination

4-1-2-1) Efficacité de la prévention dans le secteur protégé

4-1-2-1-1) Influence du facteur secteur protégé

Le secteur protégé du service d'hématologie du CHU de Grenoble, équipé de filtres HEPA, d'une surpression par rapport aux autres pièces et d'une ventilation à haut renouvellement d'air, avec un flux laminaire (deux chambres) ou même turbulent (deux chambres), associés à des mesures comportementales, est efficace. En effet aucune colonie d'*Aspergillus* n'a été retrouvée dans la totalité du secteur, dans l'air comme sur les surfaces, dans les chambres avec flux laminaire, comme dans les chambres à flux turbulent. Les résultats sont conformes

aux recommandations de la conférence de consensus qui exige le niveau « zéro *Aspergillus* » dans de tels secteurs (17).

Le seul prélèvement retrouvé positif en champignon filamenteux non aspergillaire (1 seule colonie) dans l'air d'une chambre, a déclenché le niveau d'alerte. Un nouveau contrôle environnemental a été réalisé. Les résultats satisfaisants de ce contrôle (aucune colonie de champignon filamenteux retrouvée) ont donné fin à l'alerte. Nous remarquons que ce prélèvement retrouvé positif correspondait à une chambre à flux turbulent et non pas à une chambre à flux laminaire, ce qui confirme la supériorité du flux laminaire sur le flux turbulent décrite dans la littérature (1, 51).

L'efficacité du secteur protégé est très bien illustrée par la comparaison des prélèvements de surface du secteur protégé à ceux du secteur conventionnel.

En effet les surfaces des chambres du secteur conventionnel sont 22.6 fois plus contaminées en *Aspergillus* et 62.6 fois plus en champignons filamenteux que celles des chambres du secteur protégé.

Les offices infirmiers du secteur conventionnel sont également 7.9 fois plus contaminés en champignons filamenteux que l'office infirmier du secteur protégé. Mais la différence est moins considérable que pour les chambres, fait compréhensible, compte tenu de l'activité du personnel dans l'office. De plus les précautions sont plus rigoureuses dans les chambres. Enfin les malades du secteur protégé ne peuvent quitter leur chambre et n'ont donc pas accès à l'office infirmier du secteur protégé. On souligne cependant que l'on a observé, dans ce dernier, deux prélèvements de surface et un prélèvement d'air positifs. Cette contamination a pu se produire au cours de l'introduction dans le secteur protégé du matériel de radiographie. En effet, l'entrée de ce dernier ne peut pas se faire par le sas, à défaut de place et implique d'ouvrir une porte séparant directement l'office infirmier du secteur conventionnel (cf. chapitre consacré à la description du service d'hématologie). Ce problème architectural (sas trop étroit) représente une limite à l'efficacité du secteur protégé.

L'efficacité du système de traitement d'air apparaît encore clairement dans la comparaison des prélèvements d'air entre les chambres. Ainsi les chambres du secteur conventionnel sont 9.5 fois plus contaminées en champignons filamenteux que les chambres du secteur protégé.

L'absence de différence significative au niveau de la contamination aspergillaire de l'air des chambres, entre le secteur protégé et le secteur conventionnel, peut s'expliquer selon deux raisons. La première est liée aux propriétés des spores aspergillaires qui se déplacent sous forme de « nuages aspergillaires » caractérisés par une durée de vie très courte dans l'air (1 heure). Très vite les spores composant le nuage sédimentent au niveau des surfaces et la contamination aérienne s'annule (53). C'est pourquoi les prélèvements d'air présentent un intérêt limité (53). C'est ce que souligne la conférence de consensus qui préconise de réaliser des prélèvements de surface en priorité car ils reflètent mieux que le prélèvement d'air la contamination aspergillaire. Elle précise également que les prélèvements d'air doivent être considérés comme des prélèvements d'appoint (17). La deuxième raison est liée à l'existence au niveau du secteur conventionnel, d'un système de filtration partielle opacimétrique à 85% qui limite certainement la contamination en *Aspergillus* du secteur conventionnel.

4-1-2-1-2) Comparaison à la littérature

L'efficacité des secteurs protégés par rapport à l'absence de protection a déjà été rapportée dans la littérature par différents auteurs, nous l'avons développé dans la première partie (1, 5, 55, 58). Nos résultats sont donc en accord avec les données de la littérature.

La concentration en terme d'*Aspergillus* dans l'air des chambres du secteur protégé du CHU de Grenoble (0 UFC/m³) est comparable à celle décrite dans la littérature. Sherertz et al rapportent des concentrations de 0.009 UFC d'*Aspergillus*/m³ d'air (58), avec des protocoles de prélèvement comparables. Nous rappelons cependant que l'appareil utilisé dans notre étude pourrait être moins performant que d'autres, nos résultats sont donc peut-être sous-estimés (46).

Nous remarquons que les résultats de prélèvements de surface obtenus par Alberti et al., dans des chambres d'un secteur protégé avec HEPA, hors flux laminaire, sont moins satisfaisants (1). En effet ils retrouvent 5.5% de prélèvements de surface positifs en *Aspergillus* sp. et 18.1 % en champignons filamenteux, alors que nous n'avons retrouvé aucune colonie, ni d'*Aspergillus* ni de champignon filamenteux, au niveau des surfaces des chambres à flux turbulent. Mais les méthodes de prélèvement n'étant pas les mêmes, il est difficile de comparer ces prélèvements de surface.

4-1-2-2) Etude du secteur conventionnel

4-1-2-2-1) Le facteur « Unité »

Nous reviendrons ultérieurement sur la différence observée initialement au niveau de la contamination des surfaces des chambres des unités B et C, dans un chapitre consacré à l'effet du nombre de lits par chambre.

La contamination plus importante de l'air du couloir de l'unité C par rapport à l'unité B peut s'expliquer par le nombre de lits plus important au niveau de l'unité C (24 lits) par rapport à celui du secteur conventionnel de l'unité B (8 lits). En effet cette plus grande capacité d'accueil de l'unité C peut être associée à une circulation plus importante de personnes (familles des patients) et de matériel dans le couloir, pouvant entraîner une contamination plus importante de l'air.

Les mesures de précaution observées au niveau de l'unité C relatives au décartonnage du matériel et des solutés, (cf. chapitre consacré à la description du service d'hématologie), ne semblent pas avoir eu un retentissement majeur au niveau de la contamination aspergillaire et fongique totale du couloir. En effet, alors que ces mesures ne sont pas observées au niveau de l'unité B, le couloir de celle-ci n'est pas plus contaminé au niveau des surfaces, ni de l'air que celui de l'unité C. Au contraire la contamination fongique de l'air est moins importante, bien que l'on ait constaté, à chaque campagne, la présence dans l'unité B et l'absence dans l'unité C, de cartons dans le couloir. Mais il s'agit d'être très prudent avant de conclure à l'absence d'influence de ces mesures comportementales, car leur impact est peut être dissimulé par d'autres facteurs qui ont une influence plus importante sur la contamination aspergillaire et fongique. En aucun cas nous ne préconisons leur abandon.

4-1-2-2-2) Le facteur « Précautions relatives aux chambres des patients agranulocytaires »

Au vu des résultats, les mesures de prévention autres que le placement en chambre à un lit, c'est-à-dire le maintien permanent de la porte fermée, le port d'un masque, le nettoyage des mains avant d'entrer et la limitation du nombre de visiteurs à deux maximum, semblent avoir un effet limité sur la contamination aspergillaire et fongique totale des surfaces. Il faut cependant souligner que malgré une différence non significative, nous avons retrouvé une contamination aspergillaire et fongique totale inférieure dans les chambres associées à ces mesures de prévention (avec surtout 0 *Aspergillus*) par rapport à celles qui n'en bénéficiaient pas (avec une colonie d'*Aspergillus* retrouvée) (cf. tableau 10 et figure 5).

L'effet sur la contamination des surfaces de ces mesures de prévention existe peut-être bien, mais il n'est pas suffisamment important et nos techniques de mesure pas suffisamment sensibles, pour le détecter, en l'absence d'un système de traitement d'air efficace.

En revanche, les résultats obtenus pour l'air suggèrent un effet plus marqué de ces mesures de prévention sur la contamination de l'air en champignons filamenteux. Mais les effectifs sont très faibles. Par conséquent ces résultats méritent d'être confirmés à travers un plus grand nombre de prélèvements. La mesure de prévention la plus à même d'avoir cet effet, est le maintien permanent de la porte fermée.

Il faut souligner que ces mesures de prévention sont contraignantes pour le personnel et surtout les patients, notamment le maintien permanent de la porte fermée, à l'origine d'un sentiment d'isolement pour le patient. Par conséquent, le rapport bénéfices / contraintes de ces mesures doit faire l'objet d'une évaluation plus approfondie et plus puissante. Dans l'attente d'une confirmation, elles ne doivent pas être abandonnées car elles peuvent jouer un rôle fondamental dans la prévention d'autres infections, en particulier le nettoyage des mains. Enfin pour un environnement protégé équipé d'un système de traitement d'air efficace, elles sont indispensables car elles contribuent au maintien de l'intégrité de ce système.

4-1-2-2-3) Le facteur « Nombre de lits »

Au vu des résultats, nous ne pouvons donc pas nous avancer sur l'existence d'une différence quelle que soit l'unité entre les chambres à un et à deux lits. Nous ne pouvons pas non plus affirmer que la différence observée entre les chambres des unités B et C existe, quel que soit le nombre de lits. Nous pouvons seulement émettre deux hypothèses :

- l'existence possible d'une différence globale, quelle que soit l'unité, entre les chambres à un lit et à deux lits, sans différence réelle entre les deux unités B et C.
- l'existence possible d'une différence entre les deux unités B et C, seulement au niveau des chambres à deux lits, avec une différence entre les chambres à un et deux lits seulement au niveau de l'unité C mais pas dans l'unité B.

La contamination plus importante observée dans l'unité C dans les chambres à deux lits par rapport à celles à un lit et l'absence de différence de contamination entre les chambres à un lit des deux unités B et C, peuvent s'expliquer ainsi ; nous avons retrouvé deux différences

essentielles entre les chambres à deux lits de l'unité C par rapport aux chambres à un lit de cette même unité et à toutes les chambres de l'unité B :

- une première différence au niveau de l'entretien des locaux, plus précisément au niveau du nombre de lits affectés aux agents d'entretien (cf. chapitre consacré à la description du service d'hématologie). En effet dans l'unité C, l'ASH affecté à l'entretien de la majorité des chambres à deux lits se voit attribuer 14 lits, contre 11 pour l'ASH affecté à l'entretien des chambres à un lit. Au niveau de l'unité B, l'unique ASH qui effectue l'entretien des chambres à un et deux lits ne se voit attribuer que 8 lits. La charge de travail supplémentaire pour l'ASH affecté à l'entretien des chambres à deux lits de l'unité C, a peut-être des conséquences sur la qualité de l'entretien des locaux et le niveau de contamination fongique environnementale.

- une deuxième différence d'ordre architectural. En effet les chambres à un lit de l'unité C sont situées au fond du couloir et sont donc plus éloignées, par rapport aux chambres à deux lits, de la porte d'entrée du service. Les chambres à un et à deux lits de l'unité B ne se trouvent pas à proximité de l'entrée mais plus au fond du service, comme les chambres à un lit de l'unité C. Or au cours de l'ouverture de la porte du service de l'unité C, des spores aspergillaires ou de champignons filamenteux peuvent pénétrer et contaminer les chambres à deux lits situées à proximité, sans atteindre les chambres à un lit. Les chambres à un lit au fond du couloir sont également moins exposées au passage des personnes et au transport de matériel dans le couloir.

Nous observons que ces deux différences observées entre les chambres à un et à deux lits de l'unité C, ne sont pas retrouvées entre les chambres à un et à deux lits de l'unité B. Ceci peut nous tenter de pencher en faveur de notre deuxième hypothèse, avec l'absence de différence de contamination entre les chambres à un et à deux lits de l'unité B et l'existence d'une différence entre les chambres à deux lits de l'unité C et de l'unité B.

Au vu de ces premiers résultats, il convient en pratique, de réserver les chambres à un lit aux patients en agranulocytose dans les deux unités.

4-1-2-2-4) Le facteur « Empoussièremment »

La présence de poussière apparaît bien associée à celle d'*Aspergillus* et de champignons filamenteux au vu des résultats. Ces derniers confirment l'importance de la qualité de l'entretien des locaux dans les services à risque.

Nous revenons tout de même sur les résultats qui nous ont un moment fait douter de ce constat. En effet on n'observe plus de différence significative entre les prélèvements empoussiérés et non empoussiérés dans les chambres à un lit pour le PPP en *Aspergillus* et dans les chambres à deux lits pour les deux types de contamination aspergillaires et fongique totale. De plus dans l'analyse multivariée, le facteur empoussièremment n'est pas significatif pour les deux types de contamination.

L'existence d'un biais est difficile à admettre, car la poussière est reconnue comme une source de contamination fongique notamment aspergillaire (53). De plus dans les chambres à un lit, on retrouve tout de même une différence significative entre les prélèvements empoussiérés et les prélèvements non empoussiérés pour la contamination aspergillaire sur le NMCP et pour la contamination fongique totale sur le PPP et le NMCP. Il faut également ne pas oublier que le fait de réaliser des comparaisons seulement dans les chambres à un et à deux lits, nous fait perdre en puissance par rapport à la comparaison toutes pièces confondues, d'autant plus que le nombre de prélèvements empoussiérés est faible. Enfin, nous avons confirmé qu'au sein des couloirs et autres pièces, il existe une différence significative entre les prélèvements empoussiérés et les prélèvements non empoussiérés, ce qui nous a permis d'exclure le biais lié au nombre de lits.

L'explication possible des résultats non significatifs quand on réduit les effectifs, comme dans les chambres à un et à deux lits, réside certainement dans le manque évident de sensibilité du test utilisé pour évaluer l'empoussièrement. En effet il ne repose que sur la constat à l'œil nu de la présence de poussière sur le site de prélèvement. Il est par conséquent tout à fait possible que des prélèvements non suffisamment empoussiérés pour que cela soit visible à l'œil nu, aient pu être considérés à tort comme non empoussiérés. Par conséquent la contamination des prélèvements non empoussiérés a pu être surestimée.

4-1-2-2-5) Le facteur « Encombrement »

L'encombrement des chambres n'a pas eu d'effet significatif sur la contamination des surfaces et de l'air. Mais il faut souligner le caractère très subjectif et très peu sensible du test ayant permis de qualifier d'encombrée ou de non encombrée les chambres.

4-1-2-2-6) Les facteurs « Visiteur » et « Porte ouverte / fermée »

L'étude de l'influence de ces facteurs est limitée par leur caractère très ponctuel. En effet le constat au moment de la réalisation des prélèvements d'une porte fermée ou ouverte et le constat de l'absence ou la présence de visiteurs, ne préjuge en rien de ce qu'il en était dans les heures précédentes. Or c'est justement la situation dans les heures précédentes qui correspond le mieux à la contamination des surfaces. C'est pourquoi nous abordons ces résultats avec beaucoup de distance.

La différence de contamination observée initialement entre les chambres à porte ouverte et porte fermée, est en fait liée à l'existence d'un biais (association des chambres à porte ouverte avec des chambres à un lit). La fermeture ou ouverture de la porte, seulement au moment où l'on réalise les prélèvements, ne semble donc pas avoir d'influence sur la contamination aspergillaire et fongique totale et ne constitue pas un paramètre très fiable pour l'étude de la contamination fongique car trop ponctuel.

Nous avons constaté que la présence de deux visiteurs, au moment de la réalisation des prélèvements, était associée à une contamination des surfaces plus importante par rapport aux chambres comprenant un ou aucun visiteur. Mais nous gardons également beaucoup de réserve face à ce constat très ponctuel.

4-1-2-2-7) Comparaison à la littérature

Les concentrations aspergillaires de l'air observées dans les chambres du secteur conventionnel, 0.07 (0-0.21) UFC/m³ dans l'unité B et 0.12 (0-0.28) UFC/m³ dans l'unité C sont inférieures à celles retrouvées par Alberti et al.(1). Ces derniers rapportent des concentrations de 3.3 (2-4) et 2.8 (2-4) UFC/m³ dans deux unités conventionnelles d'hématologie de l'Hôpital Saint Louis, équipées également d'une filtration opacimétrique à 85%, comme dans le secteur conventionnel du CHU de Grenoble (1).

Plusieurs raisons peuvent expliquer cette différence de contamination. Le biocollecteur utilisé par Alberti et al., le Bio-Impactor® 100-08 apparatus (Air Stratégie) serait plus performant que le Sampl'air® (AES) que nous avons utilisé dans notre étude, selon Nesa et al. (46). Nos résultats de contamination sont donc peut-être sous-estimés. Les propriétés des spores aspergillaires que nous avons déjà plusieurs fois évoquées avec une durée de vie très courte dans l'air, peuvent contribuer à expliquer cette différence, nous sommes peut-être passés à côté des nuages aspergillaires dans notre étude. Le nombre de prélèvements réalisés diffère entre les deux études, nous disposons de moins de recul avec seulement 62 prélèvements d'air dans les chambres du secteur conventionnel, versus 200 dans l'étude d'Alberti et al. (1). Enfin malgré une efficacité théorique similaire, le système de filtration opacimétrique à 85% du secteur conventionnel du CHU de Grenoble est peut-être plus performant que celui de l'Hôpital Saint Louis.

Nous n'avons pas pu réaliser de comparaison au niveau des prélèvements de surface car nos techniques de prélèvement ne sont pas les mêmes.

4-1-2-3) Influence des travaux sur la contamination environnementale

Un événement particulièrement à risque est survenu durant la période de prélèvements, entre le 06/02/01 et le 06/03/01. Des travaux à haut risque, de part leur proximité au service d'hématologie et leur nature (abattage de cloisons) ont été réalisés. Bien évidemment ils ont été accompagnés de mesures de précaution très strictes dictées par l'unité d'hygiène hospitalière du CHU de Grenoble. Celles-ci consistent en l'isolement du chantier par des cloisons étanches, des plans de circulation spécifiques pour les matériaux, les engins et les ouvriers, le renforcement de l'entretien des locaux dans les unités de soins, avec le dépôt d'un linge imbibé de désinfectant régulièrement remplacé devant l'entrée de chaque unité. Ces travaux étaient localisés de façon plus rapprochée de l'unité B par rapport à l'unité C.

- **Secteur protégé unité B**

Les travaux semblent ne pas avoir eu d'influence sur la contamination fongique du secteur protégé de l'unité B. Les rares prélèvements positifs en surfaces datent du 04/01/01 et du 30/01/01 et pour l'air du 30/01/01 et du 11/04/01, ils ne correspondent donc pas aux dates de réalisation des travaux.

- **Secteur conventionnel unité B**

Si l'on considère l'ensemble « chambres + couloir », on observe un pic de contamination en champignons filamenteux totaux le 22/02/01. Nous remarquons que ce pic n'est pas observé pour la contamination aspergillaire et n'est pas observé non plus dans les chambres uniquement. Cette augmentation de la contamination fongique totale a donc eu lieu au niveau du couloir et pendant les travaux. Ces derniers constituent certainement la source de cette augmentation de la contamination en champignons filamenteux.

- **Unité C**

Dans les chambres, on observe un pic de contamination aspergillaire au niveau des chambres, le 27/03/01. Dans l'ensemble « chambres + couloir », on observe deux pics de contamination le 06/03/01 et le 27/03/01 pour les deux types de contamination

La campagne du 06/03/2001 correspond au dernier jour des travaux qui ne représente pas la période la plus à risque de ces derniers. Mais on peut tout de même évoquer leur influence sur l'augmentation de la contamination observée au cours de cette campagne. L'augmentation de la contamination s'est certainement localisée au niveau du couloir puisqu'on ne retrouve pas de pic au niveau des chambres à cette date.

Le pic de contamination observé le 27/03/01, est situé trois semaines après les travaux mais on ne peut exclure l'influence de ces derniers. On retrouve un autre facteur explicatif, la présence d'un nouvel ASH affecté à l'entretien des locaux entre le 02/03 et 15/04/01.

En revanche, on constate que la campagne du 14/02/01, au cœur de la période de travaux, ne semble pas avoir été influencée par ces derniers car la contamination aspergillaire et fongique de cette campagne s'avère plutôt basse.

- **Globalement :**

Les travaux ne semblent donc pas avoir eu d'influence sur la contamination aspergillaire et fongique totale du secteur protégé de l'unité B, déjà bien équipé. Ils ont eu une influence sur la contamination en champignons filamenteux du couloir du secteur conventionnel de l'unité B, ce qui est tout à fait compréhensible, puisqu'il était en première ligne par rapport à ces travaux. Enfin, les travaux pourraient avoir eu également des répercussions sur la contamination aspergillaire et fongique totale de l'unité C.

Il est difficile de se prononcer sur l'ampleur de l'influence des travaux, car une seule campagne de prélèvements a été réalisée dans chaque secteur au cours de ces derniers, ce qui n'est pas suffisant. On peut supposer néanmoins que les répercussions ont été limitées, puisque aucun cas d'aspergillose nosocomiale (nous le constaterons dans le suivi épidémiologique ultérieurement) n'a été recensé durant cette période. Les mesures de précaution très rigoureuses dictées par l'unité d'hygiène ont certainement joué un rôle essentiel dans la protection du service d'hématologie.

4-1-3) La contamination fongique totale : un indicateur indirect de la contamination aspergillaire

Afin d'évaluer si la mesure de la contamination fongique totale environnementale (*Aspergillus* sp. et champignons filamenteux non aspergillaires) est un indicateur indirect pertinent dans l'évaluation de la contamination aspergillaire seule, nous avons étudié la relation existant entre la présence d'*Aspergillus* et la présence de champignons filamenteux non aspergillaires au niveau des prélèvements. Nous avons observé une association significative entre la présence d'*Aspergillus* et de champignons filamenteux non aspergillaires au niveau des prélèvements.

Mais nous n'avons pas observé de corrélation entre le nombre d'*Aspergillus* et le nombre de champignons filamenteux non aspergillaires au niveau des prélèvements. Cette absence de corrélation, au niveau des prélèvements, ne signifie pas pour autant qu'il n'existe pas de corrélation entre la présence de spores d'*Aspergillus* et celle de champignons filamenteux non aspergillaires, dans l'air ou les surfaces. En effet le résultat des prélèvements est exprimé en colonies de champignons filamenteux (après transformation des spores en champignons filamenteux) et non pas en spores. Or toute spore ne donne par forcément naissance à une colonie.

On peut considérer comme Alberti et al. que la présence de champignons filamenteux sur un prélèvement est un bon indicateur indirect de la présence d'*Aspergillus* (1). Car la présence dans l'environnement de champignons filamenteux quels qu'ils soient, reflète un manque d'efficacité du système de filtration d'air et l'existence de conditions favorables au développement de champignons filamenteux notamment aspergillaires.

4-1-4) Etude de la relation contamination de l'air / contamination des surfaces

Nous avons également étudié la relation entre la présence concomitante d'*Aspergillus* ou de champignons filamenteux totaux dans l'air et les surfaces. Nous n'avons pas retrouvé d'association, ni de corrélation au niveau de la contamination aspergillaire, contrairement à Alberti et al. (1). En revanche nous avons retrouvé une association seulement et non pas de corrélation entre la présence de champignons filamenteux dans les surfaces et dans l'air.

L'absence d'association et de corrélation, entre la contamination aspergillaire entre les prélèvements d'air et de surface, peut s'expliquer par les propriétés des spores aspergillaires dont la présence dans l'air est très courte. Les prélèvements d'air reflètent une contamination extrêmement ponctuelle, alors que les prélèvements de surface reflètent plutôt l'accumulation d'une contamination dans le temps, d'où l'importance primordiale des prélèvements de surface.

Le suivi environnemental doit comporter des prélèvements de surfaces qui reflètent mieux que les prélèvements d'air le niveau réel de contamination fongique environnementale. Les prélèvements de surface, rapides à effectuer, ont pu être réalisés en grand nombre dans cette étude et ont ainsi permis de mettre en évidence l'influence de certains facteurs sur la contamination environnementale, à la différence des prélèvements d'air. La durée trop longue, nécessaire à la réalisation de ces derniers, limite la quantité de prélèvements et par conséquent la puissance statistique des comparaisons réalisées.

4-2) Suivi épidémiologique

4-2-1) Différents types de cas

Parmi les 49 AI et les 46 ACN rapportées au cours des 24 mois de suivi épidémiologique, seules 3 AI sont prouvées (6%) et aucune pour l'ACN. Le faible effectif de ces cas prouvés illustre bien la difficulté et la rareté avec laquelle on pose avec certitude le diagnostic d'AI ou d'ACN, notamment pour l'AI qui survient chez des patients immunodéprimés aux risques infectieux multiples.

On reste prudent devant les nombreux cas possibles, 21 pour l'AI et 38 pour l'ACN. En effet, une relative incertitude diagnostique persiste pour ces cas. Car il peut suffire d'un critère terrain et d'un critère radio-clinique majeur, sans critère microbiologique, pour poser le diagnostic d'AI possible. Or il est parfois difficile de dissocier une AI d'une autre pathologie infectieuse, même devant des signes radio-cliniques très évocateurs, sans un critère microbiologique, surtout pour des patients agranulocytaires susceptibles de développer la moindre infection. De même une simple colonisation sans signe clinique chez un patient à risque, entre dans la définition d'un cas possible. Cette incertitude diagnostique peut générer des biais de classement, d'où l'intérêt de la classification de l'EORTC qui dissocie les cas en AI prouvée, probable et possible et nous incite à cette prudence face aux cas possibles, sans les omettre (32).

On attache donc plus de considération à l'ensemble représenté par les cas prouvés et les cas probables dont l'incertitude diagnostique est moindre, au total 28 pour l'AI et 8 pour l'ACN. On souligne par conséquent la plus grande incertitude diagnostique pour les cas recensés d'ACN avec une majorité de cas possibles (38 cas sur 46), par rapport à l'AI avec une majorité de cas probables et prouvés (28 sur 49). Si l'on ne considère que les cas prouvés ou probables, l'ACN demeure une pathologie rare.

4-2-2) Evolution dans le temps

- **Pics d'incidence**

- **Le pic d'AI du début de l'année 2000 : mois de janvier et mars**

On ne peut pas attribuer ce pic du début de l'année 2000 (10 cas dont 7 probables) à une épidémie nosocomiale. En effet parmi ces cas groupés, seuls deux cas (mars) sont d'origine nosocomiale probable et sont survenus dans le même service, la pédiatrie. La conférence de consensus recommande de mener une investigation lors de la survenue de cas nosocomiaux groupés (17). Mais les investigations menées n'ont pas permis d'expliquer le contexte de survenue de ces deux cas de pédiatrie, qui n'ont pas été suivis par d'autres.

La survenue de ces 10 cas peut peut-être trouver une explication dans des facteurs climatiques, propres à cette période correspondant à la fin de l'année 1999 et au début de l'année 2000. En effet certains auteurs (nous l'avons évoqué dans la revue de littérature) pensent que les facteurs climatiques notamment la pluviosité peuvent avoir une influence sur la contamination aspergillaire environnementale (5, 24). Or juste avant la survenue de ces cas,

un événement climatique sans précédent est survenu en France : la tempête historique de décembre 1999. Le laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU de Grenoble a justement observé en janvier 2000, une augmentation de l'isolement de colonies d'*Aspergillus* dans les lavages bronchio-alvéolaires et les brossages alvéolaires de patients non immunodéprimés. Cette augmentation de la colonisation des patients durant cette période de l'année 2000, pourrait avoir généré les cas de janvier et même, du fait de la période d'incubation, les cas de mars.

- Le pic d'AI de l'été 2001 : mois de juillet et de septembre

Les 10 cas d'AI observés ne semblent à nouveau pas liés à une épidémie nosocomiale. En effet un seul cas est d'origine nosocomiale probable, même si 7 d'entre eux sont regroupés dans le service d'hématologie. De plus ces 10 cas sont en fait représentés par une majorité de cas de moindre certitude diagnostique, 7 cas possibles et seulement 3 cas probables.

• Evolution entre 2000 et 2001

La DI de l'AI n'a pas augmenté entre 2000 et 2001, l'augmentation attendue de la DI (évoquée dans la revue de la littérature), liée au nombre croissant de patients immunodéprimés, ne s'est pas faite ressentir entre ces deux années (25, 65).

L'augmentation non significative en 2001 de la DI de l'ACN (cas prouvés, probables et possibles) est due à une élévation de la DI des cas possibles, de 1.2 (0.9-3.3) cas pour 100 000 patients jours en 2000 (12 cas), à 4.6 (2.8-6.0) en 2001 (26 cas). La DI des cas probables a quant à elle diminué de façon non significative de 1.0 (0.2-1.9) cas pour 100 000 patients jours en 2000 (6 cas), à 3.0 (0-8.0) en 2001 (2 cas). L'augmentation du nombre de cas possibles peut s'expliquer par la prescription croissante de sérologies aspergillaires chez les patients à risque d'ACN, notamment dans le service de pneumologie depuis la création de la « Cellule Aspergillose ».

4-2-3) Origine des cas

Durant les 24 mois de suivi épidémiologique, on n'observe pas d'épidémie nosocomiale. En effet les cas d'origine nosocomiale probable sont dispersés entre les différents services et/ou dans le temps, à l'exception des deux cas de pédiatrie en mars 2000 et des deux cas d'hématologie en octobre 2000. Les investigations entreprises après la survenue de ces derniers (réalisation de prélèvements environnementaux, recherche de travaux etc.) n'ont pas permis d'identifier de source aspergillaire. De plus ces cas groupés comprennent en fait chacun un cas probable et un cas de moindre certitude diagnostique, un cas possible. Enfin ils n'ont pas été suivis d'autres cas.

Nous ne pouvons donc pas évoquer une épidémie nosocomiale à l'origine des AI nosocomiales excédentaires de l'année 2000 par rapport à l'année 2001. La diminution significative de la DI des AI d'origine nosocomiale probable entre 2000 et 2001, demeure difficile à expliquer. Il faut néanmoins souligner que parmi les 9 cas de 2000, seuls 4 étaient des AI prouvées ou probables. L'année 2000 n'a donc pas été tant touchée par les cas nosocomiaux, si l'on ne considère que les cas de forte certitude diagnostique.

Parallèlement à cette diminution du nombre de cas d'origine nosocomiale probable entre 2000 et 2001, on assiste à une augmentation significative de la DI des AI d'origine indéterminée, de 2 (0.8-3.1) en 2000 (11 cas), à 3 (1.6-4.4) cas pour 100 000 patients jours (17 cas) en 2001 ($p < 0.01$). En revanche, la DI des cas non nosocomiaux est restée stable entre les deux années, de 1.1 (0.2-1.9) cas pour 100 000 patients-jours en 2000 (6 cas) et 0.9 (0.1-1.6) en 2001 (5 cas).

Nous gardons cependant une certaine distance face aux cas d'origine nosocomiale probable. Car s'il est difficile de poser le diagnostic d'AI, il est encore plus difficile de préciser son origine nosocomiale, devant l'incertitude pesant sur le délai d'incubation (quelques jours à trois mois). Le critère de dix jours, entre l'admission du patient et la survenue des signes, choisi par la « Cellule Aspergillose » du CHU de Grenoble est un critère local. La détermination du caractère nosocomial est également limitée par la difficulté de dater la survenue des signes propres à l'AI. En effet les patients à risque d'AI, fortement immunodéprimés sont très souvent fébriles et peuvent être atteints de plusieurs infections successivement ou simultanément. L'AI peut se greffer sur une infection pré-existante. Les signes biologiques (antigénémies) sont détectés souvent après les signes cliniques. Il est par conséquent difficile de dater l'AI par rapport à des signes cliniques peu spécifiques.

On remarque le grand nombre de cas d'origine indéterminée, 28 (57%) pour l'AI et 21 (46%) pour l'ACN, cas dont on ne peut pas exclure l'origine nosocomiale. Il convient par conséquent de ne pas les négliger. La « Cellule Aspergillose » du CHU de Grenoble considère que si un patient a été hospitalisé dans les trois derniers mois avant la survenue des symptômes, on ne peut se prononcer sur son origine, compte tenu de la période d'incubation. Or les patients développant une AI ou une ACN sont des patients atteints de pathologies chroniques qui multiplient les séjours hospitaliers, d'où l'importance de l'effectif des cas d'origine indéterminée.

Ces résultats illustrent à quel point il est difficile de se prononcer sur l'origine nosocomiale en particulier de l'AI, alors même que le classement en cas nosocomial ou non, n'est pas sans conséquence pour la responsabilité des hôpitaux.

L'ACN, avec un seul cas nosocomial de faible certitude diagnostique (un cas d'ACN possible) paraît beaucoup moins affectée par le caractère nosocomial que l'AI. De plus le caractère chronique de l'ACN rend l'origine nosocomiale encore plus difficile à évaluer.

4-2-4) Services concernés et facteurs de risque

Le service d'hématologie est le service le plus touché pour l'AI (21 cas soit 43%), fait attendu, puisqu'il accueille les principaux patients à risque. Il est suivi du service de réanimation et des services de médecine infectieuse et de pneumologie.

Parmi les facteurs de risque des patients ayant développé une AI, on retrouve bien évidemment une majorité de patients atteints d'hémopathie maligne, avec 34 cas soit 69% pour tous les cas. Il faut souligner que ces patients atteints d'hémopathie maligne n'étaient pas tous hospitalisés en hématologie mais aussi en réanimation et médecine infectieuse.

L'agranulocytose, reconnue comme un facteur de risque majeur dans la littérature, est très souvent retrouvée, puisqu'elle était présente pour plus de la moitié des patients (26 cas 53%). La période d'agranulocytose constitue véritablement un moment clé dans le développement de l'AI et durant toute cette période le patient doit bénéficier d'un maximum de protection.

On remarque la proportion de patients sous corticothérapie au long cours comme seul facteur de risque (5 cas soit 10 % pour tous les cas), ce qui nous incite à ne pas banaliser un tel traitement.

Le service le plus touché pour l'ACN est le service de pneumologie, ce qui n'est pas surprenant puisque cette pathologie affecte essentiellement les patients atteints de pathologies respiratoires chroniques.

4-2-5) Evolution à 15 jours

Le taux important de décès observé à 15 jours, de 50% pour les cas AI de plus forte certitude diagnostique (14 cas prouvés et probables), est en accord avec les données de littérature qui rapporte un taux de mortalité compris entre 50 et 80% (17). Mais parmi tous ces décès, tous ne sont peut-être pas imputables à l'AI ou l'ACN. En effet pour les cas d'AI, les motifs de décès peuvent être multiples chez des patients en neutropénie et en thrombopénie atteints d'hémopathie.

Le nombre de décès observés à 15 jours avec les cas d'ACN, est bien plus faible, 4 cas soit 9%, ce qui est tout à fait normal. L'ACN est une pathologie chronique de pronostic bien moins sombre.

4-2-6) Le service d'hématologie

Parmi les 21 AI recensées en hématologie, seules 9 sont des cas prouvés ou probables. On remarque à nouveau la difficulté de poser avec certitude le diagnostic d'AI.

- **Comparaison de la densité incidence des cas nosocomiaux à la littérature :**

Si l'on ne considère que les AI prouvées ou probables, la DI des cas nosocomiaux de 0.15 (0-0.32) cas pour 1000 patients-jours, (3 cas pour 19761 patients-jours) est inférieure à celle rapportée par le réseau de surveillance épidémiologique de l'AI nosocomiale de l'AP-HP. Ce dernier rapporte en effet une DI de 1.16 (0.90-1.43) cas pour 1000 patients-jours (76 cas pour 62250 patients-jours) au cours d'un suivi de deux ans (8). Dans cette étude, 35 patients soit 46% se trouvaient dans une chambre protégée au moment du diagnostic.

La DI des AI prouvées et probables d'origine nosocomiale du secteur protégé de 0, est bien inférieure à celle rapportée par Alberti et al. comprise entre 0.99 et 2.59 cas pour 1000 patients-jours dans un secteur protégé. La DI des AI prouvées et probables d'origine nosocomiale du secteur conventionnel (unités B et C) de 0.19 (0-0.41) cas pour 1000 patients-jours (3 cas pour 15529 jours) est également inférieure aux valeurs rapportées par Alberti et

al., comprises entre 0 et 1.67 cas pour 1000 patients-jours (en fonction des années et unités) dans des unités conventionnelles (1) (31 cas au total pour 42834 jours).

Mais il s'agit d'être prudent dans ces comparaisons, car les critères de définition de l'AI, notamment de l'AI nosocomiale ne sont pas similaires entre les différentes études et les populations étudiées n'ont peut-être pas exactement les mêmes facteurs de risque. En effet le délai entre l'admission et la survenue des signes, nécessaire pour considérer l'AI comme nosocomiale, est seulement de 4 jours pour l'étude de l'AP-HP et de 7 jours pour l'étude d'Alberti et al., donc inférieur à celui de notre étude, ce dernier étant de 10 jours (1, 8). Cette différence peut contribuer à expliquer que nous obtenions des DI d'AI nosocomiales inférieures.

- **Comparaison secteur protégé / secteur conventionnel unité B / unité C**

Malgré un nombre de cas plus important, 14 cas en 24 mois, la DI de l'unité C de 1.04 (0.49-1.59) cas pour 1000 patients-jours, est légèrement inférieure à celle de l'unité conventionnelle de l'unité B, 1.65 (0.42-2.87) cas pour 1000 patients-jours, avec 6 cas. Le secteur conventionnel de l'unité B a en effet une moindre capacité d'accueil et donc un nombre de jours d'hospitalisation bien moins important, d'où l'importance d'exprimer les résultats en DI pour réaliser des comparaisons.

L'efficacité du secteur protégé est encore bien illustrée, cette fois à travers les résultats épidémiologiques. En effet la DI des cas nosocomiaux de ce secteur est nulle et elle est inférieure à celle du secteur conventionnel, 0.17 (0-0.36) cas pour 1000 patients-jours (même si nous n'avons pas pu rechercher si la différence est significative).

Malgré le respect de mesures de précautions relatives aux chambres des patients agranulocytaires dans le secteur conventionnel de l'unité B, la DI des AI probables nosocomiales de ce dernier, de 0.24 (0-0.70) cas pour 1000 patients jours, est légèrement supérieure à celle de l'unité C, de 0.15 (0-1.13) cas pour 1000 patients jours. Mais nous n'avons pas pu tester si cette différence est statistiquement significative. Ce constat est donc à aborder avec beaucoup de précautions.

- **Evolution durant les 24 mois de suivi épidémiologique**

- **Les cas groupés d'octobre 2000 :**

Parmi les cas nosocomiaux, deux sont survenus de façon rapprochée en octobre 2000 dans le secteur conventionnel de l'unité B. L'enquête alors réalisée a montré que ces deux patients avaient séjourné dans la même chambre. Malheureusement le suivi environnemental en hématologie a commencé seulement après la survenue de ces cas. Il n'a montré aucune contamination aspergillaire dans cette chambre. De plus l'un des cas était un cas possible, donc de faible certitude diagnostique, correspondant à une suspicion radio-clinique, sans élément microbiologique retrouvé. Il est donc difficile de parler d'épidémie nosocomiale.

- Les cas groupés de juillet et septembre 2001 :

Il est difficile d'attribuer ces cas à une épidémie nosocomiale. En effet parmi ces 7 cas groupés au niveau de l'unité C, seul un cas correspond à une AI probable. C'est le seul cas d'origine nosocomiale probable. Tous les autres cas sont de faible certitude diagnostique (cas possibles) et d'origine indéterminée ou non nosocomiale. Après le mois de septembre, le nombre de cas incidents mensuels a retrouvé des valeurs similaires à celles observées dans les mois précédents, soit entre 0 et 1 cas mensuel.

- Pendant les travaux :

On ne recense aucune AI pendant toute la durée des travaux réalisés à proximité du service d'hématologie, entre février et mars 2001 et on ne constate pas d'augmentation anormale de l'incidence de l'AI pendant les 3 mois qui ont suivi (avril, mai et juin), si l'on tient compte de la période d'incubation.

- Evolution 2000-2001 :

L'augmentation de la densité d'incidence entre 2000 et 2001 est liée au pic d'incidence des mois de juillet et septembre 2001. Mais si l'on ne considère que les AI de plus grande certitude diagnostique, les cas prouvés et probables, on assiste en fait à une toute relative diminution non significative de la DI (cf. tableau 42). L'augmentation de la DI des cas totaux est en fait liée à une augmentation du nombre de cas possibles, elle est donc à relativiser.

4-3) Relation cas / contamination environnementale dans le service d'hématologie

Durant les 6 mois de suivi environnemental, on ne recense aucune AI nosocomiale dans le service d'hématologie. Cela signifie-t-il qu'un nombre moyen de colonies d'*Aspergillus* par chambre de 2.8 (0-5.9) sur les surfaces (nombre moyen de colonies maximum par pièce observé entre les chambres) ne soit pas suffisant pour générer des cas (sachant que le nombre moyen réel maximum de colonies dans les chambres était supérieur à 2.8 puisqu'on ne réalise que 10 prélèvements par pièce) ?

De même la concentration moyenne de colonies aspergillaires de 0.12 (0-0.28) par m³ d'air (la plus importante concentration observée dans les chambres) ne semble pas associée à la survenue de cas. On pourrait même considérer qu'une concentration de 0.29 (0-0.65) colonies d'*Aspergillus* par m³ d'air n'est pas associée à des cas, au vu des résultats maximum observés dans les couloirs du secteur conventionnel. En effet tous les patients de l'unité C et les patients non agranulocytaires du secteur conventionnel de l'unité B peuvent circuler dans le couloir.

Ces dernières données sont en accord avec celles de la littérature qui rapporte une augmentation de l'incidence des cas à partir de concentrations supérieures 1-2 UFC/m³ (5).

IV - Conclusion

THESE SOUTENUE PAR : Aurélie Vivier

TITRE : Aspergillose invasive et aspergillose chronique nécrosante : apport du suivi épidémiologique et environnemental

CONCLUSION

Dans le cadre de la lutte contre les infections nosocomiales et des derniers textes réglementaires et recommandations portant sur la prévention de l'aspergillose invasive (AI), le suivi épidémiologique de l'AI et le suivi environnemental des secteurs protégés accueillant les patients à risque, est devenu une nécessité. La surveillance environnementale des secteurs conventionnels comprenant des patients à risque demeure aujourd'hui discutée.

Notre travail avait pour objectif :

- d'évaluer l'incidence de l'AI et de l'aspergillose chronique nécrosante (ACN) au CHU de Grenoble et plus particulièrement dans le service d'hématologie à travers 24 mois de suivi épidémiologique
- d'assurer la surveillance de la flore fongique environnementale dans les différentes unités du service d'hématologie durant 6 mois, afin de vérifier l'efficacité du système de prévention du secteur protégé et d'évaluer l'influence de certains facteurs sur la contamination environnementale du secteur conventionnel.

La surveillance épidémiologique a été réalisée dans le cadre de la «Cellule Aspergillose», veille épidémiologique initiée par le Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales. La surveillance environnementale a reposé sur la réalisation régulière de prélèvements d'air et de surface dans les différentes unités du service d'hématologie (dont le secteur protégé).

Le suivi épidémiologique nous a permis de recenser 49 AI, dont 28 prouvées ou probables, soit une densité d'incidence (DI) pour ces dernières de 2.2 (1.3-3.0) cas pour 100 000 patients-jours. Quarante six ACN ont été observées, seulement 8 probables, soit une DI pour ces dernières de 0.7 (0.2-1.2) cas pour 100 000 patients-jours. Durant les 24 mois de suivi épidémiologique, nous n'avons pas identifié d'épidémie nosocomiale au CHU de Grenoble. On recense 9 AI nosocomiales, dont 5 AI prouvées ou probables, soit une DI pour ces dernières de 0.4 (0-0.8) cas pour 100 000 patients jours.

L'hématologie est le service le plus touché pour l'AI, avec 21 cas dont 9 prouvés et probables, soit une DI pour ces derniers de 4.6 (1.6-7.5) cas pour 10 000 patients-jours. La DI des AI prouvées ou probables d'origine nosocomiale de 1.5 (0-3.2) cas pour 10 000 patients-jours (3 cas), est inférieure à celles retrouvées dans la littérature. Aucun cas nosocomial n'est recensé dans le secteur protégé.

Deux points majeurs ressortent de cette étude épidémiologique :

- la difficulté de poser un diagnostic de certitude pour l'AI et l'ACN, très bien illustrée par le grand nombre de cas possibles : 21 (43%) pour l'AI et 38 (83%) pour l'ACN
- la difficulté de déterminer l'origine nosocomiale ou non de l'AI, du fait de l'incertitude sur la période d'incubation, illustrée par le grand nombre de cas d'origine indéterminée : 28 (57%)

Ces deux aspects ne sont pas sans conséquence, quand il s'agit de déterminer la responsabilité des hôpitaux à l'origine d'une AI.

Le suivi environnemental du service d'hématologie a reposé sur 22 campagnes, 822 prélèvements de surface et 166 prélèvements d'air.

Il confirme l'efficacité du système de traitement d'air du secteur protégé équipé de filtres HEPA, d'une surpression et d'une ventilation à haut renouvellement d'air avec ou sans flux laminaire, associé à des mesures comportementales, dans la prévention de la contamination aspergillaire et fongique totale environnementale. En effet au cours de six mois de suivi environnemental, aucune colonie d'*Aspergillus* n'a été retrouvée dans le secteur protégé d'hématologie. Malheureusement un tel système n'est pas sans coût et n'accueille que les patients les plus à risque. La majorité des patients du service d'hématologie est hébergée en secteur conventionnel, où l'air est partiellement maîtrisé par une filtration opacimétrique à 85%, bien moins efficace.

La comparaison des deux unités B et C du secteur conventionnel montre que les chambres à deux lits de l'unité C sont plus contaminées que les chambres à un lit (unités C et B). Les chambres à un lit des deux unités ne diffèrent pas entre elles. Malheureusement la comparaison n'a pu être réalisée entre les chambres à deux lits des deux unités, à défaut de prélèvements réalisés dans l'unité B. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces résultats. Les chambres à un lit permettent-elles, quelle que soit l'unité, de diminuer la contamination environnementale des surfaces par rapport aux chambres à deux lits ? Est-ce le moindre effectif d'agents d'entretien affectés aux chambres à deux lits de l'unité C et/ou leur proximité de l'entrée du service, qui expliquent leur contamination plus importante ? En pratique, il semble préférable d'accueillir les patients dans les chambres à un lit pendant les périodes les plus à risque (agranulocytose).

La présence de poussière étant associée à celle d'*Aspergillus*, il est nécessaire de veiller à un entretien très rigoureux des chambres des patients à risque.

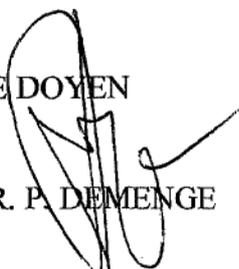
Les mesures de prévention pour les chambres telles que le maintien permanent de la porte fermée, le nettoyage des mains, le port d'un masque avant d'entrer et la limitation du nombre de visiteurs à deux maximum, n'ont pas d'influence significative sur la contamination fongique des surfaces du secteur conventionnel. Néanmoins un effet léger pourrait exister. En revanche, ces mesures de prévention ont une influence significative sur la contamination fongique de l'air. Mais l'effectif limité de prélèvements d'air réalisés rend la confirmation de ces résultats nécessaire. Devant les contraintes représentées par ces mesures, notamment la fermeture permanente de la porte de la chambre, à l'origine d'un sentiment d'isolement pour le patient, le rapport bénéfices/contraintes doit être évalué de façon plus approfondie.

Enfin, six mois de suivi environnemental ne nous ont pas permis de mettre en évidence une relation entre la contamination environnementale et les cas nosocomiaux, à défaut de cas pendant cette période.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le

LE DOYEN

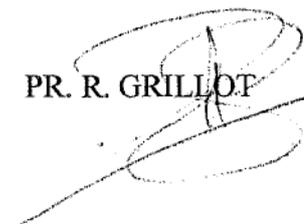
PR. P. DEMENGE



LE PRESIDENT DE THESE

PR. R. GRILLOT

Pr. Renée GRILLOT
U.F.R. Pharmacie



VI - Bibliographie

- (1) Alberti C., Boukline A., Ribaud P., Lacroix C., Rousselot P., Leblanc T., Derouin F. and the *Aspergillus* study group. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. *J Hosp Inf* 2001 ; 48 (3) : 198-206.
- (2) Anderson K., Morris G., Kennedy H., Croall J., Richardson M.D., Gibson B. Aspergillosis in immunocompromised paediatric patients : association with building hygiene, design, and indoor air. *Thorax* 1996 ; 51, 256-261.
- (3) Andres E., Tiphine M., Lestscher-Bru V., Herbrecht R. Nouvelles formes lipidiques de l'amphotéricine B. Revue de la littérature. *Rev Med Interne* 2001 ; 22 : 141-50
- (4) Arnow P.M., Anderson R.L., Mainans P.D. Pulmonary aspergillosis during hospital renovation. *AM Rev Respir Dis* 1978 ; 118 : 49-53
- (5) Arnow P.M., Sadigh M., Costas C. et al. Endemic and epidemic aspergillosis associated with in-hospital replication of *Aspergillus* organisms. *J Inf Dis* 1991 ; 164, 998-1002.
- (6) Barnes R.G., Rogers T.R. Control of an outbreak of nosocomial aspergillosis by laminar air flow isolation. *J Hosp Infect* 1989 ; 14 : 889-94
- (7) Beguin H., Nolard N., Claus B. Fluctuations saisonnières des spores d'*Aspergillus* dans l'air de Bruxelles en 1982. *Bull Soc Fr Mycol Med* 1985 ; 14, 81-84.
- (8) Bocquet P., Patris S., Dumartin C. et al. Le réseau de surveillance épidémiologique de l'aspergillose invasive nosocomiale de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris. *Ann Med Interne* 1995 ; 146 : 79-83
- (9) Boogaerts M., Maertens J. Clinical experience with itraconazole in systemic fungal infections. *Drugs* 2001 ; 61 suppl 1 : 39-47
- (10) Bretagne S. Risque environnemental : apport du génotypage d'*Aspergillus fumigatus*. *Hygiènes* 2000 ; 6 : 342-345
- (11) Buffington J., Reporter R., Lasker B. Investigation of an epidemic on invasive aspergillosis : utility of molecular typing with the use of random amplified polymorphic DNA probes. *Pediatr Infect Dis J* 1994 ; 13 (5) : 386-393
- (12) Caillot et al. Improved management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients using early thoracic computed tomographic scan surgery. *J Clin Oncol* 1997 ; 15 : 139-147)
- (13) Carter CD., Barr BA., Infection control issues in construction and renovation. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997. 18 : 587-596
- (14) Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for prevention of nosocomial pneumonia. *Respiratory Care* 1994 ; 39, 1191-1230.
- (15) Chazalet V., Debeaupuis JP., Sarfati J. et al. Molecular typing of environmental and patient isolates of *Aspergillus fumigatus* from various hospital settings. *J Clin Microbiol* 1998 ; 36 : 1494-1500

- (16) Circulaire d'application DHOS\ES – DGS\SD5C n° 2001/383 du 30 juillet 2001 relative au signalement des infections nosocomiales et à l'information des patients en matière d'infection nosocomiale dans les établissements de santé
- (17) Conférence de consensus : prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés. *Hygiènes* 2000 ; 6 : 316-327
- (18) Daniau C., Kauffmann-Lacroix C., Castel O. L'aérobiocontamination fongique en milieu hospitalier. *J Mycol Med* 1998 ; 8, 139-146
- (19) De Beule K., Van Gestel J. Pharmacology of itraconazole. *Drugs* 2001 ; 61 Suppl 1 : 27-37
- (20) Décret n° 2001-671 du 26 juillet 2001, relatif à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé
- (21) Denning DW. Therapeutic outcome in invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1996. 23 (3) : 608-15
- (22) Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Inf Dis* 1997 ; 26, 781-805.
- (23) Evans et al Thermophilic fungi isolated from the air. *Trans Br Mycol Soc* 1972 ; 59 : 516-9)
- (24) Fleury L., Fort M., Poirot J. Aspergilloses. In : Infections nosocomiales et environnement hospitalier. (Eds, Médecine-Sciences, Flammarion), 2000 : 30-39.
- (25) Fleury I., Cornet M. Surveillance épidémiologique de l'aspergillose invasive : dans quels services, quels dénominateurs, place de la surveillance multicentrique. *Hygiènes* 2000 ; 6 : 418-423
- (26) Gardembas M. Isolement protecteur : méthodes, efficacité en hématologie. *Hygiènes* 2000, 6 : 375-381
- (27) Gerson S.L. Aspergillosis due to parket contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994 ; 15 : 221-222
- (28) Girardin H., Sarfati J., Traore F., Molecular epidemiology of nosocomial invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol* 1994 : 32 (3) : 684-690
- (29) Goodley J.M. Clayton Y.M. Environmental sampling for *Aspergilli* during building construction on a hospital site. *J Hosp Infect* 1994. 26 : 27-35)
- (30) Groll A, Shah P, Mentzel C et al. Trends in the post mortem epidemiology of invasive fungal in infections at a university hospital. *J Infect.* 1996 ; 33 : 32
- (31) Groll A. Caspofungine. Pharmacology, safety and therapeutic potential in superficial and invasive fungal infections. *Expert Opin Investig Drugs* 2001 ; 10 (8) : 1545-58

- (32) Herbrecht R. Aspergilloses invasives : les définitions. *Hygiènes* 2000 ; 6 : 329-335
- (33) Hoffman P., Bennett A.M., Scott G.M. Controlling airborne infections. *J Hosp Infect* 1999 ; 43 : 203-210.
- (34) Hoffman H.L., Rathbun R.C. Review of the safety and efficacy of voriconazole. *Expert Opin Investig Drugs* 2002 ; 11 (3) : 409-29
- (35) Hospenthal D.R., Kwon-Chung K.J., Bennett J.E. Concentrations of airborne *Aspergillus* compared to the incidence of invasive aspergillosis : lack of correlation. *Med Mycol* 1998 ; 36 : 165-168.
- (36) Iwen PC. (Airborne fungal spore monitoring in a protective environment during hospital construction, and correlation with an outbreak of invasive aspergillosis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994 ; 15 : 303-306)
- (37) Jantunen E, Ruutu P, Niskanen L. et al. Incidence and risk factor for invasive fungal infections in allogenic BMT recipients. *Bone Marrow Transplant* 1997 ; 19 : 801-808
- (38) Jones B.L. et Cookson J.T. Natural atmospheric microbial conditions in atypical suburban area. *Appl Environ Microbiol* 1983 ; 83 : 919-934
- (39) Krasinski K., Hiltzman R.S., Hanna B. et al. Nosocomial fungal infection during hospital construction. *Ann Rev Respir Dis* 1985 ; 6 : 278-282
- (40) Krembel C. L'isolement protecteur. Stratégie de prévention du risque aspergillaire en situation standard (soit en dehors du risque "travaux" et en absence d'épidémie d'aspergillaire invasive). *Hygiènes* 2000 ; 6 : 427-430
- (41) Lebeau B., Piens M.A., Kures L. et al. Profil actuel de l'aspergillose invasive en France. Enquête du Groupe d'Etude des Mycoses Opportunistes GEMO dans 19 centres hospitaliers 11 villes. *J Mycol Med* 1996 ; 6 : 97-102
- (42) Leenders A.C., Van Belkum A., Behrendt M., et al. Density and molecular epidemiology of *Aspergillus* in air and relationship to outbreaks of *Aspergillus* infection. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37 : 1752-1757.
- (43) Loo V.G., Bertrand C., Dixon C. et al. Control of construction-associated nosocomial aspergillosis in an antiquated hematology unit. *Infect Contr hosp Epidemiol* 1996 ; 176 : 360-364
- (44) Marjolein F. et al. Epidemiology of nosocomial fungal infections : invasive aspergillosis and the environment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999 ; 34 : 221-227)
- (45) Mullins et al. *Aspergillus fumigatus* spore concentration in outside air : Cardiff and St Louis compared. *Clinical Allergy* 1984 ; 14 : 351-4.)
- (46) Nesa D. Lortholary J., Bouakline A. Comparative performance of impactor air samplers for quantification of fungal contamination. *J Hosp Infect* 2001 ; 47 : 149-155

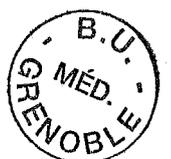
- (47) Noble W.C., Clayton Y.M. Fungi in the air of hospital ward . *J Gen Microbiol* 1963 ; 32 : 397-402
- (48) Nolard N. Les liens entre les risques d'aspergillose et la contamination de l'environnement. *Path Biol* 1994 ; 42 : 706-710.
- (49) Opal S.M., Asp A.A., Cannady P.B. et al. Efficacy of infection control measures during a nosocomial outbreak of disseminated aspergillosis associated with hospital construction. *J Infect Dis* 1986 ; 153 : 634-637
- (50) Overberger P.A., Wadowsky R.M., Schaper M.M. Evaluation of airborne particulates and fungi during hospital renovation. *Am Ind Hyg Assoc J* 1995. 56 : 706-712.
- (51) Panutti C.S., Gringrich RD, Pfaller M.A. et al. Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation : a 9-year study. *J Clin oncol* 1991 ; 9 : 77-84)
- (52) Perraud M., Piens M.A., Nicoloyannis N. et al. Invasive nosocomial pulmonary aspergillosis : risk factors and hospital building works. *Epidem inf* 1987 ; 99 :407-12
- (53) Pottecher B. Risque environnemental d'aspergillose. *Hygiènes* 2000 ; 6 : 329-335
- (54) Rautalia S. et al. Exposure to airborne microbes during repair of moldy buildings. *Am Ind Hyg Assoc J* 1996 ; 57 : 279-84
- (55) Rhame F.S. Prevention of nosocomial aspergillosis. *J Hosp Infection* 1991 ; 18 (supplA): 46-6472
- (56) Richardson M.D., Rennie S., Marshall I., et al. Fungal surveillance of an open haematology ward. *J Hosp Infect* 2000 ; 45 : 288-292.
- (57) Sarrubbi FA Kopf HB, Wilson MB. Increased recovery of *Aspergillus flavus* from respiratory specimen during hospital construction. *Ann Rev Respir Dis* 1982 ; 125 : 33-38
- (58) Sherertz R.J., Belani A., Kramer B.S. et al. Impact of air filtration on nosocomial *Aspergillus* infections. Unique risk of bone marrow transplant recipients. *Am J Med* 1987 ; 83 : 709-18.
- (59) Solomon et al. Airborne *Aspergillus fumigatus* levels outside and within a large clinical center. *J Allergy Clin Immunol* 1978. 62 : 56-60)
- (60) Souillet G, Constant H, Vray C et al. Aspergillose pulmonaire invasive en hématologie pédiatrique. *Hygiènes* 1994 ; 5 : 20-28
- (61) Thiebault A. Chimio prophylaxie en hématologie et transplantation d'organes solides. *Hygiènes* 2000 ; 6 : 480-489
- (62) Uddin et al Airborne fungal load in agricultural environment during threshing operations. *Mycopathologia* 1994 ; 127 : 145-9

(63) VandenBergh M.F.Q., Verweij P.E., Voss A. Epidemiology of nosocomiale fungal infections : invasive aspergillosis and the environment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999 ; 34 : 221-227.

(64) Wald et al. Epidemiology of *Aspergillus* infections in a large cohort of patients undergoing bone marrow transplantation. *JID*. 1997 ; 175 : 1459-1466)

(65) Warnock D.W., Rana A.H. Brent A.L. Epidemiology and prevention of invasive aspergillosis. *Curr Infect Dis Rep* 2001 ; 3 : 507-516

(66) Weems J., Davis B.J., Tablan O.C. et al. Construction activity : an independent risk factor for invasive aspergillosis and zygomycosis in patients with hematologic malignancy. *Infect Control* 1987 ; 8 : 71-75



VII - Annexes

C.H.U. de Grenoble	CLIN - 72 - 1	Pages : 1/9
Surveillance des cas d'aspergillose invasive		
Rédaction : Dr M.R. Mallaret - Hygiène Hospitalière Dr B. Lebeau – Parasitologie-Mycologie A.Thabuis - Pharmacie-5 ^{ème} AHU A. Vivier - Interne pharmacie	Vérification : Pr R. Grillot – Parasitologie-Mycologie Pr J.P. Stahl - Maladies infectieuses	Approbation du C.L.I.N. Date : 23.04.2001 J. Croizé – Président

I. Objet

Décrire la démarche de surveillance épidémiologique des cas d'aspergilloses potentiellement nosocomiales (aspergillose invasive, aspergillose chronique nécrosante (semi-invasive) et colonisation aspergillaire).

II. Objectifs

Etablir une veille épidémiologique permettant de comptabiliser les cas d'aspergillose invasive, déterminer ceux acquis au C.H.U. et prévenir au mieux cette infection, notamment lors de travaux.

III. Domaine d'application

- Tout service clinique ayant une suspicion radio-clinique d'aspergillose invasive,
- Le service de Parasitologie-Mycologie, face à un prélèvement positif faisant suspecter une aspergillose invasive,
- Le laboratoire d'Anatomopathologie, face à un prélèvement positif faisant suspecter une aspergillose invasive.

IV. Documents associés

- Prévention de l'aspergillose invasive nosocomiale lors de travaux : **CLIN-07-1**
- Fiche de signalement risque sanitaire (voir *Annexe 1* – Page 4)
- Désinfection complémentaire des locaux et du mobilier : **CLIN-2 vers. 3**

V. Référentiels

- "100 recommandations pour la prévention des infections nosocomiales" - 1999,
- Conférence de consensus "Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés (hématologie, transplantation)" - texte court et texte long - ANAES, 21 Mars 2000.
- Prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés. Hygienes 2000, 8

VI. Groupe de travail

Dr M.R. Mallaret, Dr N. Asseray, A. Thabuis, A. Vivier (Hygiène Hospitalière), Dr B. Lebeau, Dr M.P. Brenier Pinchart (Parasitologie-Mycologie) - Dr J.P. Brion (Maladies Infectieuses) - Pr P. Pison (Pneumologie) - Dr C. Cracowski (Réanimation 3^{ème}) - Dr D. Plantaz (Département de Pédiatrie) - Dr F. Garban (Hématologie)

VII. Destinataires

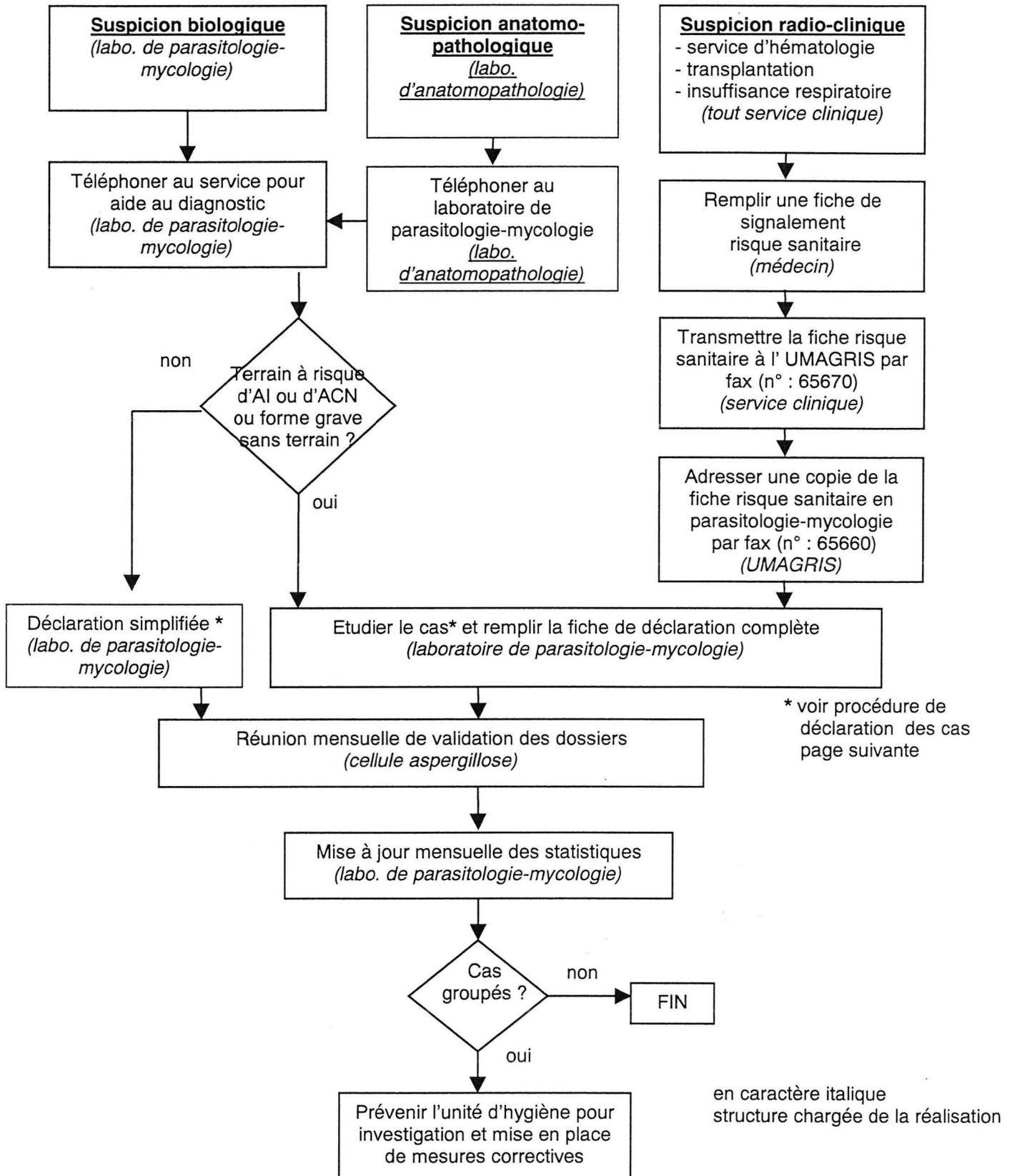
Correspondants médicaux du CLIN, Correspondants paramédicaux du CLIN, Cadres de santé, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, UMAGRIS, Laboratoire d'Anatomo-Pathologie

VIII. Historique

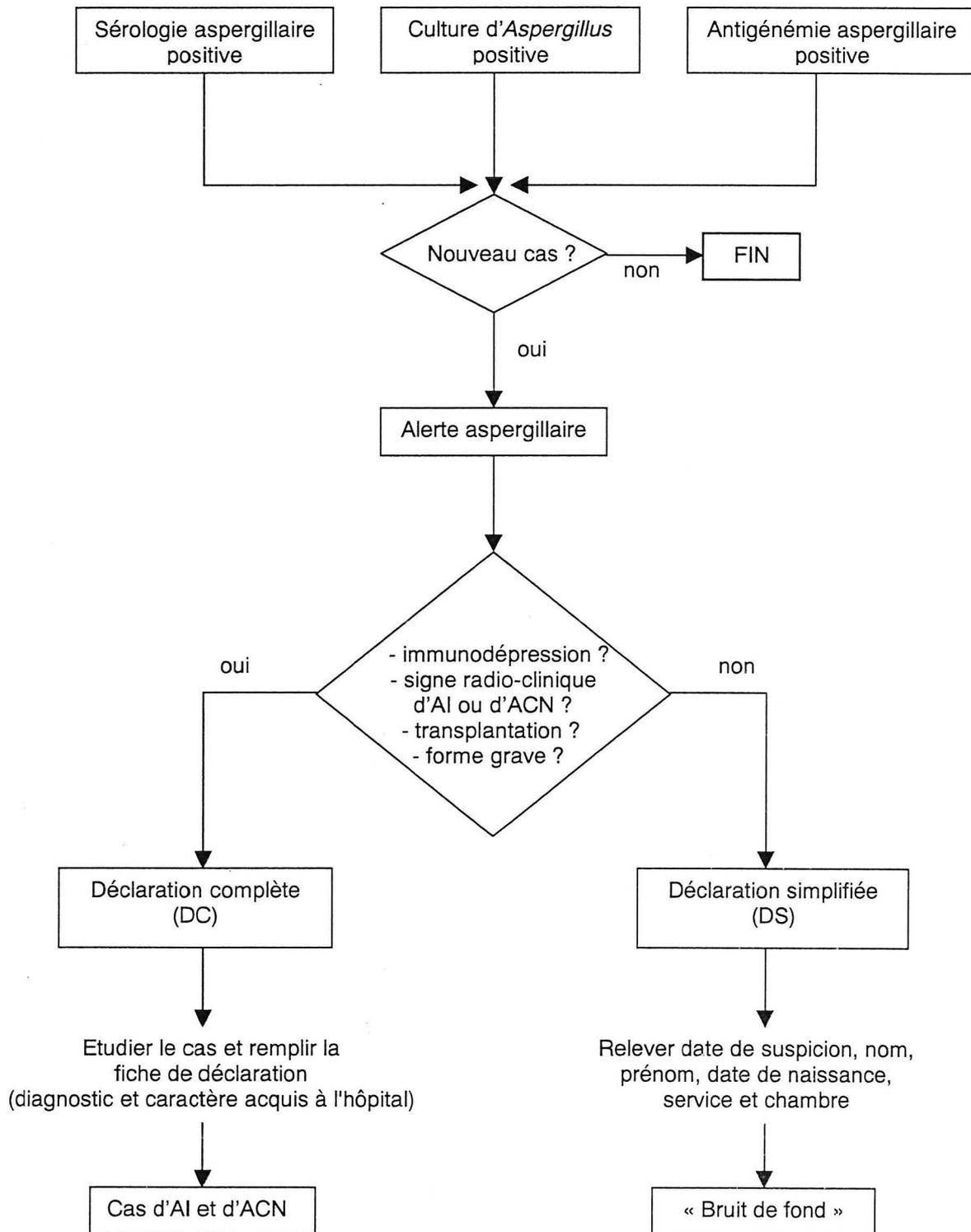
2000	Surveillance des cas d'aspergillose invasive	CLIN - 72 - 1
------	--	----------------------

VIII. Recommandations

A. Procédure à suivre en cas de suspicion d'aspergillose pulmonaire invasive ou chronique nécrosante* :



*les alertes aspergillaires retrouvées chez les patients ambulatoires sont classées en DS.

B. Procédure de déclaration des cas
(laboratoire de parasitologie-mycologie)



Unité Médico-Administrative de Gestion du Risque Sanitaire

Annexe 1

UMAGRIS

Fiche de signalement
d'un incident ou d'une situation comportant un risque sanitaire

Signaler un incident ou une situation à risque

*contribue à protéger les usagers et les professionnels de l'hôpital
et améliore la qualité des soins*

Le déclarant

Nom :

Prénom :

Fonction :

N° poste :

Nom de l'unité où vous exercez :

Date du signalement :

L'événement

Date :

Heure :

Lieu :

Service :

Nom de la ou des personnes exposées au risque (éventuellement) :

Description des faits et conséquences

Dans tous les cas, garder les matériels et produits concernés ainsi que leur emballage.

Les accidents de travail doivent être déclarés selon la procédure habituelle à la Médecine Préventive.

Surveillance des cas d'aspergillose invasive

Date d'ouverture : / /

FICHE DE DÉCLARATION

des cas d'aspergilloses invasive (AI) et chronique nécrosante (ACN)

IDENTIFICATION DU PATIENT

1. Nom : 2. Prénoms :

3. Date de naissance : / / 4. Sexe : F M

Hospitalisation lors de la suspicion biologique d'aspergillose :

5. Date d'hospitalisation au CHU : / /

6. Motif d'hospitalisation :

7. Service : 8. code UF : 9. n° chambre :

10. n° téléphone du service :

11. date : du / / au / /

12. Précédents services ou précédentes hospitalisations (datant de moins de 3 mois) avant

l'apparition des signes cliniques (avant la date de suspicion biologique si absence de signe clinique :

oui non

Hôpital :

Service : code UF : n° chambre :

date : du / / au / /

Hôpital :

Service : code UF : n° chambre :

date : du / / au / /

Hôpital :

Service : code UF : n° chambre :

date : du / / au / /

TERRAIN DU PATIENT

Immunodépression :

13. agranulocytose (PNN<0.5G/L) : oui non (<7 jours >7 jours >14 jours)

14. hémopathie : oui non (nature :))

15. transplantation : oui non (nature : date : / /))

16. rejet greffon : oui non

17. chimiothérapie : oui non

18. immunosuppresseurs : oui non (nature :)

19. corticothérapie : oui non (<7 jours >7 jours >21 jours)

20. sérodiagnostic VIH : + - non fait

21. Pathologie respiratoire chronique : oui non (nature :)

22. Tabagisme, alcoolisme, dénutrition : oui non (nature :)

Autres facteurs favorisants :

23. traitement, pathologie : oui non (nature :)

24. facteurs de risque socio-professionnels : oui non

(nature :)

SIGNES EVOCATEURS D'ASPERGILLOSE**Signes cliniques :**

25. fièvre : oui non (température :°C durée :)

26. toux : oui non

27. dyspnée : oui non

28. crachats hémoptoïques : oui non

29. douleur thoracique : oui non

30. sinusite : oui non

31. autre : oui non (nature :)

32. Eventuelle infection (bactérienne ou virale) prouvée pouvant expliquer les signes cliniques :

Signes radiologiques :• radiologie pulmonaire : fait (date : .../.../...) non fait33 modification récente (infiltrats nodulaires) ou évolutive34 autre (nature :)35 normale• scanner : fait (date : .../.../...) non fait36 signe du halo37 excavation (hors lésion d'aspergillome)38 autres (nodules, ...) (nature :)39 normal**Signes biologiques :**• 40. sérologie : fait non fait Uricozyme : oui (date : .../.../...) non + (ELISA : ES : IEP : (date : .../.../...)) séroconversion (date : .../.../...) - (date : .../.../...) douteux• 41. antigénémie : fait non fait + (titres : ..., ..., ..., ... nb positifs / nb total : / (date : .../.../...)) - (nb négatifs / nb total : / (date : .../.../...))• mycologie : fait non fait

prélèvement effectué	présence de FM			culture			identification	nb CFU	date
42 <input type="checkbox"/> biopsie / ponction	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait
43 <input type="checkbox"/> LBA	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait
44 <input type="checkbox"/> BA	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait
45 <input type="checkbox"/> Autre :	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait
46 <input type="checkbox"/> Autre :	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait
47 <input type="checkbox"/> Autre :	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait
48 <input type="checkbox"/> Autre :	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> -	<input type="checkbox"/> non fait

DIAGNOSTIC (se référer aux critères en annexe)**49 AI**

prouvée (1) { 1 critère terrain
et 1 critère clinique majeur
ou 2 mineurs
et 1 biopsie ou 1 ponction positive
d'un site stérile

probable (2) { 1 critère terrain
et 1 critère clinique majeur
ou 2 mineurs
et 1 critère microbiologique

 possible (3) **cliniquement possible :**

1 critère terrain + 1 critère clinique

 colonisation chez un immunodéprimé :1 critère terrain + isolement *Aspergillus* **antigénémie positive chez un ID :**1 critère terrain et antigénémie +
(au moins 2 tests +) **sérologie positive chez un ID à risque d'AI (3')**

1 critère terrain + 1 sérologie positive

51 Non classable (9)**50 ACN**

prouvée (4) { 1 critère terrain
et 1 critère radiologique
et 1 biopsie positive

probable (5) { 1 critère terrain
et 1 critère radiologique
et 1 critère microbiologique

 possible (6) **cliniquement possible :**

1 critère terrain + 1 critère clinique

 colonisation chez un patient à risque d'ACN :1 critère terrain + isolement *Aspergillus* **antigénémie positive chez un pt à risque d'ACN**

1 critère terrain + antigénémie + (au moins 2 tests +)

 sérologie positive chez un pt à risque d'ACN :

1 critère terrain + 1 sérologie positive

52. Traitement antifongique initial :**53. Evolution à 15 jours :** amélioration (1) stabilité (2) aggravation (3) décès (4) (date :/...../.....)**Caractère acquis en établissement de soins de l'infection****54.** date des 1^{ers} signes cliniques en rapport avec l'infection :/...../..... indéterminable**55.** date de suspicion radiologique :/...../.....**56.** date de suspicion biologique :/...../.....**57. Conclusion (se référer au diagramme en annexe) :** infection nosocomiale probable CHU (1) autre établissement (2) infection nosocomiale possible CHU (3) autre établissement (4) infection non nosocomiale (5) infection d'origine indéterminée (6) certain

**Fiche de déclaration des cas d'AI et d'ACN :
GUIDE DE REMPLISSAGE**

IDENTIFICATION DU PATIENT

7 : correspond au **service où a eu lieu la suspicion biologique**

TERRAIN DU PATIENT

12. Les consultations (hôpital de jour) **ne sont pas** considérées comme des hospitalisations (minimum = 24 heures d'hospitalisation)

13 : agranulocytose : dans le mois précédant la date de suspicion la plus ancienne, et quelle que soit la durée

14 : chimiothérapie : dans les 3 mois précédant la date de suspicion la plus ancienne

15 : corticothérapie : dans le mois précédant la date de suspicion la plus ancienne

23 : traitement, pathologie : corticothérapie inhalée, radiothérapie médiastino-pulmonaire, diabète, antécédent de tuberculose, de sarcoïdose, spondylarthrite ankylosante, maladie de système, infection virale ou bactérienne récente...

24 : facteurs de risque socio-professionnels : travail, habitat rural...

DIAGNOSTIC**49. CRITERES DIAGNOSTIQUES DE L'AI CHEZ UN IMMUNODEPRIME :****Critères terrain (chez un immunodéprimé) :**

- agranulocytose (PNN < 0.5G/L)
- fièvre persistante (>96 h), réfractaire au traitement antibiotique à large spectre approprié
- température corporelle >38°C ou <36°C **et** l'une des prédispositions suivantes :
 - neutropénie prolongée (>10 jours) dans les 60 derniers jours
 - usage (récent ou en cours) d'agents immunosuppresseurs dans les 30 derniers jours
 - antécédent d'aspergillose invasive
 - SIDA
- signes et symptômes indiquant une maladie du greffon contre l'hôte
- corticothérapie prolongée (>3 semaines)
- transplantation

Critères radio-cliniques (en relation avec le site des critères microbiologiques et avec l'épisode actuel) :

- pulmonaires :
 - majeur : • scanner : signe du halo, signe du croissant gazeux, ou cavité au sein d'un foyer de condensation
 - mineurs : • symptômes de pneumopathie (toux, douleur thoracique, hémoptysie, dyspnée)
 - signe clinique de condensation pulmonaire, frottement pleural
 - tout infiltrat n'appartenant pas au critère majeur
- cutanés :
 - majeurs : • lésions cutanées papulaires ou nodulaires avec biopsie positive
- sinusaux :
 - majeur : • aspect radiologique de sinusite invasive (érosion des parois, extension aux structures adjacentes, atteinte destructrice de la base du crâne)
 - mineur : • symptômes d'infection respiratoire haute (mouchage, obstruction nasale)
 - ulcération ou escarre de la muqueuse nasale ou épistaxis
 - œdème périorbitaire
 - sensibilité maxillaire
 - lésion nécrotique ou perforation du palais
- cérébraux :
 - majeur : • aspects radiologiques évoquant une infection du système nerveux central (méningite extensive à partir d'un foyer nasal, auriculaire ou vertébral, abcès ou infarctus intracérébral)
 - mineurs : (LCR négatif pour les autres pathogènes en examen direct et culture et sans cellules malignes)
 - signes neurologiques focaux y compris crise comitiale, hémiparésie et atteinte des nerfs crâniens
 - modifications des fonctions supérieures
 - signes d'irritation méningée
 - anomalies biochimiques ou cellulaires du LCR

Surveillance des cas d'aspergillose invasive

Critères microbiologiques :

- culture positive d'*Aspergillus* sp., provenant de crachats, LBA ou BA
- culture ou cytologie positive ou présence de filaments mycéliens à l'examen direct provenant d'une aspiration sinusale
- présence de filaments mycéliens à l'examen direct provenant de crachats, LBA ou BA
- antigène *Aspergillus* positif dans sang (2 antigénémies positives), LBA ou LCR
- culture ou cytologie positive ou présence de filaments mycéliens à l'examen direct dans un fluide corporel stérile
- lésions pulmonaires et ensemble des cultures bactériologiques négatives dans le sang, l'expectoration, le LBA ...

50. CRITERES DIAGNOSTIQUES DE L'ACN :**Critères terrain :**

- pathologie respiratoire chronique
- immunodépression légère : corticothérapie au long cours, alcoolisme, diabète, sarcoïdose, collagénose...

Critères radiologiques :

- imagerie : image évolutive avec le plus souvent nécrose (excavation)

Critères microbiologiques :

- culture positive d'*Aspergillus* (ou autre champignon filamenteux)
- sérologie positive
- antigénémie positive

51. Non classables = AI ou ACN ne remplissant pas les critères de diagnostic

52 : préciser le traitement antifongique initialement administré

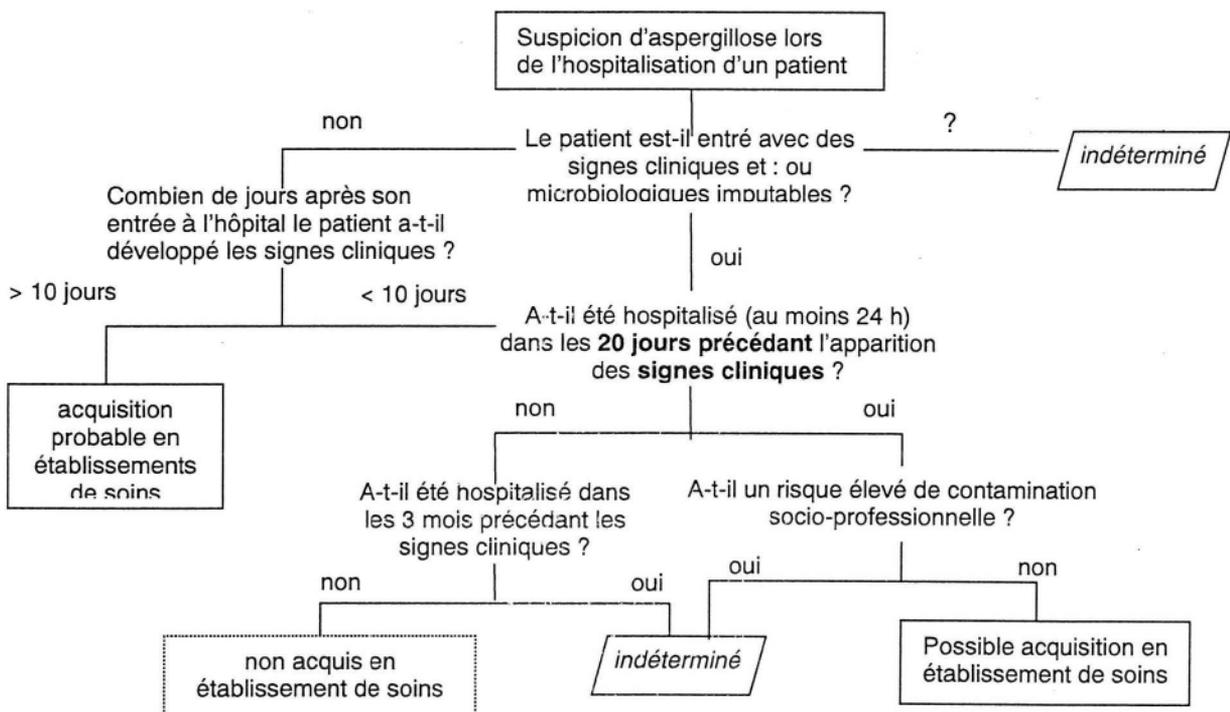
CARACTERE ACQUIS EN ETABLISSEMENT DE SOINS DE L'INFECTION

54 : la suspicion clinique correspond à l'apparition du premier signe clinique évocateur ;
s'il est impossible de donner une date, cocher «indéterminable»

55 : la suspicion radiologique correspond au premier cliché évocateur

56 : la suspicion biologique correspond au premier examen biologique positif

57 : cocher la case correspondante selon les critères indiqués dans le **diagramme suivant** :



Résumé

L'aspergillose invasive (AI) et l'aspergillose chronique nécrosante (ACN), sont deux pathologies potentiellement nosocomiales, liées à un champignon filamenteux environnemental, *Aspergillus*. Le pronostic de l'AI, pathologie opportuniste, est sombre. La prévention de la contamination des patients à risque, repose sur leur isolement dans un secteur protégé, équipé d'un système de traitement d'air efficace. Selon les derniers textes réglementaires et recommandations, le suivi épidémiologique de l'AI et le suivi environnemental des secteurs protégés, sont devenus une nécessité dans les établissements de santé. Ce travail réalisé au CHU de Grenoble, repose sur un suivi épidémiologique des AI et ACN de 24 mois et un suivi fongique environnemental en hématologie (secteur protégé et conventionnel) de 6 mois. Au total, 49 AI ont été recensées, 28 prouvées ou probables, soit une densité d'incidence (DI) de 2.2 (1.3-3.0) cas / 100 000 patients-jours, ainsi que 46 ACN, 8 probables, soit une DI de 0.7 (0.2-1.2) cas / 100 000 patients-jours. Neuf AI nosocomiales, 5 prouvées ou probables, ont été observées, soit une DI de 0.4 (0-0.8) cas / 100 000 patients-jours. L'hématologie est le service le plus touché pour l'AI, avec 21 cas, 9 prouvés ou probables, soit une DI de 4.6 (1.6-7.5) cas / 10 000 patients-jours et 3 AI prouvées ou probables nosocomiales, soit une DI de 1.5 (0-3.2) cas / 10 000 patients-jours. Aucun cas nosocomial n'a été recensé dans le secteur protégé. Le suivi environnemental (822 prélèvements de surface, 166 prélèvements d'air), confirme l'efficacité du secteur protégé dans la prévention de la contamination aspergillaire et fongique environnementale. Enfin, il suggère que le nombre de lits par chambre et le niveau d'empoussièremment aient une influence sur la contamination fongique environnementale des surfaces du secteur conventionnel.

Mots clés : *Aspergillus*, aspergillose invasive, aspergillose chronique nécrosante, nosocomial, épidémiologie, environnement



Serment des Apothicaire

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

