



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 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 : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.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/V2/leg/leg_droi.php

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

N° d'identification :

TITRE

Épidémies nosocomiales dans les services de néonatalogie :
Les leçons d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu au CHU de Montpellier.

Thèse soutenue le 7 Octobre 2016

Par Lucile CADOT

RÉSUMÉ :

La fragilité des nouveau-nés hospitalisés en néonatalogie rend ce service à haut risque infectieux et épidémique. Malgré le respect de nombreuses mesures de prévention et une surveillance accrue par l'équipe opérationnelle d'hygiène, les épidémies semblent récurrentes dans ce type de service.
Ce travail a pour but de mieux comprendre la survenue et la propagation des épidémies dans les services de néonatalogie à l'échelle locale au Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier et internationale.
Cette problématique s'illustre autour de l'investigation poussée d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu au CHU de Montpellier.

MOTS CLÉS :

Incubateur, matelas, épidémie, *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu, néonatalogie.

Directeur de Thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Professeur Estelle JUMAS-BILAK	Équipe Pathogènes Hydriques Santé Environnement, UMR HSM 5569, UFR Pharmacie Montpellier et Laboratoire d'hygiène hospitalière, CHU de Montpellier.	Expérimentale

Thème : 2- Hygiène / Environnement

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
2016

FACULTÉ DE PHARMACIE

MÉMOIRE
du DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
de BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu devant le Jury Interrégional
Le 7 Octobre 2016

par Lucile CADOT
née le 19 Février 1987

Conformément aux dispositions de l'arrêté
du 4 Octobre 1988 tient lieu de

THÈSE
pour le DIPLÔME D'ÉTAT
de DOCTEUR en PHARMACIE

Épidémies nosocomiales dans les services de néonatalogie :
Les leçons d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de
bêta-lactamase à spectre étendu au CHU de Montpellier

Membres du Jury

Président : Professeur Christophe GANTZER

Juges : Professeur Philippe HARTEMANN
Professeur Estelle JUMAS-BILAK
Docteur Pierre MATHIEU
Docteur Sara ROMANO-BERTRAND

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2015-2016

DOYEN

Francine PAULUS

Vice-Doyen

Béatrice FAIVRE

Directeur des Etudes

Virginie PICHON

Conseil de la Pédagogie

Président, Brigitte LEININGER-MULLER

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Président, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

Commission de la Recherche

Président, Raphaël DUVAL

Responsable de la filière Officine

Béatrice FAIVRE

Responsables de la filière Industrie

Isabelle LARTEAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Responsable de la filière Hôpital

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable Pharma Plus ENSIC

Raphaël DUVAL

Responsable Pharma Plus ENSAIA

Marie-Paule SAUDER

Responsable de la Communication

Béatrice FAIVRE

***Responsable de la Cellule de Formation Continue
et individuelle***

Responsable de la Commission d'agrément

Béatrice FAIVRE

des maîtres de stage

Responsables des échanges internationaux

Bertrand RIHN

Responsable ERASMUS

Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Jean-Claude BLOCK

Max HENRY

Gérard SIEST

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY

Pierre DIXNEUF

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE

Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Francine KEDZIEREWICZ

Marie-Hélène LIVERTOUX

Bernard MIGNOT

Jean-Louis MONAL

Blandine MOREAU

Dominique NOTTER

Christine PERDICAKIS

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS

Section CNU *

Discipline d'enseignement

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	Thérapie cellulaire
Jean-Louis MERLIN	82	Biologie cellulaire
Alain NICOLAS	80	Chimie analytique et Bromatologie
Jean-Michel SIMON	81	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Nathalie THILLY	81	Santé publique et Epidémiologie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	Pharmacologie
Joël DUCOURNEAU	85	Biophysique, Acoustique, Audioprothèse
Raphaël DUVAL	87	Microbiologie clinique
Béatrice FAIVRE	87	Biologie cellulaire, Hématologie
Luc FERRARI	86	Toxicologie
Pascale FRIANT-MICHEL	85	Mathématiques, Physique
Christophe GANTZER	87	Microbiologie
Frédéric JORAND	87	Eau, Santé, Environnement
Isabelle LARTAUD	86	Pharmacologie
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	Pharmacognosie
Brigitte LEININGER-MULLER	87	Biochimie
Pierre LEROY	85	Chimie physique
Philippe MAINCENT	85	Pharmacie galénique
Alain MARSURA	32	Chimie organique
Patrick MENU	86	Physiologie
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN	87	Biochimie, Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	81	Pharmacie clinique
Julien PERRIN	82	Hématologie biologique
Marie SOCHA	81	Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	87	Parasitologie
Xavier BELLANGER	87	Parasitologie, Mycologie médicale
Emmanuelle BENOIT	86	Communication et Santé
Isabelle BERTRAND	87	Microbiologie
Michel BOISBRUN	86	Chimie thérapeutique
François BONNEAUX	86	Chimie thérapeutique
Ariane BOUDIER	85	Chimie Physique
Cédric BOURA	86	Physiologie
Igor CLAROT	85	Chimie analytique
Joël COULON	87	Biochimie
Sébastien DADE	85	Bio-informatique
Dominique DECOLIN	85	Chimie analytique
Roudayna DIAB	85	Pharmacie galénique
Natacha DREUMONT	87	Biochimie générale, Biochimie clinique
Florence DUMARCAY	86	Chimie thérapeutique
François DUPUIS	86	Pharmacologie
Adil FAIZ	85	Biophysique, Acoustique
Anthony GANDIN	87	Mycologie, Botanique
Caroline GAUCHER	86	Chimie physique, Pharmacologie
Stéphane GIBAUD	86	Pharmacie clinique
Thierry HUMBERT	86	Chimie organique
Olivier JOUBERT	86	Toxicologie, Sécurité sanitaire

ENSEIGNANTS (suite)	Section CNU *	Discipline d'enseignement
Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Francine PAULUS	85	Informatique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie
Gabriel TROCKLE	86	Pharmacologie
Mihayl VARBANOV	87	Immuno-Virologie
Marie-Noëlle VAULTIER	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU	87	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI	85	Pharmacie galénique
PROFESSEUR ASSOCIE		
Anne MAHEUT-BOSSER	86	Sémiologie
MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE		
Alexandre HARLE	82	Biologie cellulaire oncologique
PROFESSEUR AGREGÉ		
Christophe COCHAUD	11	Anglais

*** Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES



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.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION,
NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES
THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

À notre Président de jury,

Monsieur le Professeur Christophe GANTZER

PU, Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour l'environnement, Faculté de Pharmacie, Nancy.

*Vous m'avez fait le grand honneur de présider ce jury de Thèse.
Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.*

À notre Directrice de Thèse,

Madame le Professeur Estelle JUMAS-BILAK

PU-PH, Équipe Pathogènes hydriques Santé Environnement, UMR HSM 5569, UFR Pharmacie, Montpellier et Laboratoire d'hygiène hospitalière, CHU de Montpellier.

*Je vous suis profondément reconnaissante pour tout le soutien et les conseils avisés que
vous m'avez apportés.
Merci infiniment de m'avoir transmis votre passion de la Microbiologie.*

À notre Co-Directrice de Thèse,

Madame le Docteur Sara ROMANO-BERTRAND

AHU, Équipe Pathogènes hydriques Santé Environnement, UMR HSM 5569, UFR Pharmacie, Montpellier et Laboratoire d'hygiène hospitalière, CHU de Montpellier.

*Je te remercie sincèrement pour tout le temps que tu m'as consacré.
Merci pour ton énergie et ton enthousiasme quotidien.*

À nos juges,

Monsieur le Professeur Philippe HARTEMANN

Professeur émérite de la Faculté de Médecine, Nancy et Directeur du Laboratoire National de Santé, Luxembourg.

*Vous m'avez fait l'honneur et le privilège de juger cette Thèse.
Je vous remercie sincèrement de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail.*

Monsieur le Docteur Pierre MATHIEU

Biologiste médical, Laboratoire du CH de Verdun.

*Je suis très touchée que tu aies accepté d'évaluer mon travail.
Merci pour ta joie de vivre légendaire et tous ces bons moments passés à Verdun et
ailleurs.
Tu es la preuve qu'il est possible (pour ne pas dire recommandé) d'apprendre en
s'amusant : Vivement le prochain Congrès !*

À tous ceux qui ont rendu ce travail possible,

Hélène BRUGUIÈRE

*pour ton professionnalisme exemplaire, le partage de ton expérience et tes conseils qui
m'ont beaucoup appris.*

Sylvie PARER

pour votre idée lumineuse et votre encadrement.

Régine, Chantal, Sylvie et Myriam

*pour vos coups de main permanents et pour avoir repris le flambeau de mes petits
écouvillons.*

Agnès, Stephi, Fabien, Chloé et Lucas

pour votre aide précieuse et votre accueil chaleureux.

Chaouki et Christian

pour votre motivation et votre implication dans le soin des incubateurs.

Toute l'équipe du Département d'hygiène

pour avoir supporté notre quasi monopôle de paroles lors de nombreux Staffs.

Yveline et Sylvie

pour votre relecture attentive et efficace.

À tous les professionnels qui m'ont accueillie dans leur laboratoire,

Merci de m'avoir enseigné votre savoir-faire et votre art.

À tous les biologistes qui m'ont prise sous leur aile,

Brigitte DOUSSET

pour votre soutien et vos conseils avisés lors de mon projet Américain.

Nejla et Corentine

pour m'avoir apporté des bases solides en Bactériologie.

Valérie et Jean François

sans qui l'hématologie resterait pour moi un mystère.

Anne KENNEL

*pour m'avoir initiée à cette discipline fascinante dans la joie et la bonne humeur de ton
équipe.*

Hélène et Catherine DELAMARE

pour la confiance et les responsabilités que vous m'avez accordées.

Julien PERRIN

pour m'avoir aidée à rester au Pays.

Anne-Laure

pour m'avoir donné espoir dans ces moments de doutes.

Vincent

pour m'avoir soutenue pour mon second inter-CHU.

À tous les techniciens et techniciennes que j'ai rencontrés durant ces 5 années d'internat,

*Je vous serai toujours extrêmement reconnaissante de m'avoir confié votre savoir et
votre expérience.*

*Merci de m'avoir toujours offert un accueil merveilleux et des aux revoirs festifs.
Vous avez fait de moi le biologiste que je serai demain. J'espère ne pas vous décevoir...*

À Chantal,

*pour avoir été ma presque deuxième maman à mon arrivée en Lorraine.
Merci de participer à l'ambiance chaleureuse du laboratoire de biochimie.*

**À toute l'équipe de Verdun dont Yveline, Chacha, Marc, Nounours & Cathy,
Gillou, Gaëlle, Sandrine et les p'tites jeunes,**

pour ces 6 mois inoubliables grâce à votre accueil et votre gentillesse.

À toute l'équipe du Laboratoire SIMPA,

pour m'avoir tant soutenue lors de cette période difficile.

Nassima, Stéphanie, Sandra et Guillaume

pour toutes les pauses cafés, biscuits et rigolades...

À tous mes copains de Master : JC, Raph, Fred, Paul et Vincent,

*pour vos explications savantes qui m'ont été indispensables pour valider mon année.
pour notre trinôme très instructif sans lequel je courais à la catastrophe.
pour toutes ces bonnes parties de rigolades à la fac et ailleurs !*

À tous mes co-internes,

pour ces années passées à vos côtés en stage comme en bringue...

À la fidèle Team Tutorat,

Mme Béatrice DEMORÉ

*pour avoir toujours activement soutenu le Tutorat.
pour votre passion de l'enseignement qui nous donne un magnifique exemple.*

Mme Christine EST

*pour votre professionnalisme et votre amicale sympathie.
Travailler avec vous a toujours été un réel plaisir.*

Nadim

*pour ta disponibilité (même lors de tes vacances !) et ta gentillesse.
pour nos intéressantes discussions autour d'un bonbon.*

L'ensemble des fidèles Tuteurs

parce que sans vous l'aventure était impossible et bien moins sympa.

L'AIPHN

*pour avoir soutenu ce projet dans un souci d'amélioration permanente.
pour nous avoir toujours payé un p'tit restau et un p'tit coup à l'issue de chaque session.*

Tous "mes p'tits" étudiants

pour avoir été motivés et toujours très reconnaissants.

À ma famille,

Mes parents & Brig' & Patrick

*pour votre présence constante et votre amour éternel.
pour avoir cru en moi et m'avoir encouragée lorsque je n'y croyais plus moi même. C'est
grâce à vous si on se retrouve ici aujourd'hui...
pour tout ce que vous m'avez appris et pour toutes les valeurs que vous m'avez
transmises.*

Mes Frangines

*pour tous ces moments passés ensemble même si mes études les ont fait plus rares.
pour toutes ces vannes qui nous font toujours rire de bon cœur.
pour cette passion commune qui nous rassemble.*

Mamie "Chline"

pour tes 5 lettres magiques.

Mes grands-parents disparus

pour m'avoir offert une enfance formidable.

Ma Tatinette chérie

pour tous ces souvenirs, tu me manques tant...

Ma cousine chérie et toute sa petite famille

pour toutes nos bêtises de petites filles et tous nos agréables cafés-terrasse de grandes...

Joss

ma presque Tatie.

À mon Jojo,

*pour notre belle rencontre et ce chemin à parcourir ensemble.
pour m'avoir donné la force d'affronter toutes ces contraintes géographiques.
pour tes conseils et pour m'avoir aidée à la mise en forme de ce travail.*

À ma belle famille,

*Merci à Françoise & Thierry, Aurélien & Camille & Lucas & Hugo & "la petite graine",
Georges parti trop tôt & Nazarène, Louis & Nadine et à tous les tontons & tatas &
cousins-cousines de me faire cette si belle place dans votre grande famille.*

À mes Amis,

Silvia & FX

pour toutes ces années facs et à celles qui nous sont promises.

Pierre & Marie

pour tous ces bons moments passés à Montpel, Paris et dans notre belle Ardèche.

Juju & Anne-Laure et Popo

pour notre amitié sincère et toutes nos belles balades.

Ma Brebis, Saboulette et Verge

pour nos "Ferme Party" et aventures "chevaleresques".

Toutes les copines du club et Jean-No

pour tous nos cours, nos balades, nos chutes, nos aprem tarot, nos concours et soirées cavaliers.

Steve, JC & Serena, Tomtom, Alban & Anaïs et Thierry

pour toutes ces bringues passées et à venir.

Adeline et Alex

pour toutes ces années ponctuées de p'tits goûters-café-blablaba.

À mes Amis rencontrés en Lorraine,

vous êtes le meilleur antidépresseur du monde : encore plus efficace que le Soleil!!!

Caro

*pour nos déprimés Lorraines largement consolés par nos soirées Match-Bières-Pizzas et
nos p'tits Caf' du dimanche aprem.*

Anne-So & Flo

*pour nos soirées d'hier à Verdun où on se marrait bien. Et à tous ces moments de
rigolades "ma gueule"!*

Allan, mon Amis Vosgien

pour ta gentillesse et ton grand cœur.

Julien

pour toutes ces soirées où tu jouais le paparazzi et pour tous ces bons souvenirs...

**Nico, Lucille, Lolo, le p'ti Léon, Élise, Marie & Andréas, Arnaud Maget,
Christine, Lucie, Anne-Lise & Martin**

*pour notre internat passé ensemble dans la joie et la bonne humeur et qui restera une
merveilleuse période de ma scolarité, malgré un climat Lorrain désastreux!*

À la famille Méline et aux copines du Piroué,

*pour m'avoir confié ce petit jaune adorable.
pour un coaching de très grande qualité qui m'a permis de retrouver ma passion.
pour cette ambiance familiale et adorable.*

Table des matières

1	Introduction	5
2	La néonatalogie : Un service à haut risque infectieux et épidémique	7
2.1	La néonatalogie : Les nouveau-nés prématurés en première ligne	7
2.1.1	Les patients de néonatalogie : Des nouveau-nés prématurés très fragiles	7
2.1.2	La fragilité physiologique	8
2.1.3	La fragilité microbiotique	10
2.1.4	La fragilité associée aux soins	12
2.2	Risques infectieux et épidémiques en néonatalogie	13
2.2.1	Les principales infections bactériennes retrouvées en néonatalogie .	13
2.2.2	Le risque infectieux associé aux soins	17
2.2.3	Le risque épidémique en néonatalogie	18
2.3	La prévention des infections et des épidémies bactériennes en néonatalogie	20
2.3.1	Les précautions standard en hygiène	20
2.3.2	Les précautions complémentaires	20
2.3.3	La prévention du risque infectieux associé aux soins	21
2.3.4	La prévention organisationnelle	22
2.3.5	Surveillance, gestion et prévention des épidémies en néonatalogie .	22
3	Bilan des épidémies en néonatalogie	24
3.1	Revue bibliographique des épidémies à bacilles à coloration de Gram négative de 2006 à 2016	24
3.1.1	Introduction	24
3.1.2	Matériels et Méthodes	24
3.1.3	Résultats	24
3.1.4	Discussion	29
3.2	État des lieux des épidémies du service de Néonatalogie du CHU de Montpellier	30
3.2.1	Les épidémies depuis 2009	30
3.2.2	L'état endémique	33
4	Description d'une épidémie de <i>Klebsiella pneumoniae</i> BLSE dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier	35
4.1	Neonate incubators involved in an outbreak of extended spectrum beta-lactamase producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> in a neonatal care center . . .	35
4.2	Analyse approfondie des causes a posteriori	46

4.2.1	Description chronologique de l'événement	46
4.2.2	Analyse des causes immédiates	47
4.2.3	Analyse des causes systémiques	47
4.2.4	Mise en place et suivi des actions correctives	50
4.3	Conséquences des actions menées sur l'écologie bactérienne du service . . .	52
5	Conclusion	54
	Annexes	66
A	Procédure d'entretien des incubateurs	67
B	Affiche de rappel sur les précautions complémentaires contact	74
C	Poster présenté au XXVII^{ème} Congrès National de la SF2H	75

Liste des tableaux

I	Principales données recueillies pour cette revue bibliographique	25
II	Mécanismes de résistance des pathogènes responsables d'épidémies	27
III	Typage moléculaire des pathogènes responsables d'épidémies	27
IV	Principales données recueillies concernant les épidémies rencontrées dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier	31
V	Bactéries responsables d'épidémies dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier	32

Table des figures

1	Implantation du microbiote intestinal chez le nouveau-né	11
2	Répartition géographique des épidémies	26
3	Bacilles à coloration de Gram négative responsables d'épidémies	27
4	Réservoirs épidémiques	28
5	Photographies d'un ancien matelas	48
6	Densité d'incidence mensuelle des patients infectés et / ou colonisés par une BMR pour 1000 journées d'hospitalisation dans le service de néonatalogie	53

Abréviations et acronymes

ALARM :	Association of Litigation And Risk Management
ARLIN :	Agence Régionale de Lutte contre les Infections Nosocomiales
BGN :	Bacille à coloration de Gram Négative
BHRe :	Bactéries Hautement Résistantes émergentes
BLSE :	Béta-Lactamase à Spectre Étendu
BMR :	Bactéries Multi-Résistantes
C3G :	Céphalosporines de 3 ^{ème} génération
CCLIN :	Centre de Coordination et de Lutte contre les Infections Nosocomiales
CHP :	Céphalosporinase Hyper-Produite
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
CMV :	Cytomégalovirus
DPC :	Développement Professionnel Continu
ECP :	Électrophorèse en Champs Pulsée
EOH :	Équipe Opérationnelle d'Hygiène
Fiche REX :	Fiche de Retour d'EXpérience
HSV :	Herpès Simplex Virus
INSEE :	Institut National de la Statistique et des Études Économiques
NR :	Non Renseigné
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PCT :	Procalcitonine
SA :	Semaines d'Aménorrhée
SAMS :	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticillino-Sensible
SCN :	Staphylocoques à Coagulase Négative
SF2H :	Société Française d'Hygiène Hospitalière
VIH :	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VRS :	Virus Respiratoire Syncytial

1 Introduction

Les services de néonatalogie ont toujours été considérés comme des services différents des autres. La clé de voûte de cette différence est liée au protagoniste principal : le patient. Le patient de néonatalogie n'est pas un adulte miniature, il s'agit d'un petit être extrêmement fragile, naïf de tout contact avec le monde que nous connaissons et très sensible à son environnement. Sa fragilité ne s'explique pas simplement par sa petite taille mais plutôt par sa prématurité, source de nombreuses immaturités, ou par la maladie. Cette fragilité ne lui permet pas de suivre le parcours classique du nouveau-né et de pouvoir rentrer à domicile avec ses parents après quelques jours de vie. En effet, il faut avoir à l'esprit que si ces patients n'étaient pas pris en charge dans une structure très spécialisée, adaptée à leur état physiopathologique et dotée de personnel qualifié, ils auraient une espérance de vie extrêmement réduite voire nulle pour certains d'entre eux. Leur état souvent médicalement préoccupant n'est pas sans inquiéter leurs parents pour qui les visites sont autorisées 24h sur 24 et 7 jours sur 7. Les parents sont alors de véritables acteurs de vie et de soins du service. Ce rôle majeur des parents dans la vie du service cultive sa différence et n'est pas sans complexifier la tâche des soignants qui doivent gérer à la fois l'état parfois critique de l'enfant et l'inquiétude des parents.

Qui dit patients très fragiles signifie aussi risque infectieux accru. C'est pour cette raison que le service de néonatalogie est étroitement surveillé par l'équipe opérationnelle d'hygiène (EOH). Une hygiéniste intervient dès que nécessaire dans ce service, et la qualité de l'environnement y est régulièrement surveillée. Afin de simplifier la gestion et la coordination des données de l'EOH relatives à leurs activités de surveillance et de prévention, et les données de surveillance microbiologique de l'environnement du laboratoire d'hygiène hospitalière ; ces deux services sont regroupés dans les mêmes locaux et constituent le département d'hygiène hospitalière. Cette organisation permet une étroite collaboration entre ces deux services et une grande réactivité pour la réalisation de prélèvements environnementaux et de typages moléculaires dans les investigations épidémiques.

Une des missions de l'EOH est la surveillance de la survenue de cas groupés d'infection et / ou de colonisation par des bactéries multirésistantes (BMR) ou par des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) dans les différents services de l'hôpital. Cette surveillance a permis de mettre en évidence une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier. Cette épidémie a conduit à une investigation poussée et à la mise en place de mesures correctives et préventives intéressantes. Dans le cadre de cette investigation, une première partie synthétise les conséquences de la fragilité des patients de néonatalogie en termes de risques infectieux et épidémiques. Dans une seconde partie, un bilan des épidémies à l'échelle internationale (par une revue bibliographique) et locale (sur le CHU de Montpellier) est exposé afin d'évaluer l'ampleur de cette problématique à différentes échelles. Enfin, le but de ce travail est de faire partager cette expérience

intéressante au plus grand nombre par le biais de ce manuscrit mais aussi par un poster présenté lors du XXVII^{ème} Congrès National de la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SF2H) organisé en Juin dernier à Nantes, par la rédaction d'une fiche de retour d'expérience (fiche REX) qui sera élaborée et diffusée en collaboration avec l'équipe de l'agence régionale de lutte contre les infections nosocomiales (ARLIN) du Languedoc-Roussillon et par une publication internationale qui sera soumise fin septembre dans le journal Infection Control & Hospital Epidemiology.

2 La néonatalogie : Un service à haut risque infectieux et épidémique

Selon les données de l'INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques), environ 800 000 accouchements sont réalisés chaque année en France. Ces enfants naissent dans différents types de maternités, classés en fonction du niveau de soins dispensés aux nouveau-nés. Les maternités de type I comprennent une unité d'obstétrique qui prend en charge les grossesses à bas risque et prodigue des soins courants. En plus de cette fonction, les maternités de type II dispensent des soins plus spécifiques, gèrent des pathologies modérées du nouveau-né et accueillent des prématurés nés entre 32 et 36 semaines d'aménorrhée (SA). Ces maternités de type II sont divisées en deux sous-groupes, les types II-A comprenant une unité de néonatalogie et les types II-B disposant en plus de l'unité de néonatalogie, une unité de soins intensifs néonatale. Enfin, étant en plus dotées d'un service de réanimation néonatale, les maternités de type III soignent des prématurés de moins de 32 SA et des pathologies sévères du nouveau-né et de la mère [2].

2.1 La néonatalogie : Les nouveau-nés prématurés en première ligne

2.1.1 Les patients de néonatalogie : Des nouveau-nés prématurés très fragiles

Les services de néonatalogie accueillent des nouveau-nés souffrant d'infections materno-fœtales, d'ictère, de malformation ou des bébés nés de mère ayant eu une grossesse pathologique.

La première cause d'hospitalisation dans un service de néonatalogie reste toutefois la naissance prématurée. Alors qu'une grossesse arrive à terme à 41 SA, la prématurité se définit, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), par une naissance avant la 37^{ème} SA révolue. Les limites inférieures de viabilité sont évaluées à un âge gestationnel de 22 SA et un poids de naissance minimum de 500 g. Les situations médicales étant différentes en fonction du terme de la grossesse, plusieurs catégories ont été définies. On parle de prématurité moyenne pour des enfants nés entre 33 et 36 SA + 6 jours, de grande prématurité pour des naissances entre 28 et 32 SA + 6 jours, et d'extrême prématurité pour les naissances à moins de 28 SA. À cette classification par âge gestationnel, s'ajoute la prise en compte du poids de naissance imparfaitement corrélée à celle de l'âge notamment en cas de retard de croissance fœtale. Ainsi on parle de faible poids de naissance si l'enfant pèse moins de 2500 g, de très faible poids de naissance pour des enfants de moins de 1500 g et d'extrêmement faible poids de naissance pour un poids inférieur à 1000 g. Ces groupes correspondent, en termes de prise en charge, aux catégories décrites précédemment par âge gestationnel [54].

Il existe de nombreux facteurs de risque de prématurité principalement liés au fœtus et à l'état de santé, au mode de vie et aux conditions socio-économiques de la mère, mais la plupart des mécanismes par lesquels ces facteurs influent sur la prématurité sont mal

connus [101, 77].

Les naissances prématurées représentaient en 2010 6,6 % des naissances vivantes en France [4]. Parmi celles-ci, on retrouve environ 85 % de moyenne prématurité, 10 % de grande prématurité et 5 % d'extrême prématurité.

Lorsqu'un enfant naît à terme, il est physiologiquement prêt pour affronter une vie ex utero. Lorsqu'il naît prématurément, certaines de ses fonctions vitales sont immatures et ce d'autant plus que la prématurité est importante [77]. Les nouveau-nés prématurés sont donc physiologiquement et microbiotiquement plus fragiles que ceux nés à terme, et à cela s'ajoute une fragilité liée à leur prise en charge à l'hôpital, le plus souvent inévitable.

2.1.2 La fragilité physiologique

La thermorégulation

Lors de l'accouchement, l'enfant passe rapidement d'une température intra-utérine de 37°C à une température ambiante d'environ 20°C. Le nouveau-né prématuré risque alors l'hypothermie en raison d'une réponse insuffisante à la stimulation de l'hypothalamus postérieur. À cela s'ajoute une déperdition de chaleur liée à une surface cutanée importante par rapport au gabarit et une évaporation d'eau corporelle rapide liée à la finesse de sa peau, potentialisant le risque de déshydratation [14].

Pour pallier à cela, ces enfants sont hospitalisés dans des incubateurs dans lesquels la température et l'hygrométrie sont contrôlées et adaptées aux besoins de l'enfant.

La respiration

L'association d'une immaturité pulmonaire à celle du tronc cérébral (dont l'un des rôles est de réguler la respiration) expose les nouveau-nés prématurés à de nombreuses complications respiratoires. La plus fréquente d'entre elles est le syndrome de détresse respiratoire lié à un défaut qualitatif et / ou quantitatif de production de surfactant pulmonaire. Cependant des tachypnées transitoires, des insuffisances respiratoires hypoxiques, et des apnées peuvent également se compliquer d'hypoxie sévère, d'acidose et d'hypertension pulmonaire.

Pour éviter ces complications, les patients prématurés sont généralement mis sous assistance respiratoire.

Le métabolisme hépatique

Du fait de l'immaturité hépatique du nouveau-né prématuré, les réserves en glycogène sont moindres et l'activité de la glucose-6-phosphatase (enzyme impliquée dans la gluconéogenèse et la glycogénolyse) est faible. De plus, ces derniers ont des besoins glucidiques supérieurs aux enfants nés à terme. Ces enfants sont donc plus sujets à l'hypoglycémie qui doit être surveillée par des prélèvements réguliers et prise en charge dès que possible.

En effet, les hypoglycémies répétées même modérées et asymptomatiques, laissent suspecter un effet délétère sur le développement cérébral des prématurés [100].

De plus, cette immaturité hépatique est responsable d'un défaut de conjugaison de la bilirubine libre et donc de son élimination, exposant ainsi l'enfant à une hyperbilirubinémie bien connue des pédiatres. Cette hyperbilirubinémie expose l'enfant à des risques neurologiques et sera prise en charge par photothérapie.

L'appareil digestif

La coordination oro-buccale et le mécanisme de déglutition étant également immatures, les nouveau-nés prématurés ont souvent du mal à s'alimenter. Dans ce cas, les médecins peuvent avoir recours à l'alimentation parentérale qui peut représenter un risque pour l'enfant notamment en cas d'une administration prolongée (infections généralement liées aux cathéters, cholestase, rachitisme, désordres hydro-électrolytiques, dyslipidémie, trouble de l'équilibre glycémique) [85]. À cela s'ajoute la fréquence plus importante de reflux gastro-œsophagiens chez les prématurés qui par conséquent, ont du mal à prendre du poids et sont plus exposés aux risques de déshydratation et d'hypermnatrémie [77]. Enfin, l'immaturité de l'appareil digestif des nouveau-nés prématurés est à risque de translocation digestive de microorganismes endogènes et donc à risque de bactériémies.

L'immunité

L'immunité innée de l'enfant prématuré est immature par différents aspects. Étant très fine et fragile, leur peau est facilement endommagée par des microtraumatismes causés par exemple par des électrodes et adhésifs, et représente donc une potentielle porte d'entrée pour les infections [56]. De plus, sa capacité à développer une réponse immunitaire innée adéquate à une stimulation infectieuse est limitée. À cela s'ajoute une mauvaise régulation de l'inflammation qui pourra paradoxalement conduire à un emballement de la réponse immunitaire dont la principale pathologie est l'entérocolite nécrosante [56].

Enfin, l'immunité adaptative est immature chez tous les nouveau-nés et s'acquiert dès les premières semaines de vie. Mais chez les prématurés, la capacité à développer une réponse immunitaire adaptative est moindre du fait d'un nombre plus faible de lymphocytes circulants [68]. Tous ces éléments cumulés montrent bien que les nouveau-nés sont très vulnérables aux infections.

Ainsi, un enfant né prématurément a toutes les raisons d'être hospitalisé afin de bénéficier d'une surveillance médicale et de soins rapprochés d'autant plus que 75 % de la mortalité néonatale est liée à la prématurité [54].

2.1.3 La fragilité microbiotique

L'implantation du Microbiote

Les fœtus se développent dans une cavité utérine stérile où ils sont ainsi écartés de tout contact avec des microorganismes [98]. C'est à partir de leur naissance que les enfants se retrouvent exposés à une immense variété de microorganismes [36] qui vont petit à petit les coloniser jusqu'à compter entre 1,3 et 10 fois plus de bactéries que de cellules humaines [86]. Cette colonisation va évoluer durant les deux à trois premières années de vie, pour se stabiliser et former un microbiote persistant qui sera retrouvé à l'âge adulte [98]. Depuis plusieurs années, de nombreuses recherches portent sur ce désormais célèbre microbiote (du grec mikros : petit et bios : vie). Il représente l'ensemble des microorganismes qui résident, de façon parfaitement normale et symbiotique, à la surface et à l'intérieur d'un organisme vivant [41]. Cet engouement scientifique vient certainement du fait qu'on s'est récemment aperçu que ce microbiote joue de nombreux rôles fondamentaux dans notre développement et notre vie quotidienne, et que son déséquilibre peut rapidement être la cause de dysbiose [46].

En premier lieu, la colonisation digestive représente un élément essentiel au bon développement du tractus gastro-intestinal [98, 46]. Elle permet le maintien de l'intégrité des muqueuses digestives (effet barrière à l'implantation de bactéries relatives à un microbiote déséquilibré voir pathogène et résistant aux antibiotiques [41, 36]) et contribue au bon état nutritionnel de son hôte (amélioration de la digestion, amélioration de l'absorption de nutriments essentiels et synthèse de vitamines B et K) [28]. Le deuxième rôle majeur de cette colonisation est l'aide à la maturation du système immunitaire de l'hôte. En effet, l'implantation du microbiote digestif est intimement liée au développement du système immunitaire, à la sensibilité de l'hôte aux infections et à la régulation de l'inflammation [97].

L'implantation du microbiote chez un nouveau-né se déroule comme suit : lors deux premières semaines de vie, le tube digestif du nourrisson est rapidement colonisé par des bactéries aérobies-anaérobies facultatives (phase I) telles que des entérobactéries, streptocoques ou autres entérocoques [9]... Cette colonisation se poursuit grâce à l'alimentation par l'allaitement (phase II) et après la diversification alimentaire (phase III). Enfin, les bactéries anaérobies telles que les genres *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* et *Clostridium* commencent à apparaître vers l'âge de 18-24 mois. Dès lors, le microbiote intestinal se met à ressembler à celui de l'adulte (phase IV) (Figure 1) [98, 41, 28]. Il s'agit donc d'un processus complexe influencé par de nombreux facteurs qui rendent son équilibre fragile. Les principaux facteurs qui influent sur l'implantation et la diversité du microbiote chez un nouveau-né sont le mode de délivrance (par voie basse ou par césarienne), le mode d'alimentation (allaitement ou préparation pour nourrisson), l'antibiothérapie, les contacts de l'enfant avec ses parents et plus particulièrement sa mère, l'environnement proche, le niveau d'hygiène général et le mode de vie [98, 28, 36, 103, 64, 46, 48].

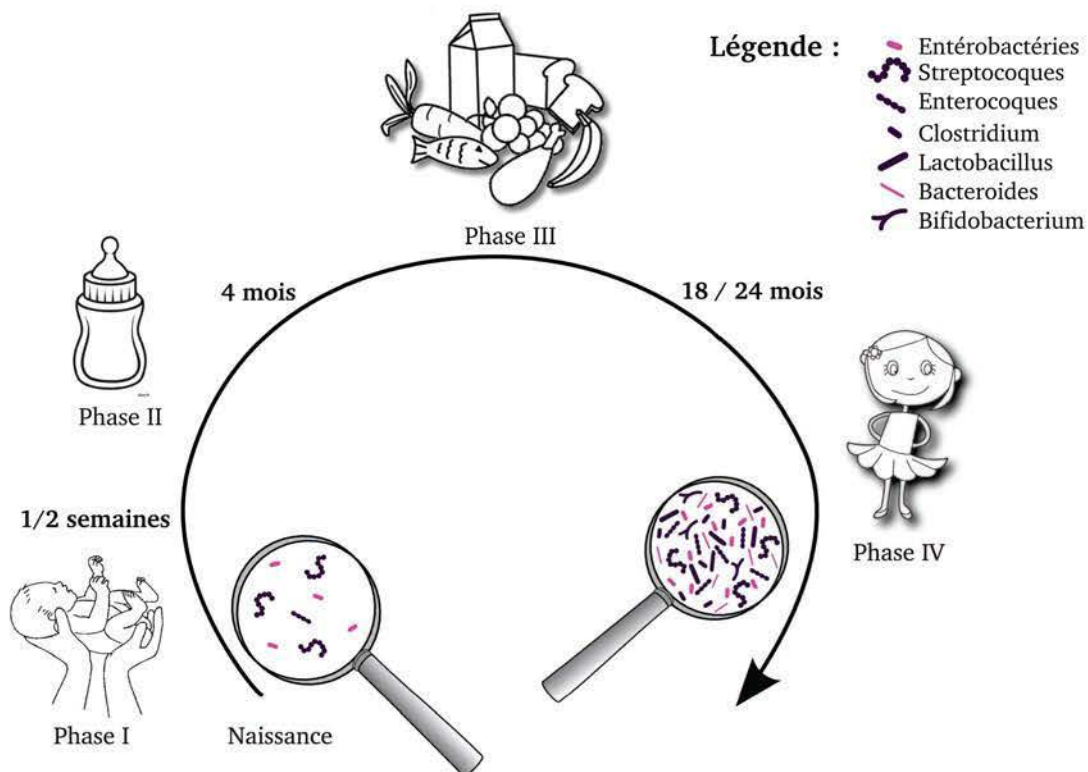


FIGURE 1 – Implantation du microbiote intestinal chez le nouveau-né

Le Microbiote du nouveau-né hospitalisé en néonatalogie

Pour le nouveau-né hospitalisé en néonatalogie, l'implantation du microbiote digestif représente un véritable challenge ayant des conséquences à plus ou moins long terme sur sa santé.

En effet, les enfants de ces services naissent le plus souvent par césarienne ce qui retarde et altère leur colonisation et les expose à un retard de développement de leur système immunitaire. Ceci les prédispose à certaines maladies tel que l'asthme par exemple [68, 36]. Mais ce mode de délivrance a aussi des conséquences à court terme. En effet, lors qu'un enfant naît par voie basse, les premiers microorganismes auquel il est confronté sont ceux du microbiote vaginal et fécal de la mère. Alors que pour les enfants nés par césarienne, les premiers microorganismes sont ceux du microbiote cutané de leur mère, ainsi que ceux de l'environnement hospitalier et des soignants. Chez l'enfant né par césarienne, cette différence entraîne une moindre efficacité du microbiote barrière et favorise grandement la colonisation digestive par des microorganismes hospitaliers souvent pathogènes et résistants aux antibiotiques [98, 17, 48]. À titre d'exemple, *Klebsiella*

pneumoniae est une entérobactérie pathogène opportuniste souvent multi-résistante aux antibiotiques, fréquemment retrouvée à l'hôpital. Une étude espagnole a montré qu'elle est plus souvent isolée dans les selles des nouveau-nés prématurés que chez les enfants nés à terme, par voie basse et allaités : à 2 jours de vie, 47,1% des enfants nés à termes, par voie basse et allaités sont colonisés par *K. pneumoniae* contre 100% des enfants prématurés [9, 64, 84]. Il faut aussi envisager l'hypothèse que la mère puisse être colonisée par une BMR et ce d'autant plus si elle a reçu un traitement antibiotique avant l'accouchement, ce qui est fréquent chez les mères de prématurés. La transmission de cette BMR de la mère à l'enfant devient alors évidente. Avec l'augmentation des résistances des entérobactéries communautaires, ce phénomène est de plus en plus fréquent. Ce qui amène à classer la mère comme premier facteur de risque de colonisation des nouveau-nés prématurés par des Entérobactéries BLSE [35].

De nombreuses études montrent que l'alimentation des nouveau-nés prématurés par du lait maternel représente un réel bénéfice pour leur santé [46, 48] (réduction des infections et de la durée d'hospitalisation, meilleure digestibilité donc amélioration de la croissance et de la prise de poids, amélioration du pronostic à long terme...). Cependant, le risque infectieux de l'allaitement n'étant pas négligeable, le lait donné aux prématurés est pasteurisé par le lactarium affilié au service de néonatalogie dans lequel il est hospitalisé [96]. Cette pasteurisation qui inactive les virus (VIH, CMV, HTLV-1...) et réduit la flore aérobie revivifiable, a donc un impact inévitable sur la phase II de l'implantation du microbiote [98] (Figure 1). De plus, l'alimentation parentérale qui est une pratique courante en néonatalogie, représente un facteur de risque de colonisation digestive par des BMR (par l'absence d'une alimentation per-os, essentielle à l'implantation du microbiote intestinal) [19].

Enfin, il faut savoir qu'un nouveau-né hospitalisé en néonatalogie a plus de risques de développer une infection par une bactérie qui le colonise que par une bactérie exogène [34].

2.1.4 La fragilité associée aux soins

L'hospitalisation d'un enfant en néonatalogie a pour but de stabiliser et surveiller son état clinique afin qu'il puisse rentrer à domicile en pleine santé. Pour cela, les pédiatres ont recours à de nombreux soins souvent complexes, qui peuvent dans un premier temps fragiliser l'enfant. Ce risque doit donc être évalué par la balance bénéfice / risque de la prise en charge, et être réduit par des mesures de prévention adaptées.

La complexité des soins peut être source d'erreurs humaines dans la prise en charge. La pose de matériel invasif indispensable à la prise en charge constitue une porte d'entrée aux infections. Les cathéters sont susceptibles d'induire des complications thromboemboliques graves qu'il faut bien évidemment surveiller [85]. L'assistance respiratoire par ventilation mécanique, fréquente en néonatalogie liée à l'immaturité de l'arbre respiratoire, est la cause de complications infectieuses et de dysplasies broncho-pulmonaires, de pneumothorax, d'emphysèmes et de complications liées à l'intubation [85]. L'hospitalisa-

tion a aussi des conséquences sur l'implantation du microbiote intestinal par le nursing en incubateur, le faible contact peau à peau des parents, l'administration d'antibiotiques, et participe ainsi au risque infectieux. À cela s'ajoute un environnement hospitalier propice à l'émergence de BMR par son asepsie et sa pression de sélection antibiotique [7]. Enfin, la durée d'hospitalisation souvent longue chez ces patients lourds est un facteur de risque supplémentaire à la survenue de complications.

Pour résumer, l'enfant prématuré hospitalisé en néonatalogie cumule l'immaturité physiologique de certains organes et fonctions vitales, de son microbiote et de son système immunitaire, associée aux conséquences de l'hospitalisation (portes d'entrée créées par les dispositifs invasifs, l'antibiothérapie et un environnement hospitalier très différent de celui de son domicile). Tout ceci fait de lui un être très fragile, extrêmement sensible à la colonisation et à l'infection par des bactéries pathogènes potentiellement multirésistantes.

2.2 Risques infectieux et épidémiques en néonatalogie

2.2.1 Les principales infections bactériennes retrouvées en néonatalogie

Les infections du nouveau-né sont très fréquentes en néonatalogie et responsables d'une importante morbidité et mortalité. En effet, les signes cliniques d'infection sont très souvent aspécifiques et d'évolution létale rapide. Concernant les bactéries responsables d'infections, les cocci à coloration de Gram positive sont au premier plan puisqu'ils sont responsables d'environ 70% des sepsis. Parmi eux, les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les plus fréquents avec toute la complexité qu'ils représentent pour l'interprétation des prélèvements de bactériologie et notamment des hémocultures ; ils sont suivis de *Staphylococcus aureus*. Les entérobactéries, avec *Klebsiella pneumoniae* comme chef de file, représentent le quart des infections. Les bacilles à coloration de Gram négative (BGN) et non fermentants sont plus rares et principalement représentés par *Pseudomonas aeruginosa*. On remarque bien que les principales bactéries responsables d'infections sont des bactéries endogènes du microbiote cutané pour les SCN et du microbiote digestif pour les entérobactéries.

Les infections virales sont aussi fréquentes et d'étiologies variées mais les virus les plus retrouvés sont le VRS et le rotavirus, souvent responsables d'épidémies. Enfin, il ne faut pas oublier les infections fongiques essentiellement à *Candida spp* qui représentent 13% des infections en néonatalogie et sont souvent graves. [55] Les infections d'origine virale et fongique ne seront pas développées dans la suite de ce travail.

Dans un premier temps, les infections sont classées par délai d'apparition à partir de la naissance : infections néonatales précoces et tardives. Les infections tardives se répartissent en infections primitives tardives et en infections nosocomiales. [12]

A) Les infections néonatales précoces

Encore appelées infections materno-fœtales, les infections néonatales précoces apparaissent dans les quatre premiers jours de vie avec des symptômes se manifestant le plus souvent dès la naissance ou les premières heures de vie. Elles sont responsables d'une mortalité périnatale importante s'élevant à 12%.

La colonisation initiale prénatale est la plus fréquente et peut être initiée par deux voies : la voie ascendante, secondaire à une colonisation du liquide amniotique avec ou sans rupture prématurée des membranes (Exemple du *Streptococcus agalactiae* ou d'*Escherichia coli*), ou la voie systémique transplacentaire, secondaire à une bactériémie maternelle (Exemple de *Listeria monocytogenes*). Plus rarement, la colonisation peut être per-natale par ingestion, inhalation ou atteinte cutanéomuqueuse au cours du passage dans la filière génitale (Exemple d'VIH, HSV, *Chlamydia trachomatis*) ou post-natale par le lait maternel (exemple de CMV, VIH, *Streptococcus agalactiae*...).

B) Les infections néonatales tardives

Les infections néonatales tardives surviennent entre 4 et 89 jours de vie. La contamination initiale a lieu généralement en post-natale et est plus fréquente chez les nouveau-nés prématurés que chez les enfants nés à terme.

a) Les infections primitives tardives

Les infections primitives tardives sont cliniquement très diverses (infections respiratoires, digestives, urinaires, cutanées, oculaires, ORL...) et généralement révélées par une hyperthermie. La contamination est le plus fréquemment post-natale par la transmission de micro-organismes pathogènes via les sécrétions rhinopharyngées, la salive ou les mains de l'entourage, ou par le lait maternel. Il existe aussi des bactériémies à microorganismes endogènes liées à une translocation digestive. Parfois, une colonisation per-natale peut être suivie d'une période asymptomatique et se compliquer par une infection tardive (Exemple de la pneumopathie à *Chlamydia trachomatis*).

Les infections primitives tardives sont principalement des infections respiratoires ou digestives d'étiologie virale (VRS, Rotavirus, Adénovirus).

b) Les infections nosocomiales

Les infections nosocomiales se définissent par des infections acquises dans un établissement de santé et n'étant ni en incubation ni présentes à l'admission du malade. Le délai entre l'admission et le début des signes cliniques admis pour les infections bactériennes est de 48 heures. Elles sont fréquentes en néonatalogie avec une incidence allant de 7,5 % pour la néonatalogie à 14,2 % pour la réanimation néonatale. Elles sont responsables d'une augmentation de la durée de séjour et d'un surcoût financier. Mais elles ont surtout de lourdes conséquences en terme de morbidité et une mortalité globale de 10 à 16 % [53, 12]. La contamination peut être soit endogène (à partir du microbiote de l'enfant) soit exogène (à partir de l'environnement, des soignants, des autres patients,

des visiteurs...). Les principaux facteurs de risques sont liés à la faiblesse des nouveau-nés précédemment évoquée (Chapitre 2), et à l'hospitalisation, source de iatrogénie (dispositifs invasifs, surcharge de travail dans le service, défauts d'hygiène de base...) [53]. Les infections nosocomiales sont cliniquement très diverses mais les plus fréquentes sont les conjonctivites, les bactériémies suivies des pneumopathies sur ventilation assistée et des entérococolites ulcéro-nécrosantes [12]. Chez les nouveau-nés hospitalisés, il est souvent difficile de les différencier des infections néonatales précoces.

Les conjonctivites

Les conjonctivites représentent les infections nosocomiales les plus fréquentes en néonatalogie (5 % des patients dont environ 50 % dans les services lourds de soins intensifs et réanimation) d'autant plus que la prématurité de l'enfant est importante. La colonisation se fait principalement lors des soins, notamment par la ventilation mécanique. En effet, sur un si petit visage, le dispositif de ventilation est très proche des yeux et favorise leur colonisation par les bactéries des microbiotes cutané et oro-pharyngé. Les principales bactéries en cause sont les SCN, *Staphylococcus aureus* et les entérobactéries telles que *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*. Heureusement, les pédiatres connaissent parfaitement les signes cliniques ce qui permet la mise en place d'un traitement précoce très efficace par collyres antibiotiques [47, 16].

Les bactériémies

Les bactériémies nosocomiales sont la première cause d'infection nosocomiale grave. La majorité d'entre elles sont liées aux cathéters mais certaines sont secondaires à une infection plus localisée.

Les bactériémies liées aux cathéters sont les principales bactériémies nosocomiales, et la durée prolongée de cathétérisme en est le premier facteur de risque. La contamination se fait principalement par voie extra-luminale (c'est-à-dire via le microbiote cutané de l'enfant et le contact direct des soignants) ou par voie intra-luminale (c'est-à-dire par la manipulation des lignes de cathéter par les soignants). Ainsi, la manipulation fréquente des cathéters représente un facteur de risque supplémentaire de bactériémie. [55] D'après le rapport 2014 du réseau de surveillance des bactériémies sur cathéter en néonatalogie NEO-CAT, les bactériémies sur cathéter veineux ombilicaux ont une incidence inférieure à celle sur cathéter veineux centraux (2,1 % vs 13,3 %). Le constat est le même pour la densité d'incidence (4,6 pour 1 000 jours de cathéter veineux ombilicaux vs 10,4 pour 1 000 jours de cathéter veineux centraux). [3]

La principale étiologie bactérienne est représentée par les SCN, résistants à la méticilline dans 85 % des cas. Ils devancent largement les Staphylocoques dorés et les entérobactéries [12].

Le diagnostic est souvent difficile car les signes cliniques sont généralement aspécifiques. De plus, l'interprétation des hémocultures est délicate du fait du nombre considérable de contaminations à SCN liées à la complexité de la réalisation du prélèvement chez les nouveau-nés. [55] Heureusement, lors d'une bactériémie à SCN, l'évolution après retrait

du cathéter et sous traitement bien conduit est généralement favorable [12].

Les entérocolites ulcéro-nécrosantes

L'entérocolite ulcéro-nécrosante est la plus courante des urgences médico-chirurgicales digestives en réanimation et soins intensifs de néonatalogie [26]. Elle représente l'affection ayant le plus fort taux de mortalité (33 %) chez les nouveau-nés, et son incidence oscille entre 3,5 et 30 % selon la prématurité des enfants hospitalisés [38]. Elle se caractérise par des atteintes multifocales et extensives de l'intestin grêle et / ou du colon, et se manifeste par des plages de nécroses ischémiques et hémorragiques. De plus, elle majore le risque de translocation digestive et de bactériémie secondaire, survenant dans 35 % des cas [12]. Même si la physiopathologie de cette affection est complexe et mal connue, l'entérocolite ulcéro-nécrosante est liée à une réaction inflammatoire excessive et incontrôlée au niveau des muqueuses entériques qui va se compliquer. De nombreux facteurs de risques sont associés à cette affection telles que la prématurité, l'immaturité digestive, l'immaturité du système immunitaire, l'alimentation par des préparations pour nourrissons et surtout l'importante perturbation de l'implantation du microbiote [26, 48, 38].

Le diagnostic associe des signes systémiques et digestifs avec des manifestations aspécifiques (apnée, bradycardie, léthargie et instabilité thermique), et des signes plus spécifiques tels que la présence de sang dans les selles, une distension abdominale voire un œdème de la paroi abdominale, et des signes radiographiques évocateurs. Les pédiatres craignent cette affection, c'est pourquoi ils surveillent les moindres signes précurseurs et notamment le transit des enfants.

Les traitements souvent infructueux de cette pathologie reposent sur le traitement des instabilités hémodynamique, respiratoire et hydro-électrolytique, la mise au repos du tube digestif, une antibiothérapie adaptée voire un traitement chirurgical.

Les pneumopathies liées à la ventilation assistée

Avec une mortalité de 14 %, les pneumopathies liées à la ventilation assistée sont la deuxième cause d'infections nosocomiales graves en néonatalogie [12, 55]. Chez les patients de réanimation et soins intensifs de néonatalogie, l'incidence de cette infection varie en fonction des études entre 6,8 et 32,3 % et s'avère être supérieure à l'adulte pour des services équivalents [67].

L'infection apparaît à partir de 48 heures après la mise en place du dispositif qui représente une porte d'entrée. Le diagnostic n'est pas toujours aisé car la symptomatologie respiratoire n'est pas toujours très spécifique mais les signes infectieux cliniques et biologiques (hyperthermie, leucopénie ou hyperleucocytose, augmentation de la procalcitonine (PCT)...) et l'imagerie représentent des outils précieux d'aide au diagnostic [67]. La durée de ventilation et d'hospitalisation sont les deux principaux facteurs de risque mais d'autres ne sont pas à négliger tel que le faible poids de naissance, la bactériémie préalable et la mauvaise organisation des locaux source de gestes médicaux et para-médicaux inadaptes [12, 67].

Les bactéries les plus fréquemment retrouvées dans ces infections sont *Pseudomonas ae-*

ruginosa (38,4 %), *Staphylococcus aureus* (23 %), *Klebsiella pneumoniae* (23 %) et *Enterobacter sp* (38,4 %)[67]. Le traitement repose principalement sur une antibiothérapie probabiliste qui sera réévaluée après documentation microbiologique et sur le maintien de la fonction respiratoire [67].

2.2.2 Le risque infectieux associé aux soins

Le risque infectieux associé aux soins est un problème de tous les instants en néonatalogie pour de nombreuses raisons.

La première est que les nouveau-nés prématurés sont plus sensibles aux infections que ceux nés à terme par leur fragilité physiologique (notamment l'immaturité du système immunitaire) et microbiotique comme évoqué précédemment (Chapitre 2).

L'hospitalisation en service de néonatalogie a aussi une part de responsabilité concernant ce phénomène car elle affecte l'implantation du microbiote des nouveau-nés [9] par un processus multifactoriel.

Tout d'abord, l'environnement hospitalier a un rôle significatif dans l'implantation du microbiote. En effet, même si l'environnement des services de néonatalogie est très aseptisé par les bionettoyages quotidiens, il n'est pas stérile. Des microorganismes de l'écologie du service hospitalier persistent, en particulier sur les surfaces, et correspondent généralement à des bactéries pathogènes opportunistes parfois multirésistantes. Des études montrent qu'à la phase I de l'implantation du microbiote intestinal, les bactéries retrouvées dans les selles des enfants sont semblables à celles retrouvées dans leur environnement proche. Même si le mécanisme est mal connu, il existe un cycle entre l'environnement proche des enfants et leur colonisation car les bactéries des incubateurs, des surfaces des chambres, des tubulures et des mains des soignants se retrouvent majoritaires dans le microbiote des nouveau-nés [84, 17, 48].

Ensuite, la néonatalogie est une spécialité très pourvoyeuse de prescriptions d'antibiotiques en lien avec la fréquence des infections rencontrées chez leurs patients [74]. Ces médicaments étant souvent excrétés au niveau digestif sous forme inchangée, ils vont perturber l'implantation du microbiote en altérant sa diversité et en retardant l'apparition d'un microbiote performant [30]. Ils risquent aussi de faciliter l'implantation de bactéries exogènes (principalement celles de l'environnement hospitalier) et de sélectionner des bactéries endogènes résistantes et des levures [12]. De plus, cette grande consommation d'antibiotiques va engendrer (au sein des écosystèmes des services de néonatalogie) une pression de sélection rapidement génératrice de bactéries multi-résistantes (BMR) susceptibles de coloniser ou infecter les patients [74].

Enfin, le contact rapproché de l'enfant avec sa mère principalement lors de l'allaitement et du contact peau à peau représente une excellente source de bactéries colonisatrices. Cependant, l'hospitalisation en soins intensifs et réanimation néonatale réduit considérablement ce contact et va inéluctablement altérer l'implantation du microbiote de l'enfant [64].

Cette perturbation de l'implantation du microbiote intestinal entraîne une réduction de l'effet barrière de ce dernier et rend ainsi les enfants hospitalisés en néonatalogie plus

sensibles aux infections et à la colonisation par des bactéries exogènes.

La seconde raison est que les patients de néonatalogie sont généralement des patients lourds, nécessitant l'utilisation quasi systématique de dispositifs médicaux invasifs représentant autant de portes d'entrée aux infections.

Tout d'abord les cathéters, qu'ils soient centraux ou périphériques, constituent un risque infectieux considérable [85]. En effet, ils sont fréquemment la cause de sepsis, infections qui représentent la plus importante cause de morbidité et mortalité chez les nouveau-nés [27] et la première cause d'infections nosocomiales [24].

De plus, l'assistance respiratoire par ventilation mécanique est très fréquente en néonatalogie principalement à cause de l'immaturité de l'arbre respiratoire des nouveau-nés prématurés. Mais ce dispositif, bien qu'indispensable est responsable de pneumopathies liées à la ventilation mécanique et de conjonctivites.

La troisième raison est liée à la complexité des soins. En effet les soins chez ces enfants sont minutieux et exigent des enchaînements complexes. De ce fait, ils sont longs et nécessitent des gestes en couveuse (soins directs de l'enfant) et hors couveuse (préparation et gestion du matériel médical, des médicaments...) incluant de nombreuses étapes intermédiaires de frictions hydroalcooliques. Il faut aussi remarquer que chez les nouveau-nés, il est difficile de séparer distinctement les zones de soins dites "propres" des autres zones dites "sales". À noter aussi que les interruptions dans l'activité de soin, la surcharge de travail des équipes soignantes et les situations d'urgences sont assez fréquentes et causent des manquements aux pratiques de soins [95]. Tous ces éléments rendent les soins très complexes et l'hygiène des mains parfois difficile à réaliser dans certaines situations. Cette complexité représente donc un risque infectieux et épidémique par transmission croisée de microorganismes de patients à patients.

Enfin, la durée d'hospitalisation (généralement longue pour ces patients fragiles) est à prendre en compte car plus l'hospitalisation est longue, plus le risque infectieux est élevé.

2.2.3 Le risque épidémique en néonatalogie

Définition

Une épidémie se définit par une augmentation de l'incidence d'une infection et / ou d'une colonisation par un microorganisme en un lieu donné et à une période donnée. Le terme de "cas groupé" peut aussi être utilisé pour désigner une épidémie de taille limitée et circonscrite.

Facteurs de risques

La néonatalogie est un service où les épidémies sont particulièrement fréquentes par rapport à d'autres services de réanimation ou de soins intensifs [42]. En effet, l'activité

liée aux nouveau-nés génère de nombreux facteurs de risques de survenue et de propagation d'épidémies. Tout d'abord, la fragilité des nouveau-nés face au risque infectieux peut favoriser les épidémies. De plus, l'activité de soins liée à leur prise en charge impose beaucoup de contacts directs soignant / enfant (changement des couches, alimentation, soins longs et minutieux...) qui sont autant de risques de transmission croisée ou de contamination de l'environnement en cas de manquement à l'hygiène des mains. Ce phénomène peut être potentialisé par l'interruption de soin liée ou non à une situation d'urgence et à une surcharge de travail des équipes soignantes [95] et / ou une architecture et un agencement des locaux non adaptés à l'activité de soins. D'autres éléments sont considérés comme des facteurs de risques tels que la nutrition parentérale, l'utilisation excessive d'antibiotiques à large spectre pourvoyeuse de résistances bactériennes, un nettoyage inadapté des surfaces et des objets relais...

Les épidémies et leurs conséquences

D'un point de vue étiologique, les épidémies peuvent être d'origine virale avec comme principaux agents responsables le rotavirus et le VRS, suivis de l'adénovirus et de l'entérovirus. Pour les épidémies d'origine bactérienne, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus spp* (principalement *S. aureus*) sont respectivement responsables de 20% et 16% des cas. S'en suivent les épidémies à d'autres entérobactéries (*Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Escherichia spp*, *Salmonella spp* et *Citrobacter spp*) et à BGN non fermentants (*Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp*) [42].

Concernant les principales infections rencontrées au cours d'épidémies, les bactériémies sont en tête de liste, suivies des infections gastro-intestinales, des infections du système nerveux central et des pneumonies. Les conjonctivites, les infections de la peau et des tissus mous et les infections urinaires sont significativement moins fréquentes. [42]

En termes de sources et de réservoir environnemental, on retrouve les patients (24,6%), l'environnement (11,7%), le personnel (10%), le matériel médical (9,2%), les médicaments (5%), l'alimentation (3,3%), l'équipement de soins (1,6%) [33]. Mais il faut souligner que dans de nombreux cas (39%) le réservoir reste inconnu [33]. La transmission manuportée par les soignants et les parents est la plus fréquente mais il existe d'autres modes de transmission comme la transmission par des objets relais contaminés (stéthoscope, tire-lait, échographe...). [33]

Tout comme les infections nosocomiales, les épidémies sont très lourdes de conséquences. Elles sont responsables d'une augmentation de la morbidité (notamment de séquelles neurologiques) et de la mortalité, d'une augmentation de la durée d'hospitalisation et donc d'un surcoût financier. [33]

À première vue, les conséquences d'une colonisation digestive par une BMR paraissent, à juste titre, moindres que celles d'une infection. Mais il ne faut pas pour autant les sous-estimer. En effet, les infections retrouvées chez les enfants hospitalisés en néonatalogie sont principalement causées par des microorganismes endogènes. Ainsi, un enfant

colonisé par une BMR présente un risque potentialisé de développer une infection à cette BMR [34]. Si celle-ci n'a jamais été dépistée, le risque pour le clinicien est de choisir une antibiothérapie inefficace générant un retard dans l'instauration d'un traitement adapté et un risque de mise en jeu du pronostic vital de l'enfant.

2.3 La prévention des infections et des épidémies bactériennes en néonatalogie

Même si certaines zones d'ombres persistent, l'étiologie du risque infectieux en néonatalogie est bien connue (fragilité des patients, défaut de l'effet barrière par les difficultés d'implantation du microbiote intestinal, sensibilité accrue aux infections, iatrogénie...). C'est pourquoi de nombreuses mesures de prévention sont mises en place dans ces services afin de réduire ce risque. Malheureusement, la prévention n'est pas forcément possible pour faire face à certains facteurs de risques tels que ceux liés à la prématurité.

2.3.1 Les précautions standard en hygiène

Comme dans tous les services cliniques, les précautions standard d'hygiène sont primordiales pour réduire la transmission croisée de microorganismes entre patients. Ces précautions rassemblent cinq mesures qui doivent être respectées par tous les personnels soignants et pour l'ensemble des patients hospitalisés dans une structure de soins : l'hygiène des mains, l'absence de bijoux, le port de gants, le port d'une tenue appropriée et l'entretien de l'environnement.

L'hygiène des mains doit être un réflexe et se faire au moment opportun. L'absence de bijoux doit être une évidence pour tous les soignants. Le port de gants doit être respecté lors de tout risque de contact avec un fluide biologique ou lors de la manipulation de matériel souillé, de linge sale ou de déchets d'activité de soins à risque infectieux. Le personnel doit penser à se vêtir d'une tenue de protection dans certains cas : lunettes, masque et surblouse lors d'un risque de projection de fluide biologique ; surblouse ou tablier lors d'un soin contaminant ou lors d'un soin exposant à un contact large avec le patient. Enfin, l'entretien minutieux et régulier de l'environnement doit être réalisé selon le protocole défini par l'établissement. L'entretien des incubateurs doit aussi être apporté avec soin car il s'agit de l'enceinte environnementale la plus proche de l'enfant. Il est d'usage de réaliser un entretien quotidien des surfaces en présence de l'enfant et un nettoyage et une désinfection hebdomadaire ou à chaque changement de patient en l'absence de l'enfant. Il faut savoir que le respect des précautions standard représente la mesure phare de la prévention du risque infectieux en néonatalogie !

2.3.2 Les précautions complémentaires

Les précautions complémentaires viennent s'appliquer en plus des précautions standard afin de renforcer la prévention de transmissions de certains microorganismes dans certaines situations particulières. Ces précautions sont mises en place sur prescription

médicale. Il en existe trois : les précautions complémentaires "contact", "air" et "gouttelettes". Les précautions "air" et "gouttelettes" sont mises en place pour prévenir la transmission de bactéries ou virus respectivement par voie aéroportée et par des gouttelettes respiratoires. Seules les précautions complémentaires "contact" préviennent la transmission des BMR.

Les précautions complémentaires "contact" sont fréquentes en néonatalogie et mises en place lorsqu'un patient est infecté ou colonisé par une BMR. Elles représentent une barrière supplémentaire contre la transmission croisée de ces BMR qui posent beaucoup de problèmes thérapeutiques et écologiques en néonatalogie. Afin de mettre en évidence les patients colonisés par ces microorganismes, des dépistages de BMR sont organisés régulièrement et définis selon les besoins et l'organisation du service [12].

Ces précautions combinent plusieurs types de mesures. D'abord des mesures géographiques consistant à séparer géographiquement les patients colonisés ou infectés (chambre seule ou regroupement de ces patients dans une même chambre ou secteur), limiter les déplacements dans ces chambres et installer un signallement visible de ces chambres (logo BMR, chariot de matériel...). Et des mesures techniques telles que le port de tablier ou d'une surblouse à usage unique pour les visiteurs et les soignants, le port de gants en cas de contact direct, favoriser le matériel à usage unique ou à défaut avoir du matériel dédié à chaque patient.

2.3.3 La prévention du risque infectieux associé aux soins

Afin de réduire le risque infectieux lié aux portes d'entrée, une antisepsie rigoureuse doit être réalisée avec soin avant la réalisation de tout geste invasif (pose de cathéter ou ponction veineuse au talon par exemple).

Malgré les risques qu'ils constituent, les abords vasculaires sont indispensables aux soins. C'est pour cela qu'une attention particulière doit être apportée à la gestion de ces dispositifs (réduction de la durée de pose et de la manipulation, antisepsie rigoureuse, site d'implantation adapté, changement régulier des lignes...) [25]. De plus, leur pertinence doit régulièrement être réévaluée afin de réduire au maximum leur durée de maintien et donc réduire le risque infectieux. [55]

Il existe différentes mesures permettant de prévenir les pneumopathies sur ventilation mécanique. Il s'agit de mesures simples consistant à surveiller l'écologie microbienne des voies respiratoires de l'enfant, de l'extuber dès que possible en remplaçant l'intubation par des supports non invasifs si besoin [55].

Les soins en néonatalogie étant souvent complexes, le risque d'erreurs humaines lors de la prise en charge est constant. Afin de sécuriser les soins, des protocoles de soins doivent être établis avec pertinence et portés à la connaissance de tous les soignants par des formations adaptées. Pour une observance maximale et la possibilité d'une analyse des causes en cas de problème, le respect des protocoles de soins doit être tracé dans le dossier du patient [55].

Afin de réduire l'impact sur le microbiote endogène des enfants et de limiter l'émergence de BMR, l'utilisation des antibiotiques doit être raisonnée et les prescriptions régulièrement réévaluées. [55]

Enfin, l'alimentation des nouveau-nés prématurés par du lait maternel de leur mère ou issu de dons au lactarium diminue le risque d'infection et réduit le risque d'entérocolite ulcéro-nécrosante [96]. Ce mode d'alimentation est donc à privilégier.

2.3.4 La prévention organisationnelle

Dans tous les services de néonatalogie où l'on retrouve des patients fragiles nécessitant des soins lourds, complexes et souvent urgents, il existe des points communs au risque infectieux associé aux soins, à la iatrogénie et au risque épidémique. Il s'agit entre autres de facteurs liés à l'organisation humaine et architecturale du service.

Afin de limiter ces risques, il existe des mesures simples et efficaces telles que l'hygiène des mains et le respect des précautions standard et complémentaires, le respect des protocoles de soins...

Mais ces mesures ont l'inconvénient d'être chronophages. C'est pourquoi il est primordial que les soignants soient parfaitement qualifiés et en nombre suffisant afin d'éviter toutes surcharges de travail et donc limiter les risques de manquement à ces mesures. Pour une observance optimale de ces pratiques, la formation régulière des soignants aux gestes adéquats et la révision régulière des protocoles de soins sont la clé d'une bonne prévention [12].

De plus, l'architecture et l'agencement des locaux jouent un rôle important car un service bien agencé et adapté à l'activité de soins favorise le respect de ces mesures simples [12].

La néonatalogie est souvent considérée comme un service "à part" dans le sens où les patients sont très différents de ceux des autres services et parce que les parents sont de véritables acteurs de santé des enfants (visites autorisées 24h sur 24 et 7 jours sur 7, implication des parents dans les soins simples : alimentation, changement des couches...). Cette implication étroite de personnes non averties aux gestes d'hygiène couramment réalisés dans un hôpital nécessite une éducation systématique des parents aux précautions standard qui les concernent (hygiène des mains, protocole à suivre lors du changement des couches, entretien systématique des tire-laits après utilisation, respect de la propreté du matériel de soins présent dans la chambre...).

2.3.5 Surveillance, gestion et prévention des épidémies en néonatalogie

En néonatalogie, les épidémies sont très nombreuses et représentent toutes un risque majeur pour les patients. Ce risque est encore plus grand quand le microorganisme en cause est une BMR. C'est pourquoi, l'incidence des colonisations et / ou infections par

ces BMR doit être étroitement surveillée par les services, les hygiénistes et les microbiologistes afin d'émettre l'alerte en cas d'augmentation de l'incidence ou d'apparition de cas groupés. Cette surveillance se fait via des dépistages systématiques de colonisation digestive à BMR et par la surveillance des résultats des prélèvements cliniques.

Une fois l'épidémie détectée, une équipe multidisciplinaire doit se constituer afin de définir et rechercher les cas, de mener l'investigation, de mettre en place des mesures permettant de limiter la propagation de l'épidémie à d'autres patients, de fermer le service aux admissions si nécessaire et de trouver les mesures barrières adaptées permettant de stopper l'épidémie. Lors de l'épidémie, le service clinique a un rôle très important et l'équipe soignante doit être parfaitement informée des mesures qui devront être appliquées. Dans un premier temps, il faut réduire autant que possible les procédures invasives, réévaluer les prescriptions antibiotiques en fonction de la clinique des patients et du contexte épidémique pour réduire l'émergence de résistances. L'hygiène des mains est une mesure phare qui doit être renforcée autant pour les soignants que pour les parents qui seront informés de l'enjeu de cette mesure. Les patients victimes de l'épidémie seront mis en précautions complémentaires adaptées. Parfois une sectorisation peut être organisée dans le service. Cela consiste à séparer géographiquement les patients victimes de l'épidémie des autres afin qu'ils soient pris en charge par une équipe soignante dédiée. Cette mesure est très contraignante et coûteuse car elle nécessite un espace suffisant et du personnel supplémentaire. Un audit est généralement organisé par les hygiénistes. C'est alors l'occasion de rappeler les mesures d'hygiène (précautions standard et complémentaires) et d'entretien de l'environnement en fonction des observations. Une campagne de prélèvements des patients (pour le dépistage) et environnementaux (pour la recherche d'un réservoir) peut être organisée. Le typage moléculaire des souches peut être réalisé afin de mettre en évidence un lien épidémiologique entre les différentes souches recueillies et d'apporter une preuve de la diffusion épidémique. Si le réservoir est mis en évidence, le respect des mesures d'hygiène et l'élimination de celui-ci permettent généralement de mettre fin à l'épidémie. Une fois la fin de l'épidémie confirmée, toutes les données sont collectées par un hygiéniste afin de faire le point et de mettre en évidence de nouvelles mesures préventives à adopter.

Les mesures de prévention sont globalement très nombreuses, certaines doivent être appliquées en permanence dans tous les services et d'autres peuvent l'être en fonction d'un contexte particulier. D'un point de vue global, il faut une architecture et un agencement des locaux adaptés, un entretien de l'environnement régulier et bien conduit, une surveillance des points d'eau, un personnel qualifié en nombre suffisant, et du matériel dédié à chaque enfant. L'utilisation des antibiotiques doit être raisonnée et la pose des cathéters justifiée et régulièrement réévaluée. Les protocoles de soins doivent être pensés pour réduire tout risque de transmission. Un soin particulier doit être apporté à tout ce qui touche l'allaitement, du tire-lait à la désinfection des biberons en passant par les différentes étapes sous la responsabilité du lactarium [33].

3 Bilan des épidémies en néonatalogie

3.1 Revue bibliographique des épidémies à bacilles à coloration de Gram négative de 2006 à 2016

3.1.1 Introduction

Bien que les épidémies à *Staphylococcus aureus* et SCN soient un réel problème en néonatalogie, celles causées par des bacilles à coloration de Gram négative (BGN), et notamment les entérobactéries, n'en demeurent pas moins problématiques et dangereuses. La suite de ce travail porte sur l'investigation d'une épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrices de Béta-Lactamase à Spectre Étendu (BLSE) rencontrée dans le service de néonatalogie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Montpellier. Avant de présenter l'investigation complète de cette épidémie, une revue bibliographique permet de se faire une idée globale sur les épidémies en néonatalogie.

3.1.2 Matériels et Méthodes

Cette revue bibliographique a été réalisée à partir des données publiées et extraites de la base de données PubMed par les mots clés : "outbreak neonatal intensive care unit" des années 2006 à 2016.

Afin de se rapprocher au mieux de la problématique, cette revue est ciblée sur l'investigation d'épidémies à BGN. Pour chaque article, onze critères ont été relevés : le titre et l'année, le pays, la durée de l'épidémie, le nombre de cas, les manifestations cliniques, l'agent pathogène, son mécanisme de résistance, la méthode et le résultat du typage moléculaire des souches, la mise en évidence ou non de l'agent pathogène dans l'environnement, le réservoir et les mesures adoptées pour stopper l'épidémie.

3.1.3 Résultats

Cette recherche sur PubMed proposait (fin juin 2016) 331 articles dont 54 décrivent l'investigation d'une épidémie à BGN. Les principales données recueillies sont résumées dans le Tableau I.

Description générale des épidémies

Ces épidémies ont été rencontrées dans 21 pays différents dont les principaux sont la Turquie (7/54), les USA (6/54), l'Espagne (5/54), l'Italie (5/54), l'Inde (4/54), la Grèce (4/54) et la Chine (4/54) (Figure 2). Pour ce qui est du nombre de cas, la médiane est de 13 cas pour un minimum à 4 et un maximum de 159 cas. La durée médiane des épidémies est de 3 mois avec un minimum de 3 jours et un maximum de 10 ans.

Tableau I – Principales données recueillies pour cette revue bibliographique
 CHP : Céphalosporinase hyperproduite; CP : Carbapénémase; Toto-R :
 Toto-résistant ; ATB \neq : Antibiotypes différents ; NR : Non renseigné

Référence	Pays	Durée (j)	Nombre de cas	Espèce bactérienne	Mécanisme de résistance	Clonalité	Bactérie retrouvée dans l'environnement ?	Réservoir	Catégorie de source
[31]	Angleterre	90	31	<i>S. marcescens</i>	Sauvage	Oligoclonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[23]	Taiwan	60	9	<i>A. baumannii</i>	Toto-R	Clonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[29]	Brésil	30	6	<i>Enterobacter spp</i>	Sauvage	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[63]	USA	120	15	<i>S. marcescens</i>	BMR	Clonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[51]	Palestine	365	159	<i>S. marcescens</i>	ATB \neq	NR	Oui	Inconnu	Inconnu
[32]	Brésil	30	9	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Polyclonal	Oui	Lait	Alimentation
[5]	Tunisie	660	12	<i>S. maltophilia</i>	ATB \neq	Oligoclonal	Oui	Lavabo	Environnement proche
[93]	Tunisie	300	41	<i>A. baumannii</i>	BMR	Clonal	Oui	Incubateurs	Environnement proche
[18]	France	90	5	<i>S. marcescens</i>	Sauvage	Clonal	Oui	Distributeur de savon	Produits d'hygiène
[15]	USA	7	13	<i>Salmonella spp</i>	NR	Clonal	Oui	Soignants	Soignants
[71]	Fiji	NR	10	<i>Enterobacter spp</i>	BLSE	Clonal	Oui	Flacon de solution saline multi usage	Médicaments
[8]	Turquie	15	22	<i>Salmonella spp</i>	BMR	NR	NR	Inconnu	Inconnu
[89]	USA	NR	7	<i>A. baumannii</i>	BMR	Clonal	NR	Inconnu	Inconnu
[83]	Espagne	120	30	<i>P. aeruginosa</i>	NR	Clonal	Oui	Biberonnerie	Alimentation
[79]	Inde	10	14	<i>K. pneumoniae</i>	ATB \neq	NR	Oui	Désinfectant	Produits d'hygiène
[11]	Turquie	3	7	<i>S. marcescens</i>	NR	Clonal	Non	Solution de nutrition parentérale	Médicaments
[76]	France	35	27	<i>E. coli</i>	BLSE	Clonal	Oui	Lait	Alimentation
[82]	Espagne	90	10	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Clonal	NR	Inconnu	Inconnu
[81]	Inde	NR	18	<i>E. coli</i>	CP	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[99]	Inde	15	7	<i>K. pneumoniae</i>	NR	Clonal	NR	Inconnu	Inconnu
[72]	Espagne	630	30	<i>E. coli</i>	BLSE	Oligoclonal	Non	Inconnu	Inconnu
[50]	Turquie	720	64	<i>A. baumannii</i>	NR	Clonal	Oui	matériel médical et environnement	Matériel médical
[13]	Turquie	60	10	<i>S. marcescens</i>	NR	Oligoclonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[60]	Arabie saoudite	60	14	<i>S. marcescens</i>	NR	NR	Oui	Shampooing	Produits d'hygiène
[57]	Brésil	150	30	<i>S. marcescens</i>	ATB \neq	Oligoclonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[59]	Canada	121	7	<i>S. marcescens</i>	NR	Polyclonal	Oui	Eau de l'oscillateur respiratoire	Matériel médical
[66]	USA	90	6	<i>A. baumannii</i>	BMR	NR	Non	Inconnu	Inconnu
[58]	Chine	120	103	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Oligoclonal	Oui	Surfaces et mains des patients	Environnement proche et matériel médical et patients
[80]	Norvège	120	58	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Clonal	Oui	Siphon et tire-lait	Alimentation et Environnement proche
[62]	Grèce	1050	57	<i>S. marcescens</i>	NR	Polyclonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[91]	USA	150	41	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	NR	NR	Inconnu	Inconnu
[104]	Chine	NR	4	<i>K. pneumoniae</i>	BMR	Clonal	Oui	Inconnu	Inconnu
[102]	Turquie	450	12	<i>P. aeruginosa</i>	BMR	Oligoclonal	Oui	Robinet à cellule	Environnement proche
[22]	Italie	3650	127	<i>S. marcescens</i>	BLSE	Polyclonal	Oui	Environnement	Environnement proche
[10]	Italie	730	127	<i>K. pneumoniae</i>	CHP	Oligoclonal	Non	Inconnu	Inconnu
[43]	Italie	60	10	<i>K. pneumoniae</i>	CP	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[6]	Israël	330	49	<i>K. pneumoniae</i>	CP	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[20]	USA	21	11	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[44]	Italie	150	15	<i>E. coli</i>	BLSE	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[40]	Italie	60	6	<i>K. pneumoniae</i>	Sauvage	Clonal	Oui	Solution de saccharose	Médicaments
[21]	Mexique	30	12	<i>E. coli</i>	NR	Oligoclonal	Non	Inconnu	Inconnu
[61]	Grèce	4	7	<i>K. pneumoniae</i>	Sauvage	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[73]	Espagne	210	14	<i>E. cloacae</i>	BLSE	Oligoclonal	Non	Inconnu	Inconnu
[39]	Turquie	NR	NR	<i>A. baumannii</i>	NR	NR	Oui	Tire-lait	Alimentation
[65]	Grèce	270	16	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[52]	Inde	60	6	<i>K. pneumoniae</i>	CP	Clonal	Oui	Balance	Matériel médical
[90]	Turquie	210	16	<i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Polyclonal	Non	Inconnu	Inconnu
[75]	France	21	4	<i>E. cloacae</i>	CHP	Clonal	Oui	Thermomètre rectal	Matériel médical
[106]	Chine	60	8	<i>K. pneumoniae</i>	CP	Oligoclonal	Non	Patient	Patient
[94]	Grèce	140	8	<i>A. baumannii</i>	CP	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu
[105]	Chine	NR	17	<i>K. pneumoniae</i>	CP	Clonal	Oui	Eau de l'incubateur	Environnement proche
[70]	Japon	30	6	<i>E. coli</i>	BLSE	CP	Oui	Lot de lait	Alimentation
[69]	Espagne	180	18	<i>S. marcescens</i>	NR	Clonal	Oui	Environnement	Environnement proche
[88]	Allemagne	35	13	<i>E. coli</i>	BLSE	Clonal	Non	Inconnu	Inconnu

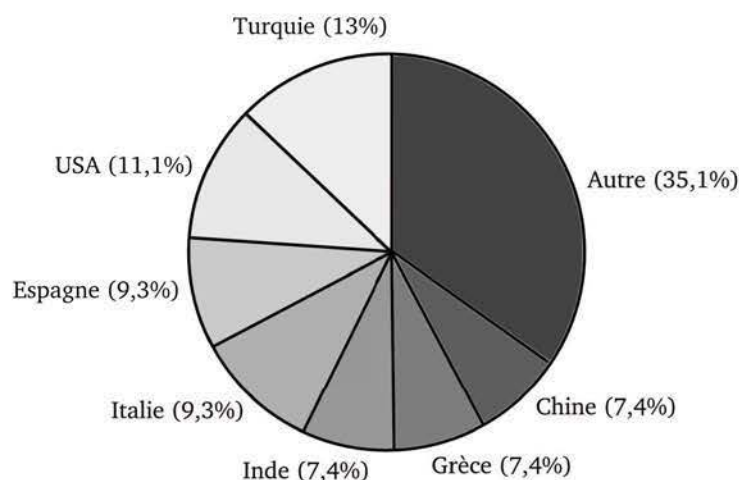


FIGURE 2 – Répartition géographique des épidémies

Les agents pathogènes responsables d'épidémies et leurs mécanismes de résistance

Concernant les agents pathogènes responsables, les entérobactéries sont largement en tête (*Klebsiella pneumoniae* (19/54), *Serratia marcescens* (12/54), *Escherichia coli* (7/54), *Enterobacter spp* (4/54), *Salmonella spp* (2/54)) devant les BGN non fermentants (*Acinetobacter baumannii* (7/54), *Pseudomonas aeruginosa* (2/54) et *Stenotrophomonas maltophilia* (1/54)) (Figure 3).

En termes de mécanisme de résistance, la résistance par production d'une BLSE est la plus fréquente (16/54) devant celle par production d'une carbapénémase (7/54) ; la sur-expression de la céphalosporinase naturelle est plus rarement rencontrée (2/54). Toutefois, le profil de résistance n'était souvent pas renseigné (12/54) et l'agent responsable était parfois sauvage (5/54). Le mécanisme n'était parfois pas mentionné, seul la mention BMR était indiquée (7/54). Une épidémie a été retrouvée à *Acinetobacter baumannii* toto-résistant. Enfin l'antibiotype était parfois différent d'une souche à l'autre (4/54). Tableau II

L'étude moléculaire des agents pathogènes

Le typage moléculaire des souches n'a pas été réalisé dans 7 des 54 épidémies publiées. Pour les autres épidémies, la méthode la plus largement utilisée est l'électrophorèse en champs pulsée (ECP) (36/47). La majeure partie des épidémies était clonale (31/47), 11 étaient oligoclonales et 5 polyclonales. Tableau III.

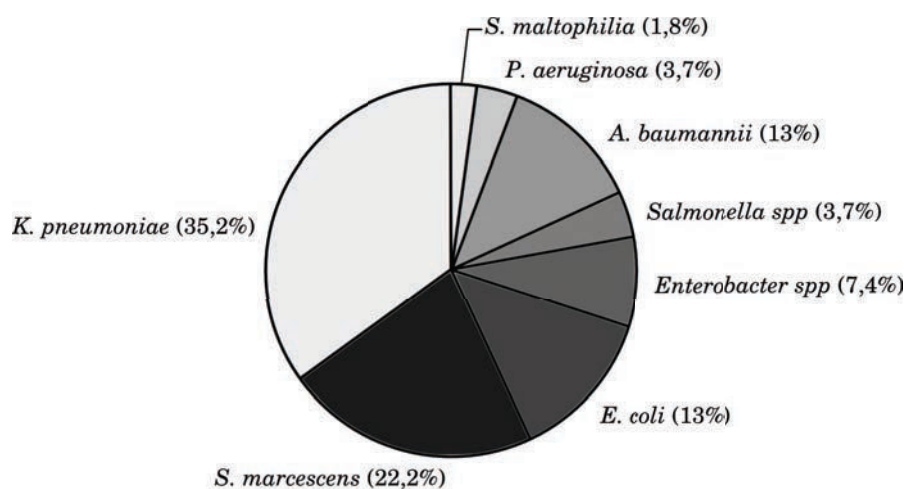


FIGURE 3 – Bacilles à coloration de Gram négative responsables d'épidémies

Tableau II – Mécanismes de résistance des pathogènes responsables d'épidémies
 CHP : Céphalosporinase hyperproduite ; ATB \neq : Antibiotypes différents ; NR : Non renseigné

Espèce	BLSE	Carba-pénémase	CHP	BMR	Toto-résistant	Sauvage	ATB \neq	NR	Total
<i>K. pneumoniae</i>	8	5	1	1	0	2	1	1	19
<i>S. marcescens</i>	1	0	0	1	0	2	2	6	12
<i>E. coli</i>	5	1	0	0	0	0	0	1	7
<i>Enterobacter spp</i>	2	0	1	0	0	1	0	0	4
<i>Salmonella spp</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	2
<i>A. baumannii</i>	0	1	0	3	1	0	0	2	7
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	1	0	0	0	1	2
<i>S. maltophilia</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Total	16	7	2	7	1	5	4	12	54

Tableau III – Typage moléculaire des pathogènes responsables d'épidémies

Espèce	Clonal	Oligoclonal	Polyclonal	Non renseigné	Total
<i>K. pneumoniae</i>	12	3	2	2	19
<i>S. marcescens</i>	4	3	3	2	12
<i>E. coli</i>	5	2	0	0	7
<i>Enterobacter spp</i>	3	1	0	0	4
<i>Salmonella spp</i>	1	0	0	1	2
<i>A. baumannii</i>	5	0	0	2	7
<i>P. aeruginosa</i>	1	1	0	0	2
<i>S. maltophilia</i>	0	1	0	0	1
Total	31	11	5	7	54

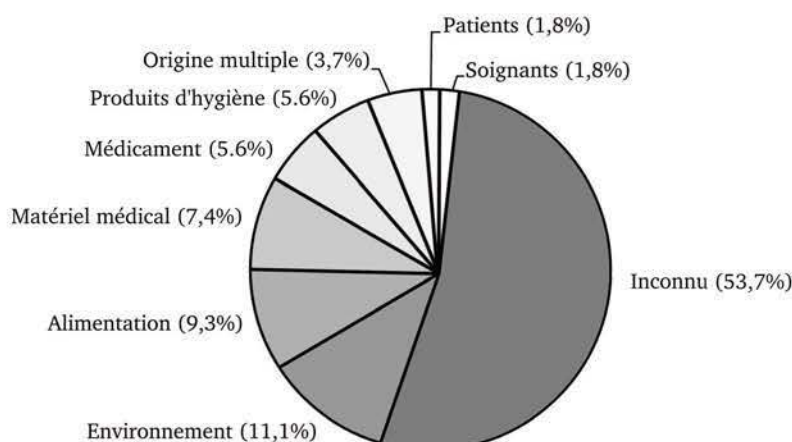


FIGURE 4 – Réervoirs épidémiques

L'étude du réservoir épidémique

Le fait de voir que la plupart des épidémies décrites sont clonales nous amène à penser que leur diffusion vient d'un réservoir commun.

Celui-ci a été recherché par des prélèvements environnementaux pour 49 des 54 épidémies et l'agent responsable a été retrouvé pour 31 d'entre elles. Mais le fait de retrouver la bactérie dans l'environnement ne signifie pas avoir trouvé le réservoir de l'épidémie. En effet, dans 8 épidémies, la bactérie a été retrouvée dans l'environnement mais le nettoyage des zones prélevées n'a pas été suffisant pour stopper l'épidémie et mettre en évidence le réservoir.

Dans la plupart des cas, le réservoir n'a pas été mis en évidence (29/54). Lorsqu'il est retrouvé, c'est le plus souvent l'environnement (6/25) qui est incriminé (les surfaces, les points d'eau, les incubateurs...) ou encore le lait et tout le matériel nécessaire à l'allaitement (5/25 ; tire lait, biberonnerie...). Le matériel médical a été incriminé dans 4 épidémies, les médicaments (solutions à perfuser) et les produits d'hygiène (savon, shampooing, désinfectant) respectivement dans 3 cas. Seule une épidémie était relayée par un soignant. Concernant le rôle des patients, il représente quasi systématiquement une source potentielle de transmission et le patient index était identifié comme réservoir dans une seule étude (Figure 4).

Il faut donc avoir à l'esprit que la transmission est un mécanisme multifactoriel. Dans ce recueil de données, seule deux publications montraient plusieurs réservoirs / sources [80, 58] (Figure 4). Le pathogène responsable de l'épidémie est amené par un réservoir et peut être transmis par celui-ci, mais il peut aussi contaminer différentes sources qui pourront à leur tour être responsables d'une transmission. C'est certainement une des raisons qui explique que le réservoir est souvent difficile à identifier.

Les mesures permettant de stopper l'épidémie

Concernant les mesures ayant permis de stopper l'épidémie, elles n'ont pas été décrites pour 4 des 54 épidémies [99, 21, 91, 32].

Le renforcement des mesures d'hygiène est le moyen commun utilisé contre toutes les autres épidémies. C'est même parfois la seule mesure appliquée et efficace (10/50).

La sectorisation est une mesure très appliquée malgré son coût et sa complexité de mise en œuvre (20/50).

La fermeture du service aux admissions est un moyen efficace mais rarement rencontré car délétère pour le bon fonctionnement de l'hôpital (3/50).

Évidemment, lorsque le réservoir est mis en évidence, il est systématiquement éliminé sauf dans le cas où un patient correspond au réservoir (22/50). Lorsque le réservoir est un soignant, il est très difficile de définir une conduite à tenir universelle car ce cas présente de nombreux problèmes d'éthique et la conduite à tenir doit donc être évaluée au cas par cas.

Dans la majorité des cas, c'est un cumul de différentes mesures qui permet de stopper l'épidémie (40/50).

Les manifestations cliniques

Concernant les manifestations cliniques, 11 épidémies ont été responsables de décès de patients, et 30 décrivaient au moins une bactériémie au microorganisme incriminé dans l'épidémie. Enfin, il faut remarquer que pour 25 épidémies, aucune colonisation digestive n'a été relevée. Ceci est certainement lié au fait que tous les services ne surveillent pas la colonisation de leurs patients par des dépistages systématiques. En France, les dépistages sont monnaie courante mais cette mesure n'est pas aussi largement adoptée dans tous les pays.

3.1.4 Discussion

Tous les services de néonatalogie du monde sont concernés par la survenue d'épidémies. Bien entendu, une faible part d'entre elles sont publiées dans des revues internationales. Ces 54 articles représentent donc seulement la partie émergée de l'iceberg à ce sujet. Mais le fait de retrouver des caractères communs à ces épidémies décrites nous permet quand même de nous éclairer sur l'ampleur de cette problématique.

À la différence des autres unités de soins intensifs (pédiatriques et adultes), ce sont les Enterobactéries du microbiote digestif qui prédominent dans les épidémies de néonatalogie. Celles ci sont souvent des BMR à cause de la pression de sélection des antibiotiques et de leur grande capacité à se transmettre leurs gènes de résistance [7]. De plus, la fréquence des bactériémies et la mortalité souvent décrites dans ces publications soulignent l'importance des conséquences délétères des épidémies dans les services de néonatalogie. Sachant que la colonisation digestive précède très souvent l'infection [34] et que ces

infections sont souvent graves. On peut en conclure que l'instauration d'un dépistage hebdomadaire de colonisation digestive par des BMR est un moyen simple pour une meilleure prise en charge du patient [33] et devrait être plus répandue dans de nombreux pays. Et ce d'autant plus que les épidémies en néonatalogie sont différentes de celles des autres services notamment par leurs lourdes conséquences en terme de morbidité et mortalité [42].

Cette revue met aussi en avant l'intérêt de l'étude moléculaire des souches. Lorsqu'une épidémie est clonale, l'hypothèse d'un réservoir commun associée à une transmission croisée prédomine ; ce qui justifie une recherche approfondie de ce réservoir pour l'éliminer plus efficacement.

L'importance du réservoir patient et de la transmission croisée sont bien connues en néonatalogie [49]. Mais la bibliographie actuelle montre bien que l'environnement joue un rôle capital dans la transmission indirecte d'une épidémie. En effet, dans quelques cas il peut héberger le réservoir épidémique [50, 102] ; mais surtout il constitue une source importante par la persistance des microorganismes sur les surfaces inertes [49]. Il est donc important de considérer la propagation d'une épidémie comme un problème multifactoriel au cours duquel de nombreux paramètres entrent en ligne de compte. C'est pour une meilleure efficacité que la gestion d'une épidémie doit se faire sur différents fronts en combinant des moyens de lutte et de prévention synergiques [33, 49].

3.2 État des lieux des épidémies du service de Néonatalogie du CHU de Montpellier

Au CHU de Montpellier, la colonisation ou infection des patients par des BMR est surveillée dans chaque service quotidiennement afin de lancer rapidement l'alerte d'une éventuelle épidémie. Ces alertes sont alors suivies et investiguées par les hygiénistes de l'EOH qui tiennent à jour un compte-rendu d'investigation détaillé.

Afin de réaliser un état des lieux des épidémies du service de Néonatalogie du CHU de Montpellier, chaque bilan d'investigation réalisé entre 2009 et juin 2016 dans ce service a été repris. Comme pour la revue bibliographique, 11 critères ont été relevés pour chaque épidémie : l'année, la durée de l'épidémie, le nombre de cas, la clinique, l'agent pathogène, son mécanisme de résistance, le résultat du typage moléculaire des souches, la mise en évidence ou non de l'agent pathogène dans l'environnement, le réservoir et les mesures adoptées pour stopper l'épidémie.

3.2.1 Les épidémies depuis 2009

Description des épidémies

Depuis 2009, le service de néonatalogie de l'hôpital a rencontré 11 épidémies (Tableau IV).

Il s'agit dans la plupart des cas (7/11) de colonisation mais 2 épidémies présentaient des

Tableau IV – Principales données recueillies concernant les épidémies rencontrées dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier
CHP : Céphalosporinase hyperproduite ; NR : Non renseigné

Date de l'alerte	Durée de l'épidémie	Nombre de cas	Manifestations cliniques	Espèce bactérienne	Clonalité	Bactérie retrouvée dans l'environnement ?	Source
06/08/2009	4 mois	9	Infections	<i>SAMS</i>	Polyclonale	Oui (Objet relais)	Inconnu
20/08/2010	NR	3	Colonisations	<i>E. coli</i> BLSE	NR	Pas de prélèvement	Inconnu
28/08/2018	8 jours	5	Colonisations	<i>E. cloacae</i> BLSE	Olygoclonale	Non	Inconnu
10/11/2010	1 mois	6	Colonisations	<i>K. pneumoniae</i> CHP	NR	Pas de prélèvement	Inconnu
03/06/2011	2 mois	13	Colonisations	<i>K. pneumoniae</i> CHP et BLSE	Polyclonale	Oui	Siphon
20/01/2012	1 mois	4	Colonisations	<i>E. coli</i> BLSE	Olygoclonale	Pas de prélèvement	Mère
06/08/2013	2 mois	13	Colonisations et infections	<i>K. pneumoniae</i> BLSE	Polyclonale	Non	Inconnu
31/01/2015	6 jours	4	Colonisations	<i>E. aerogenes</i> CHP	Clonale	Pas de prélèvement	Inconnu
21/02/2015	4 mois	19	Colonisations et infections	<i>SAMS</i>	Polyclonale	Oui (Objet relais)	Inconnu
30/10/2015	16 jours	3	Infections	<i>S. capitis</i> MétiR	Polyclonale	Pas de prélèvement	Inconnu
04/12/2015	1 mois	6	Colonisations	<i>K. pneumoniae</i> CHP	Clonale	Non	Inconnu

colonisations et infections et 2 autres uniquement des infections.

Le nombre de cas était variable allant d'un minimum de 3 cas à un maximum de 19 cas avec une médiane à 6 cas. La durée des épidémies allait de 6 jours à 4 mois avec une médiane à 40 jours.

En accord avec la littérature [42], la bactérie la plus souvent en cause est *K. pneumoniae* et le résumé des étiologies bactériennes et mécanismes de résistance se trouvent dans le Tableau V

Les souches patients de 9 de ces 11 épidémies ont été typées par PCR multiplex BOX-REP-ERIC [37] et les résultats ont montré que 5 étaient polyclonales, 2 oligoclonales et 2 clonales.

Malgré l'étroite collaboration de l'EOH avec le laboratoire d'hygiène, la présence de la bactérie en cause n'a été recherchée dans l'environnement que dans 6 épidémies et retrouvée à 3 reprises (une fois dans les siphons du service et deux fois sur des objets relais témoignant du rôle d'un environnement contaminé dans la diffusion de l'épidémie [49]). Concernant le réservoir, les siphons du service ont été incriminés dans une épidémie lors de laquelle 13 nouveau-nés ont été colonisés à *K. pneumoniae*. Une seule transmission de la mère à l'enfant a été prouvée alors qu'on sait que les mères sont fréquemment à l'origine de la colonisation de leur enfant par des Entérobactéries BLSE [35]. Parmi les 9 épidémies où le réservoir est resté inconnu, l'hypothèse émise pour expliquer la propagation de l'épidémie était principalement la transmission croisée à partir d'un réservoir patient [49].

Tableau V – Bactéries responsables d'épidémies dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier

MS : Méricillino-Sensible; MR : Méricillino-Résistant; CHP : Céphalosporinase hyperproduite

Espèce / Résistance	MS	MR	CHP	BLSE	Total
<i>S. aureus</i>	2	0	0	0	2
<i>S. capitis</i>	0	1	0	0	1
<i>K. pneumoniae</i>	0	0	3	1	4
<i>E. coli</i>	0	0	0	2	2
<i>E. cloacae</i>	0	0	0	1	1
<i>E. aerogenes</i>	0	0	0	1	1
Total	2	1	3	5	11

L'EOH du CHU de Montpellier est très sensibilisée au risque épidémique du service de néonatalogie. C'est pourquoi elle l'a classé en service à haut risque épidémique afin d'y opérer une surveillance accrue. Ceci n'empêche pas la survenue régulière d'épidémies mais permet une alerte et une mise en place de mesures correctives rapides. Grâce à cette organisation, le service compte peu d'infections en période épidémique et le nombre de cas et la durée de l'épidémie sont moindres par rapport à ceux décrits dans la revue bibliographique (médiane à 6 cas au CHU contre 13 dans la revue et durée médiane à 40 jours contre 3 mois dans la revue).

Mesures préventives instaurées à long terme

Nous l'avons vu, il existe des mesures d'hygiène simples et efficaces permettant de prévenir les transmissions croisées et la diffusion d'épidémies dans les services. Il s'agit des précautions standard et complémentaires et la prévention des risques associés aux soins (Chapitre 2.3).

Au CHU de Montpellier, ces mesures sont régulièrement rappelées par les hygiénistes lors des modules de formation Développement Professionnel Continu (DPC). Ces formations proposées à l'ensemble du personnel de santé sur la base du volontariat, abordent les gestes d'hygiène qui sont rencontrés dans tous les services.

En plus de cette formation initiale, des formations plus spécifiques sont organisées en néonatalogie (et dans d'autres services) sur demande du cadre de santé afin de cibler plus précisément les problématiques de chaque service en terme d'hygiène. Cette formation à la carte se base sur des observations en conditions réelles et sur l'expérience acquise lors des différentes épidémies. Elle permet ainsi de mettre en évidence des pratiques à risque ou des dérives aux bonnes pratiques. Lors de chacune de ces formations spécifiques en néonatalogie, des rappels sont faits sur l'importance des mesures d'hygiène. Dans un premier temps, l'hygiéniste observe les pratiques des soignants et ajuste dès que nécessaire

la conduite à tenir. Ensuite, une synthèse des écarts pratiques est restituée à l'ensemble du service. C'est alors l'occasion de répondre aux différentes questions des soignants et d'entamer une discussion sur certains points délicats. À cette synthèse, s'ajoute des rappels sur les gestes simples d'hygiène qui ont souvent été mis en cause lors des précédentes épidémies rencontrées dans ce service : Précautions standard et complémentaires (surtout pour les intervenants extérieurs), sensibilisation des parents à l'hygiène des mains, entretien de l'environnement, sensibilisation au bon usage des antibiotiques.

Chaque épidémie est l'occasion de faire à nouveau des rappels sur les pratiques d'hygiène via un audit des pratiques et par des interventions lors des staffs médicaux pour décrire et faire le point de l'épidémie en cours. Après chaque épidémie, une analyse approfondie des causes est réalisée pour mettre en évidence les failles du processus et mettre en place des mesures préventives aux défauts de pratiques observées. Pour donner différents exemples, c'est à cette occasion que la gestion des cathéters a été améliorée et qu'une procédure décrit désormais la gestion des cathéters dans le service et la périodicité de changement des lignes tous les 5 jours. Suite à une épidémie où les siphons des points d'eau étaient le réservoir de BMR, une procédure d'entretien régulier de ces siphons à la javel a été mise en place et est toujours en vigueur. Lors des différentes épidémies, il a été constaté que le dépistage systématique des BMR permettait d'agir avant la survenue d'infection. Devant la problématique d'infection fréquente à *Staphylococcus aureus* Méticillino-Sensible (SAMS) en néonatalogie, un accord pluridisciplinaire (Pédiatres, Bactériologistes, Hygiénistes) a décidé d'ajouter au dépistage hebdomadaire systématique la recherche de SAMS. Lors de différentes épidémies, les prélèvements environnementaux ont montré la persistance de BMR dans l'environnement et sur des objets relais. C'est après ce constat qu'a été instauré un bionettoyage annuel de l'environnement et des objets relais en trois opérations (déterSION, rinçage, désinfection). Lors d'une période épidémique, ce bionettoyage est quasi systématiquement demandé en complément d'autres mesures adaptées afin de réduire le risque de persistance environnementale de la BMR en cause.

3.2.2 L'état endémique

Dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier, il existe depuis plusieurs années un état endémique de colonisations / infections à *E. cloacae* céphalosporinase hyper-produite (CHP) polyclonale. Depuis 30 mois, l'apparition d'infection et / ou colonisation à BMR est répertoriée et montre une médiane de 4 cas par mois avec un minimum de 0 et un maximum de 11 cas mensuels. Depuis 2011, quatre vagues épidémiques ont été décrites d'une durée de 4 à 7 mois. Chaque épisode épidémique comptait de 22 à 58 cas. Bien heureusement, la clinique se cantonnait le plus souvent à une colonisation mais quelques cas d'infections persistent. Lors de l'investigation de ces 4 vagues épidémiques, aucune cause immédiate n'a été retrouvée et malgré tous les efforts de l'équipe soignante et des hygiénistes, l'endémie persiste sans aucune explication claire. Bien entendu, certaines causes systémiques sont probablement en cause comme l'utilisation large des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) très pourvoyeuses d'induction de la cépha-

losporinase naturelle d'*E. cloacae* entretenant ainsi le réservoir patient. En effet, lors de l'investigation du pic épidémique de 2015, la consommation de C3G était corrélée au nombre de cas recensés. De plus, la difficulté à faire adhérer les intervenants extérieurs et les parents aux bons gestes d'hygiène et les problèmes inhérents à l'organisation du service sont autant de facteurs favorisant la transmission croisée. Mais tout ceci n'explique pas la prédominance d'*E. cloacae* CHP par rapport aux autres entérobactéries multi-résistantes.

4 Description d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* BLSE dans le service de néonatalogie du CHU de Montpellier

4.1 Neonate incubators involved in an outbreak of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal care center

Cette publication n'est encore qu'une esquisse. Elle sera retravaillée avant d'être soumise, fin septembre, au journal Infection Control & Hospital Epidemiology.

Neonate incubators involved in an outbreak of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal care center

Lucile Cadot and Hélène Bruguière
Département d'Hygiène Hospitalière, CHU Montpellier

Estelle Jumas-Bilak, Sylvie Parer, and Sara Romano-Bertrand*
*Département d'Hygiène Hospitalière, CHU Montpellier and
 UMR 5569 Equipe « Pathogènes Hydriques Santé Environnement ». UFR Pharmacie Montpellier*

Marie-Noëlle Didelot
Laboratoire de Bactériologie, CHU Montpellier

Agnès Masnou
UMR 5569 Equipe « Pathogènes Hydriques Santé Environnement ». UFR Pharmacie Montpellier

Gilles Cambonie
Unité de soins intensifs néonatal et pédiatrique, CHU Montpellier

BACKGROUND : The systematic screening for digestive colonisation of multi-drug resistant bacteria (MDRB) revealed the concurrent presence of 4 neonates carrying extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Klebsiella pneumoniae* in the same Neonatal Care Center (NCC). The Infection Control (IC) team conducted an investigation in order to limit patient-to-patient transmission, to analyse the causes and to characterise the reservoir.

METHODS : Retrospective analysis and prospective surveillance were organized. Care, medical and cleaning practices were audited. Surfaces contamination was evaluated by bacterial culture. Clinical and environmental *K. pneumoniae* strains were compared by multiplex rep-PCR and Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE).

RESULTS : The outbreak concerned 19 patients (21 strains). The same molecular fingerprint was observed for clinical strains showing that the outbreak was monoclonal. NCC staff applied the IC recommendations properly but failures were observed for external practitioners and parents. During outbreak, the detection of *K. pneumoniae* was negative for 93 environmental samples from ward surfaces and medical devices but one incubator was positive and the strain displayed the same pulsotype than that of patients' strains. One incubator was positive for other known neonatal pathogens. The outbreak was stopped after replacement of incubator mattresses and improvement of incubator decontamination process with a focus on the use of steam cleaner.

CONCLUSION : The investigation demonstrated the role of neonate incubators and mattresses in MDR enterobacteria outbreaks and more generally, their critical role in NICU infections and outbreaks. This study urges to consider incubators as critical materials associated to infectious risk. The use of steam cleaner for their decontamination is also questioned.

KEY WORDS : incubator, mattress, outbreak, extended-spectrum beta-lactamase, *Klebsiella pneumoniae*, neonatal intensive care unit, Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE), multiplex rep-PCR, steam cleaner

CONTENTS		
I. Introduction	2	A. Description of the outbreak 3
II. Methods	2	B. Improvement of the IC precautions 3
A. Settings and patients	2	C. Persistence of Enterobacteria in patient environments 3
B. Outbreak surveillance and alert	2	D. Microbiological monitoring of incubators and mattresses 4
C. Hygiene practice audit	2	E. Post-outbreak follow-up 5
D. Environmental microbiology	2	
E. Molecular typing of bacterial strains	3	IV. Discussion 5
III. Results	3	
<hr/>		Références 8
* sara.romano-bertrand@umontpellier.fr		

I. INTRODUCTION

Neonatal intensive care units (NICUs) are at risk for healthcare-associated infections (HAIs) linked to patients and practices risk factors, mainly to low birth weight, immature immune system, duration of stay, invasive cares and antibiotics treatments [1–5]. NICU outbreaks are mostly caused by multi-drug resistant bacteria (MDRB) such as *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* [5]. They cause significant increases of morbidity and mortality in neonates [3, 6]. Among enterobacteria, *Enterobacter cloacae* [7] and *Klebsiella pneumoniae* [8] are particularly successful to provoke outbreaks in NICUs. The main causes of HAI outbreaks are poor compliance to infection control (IC) precautions and to antibiotherapy policies but persistent reservoirs in hospitalized patients and environment. The use of contaminated devices are also frequently involved [9, 10]. When found, environmental sources of *K. pneumoniae* spread in NICU often are milk and feeding material [11–13], close patient environment [14–16], hygiene products [10, 17, 18], medical devices [19–21] or perfusion solutions [22–24]. The mattresses are known to be at risk for patient contamination [25] especially when their covers are damaged and permeable [26–28]. In 2005, an outbreak investigation in NICUs identified incubators as the reservoir of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) responsible for the outbreak [29]. The aim of this study is to report data from practice audits and extensive environmental samplings performed during a 3-months outbreak of ESBL-producing *K. pneumoniae* in a Neonatal Care Center (NCC). Results stressed the critical role of neonate incubators in the epidemic cycle and questioned the use of steam cleaner for their decontamination.

II. METHODS

A. Settings and patients

The NCC of Montpellier (France) hospital contained three sectors : pediatrics reanimation (PR) with 14 incubators in 9 boxes ; NICU with 24 beds in 10 boxes and kangaroo ward (KW) with 9 beds in individuals rooms and 3 beds in a nursery. PR receives low birth-weight preterm infants (less than 1500g), critically ill newborns with unstable state and newborns having surgery. Once clinical state is stabilized, patients are transferred to the NICU. Finally, patients are hospitalized in the KW before returning home. Patients are cared in incubators in PR and NICU, only. Incubators were cleaned once a day by wiping the internal surfaces with a cleaning disinfecting product (Anios ND 7.85 II, Anios®, France) and were changed weekly for complete disinfection using disinfecting product (Surfanios, Anios®, France) and steam cleaners (SV 4000A, Sanivap®, France).

B. Outbreak surveillance and alert

HAIs caused by MDRB are monitored by standardised surveillance, combining automatic alert through computerized patient data files and weekly multidisciplinary staff reviews [30]. Moreover, systematic weekly rectal screenings are performed for ESBL-producing *Enterobacteriaceae* and other MDRB. When a MDRB outbreak alert occurred, retrospective analysis and prospective surveillance for new cases were performed.

C. Hygiene practice audit

The compliance to IC practices was assessed by observations repeated several times. For standard precautions 8 situations were observed : cleaning of shared devices between two patients (namely masks, gloves and apron wearing) and the hydro-alcoholic hand washing before preparing aseptic cares, before aseptic cares, before and after contact with patient. For contact precautions, 9 situations were observed : the waste elimination, the signalling patient with MDR bacteria on door room and on the computerized patient file, the protection equipment at arrangement in the room entrance, the private room, an individual care-giving equipment, the laundry management, the conformal wearing before room entrance, and the hydro-alcoholic hand washing at exit room. NCC cleaning practices were also observed : wearing of gloves and apron, chronological cleaning, hand hygiene, maintenance of water source, cleaning with two seals, cleaning and disinfecting products dilutions and the exit without environmental contamination.

D. Environmental microbiology

Every NCC dry or humid surface was sampled by duplicate sterile cotton swabbing (Coppan®, Italia). One swab was streaked directly on Mac Conkey agar media (BioMérieux®, France) and incubated during 48 hours at 37°C. The other swab was inoculated in Tryptone Soy broth (Oxoid®, Germany). After 24 hours of incubation at 37°C, the broth was streaked on Mac Conkey agar media and incubated during 24 hours at 37°C. For analysis of decontaminated incubator surfaces, the same protocol was followed but Columbia agar with 5% sheep blood media (CSB) (BioMérieux®, France) was used for streaking instead of Mac Conkey agar plates. The surfaces of mattress cover and foam was sampled using contact plates (TSA with disinhibitor PLUS, Oxoid®, Germany) and incubated during 72 hours at 37°C. In deep analysis of mattress cover and foam was performed by cutting them sterily in small pieces. Chips were incubated in Tryptone Soy broth during 24 hours before streaking onto CSB incubated during 24 hours. Every colony growing onto Mac Conkey agar, CSB or contact plates was identified by Matrix-assisted laser

desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) (Bruker®, Germany).

E. Molecular typing of bacterial strains

Clinical and environmental strains of ESBL-producing *K. pneumoniae* were typed by a multiplex rep-PCR based and Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) after XbaI macrorestriction as previously described [31, 32].

III. RESULTS

A. Description of the outbreak

On November the 27th of 2015, four NCC patients were positive for digestive colonisation with ESBL-producing *K. pneumoniae*. The retrospective analysis showed two cases of colonisation and one case of infection before the alert from 14 October 2015. The ESBL-producing *K. pneumoniae* outbreak stopped the 13rd of January 2016, affecting 19 patients among 235 patients hospitalized during the 3 months outbreak period (incidence rate of 8%). The epidemic curve in Figure 1-(a) shows the chronology of cases and of IC measures implemented. The patients' characteristics are described on the Table I. All patients presented a digestive colonisation, before infections for only 2 patients, sepsis for patient 6 and conjunctivitis for patient 2 (Table I). The digestive colonization was generally of late-onset (10 to 80 days). PR, NICU and KW were the acquisition units for 6, 6 and 8 patients, respectively. The three units have approximately the same activity in terms of hospitalization day so we can assume that all cases were equally distributed in every unit. The 20 ESBL-producing *K. pneumoniae* isolated from patients showed the same multiplex rep-PCR profile (data not shown) and the same pulsotype (Figure 1-(b)). This result emphasizes that a unique strain caused the outbreak via cross-transmission among patients. We can underline that two twin patients (patients 20 et 21) were colonized on the 20th of January. But the BOX-REP-ERIC PCR shows another clone of *K. pneumoniae* so they were not epidemic cases and this early colonization most likely comes from the mother.

B. Improvement of the IC precautions

During the audit period (from the 16th to the 23rd of December 2016), 377 observations concerning all present healthcare workers were made. Observations highlighted proper practices for NCC staff with observance rate of 97.6%, 82.9% and 94% for hand hygiene, wearing and contact precautions respectively. However, some failures were noticed from the observations of external practi-

tioners : radiologist, surgeon and physiotherapist (particularly for wearing of protective equipments) and parents (particularly for hand hygiene). Then, the NICUs staff intensified the hand hygiene formation for parents and the IC team motivated all the external practitioners for compliance to hygiene precautions. Considering environment cleaning, some procedures were not fully understood and applied. They were water source maintenances (flushing, daily disinfection of water point-of-uses including U-bends), cleaning with two seals and correct products dilution. IC training was given to cleaning operators in order to remind proper procedures.

C. Persistence of Enterobacteria in patient environments

Just after the outbreak alert (11/27/2015), an environmental reservoir of *K. pneumoniae* was searched by sampling NCC surfaces (campaign 1, Figure 1-(a)). 94 surfaces were sampled : 39 surfaces in the bedroom of the two alert cases and 55 surfaces from shared objects and caregiving equipments in the whole NCC (computers, care cart, mobile radiographic device, electrocardiograph, ultasonograph, scales, baths, incubators, pens, clean cloth, storage cabinet, water point-of-uses, hygiene products, breast pump, cleaning cart etc). Sixteen surfaces out of the 94 samples were positive for bacteria, including 5 with pathogen Gram negative bacilli (1 *K. pneumoniae* and *E. cloacae*, 3 *E. cloacae* and 1 *Escherichia vulneris*), and 11 with non-pathogenic environmental bacteria. No pathogenic bacteria were found in patient and care rooms. However, ESBL-producing *K. pneumoniae* and *E. cloacae* were retrieved on a cleaned incubator, and *E. cloacae* on another incubator sampled just after the cleaning process. Furthermore, Enterobacteria were found on relaying objects such as *E. cloacae* on a breast pump and on the mobile radiograph device, and *Escherichia vulneris* on electrocardiograph. *K. pneumoniae* isolated from the incubator displayed the same multiplex-rep and PFGE profiles than clinical strains. This result demonstrated the epidemiological link between the outbreak clone and the environmental strain. Consequently, incubators and their cleaning procedures were submitted to careful monitoring. Most of the waterproof mattress covers were cracked. Moreover, because of the steam cleaner use on mattresses, these lasts were wet for a long period of time after each cleaning, suggesting that they could form suitable niches for bacterial growth. Practices were in agreement with the hospital hygiene recommendations but because of the mattress aspects and the persistence of Enterobacteria after cleaning, the cleaning protocol was improved the 24th of December by adding a cleaning-disinfecting step after steam cleaning. In spite of the good observance of IC precautions, environmental microbiology showed the persistence of Enterobacteria in the NCC environment. Consequently, a thorough cleaning of all the NCC surfaces was conducted in following a three step procedure

Patient number	Sex	Post natal age (Days)	Clinical sample	Delay before colonization or infection	Acquisition Unit (and date)	Room
1	M	20	Rectal swab	20	PR (10/14/2015)	20
2	F	20	Rectal swab	20	NICU (10/20/2015)	5
		41	Left eye	41	NICU (11/11/2015)	5
3	M	28	Rectal swab	28	NICU (11/25/2015)	4
4	F	11	Rectal swab	11	PR (11/24/2015)	2 then 4
5	F	15	Rectal swab	15	NICU (11/24/2015)	6
6	M	51	Rectal swab	51	PR (11/25/2015)	3
		63	Blood	63	PR (12/07/2015)	3
7	M	72	Rectal swab	72	NICU (12/01/2015)	7
8	F	80	Rectal swab	80	KW (12/09/2015)	8
9	M	10	Rectal swab	10	ND (12/09/2015)	ND
10	M	16	Rectal swab	16	KW (12/09/2015)	9
11	F	70	Rectal swab	37	KW (12/09/2015)	10
12	F	85	Rectal swab	85	KW (12/16/2015)	11
13	F	21	Rectal swab	21	KW (12/23/2015)	12
14	F	18	Rectal swab	18	NICU (12/30/2015)	4
15	F	47	Rectal swab	47	NICU (12/30/2015)	4
16	M	39	Rectal swab	39	KW (01/06/2016)	13
17	M	16	Rectal swab	16	PR (01/13/2016)	2
18	M	22	Rectal swab	22	KW (01/13/2016)	14
19	M	34	Rectal swab	34	KW (01/13/2016)	14

TABLE I. Characteristics of the 19 patients involved in the outbreak ND : not defined because of many changing of sector.

associating detergent, rinsing and disinfection. Measures were implemented in ward environment and incubators but they did not stop the outbreak (Figure 1-(a)).

D. Microbiological monitoring of incubators and mattresses

A systematic microbiological control (sampling campaign 2) of cleaned incubators was performed to evaluate new practices and residual contamination on mattresses after cleaning. During one month, 84 incubators including 75 mattresses were sampled. Contamination was principally due to skin-associated bacteria (35.7%

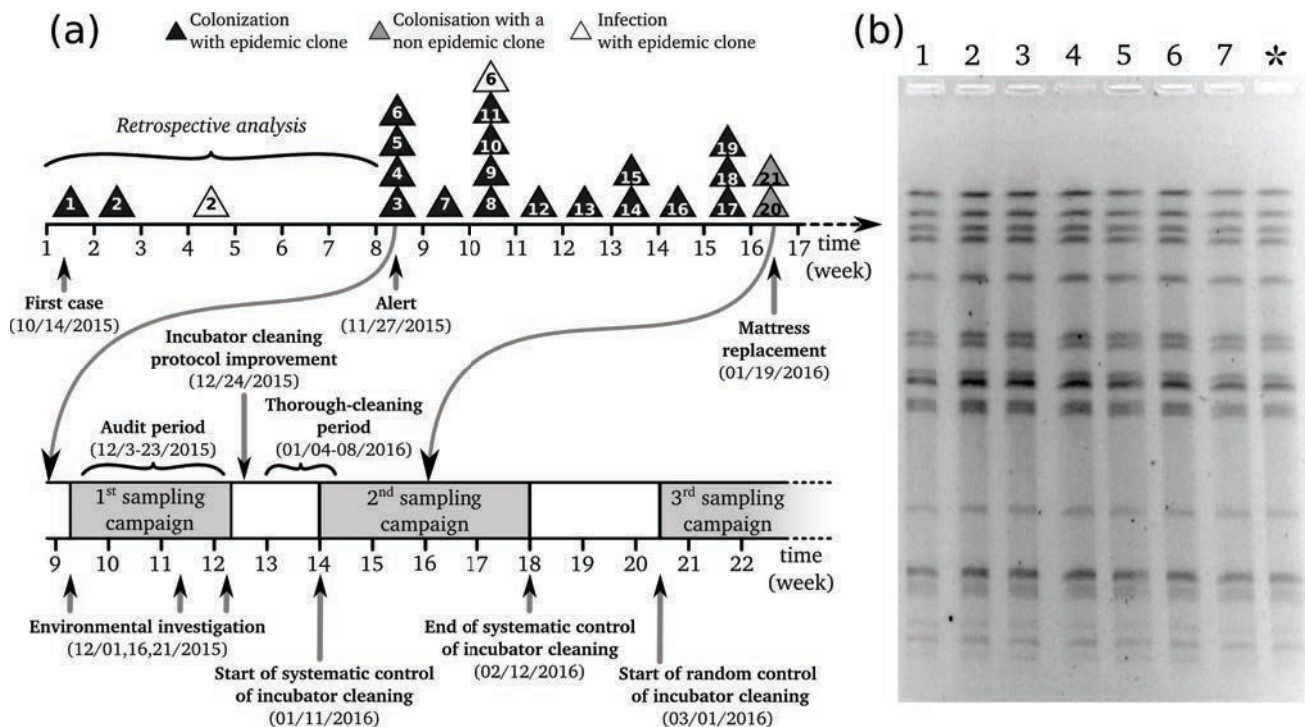


FIGURE 1. (a) : Epidemic curve (top) and summary of the investigation (bottom), chronology of the measure improvements are given with arrows. Numbers in the triangle of the top curves stand for patient numbers. See text for details. (b) : Representative PFGE patterns of *K. pneumoniae* stains. Line 1 to 7 : clinical isolates for patient number 1 to 7. Line * : environmental isolate.

for external surfaces and 34.7% for mattresses) and by environmental bacteria (21.4% for external surfaces and 37.3% for mattresses) (see Table II). Only 1 Enterobacteria (*E. cloacae*) was retrieved in the 84 samples from 52 incubators (1.2%) while 2 of the 12 incubators (16.7%) sampled during the first campaign were contaminated by Enterobacteria. Therefore, the improvement of the cleaning protocol was microbiologically confirmed. Finally, all the mattresses were changed the 19th of January 2016 and steam cleaning has been stopped on new mattresses in order to avoid persistent moisture. The implementation of these measures stopped the occurrence of new cases while the global contamination of the incubators decreased. The contamination of the external surfaces decreased remarkably from 78.6 to 35.6% but the mattresses contamination decreased less sharply from 76.9 to 61.2% (campaign 2, Table II). Therefore, the mattresses seemed to constitute a critical material forming bacterial reservoir not fully reduced by renewing and by new cleaning procedures.

In order to evaluate the whole contamination, 42 old mattresses were analysed before being discarded. Faecal contamination was observed for two of them (4.8%) : one by *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*, and the second one by *Enterobacter cloacae*. Other pathogens were also isolated : methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (n=10; 23.8% of mattresses), *Staphylococcus capitis* (n=3; 7.1%), *Bacil-*

lus cereus (n=3; 7.1%) and *Pseudomonas aeruginosa* (n=1; 2.4%) (Table III). The detection of relatively fragile and exigent bacteria such as *Moraxella osloensis* confirmed that incubator mattresses were favourable for bacterial multiplication and persistence.

E. Post-outbreak follow-up

During a 5 month period of follow-up no additional case of ESBL-producing *K. pneumoniae* was observed in patients. Among 40 incubators analysed, 9 (22.5%) were positives for bacterial culture. *E. coli* was detected on the internal surfaces of mattress. It was the sole pathogen detected during the follow-up period while skin-associated bacteria were the most frequent contaminants. The external surfaces of mattresses were the most frequently contaminated (Table IV). The global contamination of incubators decreased significantly in the post-outbreak period : from 96.4% to 22.5% for the whole incubator (Table II and IV).

IV. DISCUSSION

Newborns and particularly premature neonates are generally very susceptible to MDRB colonization and infections because they present delayed gut microbiota

Sample		Pathologic bacteria	Skin bacteria	Environmental bacteria	Positive
Global results	External surfaces (n=84)	<i>E. cloacae</i> <i>E. faecalis</i> <i>B. cereus</i> <i>S. capitis</i>	30 (35.7%)	18 (21.4%)	42 (50%)
	Mattresses (n=75)	<i>MSSA</i> <i>B. cereus</i> <i>S. capitis</i>	26 (34.7%)	28 (37.3%)	50 (66.7%)
	Whole incubator (n=84)	7 (8.3%)	47 (55.9%)	39 (46.4%)	68 (80.9%)
Result before mattress replacement	External surfaces (n=28)	<i>E. cloacae</i> <i>E. faecalis</i> <i>B. cereus</i> <i>S. capitis</i>	16 (57.1%)	11 (39.3%)	22 (78.6%)
	Mattresses (n=26)	<i>S. capitis</i>	9 (34.6%)	14 (53.8%)	20 (76.9%)
	Whole incubator (n=28)	4 (14.3%)	19 (67.9%)	21 (75%)	27 (96.4%)
Result after mattress replacement	External surfaces (n=56)	0	14 (25%)	6 (11.2%)	20 (35.6%)
	Mattresses (n=49)	<i>MSSA</i> <i>B. cereus</i>	17 (34.7%)	13 (26.5%)	30 (61.2%)
	Whole incubator (n=56)	2 (3.6%)	28 (50%)	18 (32.1%)	41 (73.2%)

TABLE II. Results of the one-month systematic control of incubator cleaning. MSSA stands for Meticillino-Sensible *Staphylococcus Aureus*. For each measurement only one pathologic bacteria has been observed.

Pathogen	<i>E. cloacae</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>MSSA</i>	<i>S. capitis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>M. osloensis</i>
Number of positive mattresses (n = 42)	1 (2.4%)	1 (2.4%)	1 (2.4%)	10 (23.8%)	3 (7.1%)	3 (7.1%)	1 (2.4%)	2 (4.8%)

TABLE III. Results for old mattress analyses

implantation and immature mucosal barrier [33, 34]. Moreover, a lot of factors may slow down or disturb the normal intestinal colonization such as birth by caesarian, formula feeding or pasteurized breast milk, antibiotics and nursing in incubator [34, 35]. Therefore, bacteria from mother or infant close environments tend to locate in the gut and thereby increase the risk of colonization by hospital MDRB and thereby infection susceptibility [1, 33, 35]. Hence, mothers are considered as the major source of colonization of very low birth weight infants with ESBL-producing *Enterobacteriaceae* [36]. Outbreaks of mother-to-neonate transmissions can occur generally thanks to antibiotic selective pressure but the corresponding strains are generally polyclonal by molecular typing. However, any of these strains can become the first case of a monoclonal outbreak by cross-

transmissions through healthcare workers and/or environment reservoir. We described herein such a monoclonal outbreak. Strict compliance to IC measures remains the best way to control HAI outbreaks [2, 37]. In our NCC, IC protocols were basically well observed but the audit probably contributed to improve observance and to reduce transmission among patients. However, the ESBL-producing *K. pneumoniae* outbreak continues. It is noteworthy that few basic IC procedures can not be fully improved :

1. the private room for MDR infected or colonized patients cannot be respected due to the number of cases and the architecture of the ward thereby only cohorting of cases has been performed ;
2. the hygiene of parent hands is very difficult to monitor. Poor hand hygiene is common from pa-

Sample (n = 40)	Pathogenic bacteria	Skin bacteria	Environmental bacteria	Positive
External surface of incubator	0	2 (5%)	0	2 (5%)
External surface of mattresses	0	5 (12.5%)	3 (7.5%)	7 (17.5%)
Internal surface of mattresses	<i>E. coli</i> : 1 (2.5%)	0	0	1 (2.5%)
Whole incubator	<i>E. coli</i> : 1 (2.5%)	7 (17.5%)	3 (7.5%)	9 (22.5%)

TABLE IV. Results for a 5 month period of random control on incubators

rents and areas frequented by parents are more contaminated by enteric virus than areas frequented by staff ([38] 39). However, to our knowledge, the same results have not been published for bacteria.

Another way for the spread of HAI agents among patients is the persistence of an environmental reservoir [39]. The environment is more and more described to amplify epidemic cycle of enterobacteria in hospital [37, 40]. In the present investigation, the outbreak persistence despite IC precautions improvement and the late-onset of patient contamination suggests an environmental reservoir. The environmental investigation should first focus on water points because it is the main reservoir described for enterobacteria HAI outbreaks [37, 40] but dry surfaces close to patient and shared medical equipment should be further investigated as exhaustively as possible [2, 37]. Once a reservoir is identified, its reduction by intensive cleaning or changing medical devices generally succeeds in stopping epidemic spread [37, 39]. In this study, neonate incubators are incriminated as directly involved in the ESBL-producing *K. pneumoniae* outbreak, at least in the amplification of the epidemic cycle, in which patient's characteristics, medical and familial practices and ward architecture are involved. For instance, hand cross-transmission was certainly responsible of cases appearing in KW because patients are not cared in incubator in this unit. Nevertheless, after improvement of basic IC measures, the change of incubators mattresses and the implementation of new procedures for cleaning immediately stop the outbreak. Molecular typing provides additional strong argument because it shows identity between the ESBL-producing *K. pneumoniae* patient strains and a strain isolated from one cleaned incubator. The presence of several other bacteria on the incubator surfaces after cleaning is an indirect but also strong argument in favour of incubators as outbreak reservoir and more generally as HAI reservoir in the NCC. Indeed, beside *K. pneumoniae*, major NICU associated pathogens are detected : *S. aureus* [41], *E. cloacae* [7] and *B. cereus* [42], as well as the emerging neonate pathogen, *Staphylococcus capitis* [43]. Incubators are medical equipment in close contact with neonate patients. Their warm and humid ambiance enhances bacterial growth [44]. Thus efficient decontamination is critical to minimize the HAIs risk [45]. The incubator cleaning procedures have been implemented

from 2009 in our NCC, according to a published protocol [46] and then following the recommendations of the French Coordination Center against HAI [47]. They are based on the use of steam cleaner, which is recommended for neonate incubator because it reduces HAIs risk without residual chemical products [48, 49]. However, the limits of steam cleaning are first the contact time on surfaces, which is critical for efficiency [50], and then, the risk of aerosolisation of pathogens from the vaporising process followed by the secondary bacterial sedimentation on cleaned surfaces [51]. Steam systems should be used in a dedicated well-ventilated room in order to limit air-mediated recontamination of cleaned surfaces and environmental bioburden [39]. From our knowledge, the use of steam on mattress waterproof cover increases the residual moisture in the foam after cleaning and probably the risk of bacterial persistence or growth. The foam moisture increases further if the cover is cracked as observed for all the mattresses use for more than 10 years in the NCC. Finally, the delay for an infant to get colonized is coherent with incubators as sources of transmission. Indeed, the weekly changing of incubators and mattresses could expose neonates to pathogens from other patient persisting after cleaning. Microbiological data shows sporadic contamination of incubators with a low bacterial load in most cases. Sporadic and low-load exposition may explain the low outbreak dynamics observed herein. Practically, the 5 month following the new IC measures confirmed their efficiency in order to limit incubators contamination, to stop ESBL-producing *K. pneumoniae* outbreak and to durably avoid ESBL-producing *K. pneumoniae* cases in NCC. Briefly, all the mattresses are renewed. The steam cleaner is now used only on the Plexiglass® of incubators but not on mattresses. A cleaning disinfecting product (Surfanios, Anios®, France : N-(3-aminopropyl)-N-dodecylpropane-1,3-diamine + didecyl-dimethylammonium chlorure) is now used before and after steam process on plexiglass. Mattresses are cleaned outside the steam-dedicated room by two successive swiping with a cleaning disinfecting product. The mattress covers are checked and changed immediately if cracks or damages are visually observed. Indeed, an effective disinfection can't be achieved on damaged equipment [26–28]. The random sampling of incubators and mattress surfaces will be routinely performed for microbiological surveillance. Nurses who sample surfaces will

also make the visual inspection of mattresses. Finally, the traceability of patients and incubators has been established in order to rapidly identify an incubator as a source of cross-contamination. In NICU outbreaks, environmental reservoir is frequently suspected but scarcely characterised. In the case of *K. pneumoniae*, literature showed that the outbreak source is found in approximately one third of published cases. Beside a case of VRE outbreak originating in neonate mattresses incubators, we considered that our investigation data de-

monstrated for the first time the role of mattresses incubators in MDR Enterobacteriaceae outbreaks. More generally, the HAI pathogens detected in the incubators beside ESBL-producing *K. pneumoniae* suggest the critical role of incubators and mattresses in NICU infections and outbreaks. This outbreak report urges to consider incubators and mattresses as critical medical materials, to exert constant vigilance on them, to monitor their microbial contamination and to question the use of steam cleaner for their decontamination.

-
- [1] C. Legeay, C. Bourigault, D. Lepelletier, and J.R. Zahar. Prevention of healthcare-associated infections in neonates : room for improvement. *Journal of Hospital Infection*, 89(4) :319 – 323, 2015. Proceedings from the 9th Healthcare Infection Society International Conference 9th Healthcare Infection Society International Conference.
 - [2] L. Decembrino, A. Maini, N. Decembrino, I. Maggi, and S. Lacerenza. Management of outbreaks in neonatal intensive care units. *Early Human Development*, 90 :S54 – S56, 2014.
 - [3] C.L. Pessoa-Silva, B. Meurer Moreira, V. Câmara Almeida, B. Flannery, M.C. Almeida Lins, J.L. Mello Sampaio, L. Martins Teixeira, L.E. Vaz Miranda, L.W. Riley, and J.L. Gerberding. Extended-spectrum β -lactamase-producing klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit : risk factors for infection and colonization. *Journal of Hospital Infection*, 53(3) :198 – 206, 2003.
 - [4] A.J. Carey, L. Saiman, and R.A. Polin. Hospital-acquired infections in the nicu : Epidemiology for the new millennium. *Clinics in Perinatology*, 35(1) :223 – 249, 2008. Iatrogenic Disease.
 - [5] S. Kamath, S. Mallaya, and S. Shenoy. Nosocomial infections in neonatal intensive care units : Profile, risk factor assessment and antibiogram. *The Indian Journal of Pediatrics*, 77(1) :37–39, 2010.
 - [6] P. Gastmeier, A. Loui, S. Stamm-Balderjahn, S. Hansen, I. Zuschneid, D. Sohr, M. Behnke, M. Obladen, R. Vonberg, and H. Rüden. Outbreaks in neonatal intensive care units—they are not like others. *American Journal of Infection Control*, 35(3) :172 – 176, 2007.
 - [7] M. Dalben, G. Varkulja, M. Basso, V.L.J. Krebs, M.A. Gibelli, I. van der Heijden, F. Rossi, G. Duboc, A.S. Levin, and S.F. Costa. Investigation of an outbreak of enterobacter cloacae in a neonatal unit and review of the literature. *Journal of Hospital Infection*, 70(1) :7 – 14, 2008.
 - [8] A. Gupta. Hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit-klebsiella pneumoniae. *Seminars in Perinatology*, 26(5) :340 – 345, 2002.
 - [9] R. Lin, B. Wu, X.F. Xu, X.C. Liu, H. Ye, and G.Y. Ye. Extended-spectrum beta-lactamase-producing klebsiella pneumoniae infection in a neonatal intensive care unit. *World Journal of Pediatrics*, 8(3) :268–271, 2012.
 - [10] V. Rastogi, P. Nirwan, S. Jain, and A. Kapil. Nosocomial outbreak of septicemia in neonatal intensive care unit due to extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* showing multiple mechanisms of drug resistance. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 28(4) :380–384, 2010.
 - [11] K. Nakamura, M. Kaneko, Y. Abe, N. Yamamoto, H. Mori, A. Yoshida, K. Ohashi, S. Miura, T.T. Yang, N. Momoi, and K. Kanemitsu. Outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing escherichia coli transmitted through breast milk sharing in a neonatal intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, 92(1) :42 – 46, 2016. Multi-drug Resistant Gram Negative Bacteria.
 - [12] D. Engur, B. Cetinkaya Cakmak, M. Kaynak Turkmen, M. Telli, M. Eyigor, and M. Guzunler. A milk pump as a source for spreading acinetobacter baumannii in a neonatal intensive care unit. *Breastfeeding Medicine*, 9(10) :551–554, 2014.
 - [13] C. Sánchez-Carrillo, B. Padilla, M. Marín, M. Rivera, E. Cercenado, D. Vigil, M. Sánchez-Luna, and E. Bouza. Contaminated feeding bottles : The source of an outbreak of pseudomonas aeruginosa infections in a neonatal intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 37(2) :150 – 154, 2009. Hemodynamic Monitoring in the Diagnosis and Management of Heart Failure.
 - [14] R. Zheng, Q. Zhang, Y. Guo, Y. Feng, L. Liu, A. Zhang, Y. Zhao, X. Yang, and X. Xia. Outbreak of plasmid-mediated ndm-1-producing klebsiella pneumoniae st105 among neonatal patients in yunnan, china. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 15(1) :1, 2016.
 - [15] C. Casolari, M. Pecorari, E. Della Casa, S. Cattani, C. Venturelli, G. Fabio, S. Tagliazucchi, G.F. Serpini, M. Migaldi, P. Marchegiano, F. Rumpianesi, and F. Ferrari. *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit : two long-term multiclonal outbreaks in a 10-year observational study. *New Microbiologica*, 36(4) :373–383, 2013.
 - [16] H. Yapicioglu, T.G. Gokmen, D. Yildizdas, F. Koksall, F. Ozlu, E. Kale-Cekinmez, K. Mert, B. Mutlu, M. Satar, N. Narli, and A. Candevir. Pseudomonas aeruginosa infections due to electronic faucets in a neonatal intensive care unit. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 48(5) :430–434, 2012.
 - [17] T.A. Madani, S. Alsaedi, L. James, B.S. Eldeek, A.A. Jiman-Fatani, M.M. Alawi, D. Marwan, M. Cudal, M. Macapagal, R. Bahlas, and M. Farouq. *Serratia marcescens*-contaminated baby shampoo causing an outbreak among newborns at king abdulaziz university hospital, jeddah, saudi arabia. *Journal of Hospital Infection*, 78(1) :16 – 19, 2011.
 - [18] S. Buffet-Bataillon, V. Rabier, P. Bétrémieux, A. Beuchée, M. Bauer, P. Pladys, E. Le Gall,

- M. Cormier, and A. Jolivet-Gougeon. Outbreak of *serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit : contaminated unmedicated liquid soap and risk factors. *Journal of Hospital Infection*, 72(1) :17 – 22, 2009.
- [19] A. Khajuria, A.K. Praharaaj, M. Kumar, N. Grover, and A. Aggarwal. Multidrug resistant ndm-1 metallo-beta-lactamase producing *klebsiella pneumoniae* sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit in a tertiary care center at central india. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 2014.
- [20] N. Pestourie, F. Garnier, O. Barraud, A. Bedu, M.C. Ploy, and M. Mounier. Outbreak of ampc β -lactamase-hyper-producing *enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit in a french teaching hospital. *American Journal of Infection Control*, 42(4) :456 – 458, 2014.
- [21] T.M. MacDonald, J.M. Langley, T. Mailman, K. Allain, G. Nelson, L. Hatton, T. Sanford, K. George, D. Hancock, D. Stinson, and M. Mulvey. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit related to the exit port of an oscillator. *Pediatric Critical Care Medicine*, 12(6) :e282–e286, 2011.
- [22] U. Arslan, I. Erayman, S. Kirdar, S. Yuksekkaya, O. Cimen, I. Tuncer, and B. Bozdogan. *Serratia marcescens* sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics International*, 52(2) :208–212, 2010.
- [23] G. Fabbri, M. Panico, L. Dallolio, R. Suzzi, M. Ciccia, F. Sandri, and P. Farruggia. Outbreak of ampicillin/piperacillin-resistant *klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit (nicu) : investigation and control measures. *International journal of environmental research and public health*, 10(3) :808–815, 2013.
- [24] S.A. Narayan, J.L. Kool, M. Vakololoma, A.C. Steer, A. Mejia, A. Drake A. Jenney, J.F. Turton, J. Kado, and L. Tikoduadua. Investigation and control of an outbreak of *enterobacter aerogenes* bloodstream infection in a neonatal intensive care unit in fiji. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 30 :797–800, 8 2009.
- [25] C.A. Oliveira, R.E.H. Viana, and Q.S. Damasceno. Contamination of hospital mattresses by microorganisms of epidemiological relevance : an integrative review. *Journal of Nursing UFPE on line*, 7(1) :236–245, 2012.
- [26] M. Yu, K. Cross, A. Petrich, and J. Fish. Crib mattress investigation : A quality improvement study to assess mattress cover permeability and bacterial growth in crib mattresses. *American Journal of Infection Control*, 44(7) :837 – 839, 2016.
- [27] US Food, Drug Administration, et al. Damaged or worn covers for medical bed mattresses pose risk of contamination and patient infection : Fda safety communication. *US Food and Drug Administration*, 2014.
- [28] S.L. Bradbury, D. Mack, T. Crofts, and R.T. Ellison. Potential bloodborne pathogen exposure from occult mattress damage. *American Journal of Infection Control*, 42(4) :421 – 422, 2014.
- [29] Y. Golan, S. Doron, B. Sullivan, and D.R. Snyderman. Transmission of vancomycin-resistant *enterococcus* in a neonatal intensive care unit. *The Pediatric infectious disease journal*, 24(6) :566–567, 2005.
- [30] S. Durand, A. Rideau Batista Novais, R. Mesnage, C. Combes, M.N. Didelot, A. Lotthé, A. Filleron, J. Baileine, and G. Cambonie. Validation of nosocomial infection in neonatology : A new method for standardized surveillance. *American Journal of Infection Control*, 42(8) :861 – 864, 2014.
- [31] C. Dupont, A.L. Michon, E. Jumas-Bilak, N. Norskov-Lauritsen, R. Chiron, and H. Marchandin. Inpatient diversity of *achromobacter* spp. involved in chronic colonization of cystic fibrosis airways. *Infection, Genetics and Evolution*, 32 :214 – 223, 2015.
- [32] A. Gouby, C. Neuwirth, G. Bourg, N. Bouziges, M.J. Carles-Nurit, E. Despaux, and M. Ramuz. Epidemiological study by pulsed-field gel electrophoresis of an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *klebsiella pneumoniae* in a geriatric hospital. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(2) :301–305, 1994.
- [33] B. Brooks, B.A. Firek, C.S. Mille, I. Sharon, B.C. Thomas, R. Baker, M.J. Morowitz, and J.F. Banfield. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. *Microbiome*, 2(1) :1–16, 2014.
- [34] M.S. Cilieborg, M. Boye, and P.T. Sangild. Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early Human Development*, 88, Supplement 1 :S41 – S49, 2012. 3rd International Conference on .
- [35] L.E. Hartz, W. Bradshaw, and D.H. Brandon. Potential NICU environmental influences on the neonate’s microbiome : A systematic review. *Advances in Neonatal Care*, 15(5) :324–335, 2015.
- [36] L.A. Denkel, F. Schwab, A. Kola, R. Leistner, L. Garten, K. von Weizsäcker, C. Geffers, P. Gastmeier, and B. Piening. The mother as most important risk factor for colonization of very low birth weight (VLBW) infants with extended-spectrum β -lactamase-producing *enterobacteriaceae* (ESBL-E). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(8) :2230–2237, 2014.
- [37] T. Hendrik, A.F. Voor, and M.C. Vos. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *klebsiella* spp. : A systematic review and meta-analyses. *PloS one*, 10(10) :e0140754, 2015.
- [38] C.I. Gallimore, C. Taylor, A.R. Gennery, A.J. Cant, A. Galloway, J. Xerry, J. Adigwe, and J.J. Gray. Contamination of the hospital environment with gastroenteric viruses : Comparison of two pediatric wards over a winter season. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(9) :3112–3115, 2008.
- [39] S.J. Dancer. Controlling hospital-acquired infection : Focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4) :665–690, 2014.
- [40] B. Clarivet, D. Grau, E. Jumas-Bilak, H. Jean-Pierre, A. Pantel, S. Parer, and A. Lotthé. Persisting transmission of carbapenemase-producing *klebsiella pneumoniae* due to an environmental reservoir in a university hospital, france, 2012 to 2014. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin*, 21(17), 2016.
- [41] S. Romano-Bertrand, A. Filleron, R. Mesnage, A. Lotthé, M.N. Didelot, L. Burgel, E. Jumas-Bilak, G. Cambonie, and S. Parer. *Staphylococcus aureus* in a neonatal care center : methicillin-susceptible strains should be a main concern. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 3(1) :1–9, 2014.
- [42] I.K. Hosein, P.N. Hoffman, S. Ellam, T.M. Asseez, A. Fakokunde, J. Silles, E. Devereux, D. Kaur, and J. Bosanquet. Summertime *bacillus cereus* colonization

- of hospital newborns traced to contaminated, laundered linen. Journal of Hospital Infection, 85(2) :149 – 154, 2013.
- [43] M. Butin, P. Martins-Simoes, J.C. Picaud, A. Kearns, O. Claris, F. Vandenesch, F. Lauren, and J.P. Rasi-gade. Adaptation to vancomycin pressure of multire-sistant staphylococcus capitis nrcs-a involved in neo-natal sepsis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 70(11) :3027–3031, 2015.
- [44] M.C. De Goffau, K.A. Bergman, H.J. De Vries, N.E.L. Meessen, J.E. Degener, J.M. Van Dijl, and H.J.M. Harmsen. Cold spots in neonatal incubators are hot spots for microbial contamination. Applied and Environmental Microbiology, 77(24) :8568–8572, 2011.
- [45] E. Creamer and H. Humphreys. The contribution of beds to healthcare-associated infection : the impor-tance of adequate decontamination. Journal of Hospital Infection, 69(1) :8 – 23, 2008.
- [46] C. Braux, A. Lagier, M.C. Passet-Gros, S. Ducki, J. Shum, P. Andrini, T. Debillon, J. Croizé, and M.R. Mallaret. Entretien des incubateurs de néonatalogie à l’aide d’un générateur de vapeur. Hygi’enes, XVI(3), 2008.
- [47] CCLIN Sud-Est. L’entretien des incubateurs en ser-vice de néonatalogie, Fédération nationale des pédiatres néonatalogues. CCLIN Sud-Est, 2010.
- [48] J.D. Sexton, B.D. Tanner, S.L. Maxwell, and C.P. Gerba. Reduction in the microbial load on high-touch surfaces in hospital rooms by treatment with a portable saturated steam vapor disinfection system. American Journal of Infection Control, 39(8) :655 – 662, 2011.
- [49] B.D. Tanner. Reduction in infection risk through treat-ment of microbially contaminated surfaces with a no-vel, portable, saturated steam vapor disinfection sys-tem. American Journal of Infection Control, 37(1) :20 – 27, 2009.
- [50] O. Meunier, C. Meistermann, and A. Schwebel. Efficac-ité et limites des nettoyeurs vapeurs en milieu hospita-lier. Pathologie Biologie, 57(3) :252 – 257, 2009.
- [51] C.J. Griffith and S.J. Dancer. Hospital cleaning : pro-blems with steam cleaning and microfibre. Journal of Hospital Infection, 72(4) :360 – 361, 2009.

4.2 Analyse approfondie des causes a posteriori

Cet article est le premier de la littérature à identifier avec certitude les matelas des incubateurs comme réservoir environnemental d’une épidémie en néonatalogie. C’est pourquoi nous avons tenu à réaliser une analyse approfondie des causes a posteriori selon la méthode ALARM (Association of Litigation And Risk Management). Cette analyse nous permettra de travailler avec l’ARLIN du Languedoc-Roussillon sur l’élaboration d’une fiche de retour d’expérience (Fiche REX) qui sera diffusée sur le site internet du Centre de Coordination et de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN). Cette méthode consiste en la description brève et exhaustive des faits afin de mettre en évidence les causes immédiates (c’est à dire les causes directement responsables de l’événement indésirable décrit) et les causes systémiques (c’est à dire les causes profondes (les facteurs latents et organisationnels) qui ont participé à la survenue de l’événement indésirable décrit). Une fois cette analyse réalisée, des actions correctives doivent être proposées, mises en place et suivies.

4.2.1 Description chronologique de l’événement

L’alerte a été donnée le 27 Novembre 2015 par le dépistage simultané de 4 enfants colonisés par *K. pneumoniae* BLSE dans le service de néonatalogie. La recherche rétrospective d’autres cas réalisée immédiatement a mis en évidence, depuis le 14 Octobre, 2 autres enfants colonisés (dont 1 ayant eu une conjonctivite) à ce même pathogène. Un suivi automatique des nouveaux cas a alors été organisé.

Le chef de service, le cadre de santé et la direction des soins ont été informés de cet événement inhabituel afin de les sensibiliser au problème, de les informer du début de l’investigation et de leur demander de mettre en place rapidement les mesures correctives immédiates habituelles (renforcement des précautions standard et complémentaires et de l’entretien de l’environnement).

L’investigation a ensuite été menée sur différents fronts. Un audit des pratiques (précautions standard et complémentaires, entretien de l’environnement et des incubateurs) a montré un défaut régulier du respect des mesures d’hygiène de base par les intervenants extérieurs, un défaut d’hygiène des mains de la part des parents et un retard de l’entretien séquentiel de l’environnement annuel. Lors de l’audit sur l’entretien des incubateurs, l’aspect macroscopique des matelas nous a tout de suite interpellé. Ils étaient abîmés (housses craquelées, mousses tâchées et humidité persistante après séchage). Par ailleurs, le protocole d’entretien était bien conduit.

Des prélèvements environnementaux ont été réalisés dans tout le service et sur les incubateurs afin de rechercher un éventuel réservoir environnemental. Ceux-ci ont révélé la présence de *K. pneumoniae* BLSE sur un incubateur après nettoyage. Enfin, un typage moléculaire des souches cliniques et de la souche environnementale par PCR multiplex BOX-REP-ERIC et électrophorèse en champs pulsé nous a indiqué le caractère clonal de

cette épidémie.

L'épidémie a pris fin juste après le changement des matelas. Au total, 19 cas ont été recensés entre le 14 Octobre 2015 et le 13 Janvier 2016 dont 2 ayant eu, en plus de leur colonisation digestive, une infection (conjonctivite pour l'un, bactériémie pour l'autre). Cette investigation nous a permis d'émettre l'hypothèse que la transmission de cette épidémie se faisait via un réservoir environnemental incarné par les matelas des incubateurs et par une transmission croisée manuportée à partir du réservoir patient.

4.2.2 Analyse des causes immédiates

K. pneumoniae est une bactérie rencontrée dans le tube digestif des patients. Le fait que celle-ci ait contaminé des matelas nous amène à penser à une contamination fécale. Il est donc légitime de penser qu'il existe probablement un défaut de gestion des excréta dans ce service soit lors de la manipulation des couches (mais cet élément n'a pas été constaté lors de l'audit des pratiques), soit lors d'une fuite accidentelle de selles de la couche d'un enfant. Ceci souligne un probable défaut de désinfection des incubateurs après une telle souillure.

La principale cause immédiate responsable de cette épidémie est un défaut de surveillance de l'état et de l'entretien des matelas des incubateurs. En effet, lors de l'audit des pratiques d'entretien des incubateurs, nous nous sommes rendu compte de différentes failles. Tout d'abord, les matelas n'avaient pas été changés depuis une dizaine d'années. De ce fait, ils étaient visuellement détériorés par des craquelures de la housse et des tâches sur la mousse (Figure 5). De plus, après la désinfection de ces matelas par la vapeur, une forte humidité persistait même après séchage. Lors de leur utilisation, les incubateurs chauffent l'enceinte à une température proche de la température corporelle. Ainsi l'humidité du matelas associée à la chaleur de l'incubateur rend l'atmosphère très propice au développement de microorganismes, ce qui a certainement participé à l'entretien du réservoir environnemental.

4.2.3 Analyse des causes systémiques

Facteurs organisationnels

D'autres éléments ont aussi participé de manière latente à la survenue de cette épidémie.

Dans un premier temps, les agents d'entretien nous ont confié avoir signalé à une seule reprise le mauvais état des matelas à leur supérieur. Mais ce signalement n'a pas été suffisant pour attirer l'attention sur l'état inacceptable des matelas et nous avons essayé de comprendre pourquoi.

D'abord il faut savoir que la mise en place d'une politique d'économie stricte a permis d'équilibrer les comptes du CHU de Montpellier depuis 2 ans. L'aspect financier joue

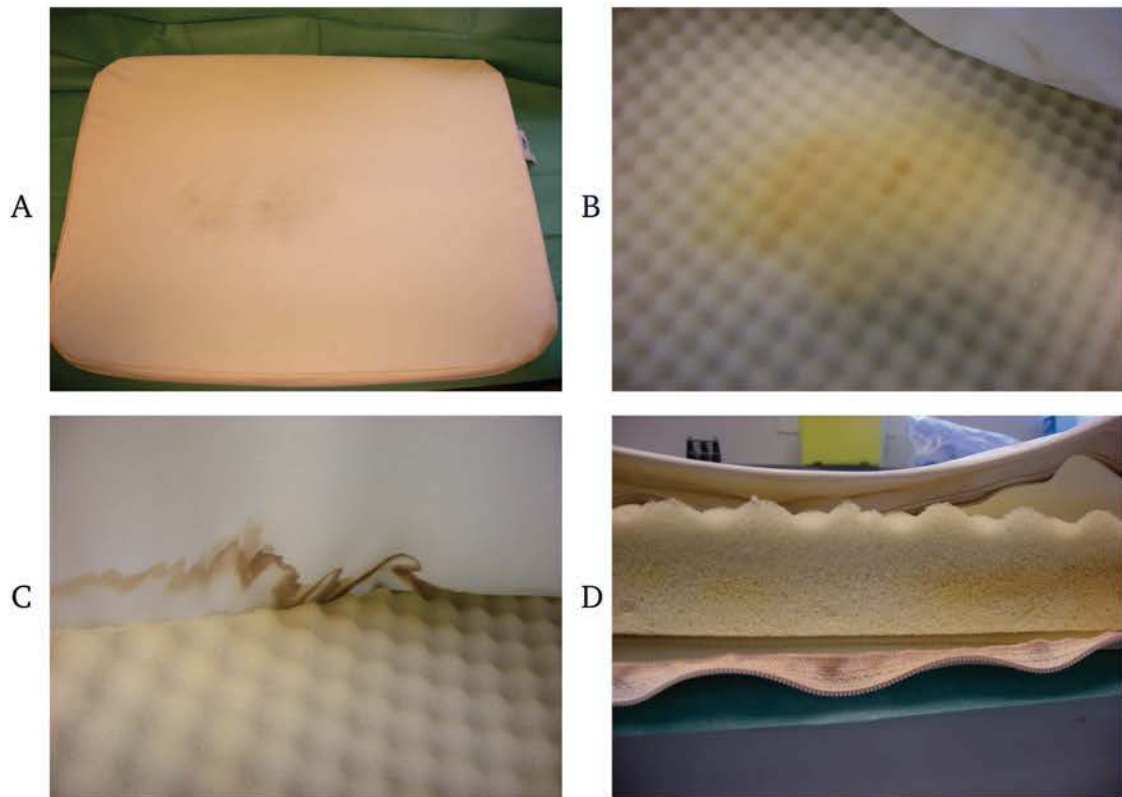


FIGURE 5 – Photographies d'un ancien matelas

A : Matelas, B : Mousse du centre du matelas, C : Mousse et face interne de la housse, D : Mousse au niveau de la fermeture éclair

donc un rôle primordial dans beaucoup de décisions au CHU et cette politique d'établissement devient parfois un problème pour un bon nombre de salariés dont les cadres de santé responsables des commandes. En effet, ces derniers doivent calculer les dépenses à l'économie permanente et participer à la gestion d'un budget très serré pour leur service. Cette situation peut devenir épuisante pour les responsables des commandes. De plus, la démarche de commande d'un matériel qui n'est pas renouvelé régulièrement est administrativement assez complexe. Ces phénomènes ont certainement participé à l'absence de prise en compte de l'alarme émise par les agents d'entretien.

De plus, il faut aussi parler d'un autre phénomène qui amplifie le premier décrit : il s'agit du coût très important du matériel médical. En effet, un matelas d'incubateur coûte environ 300€pièce pour une dimension de 630 mm x 480 mm x 40 mm. Ce sont des matelas composés d'une mousse de qualité qu'on retrouve dans certains matelas du commerce. Cette mousse viscoélastique, communément appelée mousse à mémoire de forme, est certifiée Oeko-Tex® Standard 100 classe I. Ceci signifie qu'elle ne contient pas de substance nocive pour la santé et est certifiée pour accueillir un enfant de moins de 3 ans. Sa densité n'est pas précisée par le fabricant et son épaisseur de 40 mm comprend 10 mm d'ondulations. Cette mousse est la matière la plus onéreuse du matelas mais sa dimension ne justifie pas un tel tarif. La housse, quant à elle, est faite de matériaux simples (polyester doublé de polyuréthane) et comprend une fermeture éclair.

Enfin, le défaut de communication du service avec l'EOH a certainement contribué à l'absence de prise en compte de l'alerte des agents d'entretien. En effet, si l'alerte avait été transmise à l'EOH, les hygiénistes seraient venus constater les faits et auraient pu argumenter très facilement l'intérêt majeur de changer rapidement les matelas en présentant les risques de leur utilisation pour des nouveau-nés prématurés. Ceci aurait pu constituer une aide et un gain de temps précieux pour éviter cet événement indésirable.

Facteurs latents

La néonatalogie est un service qui nécessite de nombreux intervenants et qui accueille les parents 7 jours sur 7, 24h sur 24. Les intervenants du service (pédiatres, infirmières, puéricultrices, auxiliaires de puériculture) sont bien au fait des mesures d'hygiène à respecter dans ce service à risque, ce qui n'est pas toujours le cas des intervenants extérieurs (radiologues, kinésithérapeutes, chirurgiens...). Malgré cela, il y a toujours des situations d'urgence qui ne permettent pas d'être parfaitement vigilant sur ces points. De plus, la charge de soins y est toujours importante et se fait particulièrement ressentir lors de la période de permanence des soins qui génère beaucoup de va-et-vient et de risques de défauts des mesures d'hygiène de base.

L'accueil des patients et de tous ces intervenants nécessite des locaux adaptés à cette activité dense. Le service de néonatalogie du CHU de Montpellier ne bénéficie pas de cette chance. Les locaux y sont exigus, mal agencés et le nombre de chambres insuffisant pour l'activité. Pour palier au problème du nombre de chambres, il n'y a pas d'autre

choix que d'installer dans les chambres les plus grandes, trois incubateurs au lieu de deux. Cette promiscuité est d'une manière générale très propice à la transmission croisée et à la contamination de l'environnement. De plus, l'agencement du service rend impossible la mise en chambre seule requise lors des précautions complémentaires contact, et l'instauration d'une sectorisation, très efficace pour lutter contre la diffusion d'une épidémie, n'est pas envisageable dans ces locaux.

Tous ces facteurs liés à l'activité des personnes et à l'agencement du service rendent les mesures d'hygiène difficiles à faire respecter par tous. Ceci crée deux risques principaux : la transmission croisée manuportée très fréquemment rencontrée en néonatalogie et la contamination environnementale qui servira alors de source de microorganismes pathogènes.

4.2.4 Mise en place et suivi des actions correctives

Surveillance de l'état et de l'entretien des matelas

Lors de l'investigation de l'épidémie, trois éléments nous ont conduits à suspecter les matelas des incubateurs comme réservoir environnemental de l'agent pathogène en cause. Le premier était le mauvais état des matelas constaté lors de l'audit. Le second a été révélé par la présence du clone épidémique de *K. pneumoniae* sur un incubateur prélevé lors de l'investigation environnementale. Et le dernier était la persistance d'humidité sur les matelas (y compris sur ceux ayant une housse non craquelée) après la désinfection par la vapeur. La décision a alors été prise de changer l'ensemble des matelas des incubateurs du service et d'élaborer un nouveau protocole d'entretien (Annexe A).

En attendant que la commande soit passée et livrée, nous avons décidé de sécuriser les incubateurs avant de les rendre disponibles pour le service. D'une part, le protocole d'entretien a été intensifié par l'ajout d'une étape de Détergent-Désinfectant après la désinfection par la vapeur. Même si l'utilisation de ces produits dans les incubateurs est sujette à controverse, nous avons estimé que la balance bénéfice / risque était en faveur d'une désinfection optimale des incubateurs. L'utilisation de la vapeur en tant qu'agent désinfectant est très appréciée en néonatalogie pour son efficacité et l'absence d'effets rémanants qu'ont les produits d'entretien classiques [92, 87]. Le fabricant SaniVap® qui commercialise le générateur de vapeur recommande d'utiliser la vapeur sur toutes les surfaces plastiques de l'incubateur mais aussi sur les matelas. Or notre expérience nous a montré que cette pratique engendrait une humidité excessive de la mousse des matelas propice au développement de microorganismes. C'est pourquoi, nous avons arrêté cette pratique en même temps que le changement des matelas pour la remplacer par une méthode de désinfection classique par un produit Détergeant-Désinfectant. Après avoir mis en place ce nouveau protocole d'entretien, un suivi par des prélèvements systématiques de la qualité microbiologique des incubateurs et matelas après nettoyage a été instauré afin d'évaluer ce nouveau protocole et de séquestrer et nettoyer à nouveau les incubateurs positifs à un microorganisme pathogène. Une fois les matelas changés, nous avons validé

la nouvelle procédure d'entretien des incubateurs.

Dans le cadre d'un suivi à plus long terme, nous avons instauré la réalisation de prélèvements aléatoires des incubateurs afin de surveiller à long terme l'aspect macroscopique et microbiologique de ces derniers. Cette expérience a permis de sensibiliser les agents d'entretien à l'importance de l'aspect visuel des matelas et d'alerter leur supérieur ainsi que l'EOH aux premiers signes d'usure de ces derniers pour prévoir de les remplacer.

Dans l'hypothèse qu'un nouvel incident semblable puisse survenir, nous avons décidé avec le service de soins et les agents d'entretien de mettre en place une traçabilité des couples patients / incubateurs. Ceci nous permettra de repérer plus facilement les incubateurs responsables du problème sur l'ensemble du parc.

Enfin, cette épidémie nous a fait supposer qu'il pourrait persister des défauts de désinfection des incubateurs après souillure accidentelle de l'enceinte par des selles d'enfants. Lors de la restitution de l'audit, nous avons donc rappelé à l'ensemble du personnel concerné la conduite à tenir dans ce cas. Si la souillure est peu importante, celle-ci doit être rapidement nettoyée et une désinfection doit être réalisée par du Détergeant-Désinfectant alimentaire. En cas de souillure importante, l'enfant doit être immédiatement changé d'incubateur et l'incubateur souillé doit être nettoyé comme décrit précédemment avant de suivre un protocole de désinfection complet.

Rappels des mesures d'hygiène

La survenue de nouveaux cas dans le secteur kangourou (où les nouveau-nés ne sont pas hospitalisés en incubateur) associée à l'audit des pratiques soulignant quelques manquements au respect des mesures d'hygiène de base suggère une part de transmission croisée manuportée dans la propagation de cette épidémie. C'est pourquoi des rappels sur les précautions standard et complémentaires et sur l'entretien de l'environnement ont été faits lors de la restitution de l'audit et pendant l'audit lui-même. Le rappel des précautions complémentaires contact à destination des intervenants extérieurs a été fait par mail à chacun d'entre eux ainsi que par l'instauration d'une affiche de rappel sur les chambres d'enfants colonisés et / ou infectés par une BMR (Annexe B). Le personnel paramédical a été sensibilisé par l'hygiéniste à l'importance de la formation des parents à l'hygiène des mains. Enfin, l'entretien séquentiel annuel, qui avait été retardé, a été programmé dès que possible.

Importance de la communication

Afin de s'assurer que l'ensemble du personnel ait tiré les leçons de cet épisode, un compte rendu d'audit a été présenté au personnel paramédical afin d'expliquer les risques encourus pour les patients ainsi que l'importance des mesures à respecter pour lutter contre l'épidémie. De plus, un point d'étape d'investigation et une restitution en fin

d'épidémie ont été présentés à l'ensemble de l'équipe médicale lors de leur Staff pour souligner les points essentiels et faire comprendre l'ensemble de la démarche.

Cette épidémie a été l'occasion de rappeler l'importance d'une bonne communication du service avec l'EOH. En effet, le cadre de santé a apprécié le soutien apporté lors de la commande des nouveaux matelas. Et désormais les agents d'entretien savent qu'ils peuvent contacter l'EOH pour toute question ou pour signaler tout problème.

4.3 Conséquences des actions menées sur l'écologie bactérienne du service

Le service de néonatalogie du CHU de Montpellier est un service à haut risque d'épidémies à BMR. C'est pourquoi une surveillance des patients infectés et / ou colonisés est réalisée depuis janvier 2014 afin de suivre l'écologie des BMR du service. Cette surveillance nous a montré dans un premier temps que les principales BMR du service sont des Entérobactéries. L'utilisation de ce suivi a permis d'évaluer l'impact du changement des matelas sur la survenue d'infections et / ou colonisations par BMR. En effet, l'expérience acquise lors de cette épidémie de *Klebsiella pneumoniae* BLSE dans le service de néonatalogie nous amène à penser que les matelas des incubateurs peuvent devenir des réservoirs de bactéries potentiellement pathogènes et ce d'autant plus que des bactéries pathogènes ont été retrouvées dans les anciens matelas après remplacement (Chapitre 4.1).

Afin d'apprécier de manière descriptive l'impact du changement de matelas sur l'écologie des BMR du service, nous avons calculé la densité d'incidence mensuelle des patients infectés et / ou colonisés par une BMR pour 1000 journées d'hospitalisation dans le service de néonatalogie de janvier 2014 à juin 2016 . (Figure 6) Le nombre mensuel de journées d'hospitalisation pour les mois de novembre et décembre 2015 n'a pas pu nous être fourni, nous avons donc fait une moyenne sur ces deux mois.

Ces données nous montrent une densité d'incidence plutôt régulière entre janvier 2014 et juin 2015 suivie d'une période d'augmentation brutale et significative de juillet 2015 à janvier 2016. Après février 2016, le mois suivant le changement de matelas, la densité d'incidence revient à un taux de base semblable à celui rencontré avant juin 2016. La hausse brutale et significative de la densité d'incidence des patients infectés et / ou colonisés par une BMR entre juillet 2015 et janvier 2016 est un phénomène très surprenant et inhabituel. Un point important à souligner est que le changement des matelas a permis de mettre fin à ce pic de BMR. Même si cet épisode est certainement multifactoriel, il y a fort à penser que les matelas ont joué un rôle majeur dans l'entretien du réservoir bactérien.

Les prélèvements réalisés sur les anciens matelas ont permis de vérifier cette hypothèse. En effet, 19 matelas étaient contaminés par des bactéries pathogènes sur 42 dont 2 par des Entérobactéries. Ceci montre bien que ces vieux matelas abîmés étaient un

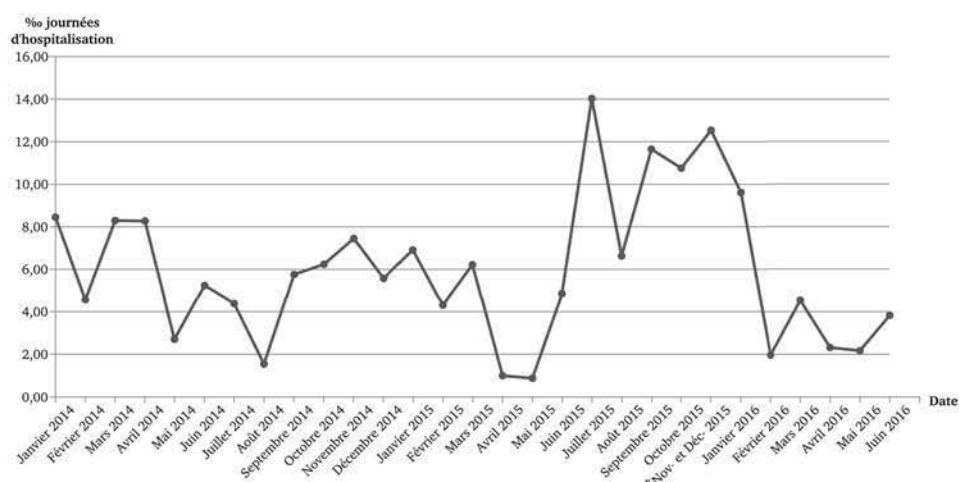


FIGURE 6 – Densité d'incidence mensuelle des patients infectés et / ou colonisés par une BMR pour 1000 journées d'hospitalisation dans le service de néonatalogie

réservoir de bactéries pathogènes.¹ Cependant, la faible proportion d'Entérobactéries retrouvées par rapport à ce qui pourrait être attendu du fait de cette vague d'Entérobactéries BMR peut paraître surprenante. Cela peut s'expliquer par la réalisation tardive de ces analyses. En effet, nous ne nous attendions pas à un arrêt si brutal de l'épidémie et nous n'avons pas pensé tout de suite à réaliser ces analyses à grande échelle. En effet un matelas très endommagé a été analysé le 13 janvier 2016 mais ce n'est qu'environ 2 semaines après le changement des matelas et en lien avec l'absence de survenue de nouveaux cas que nous nous sommes aperçus de l'importance majeure du réservoir environnemental incarné par les matelas. L'idée nous est alors venue d'évaluer l'importance de ce réservoir par l'analyse de la mousse et de la housse de tous les anciens matelas. Ces analyses ont donc été faites entre le 25 janvier et le 25 février 2016. Même si aucune donnée précise n'est connue sur la durée de persistance d'Entérobactéries viables dans l'environnement lorsque les conditions de température et d'humidité ne s'y prêtent pas, l'expérience du laboratoire d'hygiène du CHU de Montpellier suggère une faible durée de persistance. C'est certainement pour cette raison que nous n'avons mis en évidence que peu d'Entérobactéries dans ces matelas.

1. Pour plus de détails, voir le chapitre 4.1

5 Conclusion

La fragilité des nouveau-nés hospitalisés en néonatalogie fait partie des grandes difficultés rencontrées dans ce service. En regardant de plus près le problème du risque infectieux et épidémique, on se rend compte que l'environnement proche du patient joue un rôle majeur. En effet, l'enfant se colonise avec les bactéries de son environnement proche (dont les BMR hospitalières) [17, 48] et lorsqu'il s'infecte, c'est le plus souvent avec ces bactéries endogènes [34]. Ainsi, l'environnement proche de l'enfant orchestre sa colonisation mais aussi son risque épidémique car il peut devenir une source de transmission croisée voire un réservoir de bactéries potentiellement pathogènes. C'est parce que les infections nosocomiales et les épidémies sont assez fréquentes en néonatalogie que l'entretien de l'environnement de ce service est une des mesures de prévention les plus importantes après l'hygiène des mains qui reste la première mesure de prévention.

Les incubateurs sont des dispositifs médicaux présents au plus proche des nouveau-nés hospitalisés en néonatalogie. Par l'atmosphère chaude et humide ambiante, les microorganismes peuvent facilement s'y développer [45]. Ce problème est généralement maîtrisé par un nettoyage et une désinfection régulière des incubateurs selon un protocole défini par l'établissement de soins. Au CHU de Montpellier, l'investigation poussée d'une épidémie de *K. pneumoniae* BLSE a remis en cause plusieurs pratiques dont celles relatives à l'entretien et à la surveillance des incubateurs. En effet, cette épidémie clonale qui a touché 19 patients en trois mois avait pour principal réservoir les matelas des incubateurs. Cette expérience nous a fait prendre conscience que la vapeur utilisée sur les matelas pour leur désinfection était source d'un excès d'humidité très propice à un développement anormal de microorganismes. Cette persistance d'humidité était largement amplifiée par des matelas abîmés dont la housse craquelée laissait plus facilement passer l'eau. L'épidémie a finalement été enrayerée par une somme de moyens de prévention dont le renforcement des mesures d'hygiène de base et surtout par le changement des matelas. Afin de prévenir la survenue d'un événement similaire, la désinfection par la vapeur a été proscrite sur les matelas et une surveillance macroscopique et microbiologie des incubateurs a été mise en place par la réalisation régulière de prélèvements. Afin de faire part de cette expérience intéressante au plus grand nombre, l'article présenté dans le chapitre 4.1 sera soumis fin septembre dans le journal *Infection Control & Hospital Epidemiology*, un poster a été présenté lors du XXVII^{ème} Congrès National de la SF2H organisé en Juin dernier à Nantes (Annexe C) et une fiche REX va être élaborée pour diffusion sur la partie dédiée du site internet du CCLIN. Par cette démarche et notre collaboration avec l'ARLIN du Languedoc-Roussillon, nous souhaitons faire émaner de nouvelles recommandations nationales sur l'entretien des incubateurs. En effet, des mises à jours sont nécessaires car les dernières recommandations du CCLIN Sud-Est datent de décembre 2010 [1] et recommandent l'usage de la désinfection par la vapeur sur les matelas des incubateurs.

Il faut savoir que les infections nosocomiales et les épidémies sont des problèmes récur-

rents en néonatalogie et ce quel que soit le pays. Une cause commune à ce constat : la fragilité des patients qui favorise le risque infectieux et épidémique. Pour limiter ces risques, des moyens préventifs simples existent mais ne sont jamais suffisants pour venir à bout de ce problème. Cette problématique d'ampleur est le sujet de nombreuses recherches qui permettent de comprendre différents aspects de ce phénomène très complexe. Malgré l'essor de ces connaissances qui révèle principalement les facteurs intrinsèques du patient, il n'y a pas eu récemment de recommandation innovante majeure dans le domaine de la prévention de ces risques. Mais une piste semble être prometteuse. Nous le savons maintenant, la sensibilité accrue aux infections et à la colonisation par des BMR des nouveau-nés hospitalisés en néonatalogie est étroitement liée à un retard d'implantation d'un microbiote intestinal normal. Afin de limiter ce phénomène, l'ajout à l'alimentation de probiotiques tels que les *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium*, principaux microorganismes anaérobies du microbiote fécal normal, réduirait le risque d'infections graves et notamment d'entéocolites ulcéro-nécrosantes [78]. Elle réduirait aussi le réservoir patient par diminution du portage digestif et donc des infections à BMR ce qui pourrait limiter le risque de diffusion épidémique. Mais cette pratique est encore du domaine de la recherche et ne fait pour l'instant partie d'aucun consensus.

Références

- [1] L'entretien des incubateurs en service de néonatalogie, Fédération nationale des pédiatres néonatalogues, CCLIN Sud-Est.
- [2] Ministère de l'emploi et de la solidarité. Décret No 98-900 du 9 octobre 1998 relatif aux conditions techniques de fonctionnement auxquelles doivent satisfaire les établissements de santé pour être autorisés à pratiquer les activités d'obstétrique, de néonatalogie ou de réanimation néonatale et modifiant le code de la santé publique. Journal officiel de la République Française, No 235 du 10 octobre 1998, pp.15344.
- [3] Surveillance des cathéters veineux centraux en néonatalogie, Réseau Néocat, Résultats 2014.
- [4] EURO-PERISTAT, Rapport européen sur la santé périnatale : la France dans une position moyenne, mais avec le taux de mortinatalité le plus élevé d'Europe, 2010.
- [5] M.S. Abbassi, A. Touati, W. Achour, A. Cherif, S. Jabnoun, N. Khrouf, and A. Ben Hassen. *Stenotrophomonas maltophilia* responsible for respiratory infections in neonatal intensive care unit : Antibiotic susceptibility and molecular typing. *Pathologie Biologie*, 57(5) :363 – 367, 2009.
- [6] A. Adler, E. Solter, S. Masarwa, T. Miller-Roll, B. Abu-Libdeh, H. Khammash, K. Najem, S. Dekadek, C. Stein-Zamir, N. Nubani, A. Kunbar, M.V. Assous, Y. Carmeli, and M.J Schwaber. Epidemiological and microbiological characteristics of an outbreak caused by oxa-48-producing enterobacteriaceae in a neonatal intensive care unit in jerusalem, israel. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(9) :2926–2930, 2013.
- [7] B. Anderson, S. Nicholas, B. Sprague, J. Campos, B. Short, and N. Singh. Molecular and descriptive epidemiology of multidrug-resistant enterobacteriaceae in hospitalized infants. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(03) :250–255, 2008.
- [8] M. Anil, M. Helvacı, N. Ozkalay, E. Toprak, A.B. Anil, M. Dilek, and N. Agus. *Salmonella typhimurium* outbreak in a neonatal unit in turkey. *The Indian Journal of Pediatrics*, 76(6) :629–633, 2009.
- [9] S. Arbolea, A. Binetti, N. Salazar, N. Fernandez, G. Solis, A. Hernandez-Barranco, A. Margolles, C.G. de los Reyes-Gavilan, and M. Gueimonde. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(3) :763–772, 2012.
- [10] F. Arena, T. Giani, E. Becucci, V. Conte, G. Zanelli, MM. D'Andrea, G. Buono-core, F. Bagnoli, A. Zanchi, F. Montagnani, and GM. Rossolini. Large oligoclonal outbreak due to *klebsiella pneumoniae* st14 and st26 producing the fox-7 ampc β -lactamase in a neonatal intensive care unit. *Journal of clinical microbiology*, 51(12) :4067–4072, 2013.
- [11] U. Arslan, I. Erayman, S. Kirdar, S. Yuksekkaya, O. Cimen, I. Tuncer, and B. Bozdogan. *Serratia marcescens* sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics International*, 52(2) :208–212, 2010.

- [12] Yannick Aujard. *Infections néonatales Bactériennes, mycosiques, parasitaires et virales*. Elsevier Masson, 2015.
- [13] G. Bayramoglu, K. Buruk, U. Dinc, M. Mutlu, G. Yilmaz, and Y. Aslan. Investigation of an outbreak of *serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 44(2) :111 – 115, 2011.
- [14] D.R. Bhatt, R. White, G. Martin, L.J. Van Marter, N. Finer, J.P. Goldsmith, C. Ramos, S. Kukreja, and R. Ramanathan. Transitional hypothermia in preterm newborns. *Journal of Perinatology*, 27 :S45–S47, 2007.
- [15] T.K. Boehmer, W.M. Bamberg, T.S. Ghosh, A. Cronquist, M.E. Fornof, M.K. Cichon, K. Gershman, and R.L. Vogt. Health care–associated outbreak of salmonella tennessee in a neonatal intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 37(1) :49 – 55, 2009.
- [16] A. Borer, I. Livshiz-Riven, A. Golan, L. Saidel-Odes, E. Zmora, C. Raz, R. Melamed, Y. Plakht, and N. Peled. Hospital-acquired conjunctivitis in a neonatal intensive care unit : Bacterial etiology and susceptibility patterns. *American journal of infection control*, 38(8) :650–652, 2010.
- [17] B. Brooks, B.A. Firek, C.S. Mille, I. Sharon, B.C. Thomas, R. Baker, M.J. Morowitz, and J.F. Banfield. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. *Microbiome*, 2(1) :1–16, 2014.
- [18] S. Buffet-Bataillon, V. Rabier, P. Bétrémieux, A. Beuchée, M. Bauer, P. Pladys, E. Le Gall, M. Cormier, and A. Jolivet-Gougeon. Outbreak of *serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit : contaminated unmedicated liquid soap and risk factors. *Journal of Hospital Infection*, 72(1) :17 – 22, 2009.
- [19] F. Campeotto, F. Garnier, N. Kalach, P. Soulaïnes, C. Dupont, and J. Raymond. Acquisition nosocomiale de bactéries multirésistantes dans un service de néonatalogie : étude prospective et analyse des facteurs de risque. *Archives de Pédiatrie*, 11(11) :1314 – 1318, 2004.
- [20] J.B. Cantey, P. Sreeramoju, M. Jaleel, S. Trevino, R. Gander, L.S. Hynan, J. Hill, C. Brown, W. Chung, J.D. Siegel, and P.J. Sánchez. Prompt control of an outbreak caused by extended-spectrum β -lactamase–producing *klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *The Journal of Pediatrics*, 163(3) :672 – 679.e3, 2013.
- [21] E.M. Carrillo-Casas, Z. Suástegui-Urquijo, S. Arroyo-Escalante, R. Morales-Espinosa, D. Moncada-Barrón, L. Hernández-Delgado, J.L. Méndez-Sánchez, G. Delgado-Sapién, A. Navarro-Ocana, Á. Manjarrez-Hernández, J. Xicohtencatl-Cortes, and R. Hernández-Castro. *E. coli* outbreak in a neonate intensive care unit in a general hospital in mexico city. *Folia microbiologica*, 58(3) :229–234, 2013.
- [22] C. Casolari, M. Pecorari, E. Della Casa, S. Cattani, C. Venturelli, G. Fabio, S. Tagliazucchi, GF. Serpini, M. Migaldi, P. Marchegiano, F. Rumpianesi, and F. Ferrari. *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit : two long-term multiclone outbreaks in a 10-year observational study. *New Microbiologica*, 36(4) :373–383, 2013.

- [23] P.C. Chan, L.M. Huang, H.C. Lin, L.Y. Chang, M.L. Chen, C.Y. Lu, P.I. Lee, J.M. Chen, C.Y. Lee, H.J. Pan, J.T. Wang, S.C. Chang, and Y.C. Chen. Control of an outbreak of pandrug-resistant acinetobacter baumannii colonization and infection in a neonatal intensive care unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 28 :423–429, 4 2007.
- [24] R. Clark, R. Powers, R. White, B. Bloom, P. Sanchez, and D.K. Benjamin. Nosocomial infection in the NICU : a medical complication or unavoidable problem ? *Journal of perinatology*, 24(6) :382–388, 2004.
- [25] R. Clark, R. Powers, R. White, B. Bloom, P. Sanchez, and D.K. Benjamin. Prevention and treatment of nosocomial sepsis in the NICU. *Journal of Perinatology*, 24(7) :446–453, 2004.
- [26] E.C. Claud and W.A. Walker. Hypothesis : inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *The FASEB Journal*, 15(8) :1398–1403, 2001.
- [27] F. Cortese, P. Scicchitano, M. Gesualdo, A. Filaninno, E. De Giorgi, F. Schettini, N. Laforgia, and M.M. Ciccone. Early and late infections in newborns : Where do we stand ? a review. *Pediatrics & Neonatology*, pages –, 2015.
- [28] D. Dai and W.A. Walker. Protective nutrients and bacterial colonization in the immature human gut. *Advances in pediatrics*, 46 :353–382, 1999.
- [29] M. Dalben, G. Varkulja, M. Basso, V.L.J. Krebs, M.A. Gibelli, I. van der Heijden, F. Rossi, G. Duboc, A.S. Levin, and S.F. Costa. Investigation of an outbreak of enterobacter cloacae in a neonatal unit and review of the literature. *Journal of Hospital Infection*, 70(1) :7 – 14, 2008.
- [30] M. Dardas, S.R. Gill, A. Grier, G.S. Pryhuber, A.L. Gill, Y.H. Lee, and R. Guillet. The impact of postnatal antibiotics on the preterm intestinal microbiome. *Pediatric research*, 76(2) :150–158, 2014.
- [31] M.D. David, T.M.A. Weller, P. Lambert, and A.P. Fraise. An outbreak of serratia marcescens on the neonatal unit : a tale of two clones. *Journal of Hospital Infection*, 63(1) :27 – 33, 2006.
- [32] D. de Oliveira Garcia, Y. Doi, D. Szabo, J.M. Adams-Haduch, T.M.I. Vaz, D. Leite, M.C. Padoveze, M.P. Freire, F.P. Silveira, and D.L. Paterson. Multiclonal outbreak of klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum β -lactamase ctx-m-2 and novel variant ctx-m-59 in a neonatal intensive care unit in brazil. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(5) :1790–1793, 2008.
- [33] L. Decembrino, A. Maini, N. Decembrino, I. Maggi, and S. Lacerenza. Management of outbreaks in neonatal intensive care units. *Early Human Development*, 90 :S54 – S56, 2014.
- [34] A. Dedeić-Ljubović and M. Hukić. Occurrence of colonization and infection with multidrug-resistant organisms in a neonatal intensive care unit. *Medicinski Glasnik*, 9(2) :304, August 2012.

- [35] L.A. Denkel, F. Schwab, A. Kola, R. Leistner, L. Garten, K. von Weizsäcker, C. Gefers, P. Gastmeier, and B. Piening. The mother as most important risk factor for colonization of very low birth weight (VLBW) infants with extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae (ESBL-E). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(8) :2230–2237, 2014.
- [36] M.G. Dominguez-Bello, E.K. Costello, M. Contreras, M. Magris, G. Hidalgo, N. Fierer, and R. Knight. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26) :11971–11975, 2010.
- [37] C. Dupont, A.L. Michon, E. Jumas-Bilak, N. Norskov-Lauritsen, R. Chiron, and H. Marchandin. Inpatient diversity of achromobacter spp. involved in chronic colonization of cystic fibrosis airways. *Infection, Genetics and Evolution*, 32 :214 – 223, 2015.
- [38] T.G. Elgin, S.L. Kern, and S.J. McElroy. Development of the neonatal intestinal microbiome and its association with necrotizing enterocolitis. *Clinical therapeutics*, 38(4) :706–715, 2016.
- [39] D. Engur, B. Cetinkaya Cakmak, M. Kaynak Turkmen, M. Telli, M. Eyigor, and M. Guzunler. A milk pump as a source for spreading acinetobacter baumannii in a neonatal intensive care unit. *Breastfeeding Medicine*, 9(10) :551–554, 2014.
- [40] G. Fabbri, M. Panico, L. Dallolio, R. Suzzi, M. Ciccia, F. Sandri, and P. Farruggia. Outbreak of ampicillin/piperacillin-resistant klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit (nicu) : investigation and control measures. *International journal of environmental research and public health*, 10(3) :808–815, 2013.
- [41] A. Filleron and E. Jumas-Bilak. Implantation du microbiote intestinal chez l’enfant : ontogenèse d’une niche écologique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2015(469) :27 – 35, 2015. Microbiote humain.
- [42] P. Gastmeier, A. Loui, S. Stamm-Balderjahn, S. Hansen, I. Zuschneid, D. Sohr, M. Behnke, M. Obladen, R. Vonberg, and H. Rüden. Outbreaks in neonatal intensive care units—they are not like others. *American Journal of Infection Control*, 35(3) :172 – 176, 2007.
- [43] M. Giuffrè, C. Bonura, D.M. Geraci, L. Saporito, R. Catalano, S. Di Noto, F. Nociforo, G. Corsello, and C. Mammina. Successful control of an outbreak of colonization by klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing k. pneumoniae sequence type 258 in a neonatal intensive care unit, italy. *Journal of Hospital Infection*, 85(3) :233 – 236, 2013.
- [44] M. Giuffrè, D. Cipolla, C. Bonura, D.M. Geraci, A. Aleo, S. Di Noto, F. Nociforo, G. Corsello, and C. Mammina. Outbreak of colonizations by extended-spectrum β -lactamase-producing escherichia coli sequence type 131 in a neonatal intensive care unit, italy. *Antimicrobial resistance and infection control*, 2(1) :1, 2013.
- [45] M.C. De Goffau, K.A. Bergman, H.J. De Vries, N.E.L. Meessen, J.E. Degener, J.M. Van Dijk, and H.J.M. Harmsen. Cold spots in neonatal incubators are

- hot spots for microbial contamination. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(24) :8568–8572, 2011.
- [46] M.W. Groer, A.A. Luciano, L.J. Dishaw, T.L. Ashmeade, E. Miller, and J.A. Gilbert. Development of the preterm infant gut microbiome : a research priority. *Microbiome*, 2(1) :1–8, 2014.
- [47] J. Haas, E. Larson, B. Ross, B. See, and L. Saiman. Epidemiology and diagnosis of hospital-acquired conjunctivitis among neonatal intensive care unit patients. *The Pediatric infectious disease journal*, 24(7) :586, 2005.
- [48] L.E. Hartz, W. Bradshaw, and D.H. Brandon. Potential NICU environmental influences on the neonate’s microbiome : A systematic review. *Advances in Neonatal Care*, 15(5) :324–335, 2015.
- [49] T. Hendrik, A.F. Voor, and M.C. Vos. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing klebsiella spp. : A systematic review and meta-analyses. *PloS one*, 10(10) :e0140754, 2015.
- [50] S. Hosoglu, M. Hascuhadar, E. Yasar, S. Uslu, and B. Aldudak. Control of an acientobacter baumannii outbreak in a neonatal icu without suspension of service : a devastating outbreak in diyarbakir, turkey. *Infection*, 40(1) :11–18, 2012.
- [51] A.M.K. Al Jarousha, I.A. El Qouqa, A.H.N. El Jadba, and A.S. Al Affi. An outbreak of serratia marcescens septicaemia in neonatal intensive care unit in gaza city, palestine. *Journal of Hospital Infection*, 70(2) :119 – 126, 2008.
- [52] A. Khajuria, AK. Praharaj, M. Kumar, N. Grover, and A. Aggarwal. Multidrug resistant ndm-1 metallo-beta-lactamase producing klebsiella pneumoniae sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit in a tertiary care center at central india. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 2014.
- [53] E. Lachassinne, E. Letamendia-Richard, and J. Gaudelus. épidémiologie des infections nosocomiales en néonatalogie. *Archives de Pédiatrie*, 11(3) :229 – 233, 2004.
- [54] V. Lacroze. Prématurité : définitions, épidémiologie, étiopathogénie, organisation des soins. *Journal de pédiatrie et de puericulture*, 28(1) :47–55, Février 2015.
- [55] C. Legeay, C. Bourigault, D. Lepelletier, and J.R. Zahar. Prevention of healthcare-associated infections in neonates : room for improvement. *Journal of Hospital Infection*, 89(4) :319 – 323, 2015. Proceedings from the 9th Healthcare Infection Society International Conference9th Healthcare Infection Society International Conference.
- [56] O. Levy. Innate immunity of the newborn : basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology*, 7(5) :379–390, 2007.
- [57] K.V.B. Lima, R.G.C. Carvalho, I.C.R.S. Carneiro, J.L.S. Lima, C.O. Sousa, E.C.B. Loureiro, L.L.C. Sá, and F.C. Bastos. Outbreak of neonatal infection by an endemic clone of serratia marcescens. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(1) :106–109, 2011.

- [58] R. Lin, B. Wu, X.F. Xu, X.C. Liu, H. Ye, and G.Y. Ye. Extended-spectrum beta-lactamase-producing klebsiella pneumoniae infection in a neonatal intensive care unit. *World Journal of Pediatrics*, 8(3) :268–271, 2012.
- [59] T.M. MacDonald, J.M. Langley, T. Mailman, K. Allain, G. Nelson, L. Hatton, T. Sanford, K. George, D. Hancock, D. Stinson, and M. Mulvey. Serratia marcescens outbreak in a neonatal intensive care unit related to the exit port of an oscillator. *Pediatric Critical Care Medicine*, 12(6) :e282–e286, 2011.
- [60] T.A. Madani, S. Alsaedi, L. James, B.S. Eldeek, A.A. Jiman-Fatani, M.M. Alawi, D. Marwan, M. Cudal, M. Macapagal, R. Bahlas, and M. Farouq. Serratia marcescens-contaminated baby shampoo causing an outbreak among newborns at king abdulaziz university hospital, jeddah, saudi arabia. *Journal of Hospital Infection*, 78(1) :16 – 19, 2011.
- [61] H.C. Maltezou, E. Papacharalambous, K. Tryfinopoulou, L. Ftika, A. Maragos, G. Kyriakeli, P. Katerelos, C. Trakateli, M. Polemis, E. Roilides, A. Vatopoulos, and N. Nikolaidis. Outbreak of pan-susceptible klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 45(11) :872–877, 2013.
- [62] H.C. Maltezou, K. Tryfinopoulou, P. Katerelos, L. Ftika, O. Pappa, M. Tseroni, E. Kostis, C. Kostalos, H. Prifti, K. Tzanetou, and A. Vatopoulos. Consecutive serratia marcescens multiclone outbreaks in a neonatal intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 40(7) :637 – 642, 2012.
- [63] L. Maragakis, A. Winkler, M.G. Tucker, S.E. Cosgrove, T. Ross, E. Lawson, K.C. Carroll, and T.M. Perl. Outbreak of multidrug-resistant serratia marcescens infection in a neonatal intensive care unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29 :418–423, 5 2008.
- [64] S. Matamoros, C. Gras-Leguen, F. Le Vacon, G. Potel, and M.F. de La Cochetiere. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends in Microbiology*, 21(4) :167 – 173, 2013.
- [65] A. Mavroidi, A. Liakopoulos, A. Gounaris, M. Goudesidou, K. Gaitana, V. Miriagou, and E. Petinaki. Successful control of a neonatal outbreak caused mainly by st20 multidrug-resistant shv-5-producing klebsiella pneumoniae, greece. *BMC pediatrics*, 14(1) :1, 2014.
- [66] E.J. McGrath, T. Chopra, N. Abdel-Haq, K. Preney, W. Koo, B.I. Asmar, and K.S. Kaye. An outbreak of carbapenem-resistant acinetobacter baumannii infection in a neonatal intensive care unit : Investigation and control. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 32 :34–41, 1 2011.
- [67] E. Foglia M.D. Meier and A. Elward. Ventilator-associated pneumonia in neonatal and pediatric intensive care unit patients. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3) :409–425, 2007.
- [68] J.M. Melville and T.J.M. Moss. The immune consequences of preterm birth. *Frontiers in Neuroscience*, 7(79), 2013.

- [69] Á. Morillo, V. González, J. Aguayo, C. Carre no, M.J. Torres, D. Jarana, M.J. Artacho, F. Jiménez, M. Conde, and J. Aznar. A six-month *serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, pages –, 2016.
- [70] K. Nakamura, M. Kaneko, Y. Abe, N. Yamamoto, H. Mori, A. Yoshida, K. Ohashi, S. Miura, T.T. Yang, N. Momoi, and K. Kanemitsu. Outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *escherichia coli* transmitted through breast milk sharing in a neonatal intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, 92(1) :42 – 46, 2016. Multi-drug Resistant Gram Negative Bacteria.
- [71] S.A. Narayan, J.L. Kool, M. Vakololoma, A.C. Steer, A. Mejia, A. Drake A. Jenney, J.F. Turton, J. Kado, and L. Tikoduadua. Investigation and control of an outbreak of *enterobacter aerogenes* bloodstream infection in a neonatal intensive care unit in fiji. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 30 :797–800, 8 2009.
- [72] J. Oteo, E. Cercenado, S. Fernández-Romero, D. Saéz, B. Padilla, E. Zamora, O. Cuevas, V. Bautista, and J. Campos. Extended-spectrum- β -lactamase-producing *escherichia coli* as a cause of pediatric infections : Report of a neonatal intensive care unit outbreak due to a ctx-m-14-producing strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(1) :54–58, 2012.
- [73] J. Oteo, E. Cercenado, A. Vindel, V. Bautista, S. Fernández-Romero, D. Saéz, B. Padilla, E. Zamora, and J. Campos. Outbreak of multidrug-resistant ctx-m-15-producing *enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit. *Journal of Medical Microbiology*, 62(4) :571–575, 2013.
- [74] S.J. Patel and L. Saiman. Antibiotic resistance in neonatal intensive care unit pathogens : Mechanisms, clinical impact, and prevention including antibiotic stewardship. *Clinics in Perinatology*, 37(3) :547 – 563, 2010. Healthcare Associated Infections in the Neonatal Intensive Care Unit.
- [75] N. Pestourie, F. Garnier, O. Barraud, A. Bedu, M.C. Ploy, and M. Mounier. Outbreak of ampc β -lactamase-hyper-producing *enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit in a french teaching hospital. *American Journal of Infection Control*, 42(4) :456 – 458, 2014.
- [76] B. Quinet, D. Mitanchez, B. Salauze, A. Carbonne, E. Bingen, S. Fournier, D. Moissenet, and H. Vu-Thien. Description and investigation of an outbreak of extended-spectrum beta-lactamase producing *escherichia coli* strain in a neonatal unit. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*, 17 Suppl 4 :S145—9, September 2010.
- [77] T. Raju. Developmental physiology of late and moderate prematurity. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 17(3) :126 – 131, 2012. The Late and Moderate Preterm Baby.
- [78] S.C. Rao, G.K. Athalye-Jape, G.C. Deshpande, K.N. Simmer, and S.K. Patole. Probiotic supplementation and late-onset sepsis in preterm infants : A meta-analysis. *Pediatrics*, 2016.

- [79] V. Rastogi, P. Nirwan, S. Jain, and A. Kapil. Nosocomial outbreak of septicaemia in neonatal intensive care unit due to extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* showing multiple mechanisms of drug resistance. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 28(4) :380–384, 2010.
- [80] S. Rettedal, I.H. Löhr, O. Natas, C.G. Giske, A. Sundsfjord, and K. Oymar. First outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *klebsiella pneumoniae* in a norwegian neonatal intensive care unit and associated with contaminated breast milk and resolved by strict cohorting. *APMIS*, 120(8) :612–621, 2012.
- [81] S. Roy, AK. Singh, R. Viswanathan, R K. Nandy, and S. Basu. Transmission of imipenem resistance determinants during the course of an outbreak of ndm-1 *escherichia coli* in a sick newborn care unit. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011.
- [82] E. Ruiz, B. Rojo-Bezares, Y. Sáenz, I. Olarte, I. Esteban, R. Rocha-Gracia, M. Zarazaga, and C. Torres. Outbreak caused by a multi-resistant *klebsiella pneumoniae* strain of new sequence type {ST341} carrying new genetic environments of *aac(6′)-ib-cr* and *qnrS1* genes in a neonatal intensive care unit in spain. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(7) :464 – 469, 2010.
- [83] C. Sánchez-Carrillo, B. Padilla, M. Marín, M. Rivera, E. Cercenado, D. Vigil, M. Sánchez-Luna, and E. Bouza. Contaminated feeding bottles : The source of an outbreak of *pseudomonas aeruginosa* infections in a neonatal intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 37(2) :150 – 154, 2009. Hemodynamic Monitoring in the Diagnosis and Management of Heart Failure.
- [84] A. Schwiertz, B. Gruhl, M. Lobnitz, P. Michel, M. Radke, and M. Blaut. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatric research*, 54(3) :393–399, 2003.
- [85] K.C. Sekar. Iatrogenic complications in the neonatal intensive care unit. *Journal of Perinatology*, 30 :S51–S56, 2010.
- [86] R. Sender, S. Fuchs, and R. Milo. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *bioRxiv*, 2016.
- [87] J.D. Sexton, B.D. Tanner, S.L. Maxwell, and C.P. Gerba. Reduction in the microbial load on high-touch surfaces in hospital rooms by treatment with a portable saturated steam vapor disinfection system. *American Journal of Infection Control*, 39(8) :655 – 662, 2011.
- [88] C. Silwedel, U. Vogel, H. Claus, K. Glaser, C.P. Speer, and J. Wirbelauer. Outbreak of multidrug-resistant *escherichia coli* sequence type 131 in a neonatal intensive care unit : efficient active surveillance prevented fatal outcome. *Journal of Hospital Infection*, 93(2) :181 – 186, 2016.
- [89] A. Simmonds, J. Munoz, M. Agüero-Rosenfeld, C. Carbonaro, M. Montecalvo, B. Clones, and E.F. LaGamma. Outbreak of *acinetobacter* infection in extremely low birth weight neonates. *The Pediatric infectious disease journal*, 28(3) :210–214, 2009.

- [90] S. Sumer, H. Turk Dagi, D. Findik, U. Arslan, N. Aktug Demir, O. Ural, and I. Tuncer. Two outbreaks of esbl-producing klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics International*, 56(2) :222–226, 2014.
- [91] P.D. Tamma, P. Savard, T. Pál, Á. Sonnevend, T.M. Perl, and A.M. Milstone. An outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 33 :631–634, 6 2012.
- [92] B.D. Tanner. Reduction in infection risk through treatment of microbially contaminated surfaces with a novel, portable, saturated steam vapor disinfection system. *American Journal of Infection Control*, 37(1) :20 – 27, 2009.
- [93] A. Touati, W. Achour, A. Cherif, H. Ben Hmida, F. Bou Afif, S. Jabnoun, N. Khrouf, and A. Ben Hassen. Outbreak of acinetobacter baumannii in a neonatal intensive care unit : Antimicrobial susceptibility and genotyping analysis. *Annals of Epidemiology*, 19(6) :372 – 378, 2009.
- [94] O. Tsiatsiou, E. Iosifidis, A. Katragkou, V. Dimou, K. Sarafidis, T. Karampatakis, C. Antachopoulos, A. Orfanou, A. Tsakris, V. Drossou-Agakidou, and E. Roilides. Successful management of an outbreak due to carbapenem-resistant acinetobacter baumannii in a neonatal intensive care unit. *European Journal of Pediatrics*, 174(1) :65–74, 2015.
- [95] H.L. Tubbs-Cooley, R.H. Pickler, J.B. Younger, and B.A. Mark. A descriptive study of nurse-reported missed care in neonatal intensive care units. *Journal of Advanced Nursing*, 71(4) :813–824, 2015.
- [96] D. Turck, L. Razanamahefa, C. Dazelle, N. Gelbert, G. Gremmo-F ’eger, A. Manela, D. Rieu, and M. Vidailhet. Plan d’action : Allaitement maternel. *Médecine & Nutrition*, 46(3-4) :25–47, 2010.
- [97] P.J. Turnbaugh and A. Stintzi. Human health and disease in a microbial world. *Frontiers in Microbiology*, 2(190), 2011.
- [98] S. Unger, A. Stintzi, P. Shah, D. Mack, and D.L. O’Connor. Gut microbiota of the very-low-birth-weight infant. *Pediatric research*, 77(1-2) :205–213, 2014.
- [99] R. Viswanathan, A. K. Singh, S. Mukherjee, R. Mukherjee, P. Dass, and S. Basu. An outbreak of neonatal sepsis presenting with exanthematous rash caused by klebsiella pneumoniae. *Epidemiology & Infection*, 139 :226–228, 2 2011.
- [100] J.L. Wayenberg and A. Pardou. Les hypoglycémies modérées de l’enfant né prématurément : est-ce vraiment important ? *Archives de Pédiatrie*, 15(2) :153 – 156, 2008.
- [101] S. Wen, G. Smith, Q. Yang, and M. Walker. Epidemiology of preterm birth and neonatal outcome. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 9(6) :429 – 435, 2004. Preterm Birth : Advances in Prevention and Management.
- [102] H. Yapicioglu, T.G. Gokmen, D. Yildizdas, F. Koksall, F. Ozlu, E. Kale-Cekinmez, K. Mert, B. Mutlu, M. Satar, N. Narli, and A. Candevir. Pseudomonas aeruginosa

- infections due to electronic faucets in a neonatal intensive care unit. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 48(5) :430–434, 2012.
- [103] T. Yatsunenko, F.E. Rey, M.J. Manary, I. Trehan, M.G. Dominguez-Bello, M. Contreras, M. Magris, G. Hidalgo, R.N. Baldassano, A.P. Anokhin, A.C. Heath, B. Warner, J. Reeder, J. Kuczynski, J.G. Caporaso, C.A. Lozupone, C. Lauber, J.C. Clemente, D. Knights, R. Knight, and J.I. Gordon. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402) :222–227, 2012.
- [104] F. Yu, Q. Ying, C. Chen, T. Li, B. Ding, Y. Liu, Y. Lu, Z. Qin, C. Parsons, C. Salgado, D. Qu, J. Pan, and L. Wang. Outbreak of pulmonary infection caused by *klebsiella pneumoniae* isolates harbouring bla_{IMP-4} and bla_{DHA-1} in a neonatal intensive care unit in china. *Journal of Medical Microbiology*, 61(7) :984–989, 2012.
- [105] R. Zheng, Q. Zhang, Y. Guo, Y. Feng, L. Liu, A. Zhang, Y. Zhao, X. Yang, and X. Xia. Outbreak of plasmid-mediated ndm-1-producing *klebsiella pneumoniae* st105 among neonatal patients in yunnan, china. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 15(1) :1, 2016.
- [106] J. Zhou, G. Li, X. Ma, Q. Yang, and J. Yi. Outbreak of colonization by carbapenemase-producing *klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit : Investigation, control measures and assessment. *American Journal of Infection Control*, 43(10) :1122 – 1124, 2015.

Annexes

A Procédure d'entretien des incubateurs

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie	Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
	Page : 2/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su

1. Objet et domaine d'application

Ce mode d'entretien a pour but de donner les principales règles d'hygiène pour l'entretien des incubateurs sur la filière de néonatalogie.

L'objectif est de prévenir la transmission croisée en éliminant les salissures et les micro-organismes présents sur les parois et les accessoires de l'incubateur.

2. Définitions

L'incubateur est destiné aux prématurés et aux nouveau-nés dont le poids ne dépasse pas 5 kg et la taille 55 cm. Il permet de contrôler la chaleur et l'humidité de l'air.



3. Responsabilités

L'entretien de l'incubateur est de la responsabilité de l'infirmière et/ou de la puéricultrice et/ou de la sage-femme.

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie	Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
	Page : 3/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su

4. Exécution

4 . 1 G é n é r a l i t é s

- L'incubateur est un dispositif médical nécessitant un nettoyage désinfectant :
 - **entre 2 nouveau-nés**
 - **une fois par semaine lors d'un séjour prolongé voir plus fréquemment si très souillé.**
- Le détergent-désinfectant utilisé pour l'entretien en présence de l'enfant doit être inodore, non toxique et compatible avec le plexiglas. **Il doit être de type alimentaire et répondre aux normes bactéricide et virucide.** En entretien de sortie ou hebdomadaire utiliser le détergent-désinfectant habituel.
- Lorsque les incubateurs sont équipés d'un système d'humidification avec une poche d'eau stérile et une tubulure, l'entretien du circuit d'eau interne se fera de façon hebdomadaire et hors présence de l'enfant.
- **Contrôler le filtre à air frais** : changement tous les 2 mois
- Une maintenance rigoureuse **tous les ans** doit être faite par le service du biomédical
- Chaque matelas correspond à un incubateur

4 . 2 E n t r e t i e n d e b a s e : 1 f / j o u r

Principes :

- Réaliser l'entretien, après la toilette de l'enfant et avant tous soins aseptiques programmés : pose de voie, réfection de pansement.
- S'adapter à l'état de santé de l'enfant et privilégier l'entretien de l'incubateur hors présence du nouveau-né.
- Retirer tout matériel inutile.
- Vérifier les joints en caoutchouc.
- **Changer le linge entourant l'enfant au moins une fois par jour et autant de fois que nécessaire.**

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie	Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
	Page : 4/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su

Mode Opérateur :

- Réaliser une friction des mains avec la solution hydroalcoolique
- Mettre un tablier plastique et des gants à usage unique
- Utiliser une lavette à usage unique imbibée de détergent-désinfectant de type alimentaire et un point d'eau à proximité pour dessouiller la lavette.
- Nettoyer l'intérieur de l'incubateur en respectant la chronologie suivante :
 - Le matelas (enlever le linge sale)
 - La tête
 - Le sommet
 - Les parois latérales de l'habacle
 - Insister sur les hublots, les portes et les joints escamotables
 - Pied
 - Terminer par le fond: plateau et socle
- Enlever les gants à usage unique et les éliminer dans la filière de déchets ménagers.
- Réaliser une friction des mains avec la solution hydro alcoolique.
- Mettre du linge propre sur le matelas.
- Refermer l'incubateur.
- Réaliser une friction des mains avec la solution hydroalcoolique et remettre des gants à usage unique
- Nettoyer l'extérieur de l'incubateur en procédant chronologiquement par :
 - Les parois en plexiglas de haut en bas
 - L'écran
 - Le tiroir intérieur puis extérieur
 - La potence
 - Nettoyer le plateau médian (tiroir pour cassette radio)
 - La tablette
 - Le soufflet
 - Le socle
 - Les pédales
- Enlever les gants à usage unique et les éliminer dans la filière de déchets ménagers.
- Réaliser une friction des mains avec la solution hydro alcoolique.
- Réaliser une traçabilité de l'entretien sur le diagramme de soins.

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie	Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
	Page : 5/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su

4 . 3

Entretien hebdomadaire ou à la sortie de l'enfant (hors présence de l'enfant)

4.3.1 Généralités

- Le retrait de tout objet piquant, coupant, tranchant est obligatoire et une pré-désinfection par essuyage humide avec du détergent-désinfectant est réalisée en service en cas de souillures visibles.
- **Le service de soins transmet au secteur de désinfection l'identité de l'enfant ayant occupé l'incubateur.**
- Si l'incubateur est équipé d'un circuit d'eau, réaliser l'entretien du circuit d'eau avant la désinfection.
- **L'entretien d'un incubateur ayant accueilli un enfant porteur ou infecté à BMR (Bactérie Multi Résistante), signalé par le service est réalisé après l'entretien des autres incubateurs, soit en fin journée**
- **L'entretien à la vapeur du matelas n'est pas autorisé : entretien au détergent-désinfectant dans un local adapté.**
- Lors de chaque entretien : inspection de l'intégrité du matelas, si celui-ci est abîmé (Housse usée...) le changer.
- Débrancher, après entretien du circuit, l'incubateur avant de le nettoyer. Laisser refroidir la plaque chauffante deux heures avant la réalisation de l'entretien.
- Réaliser l'entretien à la vapeur dans une pièce identifiée.
- Déposer le matériel nettoyé sur une surface préalablement entretenue au détergent-désinfectant.

4.3.2 Utilisation de la vapeur pour l'entretien des incubateurs

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie		Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
		Page : 6/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su	

<u>Composition incubateur</u>	Entretien vapeur autorisé: ✓	Entretien vapeur non autorisé : X
1 capot	✓	
6 hublots	✓	
1 matelas		X
2 plateaux	✓	
1 plateau principal	✓	
1 ventilateur	✓	
1 tiroir + séparation	✓	
Module de commande + bouton tournant		X
Circuit d'eau		X
Boitier climatique		X

En cas de souillures importantes, la housse du matelas peut être lavée à la machine à 95°, et le matelas à 30° (Lingerie ADV)

4.3.3 Préalables à la désinfection

- Utiliser le nettoyeur vapeur après lecture du guide de l'utilisateur
- Remplir les réservoirs du nettoyeur vapeur avec de l'eau adoucie
- Brancher l'appareil et le laisser chauffer 10 minutes environ (jusqu'à l'éclairage du voyant) puis purger le flexible avant utilisation
- Ne pas toucher la sortie vapeur avec les mains, risque de brûlure
- **Ne pas diriger le jet vapeur en direction de personnes**

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie	Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
	Page : 7/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su

4.3.4 Entretien

Préalables	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Port de tablier, charlotte, masque, gants à usage unique non stériles ✓ Désinfection des mains avec la solution hydro-alcoolique
Etape 1 :	✓ Démonter complètement l'incubateur et étaler les éléments amovibles : capot, hublots, matelas, plateaux, ventilateur, tiroir +séparation
Etape 2 :	✓ Réaliser un essuyage humide au détergent-désinfectant de tous les éléments amovibles et fixes et laisser sécher (15 mn minimum)
Etape 3 :	<p>Réaliser l'entretien à la vapeur de tous les éléments <u>sauf le matelas, le module de commande, le bouton tournant, le circuit d'eau et le boîtier climatique</u> qui sera alors protégé (entretenus uniquement en 2 passages de détergent-désinfectant)</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Insister en restant plusieurs secondes au même endroit (Buse à 1cm des éléments) ✓ Repasser au moins deux fois au même endroit ✓ Insister sur les charnières, recoins, interstices ✓ <u>Chronologie</u> : Intérieur (Tête, sommet, parois latérales, hublots, plateau, socle) puis extérieur (du haut vers le bas)
Etape 4 :	✓ Sécher avec une soufflette 8 bars et avec une lavette propre
Etape 5	✓ Réaliser un essuyage humide au détergent-désinfectant de tous les éléments amovibles et fixes et laisser sécher (15mn minimum)
Etape 6	✓ Remonter les éléments
Etape 7	✓ Enlever les gants à usage unique et réaliser une friction des mains avec la solution hydro-alcoolique
Etape 8	✓ Laisser sécher les éléments de l'incubateur puis le couvrir l'incubateur avec une housse protectrice propre et le stocker dans un local propre
Etape 9	✓ Réaliser la traçabilité de l'entretien

Après entretien de l'incubateur réaliser un essuyage humide au détergent-désinfectant de la buse et du flexible de l'appareil vapeur

Protocole d'entretien des incubateurs en Néonatalogie		Document n° CHRU/ 8.g.4/001/v2
		Page : 8/9
CHRU	Document(s) de référence : - Recommandations 2011 CCLIN Rhône-Alpes. Entretien des incubateur - Guide de bonnes pratiques mars 2002 cclin paris nord. Guide technique d'hygiène hospitalière 2004 cclin su	

TRACABILITE

- **A garder dans le secteur de désinfection des incubateurs.**
- **1 fiche de traçabilité par incubateur**
- **L'identité de l'enfant ayant occupé l'incubateur est transmis par le service de soins au secteur de désinfection en signalant si l'enfant est porteur ou infecté avec une BMR.**

B Affiche de rappel sur les précautions complémentaires contact

Je suis consultant, j'interviens auprès d'un enfant hospitalisé en néo-natologie

Avant d'entrer dans la chambre:

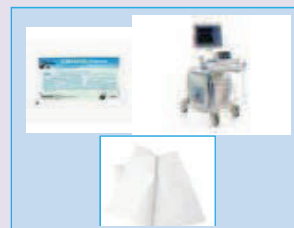
1. Je ne porte aucun bijou aux mains et aux poignets



2. Je me frictionne les mains avec la solution hydro-alcoolique



3. Je protège ma tenue



4. J'utilise du matériel désinfecté



5. Je porte un masque si je suis enrhumé

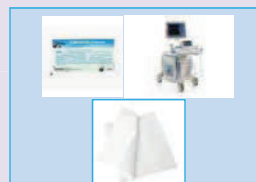
A la sortie de la chambre:

1- J'élimine la sur blouse...

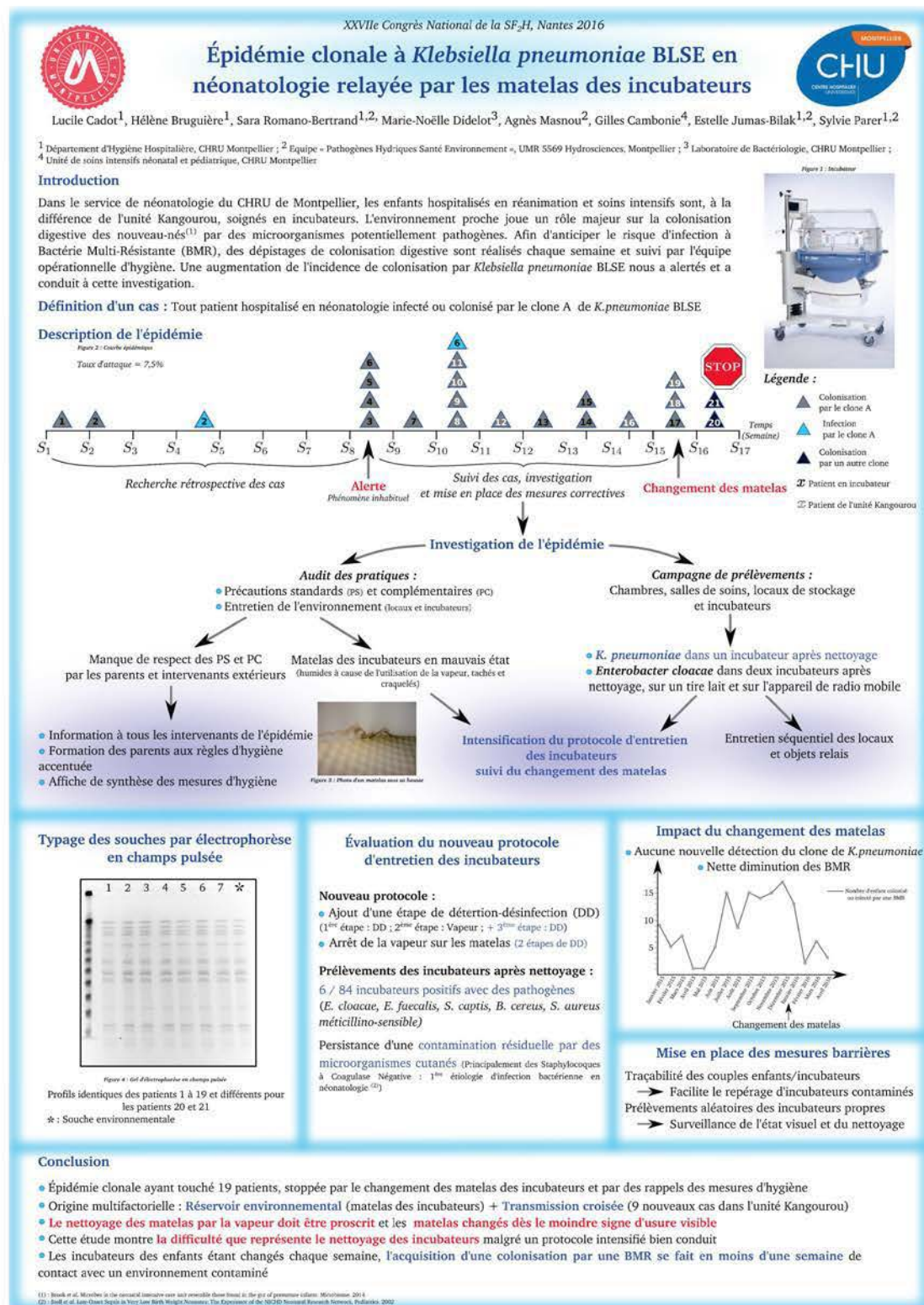
2- Je me frictionne les mains avec la solution hydro-alcoolique



3- J'organise l'entretien du matériel utilisé



C Poster présenté au XXVII^{ème} Congrès National de la SF2H



DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 7 Octobre 2016

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

présenté par : Lucile CADOT

Sujet : Épidémies nosocomiales dans les services de néonatalogie:
*les leçons d'une épidémie à Klebsiella pneumoniae productrices
de bêta-lactamases à spectre étendu au CHU de Montpellier*

Jury :

Président

et co-directeur: M. Christophe GANTZER, Professeur

Directeur : Mme Estelle JUMAS-BILAK, Professeur

Co-directeur : Mme Sara ROMANO-BERTRAND, Docteur

Juges : M. Philippe HARTEMANN, Professeur

M. Pierre MATHIEU, Docteur

Vu,

Nancy, le 25 août 2016

Le Président du Jury :
M. Christophe GANTZERDirecteur de Thèse :
Mme Estelle JUMAS-BILAK

Vu et approuvé,

Nancy, le 12.09.2016

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Vu,

Nancy, le 20 SEP. 2016

Le Président de l'Université de Lorraine,



Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 9272

N° d'identification :

TITRE

Épidémies nosocomiales dans les services de néonatalogie :

Les leçons d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu au CHU de Montpellier.

Thèse soutenue le 7 Octobre 2016

Par Lucile CADOT

RÉSUMÉ :

La fragilité des nouveau-nés hospitalisés en néonatalogie rend ce service à haut risque infectieux et épidémique. Malgré le respect de nombreuses mesures de prévention et une surveillance accrue par l'équipe opérationnelle d'hygiène, les épidémies semblent récurrentes dans ce type de service.

Ce travail a pour but de mieux comprendre la survenue et la propagation des épidémies dans les services de néonatalogie à l'échelle locale au Centre Hospitalier Universitaire de Montpellier et internationale.

Cette problématique s'illustre autour de l'investigation poussée d'une épidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu au CHU de Montpellier.

MOTS CLÉS :

Incubateur, matelas, épidémie, *Klebsiella pneumoniae* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu, néonatalogie.

Directeur de Thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Professeur Estelle JUMAS-BILAK	Équipe Pathogènes Hydriques Santé Environnement, UMR HSM 5569, UFR Pharmacie Montpellier et Laboratoire d'hygiène hospitalière, CHU de Montpellier.	Expérimentale

Thème : 2- Hygiène / Environnement