

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple- Un But- Une Foi



**UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO**

Faculté de Médecine et d'odontostomatologie

Master Biosécurité / Biosûreté

Année universitaire 2025 - 2026

Mémoire N° :/2026

MEMOIRE

**Évaluation de la contamination environnementale par
Bacillus cereus en Néonatalogie et l'Impact des pratiques de
biosécurité dans les centres de santé de référence de la
commune CV et CVI**

Présenté et soutenu le 08 / 04 / 2026 par :

M^{me}. Aïssata A. DIA

Pour l'obtention du Diplôme de Master de Biosécurité et Biosûreté
(DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président : Pr Djibril Sangare, Enseignant-Chercheur, FMOS

Membres : Dr Sidy Bane, Enseignant-Chercheur, FMOS

Directeur : Pr Ibrehima Guindo, PharmD, PhD, Enseignant-Chercheur, FAPH

Co-directeur : Dr. Klema Marcel Koné, MSc. ; PhD, INSP

DÉDICACES ET REMERCIEMENTS

Ce travail est d'abord le fruit et la volonté de DIEU, le Tout Puissant, le Miséricordieux, le Clément par qui nous sommes et pour qui nous devons être.

Je Vous rends grâce de m'avoir permis d'en arriver là aujourd'hui. Je Vous remercie mon DIEU et Vous prie de continuer à m'assister et à me donner la force et le courage nécessaires à la réalisation de mes ambitions.

À mon cher père

ABDOULAYE DIA, *Ce travail est le tien. Tu as cru en moi et tu n'as ménagé aucun effort pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui, ma réussite et tout mon respect.*

Ton amour bienveillant, ton dévouement, ta rigueur et ta persévérance m'ont assuré une éducation fondée sur la probité, l'intégrité et la dignité. Tu as toujours souhaité pour nous les meilleures études. Sans ton soutien inestimable ton amour et toutes vos attentions, ce travail n'aurait pas abouti. À toi toute mon affection et ma gratitude éternelles Vous m'avez toujours fait confiance et j'espère ne jamais vous décevoir. Puisse ce modeste travail donner une légitime fierté.

Que Dieu vous donne une longue vie. Amen !

À ma chère mère

DILOULDE DIALLO, *Ma maman chérie, je ne saurais point te remercier comme il se doit. Tu es le soleil de ma vie, tu es sans pareil maman. Tu n'as jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

Ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Que Dieu vous garde encore longtemps auprès de nous. Amen !

Puisse ce jour être pour toi une occasion de réjouissance, de fierté, et aussi de témoignage de mon profond attachement à ton égard. Ce travail est le fruit de votre affection.

À mon adorable grande sœur et mon grand frère

HAMSATOU et MAMADOU (sa petite famille : Mme Dia Fanta, et leurs enfants : Diouldé, Fatima et Abdoulaye), *Qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Puisse Dieu nous prêter encore longue vie et nous aider à rester unis.*

À mes petits frères et petites sœurs

DANIEL, MOUSSA, AMINATA, FATOUMATA et MADINA, *Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite, Que ce modeste travail soit un exemple pour vous, demeurons fortement unis.*

À mes oncles et tantes en particulier oncle **AMADOU SOUFOUNTERA** *trouve ici tout mon témoignage de sincères remerciements pour tout ce que tu fais pour moi et pour toute la famille, soyez-en tous remercier.*

À mes cousins et cousines *Merci pour vos amours et encouragements.*

À mes ami(e)s *Pour vos aides et supports dans les moments difficiles.*

À mon binôme ADAM S, *Pour ton soutien, ta patience et ta compréhension.*

À toute ma famille

Merci.

Remerciements :

A tout le corps professoral de la faculté de Médecine et d'Odontostomatologie de Bamako (FMOS) pour la qualité des cours dispensés.

Pr Djibril SANGARE, président de l'Association Malienne de Biosécurité (AMBIOS) et Coordinateur du Master de Biosécurité et biosûreté pour son leadership, son engagement envers l'excellence académique et son accompagnement constant, qui ont su éveiller en moi un intérêt profond pour les problématiques de biosécurité, Vos conseils avisés tout au long de mon parcours.

Dr Sidy Bane, Enseignant-Chercheur, FMOS, pour la disponibilité, la patience, les orientations scientifiques, l'enseignement, encouragements ont été une véritable source de motivation.

Dr Assetou Dionegue DIARRA, assistante du coordinateur du master pour son accompagnement sans faille depuis le début de cette formation, en plus d'être une conseillère vous êtes une grande sœur.

Prof. Ibrehima Guindo, PharmD, PhD, FAPH Directeur General de l'Institut National de Santé Publique Merci infiniment pour l'accueil, l'encadrements, vos conseils, accompagnements, votre disponibilité, et tout l'enseignement que vous m'avez procuré, et les outils nécessaires à la réalisation de ce travail de recherche.

Dr. Klema Marcel Koné, MSc. ; PhD, INSP merci pour votre dévouement, votre patience, votre soutien sans faille et pour avoir partagé avec nous votre expertise. Ce travail est le fruit des connaissances que vous m'avez transmises avec patience et bienveillance.

Mes équipes de travail : Adama L Dembélé, Dicko Cheickna Hamallah, Fatoma Dembele et Mahamar Idrissa Touré

Merci pour votre collaboration et accompagnement, votre assistance tout au long de ce travail.

Les équipes des deux centres particulièrement les personnels des services de néonatalogies : Acceptez mes sincères remerciements pour votre, accueil et collaboration, d'avoir accepté la réalisation de cette études dans vos centres respectifs.

A mes camarades de la première promotion particulièrement Dr Bintou Kanouté Nos échanges multiples, nos séances de révision communes et notre solidarité face aux défis de ces années de recherche ont été une source de motivation constante. Merci pour cet esprit d'entraide qui a rendu ce parcours mémorable.

À tous ceux que j'ai malheureusement oubliés ; exercice difficile que de remercier tout le monde sans omettre personne ! Ne m'en portez point rigueur, je vous porte tous dans mon cœur.

SIGLES ET ABRÉVIATION

BPF	: Bonnes Pratiques de Fonctionnement
CL	: Couveuse de Lits
CS	: Centre de Santé
CSCom	: Centre de Santé Communautaire
CSRéf	: Centre de Santé de Référence
CV	: Commune V (Bamako)
CVI	: Commune VI (Bamako)
DL	: Département Laboratoire
HIC	: Hygiène et Infection Contrôlée
INSP	: Institut National de Santé Publique
ML	: Millilitre
MO	: Microorganisme
MYP	: Mannitol Egg Yolk Polymyxin
NA	: Non Applicable
NI	: Infection Nosocomiale
IAS	: Infection associées aux soins
U	: Unité
UFC/mL	: Unités Formant Colonie par millilitre

LISTE DE TABLEAUX

Tableau I : Point commun entre les deux centres selon leur caractérisation et leur description	14
Tableau II : Fréquence de détection de <i>Bacillus cereus</i> lors des deux campagnes	23
Tableau III : Charge en spores de <i>Bacillus cereus</i> avant et après nettoyage lors de la 1 ^{ère} campagne au CSRef Commune VI	24
Tableau IV : Charge en spores de <i>Bacillus cereus</i> avant et après nettoyage lors de la 2 ^{ème} campagne au CSRef Commune VI	25
Tableau V : Charge en spores de <i>Bacillus cereus</i> avant et après nettoyage lors de la 1 ^{ère} campagne au CSRef Commune V	27
Tableau VI : Charge en spores de <i>Bacillus cereus</i> avant et après nettoyage lors de la 2 ^{ème} campagne au CSRef Commune V	28
Tableau VII : Caractérisation des risques associés aux différents points de prélèvements	31
Tableau VIII : charge en spores de <i>B. cereus</i> et niveau de risque par catégorie de surface ...	32
Tableau IX : Contamination des différentes catégories avant et après nettoyage lors des deux campagnes.	33
Tableau X : Contamination des différentes catégories avant et après nettoyage lors des deux campagnes.	35
Tableau XI : Mesures spécifiques des sites.....	37
Tableau XII : Procédure Opérationnelle Standard (SOP) = fiche technique	52
Tableau XIII : Protocole de Bionettoyage (Unité de Néonatalogie)	53

LISTE DE FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des différentes sources environnementales potentielles d'infection chez les nouveau-nés prématurés infectés par <i>Bacillus cereus</i>	8
Figure 2 : Schéma de la boîte du milieu de culture MYP montrant la colonie typique a <i>B. Cereus</i> d'un Halo opaque avec la production de lécithinase.	18
Figure 3 : Image montrant les spores typiques de <i>B. Cereus</i> au microscope optique.....	19
Figure 4 : figures illustratives des colonies de <i>Bacillus cereus</i> sur une gélose de MYP	29

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS	4
2.1. Objectif général	4
2.2. Objectifs spécifiques.....	4
3. GENERALITE	5
3.1. Définition.....	5
3.2. Caractéristiques	6
3.3. Épidémiologie et Réservoirs environnementaux	7
3.5. Transmissions	9
3.6. Facteurs de risque	9
3.7. Manifestations cliniques	10
3.8. Complications	10
3.9. Stratégie thérapeutique	10
3.10. Biosécurité	11
4. MATERIEL ET METHODES	12
4.1. Matériel.....	12
4.2. Méthodes	13
5. RÉSULTATS	23
5.1. Détection et isolement des spores de <i>B. cereus</i> au niveau des deux centres	23
5.2. Analyse du risque de contamination environnementale des spores de <i>B. cereus</i>	29
6. DISCUSSION	39
CONCLUSION	42
RECOMMANDATIONS	43
RÉFÉRENCES	45
ANNEXES	49

1. INTRODUCTION

L'émergence des pathologies opportunistes qui sont souvent sous-estimés, exige une vigilance accrue [1].

Les bactéries communes des infections nosocomiales principalement le *Bacillus cereus* est une bactérie à Gram-positive, sporulée et naturellement présente partout dans l'environnement : le sol, la poussière, la végétation, et les aliments [2]. Bien que principalement connue pour ses toxi-infections alimentaires, elle est de plus en plus identifiée comme responsable d'infections graves et parfois réfractaires de septicémies, méningites, chez les nouveau-nés hospitalisés. Sa capacité à former des spores et les biofilms lui confère une résistance exceptionnelle aux désinfectants couramment utilisés, lui permettant de persister et de se propager dans l'environnement hospitalier comme les incubateurs, les surfaces, et les équipements (cathéter, couveuse) [3].

Les Infections Associées aux Soins (IAS), notamment les infections nosocomiales chez les nouveau-nés, constituent un défi majeur pour les systèmes de santé à travers le monde, et représentent une menace particulièrement critique dans les pays à ressources limitées. Parmi les populations hospitalières, les nouveau-nés, en particulier les prématurés et ceux nécessitant des soins intensifs, sont extrêmement vulnérables en raison de l'immaturation de leur système immunitaire et de l'usage fréquent de dispositifs invasifs [2,3].

Aux Centres Hospitalo-Universitaire (CHU) de Point G et de Gabriel Touré de Bamako, comme dans de nombreux services de néonatalogie des Centres de santé de Références (CSRef), la prévention des infections associées aux soins (IAS) est une priorité absolue pour améliorer les indicateurs de survie et de morbidité chez les nouveau-nés et les prématurés.

L'environnement physique comme l'air, les surfaces, les équipements médicaux et les pratiques du personnel soignant, l'hygiène des mains, techniques de désinfection mal appliquée sont des vecteurs de contamination cruciaux [2].

L'évaluation rigoureuse de la contamination environnementale par *B. cereus* est donc indispensable pour identifier les points critiques de rupture dans la chaîne d'asepsie. De même, la maîtrise des pratiques de biosécurité (ou d'hygiène hospitalière) représente le levier d'intervention le plus efficace pour interrompre le cycle de transmission.

L'évaluation de la contamination environnementale par *Bacillus cereus* et l'analyse des pratiques de biosécurité constituent les piliers d'une stratégie proactive pour éclairer et renforcer la prévention des infections nosocomiales (IAS) dans les unités de Néonatalogie des établissements de santé de Bamako.

Cette démarche permet d'identifier les réservoirs environnementaux du germe opportuniste, d'évaluer la qualité réelle des soins et de mettre en place des actions ciblées, basées sur l'évidence.

De nos jours, peu d'études se sont focalisées sur les risques d'infections à *B. cereus* dans ces types d'environnement. C'est dans ce contexte que la présente étude vise à établir un état des lieux de la présence de *B. cereus* au sein des unités de néonatalogie des établissements de santé de Bamako et d'évaluer la conformité des pratiques de biosécurité afin d'élaborer des stratégies de prévention ciblées et efficaces.

Question de recherche :

Quel est le niveau de risque dû à la contamination environnementale causé par *Bacillus cereus* au sein des services de néonatalogie des Centres de Santé de Référence (Csref) des Communes V et VI de Bamako ?

Hypothèse(s) de recherche :

La contamination environnementale lié à *B. cereus* au sein des services de néonatalogie présente un risque élevé et persistant chez les nouveau-nés et chez les prématurés hospitalisés dans des Centres de Santé de Référence (Csref) des Communes V et VI de Bamako.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Évaluer le risque de contamination environnementale par *B. cereus* dans les services de néonatalogie des Établissements de santé de Bamako.

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la fréquence des souches de *Bacillus cereus* isolées à partir des surfaces, équipements et de l'environnement des services de néonatalogie des CSRéf de la Commune V et VI de Bamako.
- Identifier les zones critiques à haut risque de contamination.
- Proposer des mesures correctives et préventives adaptées.

3. GENERALITES

3.1. Définition

L'infection nosocomiale à *Bacillus cereus* est une infection contractée au sein d'un établissement de santé, provoquée par cette bactérie sporulée, touchant principalement des patients fragiles comme les immunodéprimés, prématurés, les personnes âgées. Elle se manifeste souvent par des bactériémies, des pneumonies ou des infections sur dispositifs médicaux (cathéters), souvent liées à des contaminations environnementales ou des procédures de soins [4].

Bacillus cereus est une bactérie en forme de bâtonnet (bacille) qui retient la coloration violette de Gram, grâce à sa paroi cellulaire épaisse riche en peptidoglycanes à Gram positif, aéro-anaérobie, dont la particularité est la formation de **spores** hautement résistantes [5].

Biosécurité : Ensemble des principes, des technologies et des pratiques liés au confinement mis en œuvre pour prévenir l'exposition involontaire à des matières infectieuses et à des toxines, ou leur libération accidentelle [5].

Systeme de décontamination :

C'est un ensemble de procédés physiques et chimiques visant à éliminer ou à réduire les micro-organismes sur des supports inertes, dont nous distinguons :

- Décontamination liquide : Utilisation de désinfectants pour nettoyer les surfaces et les équipements [6].
- Décontamination gazeuse/par vapeur : Utilisation de gaz ou de vapeur pour décontaminer les enceintes et les isolateurs avant leur déplacement ou entre les activités de travail [6].

Évaluation du risque biologique :

Selon l'OMS, l'évaluation du risque biologique (Bio-risk assessment) est définie comme le processus d'analyse de la probabilité et des conséquences d'une exposition à des agents biologiques dangereux [6].

3.2. Caractéristiques de *Bacillus cereus*

a. Description :

Bacillus cereus sensu stricto aussi appelé *B. Cereus* se définit comme un bacille à Gram positif de dimensions variables entre 1,0 à 1,2 µm de largeur sur 3 à 5 µm de longueur [7–9]. Cette bactérie, capable de se développer avec ou sans oxygène, adopte une organisation spatiale isolée, en binômes ou sous forme de chaînes de faible longueur. Sa mobilité est assurée par des flagelles péritriches répartis sur toute la surface cellulaire [9].

B. cereus appartient au groupe élargi *Bacillus cereus sensu lato* [9]. Bien que ce groupe partage une forte proximité génétique, les espèces sont différenciées par leur morphologie, leur physiologie et leur pathogénicité [9,10].

Ce groupe inclut :

- **Membres classiques :** *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. cytotoxicus* et *B. toyonensis*.
- **Espèces émergentes identifiées par taxonomie génétique :** *B. gaemokensis*, *B. manliponensis* et *B. bingmayongensis*.

Les enjeux majeurs de la biosécurité se trouvent dans sa capacité de **se sporuler**. Elle produit des endospores ellipsoïdes ou cylindriques situées en position centrale ou terminale, dotées d'appendices de surface favorisant l'adhérence [11,12]. On distingue deux types de souches selon leur profil thermique :

- **Souches psychrotrophes :** Capables de proliférer à des températures inférieures à 10 °C, mais ne tolérant pas 37 °C [13].

- **Souches mésophiles :** Présentent une croissance optimale à 37 °C tout en conservant une capacité de survie au froid (sous 10 °C) [9,14].

b. Propriétés :

Les spores de *B. cereus* ont une hydrophobicité accrue, ce qui permet une forte adhérence aux surfaces et aux aliments. *B. cereus* est capable de persister dans des conditions défavorables par la formation d'endospores et de biofilms ; les biofilms peuvent se former sur les surfaces abiotiques et sur les tissus vivants, mais ils peuvent aussi être sous forme de pellicules flottantes. Les spores sont habituellement résistantes à la chaleur, au gel, au séchage et aux rayons gamma et ultraviolets comme le soleil [9]. Les souches de *B. cereus* peuvent produire jusqu'à six toxines, dont cinq sont des entérotoxines et une est une toxine émétique [9].

Les entérotoxines comprennent : l'entérotoxine T (BceT), l'entérotoxine FM (EntFM), l'hémolysine BL (HBL), l'entérotoxine non hémolytique (NHE) et la cytotoxine K (CytK ou hémolysine IV) [9].

Certaines souches de *B. cereus* produisent une toxine émétique appelée céréulide qui est généralement présent dans les tires laits pour bébé. Il produit également d'autres facteurs de virulence, dont des phospholipases endommageant la membrane des mammifères et les hémolysines [9,15,16].

3.3. Épidémiologie et Réservoirs environnementaux

En néonatalogie, les réservoirs spécifiques incluent les humidificateurs d'incubateurs, les dispositifs de ventilation et les tire-laits. Les épidémies sont souvent corrélées à des travaux de construction hospitalière qui remettent les spores en suspension [17]. De plus, *B. cereus* est capable de croître rapidement dans une grande variété de conditions, ce qui explique sa distribution mondiale omniprésente, quel que soit l'environnement. Il produit également des endospores qui lui permettent de résister aux variations de dessiccation, de température et de

pH, et aux conditions anaérobies [18]. Les spores de certaines souches de *B. cereus* sont effectivement inactivées par un choc thermique de 10 à 20 min à 90 °C ou 2 min à 95 °C, comme rapporté dans une revue de 2022 sur les infections invasives néonatales. Des mesures de valeurs D (temps de réduction décimale) confirment cette sensibilité : $D \approx 7,6-11,6$ min et $D \approx 2,4-4,7$ min dans le lait cru, le jus de carotte ou l'eau. Cette inactivation varie selon le milieu, les spores étant plus résistantes dans le lait que dans l'eau [19].

Des études récentes, comme une revue de 2022, ont démontré l'émergence ou la réémergence d'infections invasives à *B. cereus* chez les nouveau-nés prématurés, avec une mortalité pouvant atteindre 30% dans les cas graves. Ces infections incluent bactériémies (48%), méningites (16%) et pneumonies (8%), souvent liées à des souches environnementales résistantes. Une étude multicentrique française (2010-2022) sur 19 cas confirme une incidence en hausse, passant de 9 cas (2010-2020) à 10 cas (2021-2022), chez des prématurés sous nutrition parentérale [19,20].

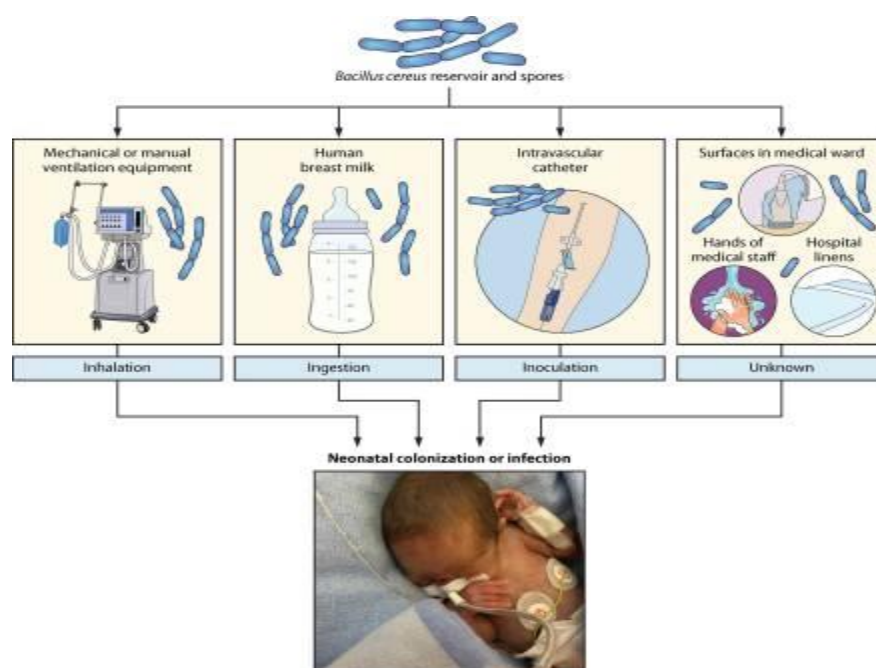


Figure 1 : Représentation schématique des différentes sources environnementales potentielles d'infection chez les nouveau-nés prématurés infectés par *Bacillus cereus*.

3.4. Physiopathologie

Chez les nourrissons ayant un poids à la naissance inférieur à 1500 grammes, la bactérie parvient à franchir la barrière hémato-encéphalique. Elle génère des toxines telles que les cérolisines et les phospholipases, entraînant des nécroses hémorragiques considérables au niveau cérébral. À la différence d'autres bactéries, *B. cereus* a la capacité de détruire le parenchyme cérébral en l'espace de quelques heures. En général, les infections humaines à *B. cereus* se produisent par ingestion d'aliments contaminés, par inhalation de spores ou inoculation directe dans la peau [20].

3.5. Transmissions

La transmission est particulièrement environnementale, à travers les soins, et par la résistance des spores aux températures de 38 à 39 °C et aux désinfectants couramment utilisés [21]. En milieu hospitalier, elle peut être due en particulier au linge contaminé (serviettes, draps des lits d'hospitalisation ou couveuses) mal désinfecté et aux mains du personnel soignant [22].

B. cereus est le micro-organisme sporulant le plus fréquent dans le lait maternel ; les spores peuvent survivre à la pasteurisation et germer lors du réchauffement, tandis que les laits en poudre peuvent être contaminés dès leur fabrication [22]. L'environnement de soins (surfaces, matériel, air et ventilation) joue un rôle clé, car la poussière et les systèmes de climatisation transportent les spores vers les unités de soins intensifs [23].

3.6. Facteurs de risque

Les facteurs de risque sont principalement liés à l'immatunité du nouveau-né, notamment la grande prématurité (poids inférieur à 1500g) en raison de l'immatunité du système immunitaire [24,25]. Les nouveau-nés en réanimation sont particulièrement fragiles face aux germes opportunistes [24]. De plus, les dispositifs médicaux tels que les cathéters, les boîtes et les fils à oxygène peuvent être colonisés par les spores et servir de vecteurs d'inoculation [21,22].

3.7. Manifestations cliniques

Sur le plan clinique, l'infection se manifeste par une septicémie (fièvre, détresse respiratoire, instabilité hémodynamique), une méningite (convulsions, irritabilité, coma) ou une pneumonie nécrosante [22,24]. Sur le plan paraclinique, le diagnostic implique l'isolement du germe (bacille à Gram positif) dans des zones normalement stériles comme le sang (hémoculture) ou le liquide céphalo-rachidien (LCR) [24]. L'analyse moléculaire par séquençage à haut débit (NGS) peut être nécessaire pour différencier précisément *B. cereus* d'autres espèces du groupe, dépassant les limites des méthodes phénotypiques traditionnelles [24].

3.8. Complications

Les complications sont graves en raison de la libération de toxines (hémolysines, protéases) entraînant une nécrose tissulaire rapide [25]. Les complications neurologiques incluent la méningo-encéphalite nécrotique et les hémorragies intra-ventriculaires [24]. L'endophtalmie constitue une urgence critique pouvant mener à une panophtalmie et une cécité irréversible en moins de 24 à 48 heures [26]. Des chocs septiques et des atteintes gastro-intestinales sévères sont également rapportés [25].

3.9. Stratégie thérapeutique

L'infection nécessite une approche rigoureuse et un bionettoyage adapté face à la résistance des spores [21]. Le choix de l'antibiothérapie est crucial car *B. cereus* présente une résistance naturelle à la plupart des bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines) due à la production de bêta-lactamases [23,27]. Les glycopeptides (vancomycine) ou les aminosides sont souvent privilégiés en première intention [27] cependant aucun vaccin n'est disponible actuellement et pas de prophylaxie post exposition connue en ce jour.

3.10. Biosécurité

La biosécurité repose sur l'interruption de la chaîne de transmission. Le défi majeur est l'inefficacité des solutions hydro-alcooliques (SHA) sur les spores [21,28]. Le risque est dominé par le non-respect des règles d'hygiène de base : des études montrent que seuls 50% du personnel pratiquent un lavage des mains adéquat [28]. Un protocole strict impose le lavage des mains à l'eau et au savon pour une élimination mécanique des spores, complété par l'utilisation de gants et la stérilisation par le traitement sporicide par voie aérienne DSWA des dispositifs médicaux en utilisant le peroxyde d'hydrogène vaporisé (PHV) [22,28].

Sensibilité aux désinfectants

Les spores de *Bacillus* peuvent être tuées par un traitement de trois heures avec des solutions aqueuses de glutaraldéhyde à ≥ 2 %, tamponnées à un pH allant de 7,5 à 8,5 avec du bicarbonate de soude et par une exposition d'une heure à du peroxyde d'hydrogène à 10 %. Le glutaraldéhyde peut inactiver les cellules de *B. cereus* (de 200 à 1 000 mg/L pendant 30 minutes) et a une activité partielle contre les biofilms (200 mg/L pendant 30 minutes) [29,30].

L'évaluation du risque microbiologique en milieu hospitalier est un processus qui consiste à estimer la probabilité de survenue d'une infection et la gravité de ses conséquences chez une population vulnérable, suite à une exposition à un agent biologique [31].

Dans le contexte spécifique du *Bacillus cereus* en néonatalogie, se repose sur quatre piliers analytiques sur l'identification du danger, caractérisation du danger, évaluation de l'exposition, et caractérisation du risque.

Les stratégies de prévention et surveillance : repose sur l'hygiène appropriée des mains et des surfaces, Stérilisation des dispositifs médicaux, Surveillance microbiologique des laits et préparations, Isolement des cas et traçabilité des contaminations.

4. MATERIEL ET METHODES

4.1. Matériel

Le matériel utilisé dans le cadre de cette étude a compris (liste non exhaustive) :

a) Matériel de prélèvement

Des écouvillons stériles à usage unique ont été utilisés pour la réalisation des prélèvements. Des boîtes de contact (RODAC) ont également été employées pour l'échantillonnage des surfaces. Par ailleurs, des gants stériles ainsi que des masques de protection ont été utilisés afin de garantir des conditions d'asepsie adéquates.

b) Milieux de culture

La gélose Mannitol Egg Yolk Polymyxin (MYP), milieu sélectif pour *Bacillus cereus*, a été utilisée pour l'isolement des souches. La gélose Tryptic Soy Agar (TSA) a servi à l'ensemencement et à la culture générale des microorganismes.

c) Équipements de laboratoire

Des incubateurs bactériologiques, réglés entre 30 et 37 °C, ont été utilisés pour l'incubation des cultures. Une hotte à flux laminaire a été utilisée, lorsqu'elle était disponible, afin de limiter les risques de contamination. Un autoclave a permis la stérilisation du matériel, tandis qu'un réfrigérateur a été utilisé pour la conservation des milieux de culture et des souches isolées.

d) Matériel d'identification bactérienne

La coloration de Gram a été réalisée pour l'orientation diagnostique. Des tests biochimiques usuels ont également été effectués pour l'identification des souches bactériennes.

4.2. Méthodes

4.2.1. Site d'étude

4.2.1.1. Sites de collecte

Les prélèvements d'échantillons ont été effectués dans deux établissements de santé de référence du district de Bamako disposant d'unités de néonatalogie équipées de couveuses :

✍ **CSRéf de la Commune V :**

Situé sur la rive droite du district de Bamako, le Centre de Santé de Référence (CSRéf) de la Commune V a constitué l'un des principaux sites de collecte. Le service de néonatalogie y a été équipé de couveuses, de lits d'hospitalisation, de tables de réanimation néonatale ainsi que d'équipements adaptés à la prise en charge des nouveau-nés prématurés.

Ce service a assuré la prise en charge des cas de détresse respiratoire légère à modérée, des infections néonatales ainsi que des nouveau-nés de faible poids de naissance. Par ailleurs, la pratique de la méthode « mère kangourou » y a été encouragée afin de favoriser la stabilisation des nouveau-nés prématurés par le contact peau à peau.

✍ **CSRéf de la Commune VI :**

Le Centre de Santé de Référence de la Commune VI a été créé en 1981 en tant que maternité, puis érigé en CSRéf en 1999. Une unité de pédiatrie y a été inaugurée en janvier 2022 dans le cadre d'un projet visant à réduire la morbidité et la mortalité maternelle et néonatale.

Le service a été structuré pour assurer la stabilisation des nouveau-nés avant un éventuel transfert vers des structures de niveau tertiaire, notamment le CHU Gabriel Touré. Une attention particulière a été accordée au suivi de la croissance et à la mise en œuvre des vaccinations précoces. Le personnel a été composé de pédiatres et d'infirmiers spécialisés en puériculture.

Caractéristiques communes des sites d'étude :

Les deux centres ont présenté des caractéristiques organisationnelles similaires, résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : Point commun entre les deux centres selon leur caractérisation et leur description

Caractéristique	Description
Objectif	Réduire la mortalité néonatale au niveau communal.
Référence	Prise en charge des urgences référées par les CSCOM 24h/24
Prise en charge	Traitement de l'ictère (jaunisse), des infections et de la prématurité.
Organisation	Proximité avec le bloc obstétrical pour une prise en charge immédiate

4.2.1.2. Site de traitement des échantillons :

L'isolement et la caractérisation des souches de *Bacillus cereus* ont été réalisés au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Institut National de Santé Publique (INSP) de Bamako.

L'INSP a été créé en 2019 par la loi N°2019-023/AN du 3 juillet. Il s'agit d'un établissement public à caractère scientifique et technologique, doté de la personnalité morale et d'une autonomie administrative et financière. Sa mission principale a consisté à assurer la veille sanitaire, la surveillance épidémiologique et la promotion de la recherche en santé publique.

Situé en Commune II du district de Bamako, l'INSP a joué un rôle de référence nationale dans le domaine du diagnostic biomédical.

Le Département Laboratoire a assuré plusieurs fonctions, notamment :

- La référence en matière de diagnostic biomédical ;
- La formation et le perfectionnement des cadres ;
- La promotion de la recherche et de la coopération scientifique ;
- La participation à la mise en œuvre des politiques de santé publique.

Ce département a été structuré en cinq services :

- Service de biologie médicale
- Service de bactériologie-virologie
- Service de parasitologie-mycologie
- Service de pharmacologie et toxicologie
- Service de biologie intégrative et maladies chroniques

4.2.2. Type et période d'étude

Il s'est agi d'une étude prospective, à visée descriptive et analytique, basée sur une approche comparative avant et après intervention. Cette intervention a consisté en la mise en œuvre de mesures de désinfection et de nettoyage au sein des services de néonatalogie.

L'étude a comporté un volet microbiologique, axé sur l'isolement et l'identification de *Bacillus cereus*, ainsi qu'un volet observationnel portant sur l'évaluation des conditions environnementales et des pratiques d'hygiène.

Elle s'est déroulée sur une période de six (6) mois, allant d'octobre 2025 à mars 2026.

4.2.3. Population d'études

La population d'étude a été constituée par l'environnement hospitalier des services de néonatalogie, incluant les surfaces, les équipements médicaux et non médicaux susceptibles d'être des sources de contamination.

Les éléments étudiés ont notamment concerné :

- Les équipements biomédicaux (couveuses, dispositifs de soins) ;
- Le mobilier hospitalier (lits d'hospitalisation, surfaces de travail) ;
- Les surfaces fréquemment manipulées (poignées de porte) ;
- Les équipements de ventilation (brasseurs d'air, climatiseurs).

✓ **Critères d'inclusions :**

Ont été inclus dans cette étude l'ensemble des surfaces, équipements et dispositifs présents dans les services de néonatalogie des structures sélectionnées, et susceptibles d'être en contact direct ou indirect avec les nouveau-nés ou le personnel soignant.

✓ **Critères de non-Inclusions :**

N'ont pas été inclus dans cette étude les équipements et surfaces appartenant à d'autres services hospitaliers ou à des structures sanitaires non retenues dans le cadre de l'étude.

4.2.4. Échantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé de manière ciblée sur des points critiques, définis en fonction de leur fréquence d'utilisation et de leur proximité avec les nouveau-nés, les exposant ainsi à un risque élevé de contamination.

Les sites de prélèvement ont concerné :

- Les couveuses (faces internes et externes) ;
- Les tables de soins ;
- Les lits d'hospitalisation ;
- Les dispositifs d'oxygénation (lunettes, boîtes) ;
- Les robinetteries ;
- Les équipements de ventilation, notamment les brasseurs d'air.

Fréquence et types de prélèvement :

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage avant les nettoyages et désinfection et 20 à 30 min après les nettoyages. Pour chaque point de prélèvement, au moins deux écouvillons ont été utilisés, permettant la réalisation de prélèvements avant et après les opérations de nettoyage et de désinfection.

Cette approche a permis d'évaluer l'efficacité des pratiques de biosécurité mises en œuvre au sein des services de néonatalogie.

Transport des échantillons :

Après le prélèvement, les échantillons ont été conditionnés et transportés vers le laboratoire de bactériologie-virologie de l'INSP dans des sacs isothermes contenant des accumulateurs de froid, afin de préserver l'intégrité microbiologique des échantillons jusqu'à leur analyse.

4.2.5. Méthodes au laboratoire, évaluations des pratiques de nettoyages et identifications des zones à haut risque

- **Méthodes au laboratoire**

Elle s'est focalisée sur la méthode microbiologique en isolant les souches de *B. cereus* des échantillons prélevés dans les différents centres de santé.

- ✓ **Sporulations :**

Une fois au laboratoire nous avons transvaser le contenu de l'écouvillons dans un tube sec, chauffer à 80 degrés pendant 10 min dans de bain-marie pour éliminer la flore végétative en fin d'isoler uniquement les spores *Bacillus cereus*

- ✓ **Ensemencer :**

À l'aide d'une micropipette 10 ul ont étéensemencé sur la gélose MYP Agar (*Mannitol Egg Yolk Polymyxin B*), l'échantillons a été étalé par la technique d'étalonnage qui consistait à recouvrir sur toute la surface du milieu avec un râteau.

Ensuite les milieux ont été incubé à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

- ✓ **Dénombrement :**

Nous avons procédé au dénombrement des colonies d'aspect rose ou rouge, les contours réguliers ayant été dégradé la lécithine dans chaque échantillon après 24 heures.

Après incubation, seules les boîtes contenant entre 1 et 30 colonies **ont été** retenues pour le dénombrement. Les résultats ont été exprimés en UFC/ml

d'échantillon initial, en tenant compte du facteur de dilution. Le calcul a été effectué selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2) \times d}$$

Où :

- **N** = nombre de colonies (UFC/ml) de l'échantillon
- **ΣC** = somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues
- **n₁** = nombre de boîtes comptées à la première dilution retenue
- **n₂** = nombre de boîtes comptées à la dilution suivante
- **d** = facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue.

Bacillus cereus

Colonie caractéristique :

couleur rosée entourée d'un

halo opaque (production de lécithinase)

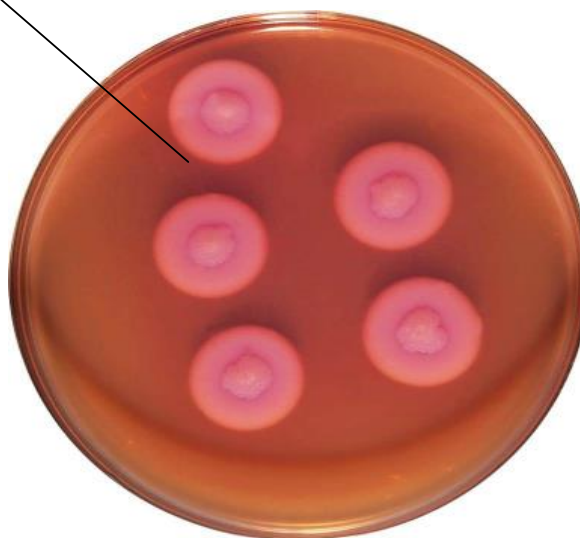


Figure 2 : Schéma de la boîte du milieu de culture MYP montrant la colonie typique à *B. Cereus* d'un Halo opaque avec la production de lécithinase.

✓ Coloration de Gram :

Observation après coloration de GRAM

Elle s'est déroulée de la manière suivante : Un frottis a été étalé sur une lame à partir de l'échantillon mère, puis laisser sécher avant d'être fixé à la chaleur sèche (flame). Après refroidissement, le frottis a été recouvert de violet de gentiane et laissé agir pendant une minute avant d'être rincé à l'eau de robinet. La lame a ensuite été recouverte de Lugol pendant une minute, puis rincée à nouveau à l'eau

de robinet. Elle a été maintenue de façon inclinée, et l'alcool-acétone a été versé au-dessus du frottis jusqu'à ce que les dernières gouttes deviennent claires, avant un nouveau rinçage. Enfin, la lame a été recouverte de fuchsine, laissée agir pendant 45 secondes puis séchée à l'air libre.

L'observation a été effectuée à l'objectif à immersion (100 X) du microscope optique.

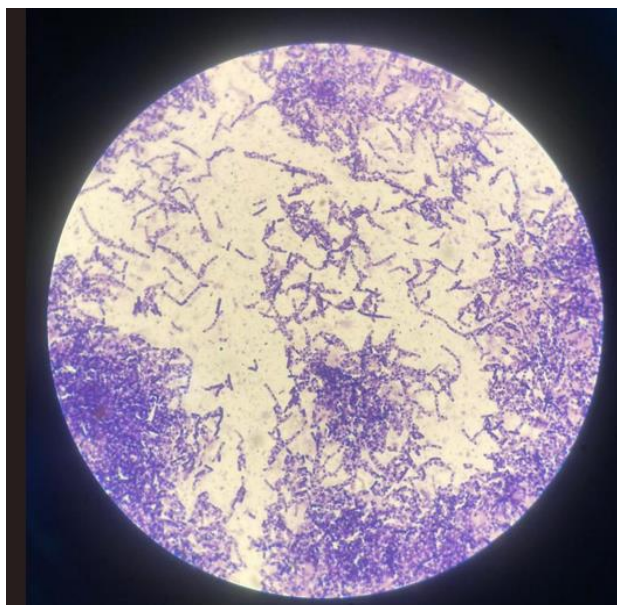


Figure 3 : Image montrant les spores typiques de *B. Cereus* au microscope optique

4.2.6. Identification des zones à haut risque

Niveau de risque par catégorisations :

Catégorie A : surfaces critiques zone de proximité directe avec les nouveau-nés où ils sont en contact permanent avec donc transmission directe

Catégorie B : vecteurs de contamination par une dispersion aéroportée

Catégorie C : réservoirs secondaires et/ou indirect cause de contamination croisée par les personnels et les visiteurs.

Les catégories sont attribuées comme suites :

- Les surfaces critiques des zones de proximité directe considéré comme catégories A sont les couveuses, les lits d'hospitalisations, dispositifs d'oxygénation, les tables de soins dont les nouveau-nés sont en contact permanent et que les charges en spores de *B. cereus* sont très élevé est un niveau de **risque élevé et critique** pour les nouveau-nés hospitalisé.
- Les vecteurs de contamination par dispersion aéroportée par les ventilateurs, les climatisations et d'autre conduit d'aérations d'aires considéré dans notre étude comme Catégories B ont un **risque Modéré a élevé** car nous avons constaté que les maintenances ne sont pas permanentes malgré les travaux de constructions dans l'environnements hospitalière favorise une corrélation avec l'extérieure des couveuses et les lits.
- Les réservoirs secondaires dont les barres d'escaliers, poignées des toilettes et les interrupteurs considéré comme catégorie C ont un **risque faible** mais pas à négligé, peuvent être des contaminations indirectes croisée par les personnels et les visiteurs.

4.2.7. Analyse Statistique

Les données ont été saisies et analysées dans MS Microsoft.

Impact de l'Intervention : Comparaison des moyennes de la charge en *B. cereus* (UFC/ml) entre la Phase I et la Phase II.

La formule de calcul de la concentration bactérienne (en unités formant colonie par millilitre, UFC/mL).

Test statistique de fisher

L'analyse du risque : L'analyse du risque repose sur la combinaison de la probabilité et de la gravité fois l'exposition selon l'organisation international de la normalisation ISO 31000, la formulation du risque est :

Risque = Probabilité × Gravité × Exposition

- **R** (risque) : niveau de risque
- **P** (probabilité) : chance que l'événement se produise
- **G** (gravité) : importance des conséquences
- **E** (Exposition) : durée ou fréquence d'exposition au danger

4.2.8. Proposition de mesures correctives pour la gestion et la maîtrise des risques

En prenant en compte les différentes catégories, leur charge en spores de *B. cereus* et les cas de recontamination, des propositions de mesures correctives pratiques ont été effectuées pour maîtriser différents risques posés par la contamination environnementale.

Procédure de nettoyage et de désinfections : Les deux centres de références de santé avaient pratiquement les mêmes systèmes de nettoyage avant chaque monté de garde (changement d'équipes), ce sont les infirmières qui s'occupent des nettoyages des équipements (les couveuses, matériaux de travail, lits etc.) les produits utilisés sont entre autres l'eau de javel et les savons en poudre cependant les dosages des désinfectants sont inconnus.

4.2.9. Considérations éthiques

Les principes éthiques ont été respectés tout au long de cette étude.

L'anonymat du personnel impliqué dans les services de néonatalogie a été strictement préservé. Aucune donnée collectée n'a permis d'identifier individuellement les agents de santé. De plus, les résultats relatifs à la contamination environnementale n'ont pas été utilisés à des fins d'évaluation individuelle du personnel, mais uniquement dans une perspective d'amélioration des pratiques et de la qualité des soins.

Les autorisations nécessaires ont été obtenues auprès des responsables des structures sanitaires concernées avant le début de la collecte des données.

Par ailleurs, les analyses microbiologiques ont été réalisées dans le respect des normes de biosécurité en vigueur. Les manipulations au laboratoire ont été effectuées conformément aux procédures standardisées, afin de garantir la sécurité du personnel et la fiabilité des résultats.

5. RÉSULTATS

5.1. Détection et isolement des spores de *B. cereus* au niveau des deux centres

Deux campagnes de prélèvements des collectes d'échantillons environnementaux (couveuses, lits, kits médicaux...) et des données ont été réalisées dans les services de néonatalogie des Centres de Santé de Référence (CSRef) des Communes V et VI du district de Bamako allant du 25 décembre 2025 au 23 février 2026. Au total, 186 écouvillons, dont 93 par centre, ont été analysés. *Bacillus cereus* a été détecté dans l'environnement hospitalier des services de néonatalogie, notamment sur les surfaces du matériel environnemental des prématurés, des nouveau-nés et des dispositifs médicaux. Les résultats de détections et de déterminations des charges en spores de *B. cereus* sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau II : Fréquence de détection de *Bacillus cereus* lors des deux campagnes

Centre	1 ^{ère} campagne	2 ^{ème} campagne	Total
CSRef CV	35/45 (77,8 %)	45/48 (93,8 %)	93
CSRef CVI	17/42 (41 %)	49/51 (96,1 %)	93
Total	52 / 87 (59,8 %)	94 / 99 (94,9%)	186

Au CSRef Commune V (CV), *Bacillus cereus* a été isolé dans :

- 35 sur 45 échantillons (78 %) lors de la première campagne
- 45 sur 48 échantillons (94 %) lors de la deuxième campagne

Au CSRef Commune VI (CVI), *Bacillus cereus* a été détecté dans :

- 17 sur 42 échantillons (41 %) lors de la première campagne
- 49 sur 51 échantillons (96 %) lors de la deuxième campagne

Nous notons une forte contamination environnementale, avec une augmentation notable de la détection entre les deux campagnes et une diffusion étendue des spores dans les deux services.

Le tableau ci-dessous récapitule les charges en *Bacillus* détectée au niveau des différents points de prélèvement.

Tableau III : Charge en spores de *Bacillus cereus* avant et après nettoyage lors de la 1^{ère} campagne au CSRef Commune VI

Points de prélèvements	Charge en spore avant nettoyage en UFC/ml ^a	Charge en spore après nettoyage en UFC/ml ^a
Surface extérieure de la Couveuse 1	10 ⁰	NA = Non applicable
Surface extérieure de la Couveuse 2	0.3 x 10 ¹	0.2 x 10 ¹
Surface extérieure de la Couveuse 3	0.9 x 10 ¹	0.2 x 10 ¹
Surface extérieure du lit d'hospitalisation	0.3 x 10 ¹	0.3 x 10 ¹
Surface intérieure du lit d'hospitalisation	10 ⁰	10 ⁰
Surface extérieure du lit d'hospitalisation	10 ⁰	< 10 ⁰
Brasseurs d'air	0.5 x 10 ¹	NA = Non applicable
Poignée de robinet	10 ⁰	
Fil à oxygène	10 ⁰	
Contact ventilateur	10 ⁰	
Barres de fer d'escalier	0.5 x 10 ¹	NA = Non applicable
Poignée de toilette	0.4 x 10	

a : Seuil de détection de la méthode est 10⁰ UFC/ml

NA = Non applicable

La première campagne a mis en évidence une contamination diffuse mais modérée, une efficacité partielle du nettoyage, une persistance de spores sur certaines surfaces critiques (lits, couveuses) et l'existence de réservoirs non contrôlés (ventilateurs, escaliers).

La détection des spores de *B. cereus* dans la salle 1 du service de néonatalogie a révélé la présence de *Bacillus cereus* sur les surfaces extérieures des couveuses, l'intérieur et l'extérieure des lits d'hospitalisation et les brasseurs d'air.

Cependant la charge en spores de *Bacillus cereus* reste inférieure à 10² UFC/ml.

Le tableau ci-dessous récapitule les charges en *Bacillus* détectée au niveau des différents points de prélèvement.

Tableau IV : Charge en spores de *Bacillus cereus* avant et après nettoyage lors de la 2^{ème} campagne au CSRef Commune VI

Points de prélèvements	Charge en spore avant nettoyage en UFC/ml ^a	Charge en spore après nettoyage en UFC/ml ^a
Intérieure de la couveuse 1	< 10 ⁰	0.5 x 10 ¹
Extérieure de la couveuse 1	0.5 x 10 ¹	1.5 x 10 ¹
Intérieure de la couveuse 2	10 ⁰	< 10 ⁰
Extérieure de la couveuse 2	1.5 x 10 ¹	0.5 x 10 ¹
Intérieure de la couveuse 3	< 10 ⁰	0.2 x 10 ¹
Extérieure de la couveuse 3	3 x 10 ¹	0.3 x 10 ¹
Intérieure de la couveuse 4	3 x 10 ¹	< 10 ⁰
Extérieure de la couveuse 4	3 x 10 ¹	1.4 x 10 ¹
Intérieure de la couveuse 5	2 x 10 ¹	10 ⁰
Extérieure de la couveuse 5	3 x 10 ¹	1 x 10 ¹
Intérieure de la couveuse 6	0.2 x 10 ¹	< 10 ⁰
Extérieure de la couveuse 6	3 x 10 ¹	0.2 x 10 ¹
Intérieure de la couveuse 7	0.4 x 10 ¹	0.5 x 10 ¹
Extérieure de la couveuse 7	0.5 x 10 ¹	< 10 ⁰
Intérieure du lit 1 d'hospitalisation	< 10 ⁰	1.5 x 10 ¹
Extérieur du lit 1 d'hospitalisation	1 x 10 ¹	0.4 x 10 ¹
Intérieure du lit 2 d'hospitalisation	0.3 x 10 ¹	10 ⁰
Extérieur du lit 2 d'hospitalisation	3 x 10 ¹	< 10 ⁰
Intérieur du lit 3 d'hospitalisation	2 x 10 ¹	< 10 ⁰
Extérieur du lit 3 d'hospitalisation	10 ⁰	10 ⁰
Robinet Salle d'hospitalisation	< 10 ⁰	< 10 ⁰
Table de soins	< 10 ⁰	10 ⁰
Machine à oxygène	0.4 x 10 ¹	< 10 ⁰
Plaque de chauffage Lit2	< 10 ⁰	0.5 x 10 ¹
Brasseurs d'air	0.3 x 10 ¹	NA = Non applicable
Contact ventilateur	3 x 10 ¹	
Poignée de toilette	10 ⁰	
Barre d'escalier	< 10 ⁰	

La deuxième campagne a mis en évidence une efficacité du nettoyage sur certaines surfaces critiques mais aussi des phénomènes de recontamination et une augmentation de charges sur certaines couveuses. Les dispositifs non nettoyés restent des réservoirs persistants.

La détection des spores de *B. cereus* dans la salle d'hospitalisation du service de néonatalogie a révélé la présence de *Bacillus cereus* sur les surfaces extérieures et intérieures des couveuses, l'intérieur et l'extérieure des lits d'hospitalisation, lit de photothérapie, la table de soins, les brasseurs d'air et leur contact.

Cependant la charge en spores de *Bacillus cereus* reste inférieure à 10^2 UFC/ml.

Le tableau ci-dessous récapitule les charges en *Bacillus* détectée au niveau des différents point de prélèvement.

Tableau V : Charge en spores de *Bacillus cereus* avant et après nettoyage lors de la 1^{ère} campagne au CSRef Commune V

Points de prélèvements	Charge en spore avant nettoyage en UFC/ml ^a	Charge en spore après nettoyage en UFC/ml ^a
Table de soins	0.6x10 ¹	0.2x10 ¹
Extérieur de la couveuse 1	0.2x10 ¹	10 ⁰
Poignet de la couveuse 1	10 ⁰	0.5x10 ¹
Intérieur de la couveuse 2	10 ⁰	<10 ⁰
Extérieur de la couveuse 2	<10 ⁰	10 ⁰
Intérieur de la couveuse 3	<10 ⁰	0.2x10 ¹
Extérieur de la couveuse 3	3x10 ¹	10 ⁰
Intérieur de la couveuse 4	<10 ⁰	10 ⁰
Extérieur de la couveuse 4	2.4x10 ¹	<10 ⁰
Lit d'appareil photothérapie	1.4x10 ¹	0.5x10 ¹
Intérieur du Lit1	0.5x10 ¹	<10 ⁰
Extérieur du Lit1	3x10 ¹	<10 ⁰
Extérieur du Lit2	1.1x10 ¹	10 ⁰
Intérieur du Lit3	0.8x10 ¹	<10 ⁰
Boîte oxygène1	0.4x10 ¹	NA = Non applicable
Boîte oxygène2	0.8x10 ¹	
Robinet pour personnels soignants	3x10 ¹	
Brasseurs d'air	1.4x10 ¹	
Contact ventilateur	0.3x10 ¹	
Climatiseurs	2x10 ¹	
Robinet Salle d'entrée des visiteurs	0.8x10 ¹	

Les surfaces critiques montrent globalement une bonne réduction des charges en spores après nettoyage et une recontamination sur les poignées de la couveuse 1.

La détection des spores de *B. cereus* dans la salle d'hospitalisation du service de néonatalogie a révélé la présence de *Bacillus cereus* sur les surfaces extérieures et intérieures des couveuses, l'intérieur et l'extérieur des lits d'hospitalisation, le lit de photothérapie, la table de soins, les brasseurs d'air et leur contact ainsi que le poignet du robinet pour les personnels.

Cependant, la charge en spores de *Bacillus cereus* reste inférieure à 10² UFC/ml.

Le tableau ci-dessous récapitule les charges en *Bacillus* détectée au niveau des différents points de prélèvement.

Tableau VI : Charge en spores de *Bacillus cereus* avant et après nettoyage lors de la 2^{ème} campagne au CSRef Commune V

Points de prélèvements	Charge en spores avant nettoyage (UFC/mL)	Charge en spores après nettoyage (UFC/mL)
Table de soins	0,7x10 ¹	<10 ⁰
Lit de soins de chauffage	0,2x10 ¹	<10 ⁰
Intérieur de la couveuse 1	2,5x10 ¹	<10 ⁰
Extérieur de la couveuse 1	0,6x10 ¹	10 ⁰
Intérieur de la couveuse 2	10 ⁰	10 ⁰
Extérieur de la couveuse2	0.8x10 ¹	<10 ⁰
Intérieur de la couveuse3	0.8x10 ¹	<10 ⁰
Extérieur de la couveuse3	0.8x10 ¹	10 ⁰
Intérieur de la couveuse4	0.2x10 ¹	0.2x10 ¹
Extérieur de la couveuse4	10 ⁰	10 ⁰
Lit d'appareil photothérapie	2x10 ¹	1x10 ¹
Intérieur du lit1	0.5x10 ¹	<10 ⁰
Extérieur du lit1	10 ⁰	0.2x10 ¹
Intérieur du lit2	0.2x10 ¹	10 ⁰
Extérieur du lit2	0.4x10 ¹	<10 ⁰
Intérieur du lit3	10 ⁰	10 ⁰
Extérieur du lit3	0.2x10 ¹	0.4x10 ¹
Potence	0.3x10 ¹	<10 ⁰
Table d'enregistrement	10 ⁰	<10 ⁰
Boîte oxygène	1.7x10 ¹	NA = Non applicable
Fil oxygène	0.7x10 ¹	
Robinet des personnels soignants	10 ⁰	
Brasseurs d'air	2.1x10 ¹	
Contact ventilateur	0.4x10 ¹	
Climatiseurs	3x10 ¹	
Robinet Salle d'entrée des visiteurs	10 ⁰	

NA : Non Applicable

Une forte efficacité a été observée sur certaines surfaces et une persistance ou augmentation de charges en spores sur d'autres (surface extérieure du lit 3 une recontamination a été observé après le nettoyage)

Les équipements non nettoyés (ventilateur, climatiseur, oxygène) gardent des charges en spores élevées (jusqu'à 30 UFC/ml).

La détection des spores de *B. cereus* dans la salle d'hospitalisation du service de néonatalogie a révélé la présence de *Bacillus cereus* sur les surfaces extérieures et intérieures des couveuses, l'intérieur et l'extérieur des lits d'hospitalisation, le lit de photothérapie, la table de soins, les brasseurs d'air et leur contact, le climatiseur et la boîte et les lunettes à oxygène.

Cependant la charge en spores de *Bacillus cereus* reste inférieure à 10^2 UFC/ml.



Figure 4 : figures illustratives des colonies de *Bacillus cereus* sur une gélose de MYP

5.2. Analyse du risque de contamination environnementale des spores de *B. cereus*

Une analyse de risque semi-quantitative a été réalisée à partir des données de contamination environnementale.

5.2.1. Identification du danger

Le danger identifié est *Bacillus cereus*, une bactérie sporulée capable de persister dans l'environnement hospitalier et impliquée dans des infections graves chez les nouveau-nés.

5.2.2. Évaluation de l'exposition

Le danger en question a été détecté avec une fréquence élevée de contamination pouvant atteindre 96 % des points de prélèvement.

Le danger est présent sur les surfaces critiques, notamment celles classées dans la catégorie A, c'est-à-dire, en contact direct avec les prématurés.

Les voies d'exposition sont multiples et peuvent être :

- Contact direct
- Transmission manuportée
- Dispersion aéroportée

On déduit donc que l'exposition est fréquente, répétée et continue.

5.2.3. Caractérisation du risque

Le tableau suivant caractérise les niveaux du risque associés aux différents points de prélèvements selon l'efficacité des procédures de nettoyage et désinfectant.

Tableau VII : Caractérisation des risques associés aux différents points de prélèvements

Type de surface	Probabilité	Gravité	Niveau de risque
Couveuses	Élevée	Très élevée	Critique
Lits	Élevée	Très élevée	Critique
Ventilation / climatiseurs	Élevée	Élevée	Élevé
Table de soins	Modérée	Élevée	Modéré
Surfaces indirectes	Modérée	Faible	Faible

NB : Les surfaces en contact direct avec les nouveau-nés représentent le niveau de risque le plus critique.

5.2.4. Catégorisation des surfaces de l'environnement des services de néonatalogie et leur niveau de contamination

Catégorie A : surfaces critiques zone de proximité directe avec les nouveau-nés où ils sont en contact permanent avec donc transmission directe

Catégorie B : vecteurs de contamination par une dispersion aéroportée

Catégorie C : réservoirs secondaires et/ou indirect cause de contamination croisée par les personnels et les visiteurs.

Tableau VIII : charge en spores de *B. cereus* et niveau de risque par catégorie de surface

Catégorie	Type de surfaces	Nombre total d'écouvillonnage	Pourcentage de positif à <i>B. cereus</i>	Niveau de risque
A	Couveuses, lits, table de soins, lunettes à oxygène	120	53	Élevé
B	Ventilateurs, climatisation	6	6	Modéré à élevé
C	Escaliers, toilettes, interrupteurs	19	17	Faible

Les surfaces de la catégorie A restent élevées sur tous les niveaux du prélèvement, mais les éléments de la catégories B et C reste modéré à faible selon le niveau du risque.

a. Au niveau du CSRéf Commune VI (CVI)

Le tableau ci-dessous met en évidence les pourcentages des positifs à *Bacillus cereus* d'avant et après nettoyage sur les surfaces des contaminants des différentes catégories dans le service de néonatalogie au Csref C VI selon les niveaux de risque.

Tableau IX : Contamination des différentes catégories avant et après nettoyage lors des deux campagnes.

Catégorie	Nombre total d'écouvillonnage	Pourcentage de positif à <i>B. cereus</i> avant nettoyage	Pourcentage de positif à <i>B. cereus</i> après nettoyage	Niveau de risque
Première campagne				
A	12	59	34	Élevé
B	1	100	100	Modéré à élevé
C	3	100	100	Faible
Deuxième campagne				
A	44	39	37	Élevé
B	1	100	100	Modéré à élevé
C	5	60	80	Faible

Le pourcentage de positivité sur la catégorie A a légèrement diminué de 39 % à 37 % après nettoyage, mais reste nettement élevé à 100% dans la catégorie B, et une augmentation a été observée entre 60 et 80 % sur la catégorie C après nettoyage. Une certaine surface de C a été recontaminée.

Résultats du test exact de Fisher de la première campagne

- $p = 0,414$
- $OR = 2,68$
- $IC95\% : [0,41 - 20,26]$

Dans la catégorie A de la première campagne, la proportion de surfaces positives à *Bacillus cereus* est passée de 59 % avant nettoyage à 34 % après nettoyage.

Toutefois, cette diminution n'était pas statistiquement significative selon le test exact de Fisher (OR = 2,68 ; IC95% : 0,41–20,26 ; p = 0,414).

Résultats du test exact de Fisher de la deuxième campagne

- p = 1,000
- OR = 1,10
- IC95% : [0,43 – 2,86]

Dans la catégorie A de la deuxième campagne, la proportion de surfaces positives à *Bacillus cereus* est passée de 39 % avant nettoyage à 37 % après nettoyage. Cette différence n'était pas statistiquement significative selon le test exact de Fisher (OR = 1,10 ; IC95% : 0,43–2,86 ; p = 1,000).

b. Au niveau du CSRéf Commune V (CV)

Le tableau ci-dessous met en évidence les pourcentages des positifs à *Bacillus cereus* d'avant et après nettoyage sur les surfaces des contaminants des différentes catégories dans le service de néonatalogie au CSref CV selon les niveaux de risque.

Tableau X : Contamination des différentes catégories avant et après nettoyage lors des deux campagnes.

Catégorie	Nombre total d'écouvillonnage	Pourcentage de positif à <i>B. cereus</i> avant nettoyage	Pourcentage de positif à <i>B. cereus</i> après nettoyage	Niveau de risque
Première campagne				
A	28	39.3	32.1	Élevé
B	2	100	100	Modéré à élevé
C	5	100	100	Faible
Deuxième campagne				
A	36	50	31	Élevé
B	2	100	100	Modéré à élevé
C	6	100	67	Faible

Le pourcentage de positivité sur la catégorie A a chuté légèrement de 39,3 % à 32,1 % après nettoyage, et les pourcentages restent stationnés sur les catégories B et C. Le pourcentage de positivité sur la catégorie A est passé de 50% à 31 % après nettoyage, mais reste nettement élevé à 100% sur B et une diminution est observée de 100 % à 67 % sur la catégorie C après nettoyage.

Résultats du test de Fisher de la première campagne

- $p = 0,7808$
- $OR = 1,36$
- $IC95\% : [0,40 - 4,74]$

La proportion de contamination diminue légèrement (39,3 % → 32,1 %), mais la différence est **très loin d'être significative**.

Dans la catégorie A de la première campagne, la proportion de surfaces positives à *Bacillus cereus* est passée de 39,3 % avant nettoyage à 32,1 % après nettoyage. Cette différence n'était pas statistiquement significative selon le test exact de Fisher ($OR = 1,36$; $IC95\% : 0,40-4,74$; $p = 0,781$).

Résultats du test de Fisher de la deuxième campagne

- $p = 0,1488$
- $OR = 2,25$
- $IC95\% : [0,78 - 6,69]$

La diminution est plus marquée (50 % → 31 %), mais reste non significative statistiquement.

Dans la catégorie A de la deuxième campagne, la proportion de surfaces positives à *Bacillus cereus* est passée de 50 % avant nettoyage à 31 % après nettoyage. Cette différence n'était pas statistiquement significative selon le test exact de Fisher ($OR = 2,25$; $IC95\% : 0,78-6,69$; $p = 0,149$)

5.3. Mesures pratiques pour la gestion et la maîtrise des risques

5.3.1. Mesures générales

Les principales mesures recommandées pour la gestion des risques sont :

- Utilisation de désinfectants sporicides
- Renforcement des protocoles de nettoyage
- Désinfection des systèmes de ventilation
- Formation du personnel
- Surveillance microbiologique continue

5.3.2. Mesures spécifiques des sites

Tableau XI : Mesures spécifiques des sites

N°	Situation de contamination	Mesures recommandées
1	Charge bactérienne élevé	Application d'un désinfectant sporicide comme le peroxyde d'hydrogène ou Chlore et l'isolement environnemental de la zone.
2	Charge bactérienne faible	Maintien du bionettoyage rigoureux et surveillance microbiologique bimensuelle pour prévenir une nouvelle prolifération.
3	Sur les couveuses	Nettoyage complet de la surface extérieure et intérieure des couveuses avec les désinfectants sporicides, Changement systématique des filtres à air de la couveuse et Lavage systématique des mains au savon avant manipulation.
4	D'autres matériels (fils à oxygène, cathéters)	Stérilisation ou remplacement immédiat par du matériel à usage unique et Protection des embouts contre la poussière.
5	Si les enfants présentent des signes d'infection comme la diarrhée et vomissements	Alerte clinique, Prélèvements immédiats des selles + hémoculture et Recherche de toxines de <i>B. cereus</i> , et instauré rapidement un traitement d'antibiothérapie adaptée a base d'aminosides ou Vancomycine
6	Après nettoyage, toujours présences de bactéries	Vérification de la date de péremption du produit, l'état du matériel de nettoyage (lavettes) et la qualité de l'air (ventilation).

Les situations de contamination par les spores de *Bacillus cereus* les résultats nous montres de la non efficacité du systèmes de nettoyage sur les surfaces des

matériaux le passage de positivité de 60% à 80% en zone C et sur certaine couveuse nous montre que le matériel de nettoyage peut devenir un vecteur d'où la recontamination de certaine zone.

De ce fait les lavettes à usage unique devraient être préconiser pour limiter les contaminations. Cette mesure vise à limiter les phénomènes de **contaminations croisées** et à interrompre la redistribution mécanique des spores de *B. cereus*.

6. DISCUSSION

Cette étude met en évidence une contamination environnementale significative par *Bacillus cereus* dans les services de néonatalogie des CSRef des Communes V et VI du district de Bamako. La fréquence élevée de détection, atteignant 96% lors de la seconde campagne, confirme l'omniprésence de ce microorganisme dans l'environnement hospitalier. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature, qui décrivent une large distribution de *B. cereus* dans les environnements cliniques, notamment sur les surfaces inertes et les dispositifs médicaux, mais également dans les matrices [32].

Deux campagnes de prélèvements réalisées dans chaque centre ont permis de mettre en évidence une augmentation modérée du taux de détection au cours du temps. Cette variation peut refléter une dynamique temporelle de la contamination environnementale ou, en partie, une optimisation des techniques d'échantillonnage. Toutefois, elle illustre surtout la capacité de *B. cereus* à persister dans les environnements hospitaliers grâce à la formation de spores hautement résistantes. Ces structures confèrent à la bactérie une tolérance remarquable à des conditions physico-chimiques extrêmes, y compris à certains désinfectants couramment utilisés en milieu hospitalier [33].

Bien que les charges sporulées mesurées restent relativement faibles ($<10^2$ UFC/ml) et que tous les IC95% incluent 1 \rightarrow pas d'effet statistiquement démontré le p -values $> 0,05$ \rightarrow manque de significativité probablement liée à aux petits effectifs, variabilité des prélèvements, puissance statistique limitée, leur détection sur des surfaces critiques, telles que les couveuses et les lits d'hospitalisation, constitue un signal d'alerte.

En effet, *B. cereus* est reconnu comme un agent opportuniste impliqué dans des infections néonatales sévères, incluant des septicémies et méningites, associées à une létalité particulièrement élevée chez les prématurés [21]. Dans ce contexte, l'immaturation du système immunitaire des nouveau-nés accentue la vulnérabilité

face à des expositions même à faible inoculum, soulignant l'importance d'un contrôle strict de la contamination environnementale, en particulier dans les contextes à ressources limitées.

L'approche basée sur l'analyse de risque adoptée dans cette étude met en évidence un niveau de risque critique pour les surfaces en contact direct avec les nouveau-nés. L'association d'une forte probabilité de contamination et de conséquences cliniques graves positionne ces surfaces comme des cibles prioritaires pour les interventions de prévention. Par ailleurs, les systèmes de ventilation et de climatisation apparaissent comme des réservoirs potentiels, susceptibles de favoriser la dispersion aéroportée des spores et la recontamination des surfaces, un mécanisme déjà décrit dans les modèles de transmission environnementale en milieu hospitalier [34]. L'efficacité des procédures de nettoyage actuellement en place semble limitée. Bien qu'une réduction partielle des charges microbiennes soit observée, la persistance des spores et les phénomènes de recontamination suggèrent que les contaminations ne viennent pas forcément des visiteurs et du personnel de santé ou du personnel de nettoyage, elles pourraient venir des installations pour les commodités dans les allées comme les climatiseurs. Toutefois, les protocoles de nettoyage utilisés peuvent être adaptés pour l'élimination des formes sporulées. En effet, plusieurs travaux ont démontré que certains désinfectants hospitaliers présentent une efficacité insuffisante vis-à-vis des spores bactériennes, nécessitant le recours à des agents sporicides spécifiques associés à des protocoles rigoureux et standardisés [35].

La détection de *B. cereus* sur des équipements rarement inclus dans les procédures de nettoyage, tels que les dispositifs de ventilation ou les systèmes d'oxygénothérapie, souligne la nécessité d'une approche globale du contrôle environnemental. De plus, la contamination des surfaces indirectes suggère une contribution importante de la transmission manuportée, impliquant le personnel de santé, ce qui est en accord avec les modèles de transmission croisée décrits en

milieu hospitalier. Ces éléments mettent en évidence la nécessité de renforcer les stratégies de prévention et de contrôle des infections, incluant la formation du personnel, l'amélioration de l'observance des mesures d'hygiène des mains et l'instauration d'une surveillance microbiologique régulière.

La catégorisation des surfaces selon leur niveau de risque a permis d'identifier les zones prioritaires d'intervention, en particulier celles en contact direct avec les nouveau-nés. Néanmoins, la persistance de la contamination sur les surfaces indirectes met en évidence l'importance des flux environnementaux et des pratiques humaines dans le maintien de la contamination.

Dans l'ensemble, ces résultats confirment que *B. cereus* constitue un risque non négligeable en néonatalogie dans les structures étudiées, justifiant la mise en œuvre de mesures renforcées de prévention. Celles-ci devraient inclure l'utilisation de désinfectants sporicides adaptés, la révision des protocoles de nettoyage, le renforcement des programmes de formation ainsi que la surveillance et le contrôle périodiques des salles.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence une contamination environnementale importante par *Bacillus cereus* dans les services de néonatalogie des CSRéf des Communes V et VI du district de Bamako, en particulier sur les surfaces en contact direct avec les nouveau-nés. Malgré des charges sporulées relativement faibles, leur présence sur des équipements critiques constitue un risque réel d'infections nosocomiales.

Les procédures de nettoyage et de désinfection actuelles ont montré une efficacité partielle, avec persistance des spores et phénomènes de recontamination, notamment sur les équipements non systématiquement nettoyés.

Ces résultats soulignent la nécessité de renforcer la maîtrise de l'environnement hospitalier par l'utilisation de désinfectants sporicides adaptés, l'amélioration des protocoles de nettoyage, la formation du personnel et la surveillance microbiologique continue, afin de réduire le risque d'infections néonatales et d'améliorer la qualité des soins.

RECOMMANDATIONS

1. Au niveau institutionnel

- Renforcer les politiques de prévention des infections nosocomiales dans les services de néonatalogie, en intégrant un plan spécifique de maîtrise de *Bacillus cereus*.
- Mettre en place un programme de surveillance microbiologique continue, incluant des audits réguliers des procédures de nettoyage et désinfection.
- Assurer la disponibilité et l'accès aux désinfectants à activité sporicide pour tous les services hospitaliers critiques.

2. Au niveau du service de néonatalogie

- Standardiser et optimiser les protocoles de nettoyage et de désinfection, en incluant systématiquement toutes les surfaces critiques et équipements périphériques (ventilateurs, climatiseurs, dispositifs d'oxygénothérapie).
- Prioriser les surfaces en contact direct avec les nouveau-nés (couveuses, lits, tables de soins) pour un nettoyage plus fréquent et rigoureux.
- Introduire un système de suivi et de traçabilité des interventions de nettoyage pour mesurer l'efficacité des actions.

3. Au niveau du personnel

- Renforcer la formation et la sensibilisation du personnel soignant sur la contamination environnementale, les pratiques d'hygiène des mains et la prévention des infections nosocomiales.
- Encourager l'adhésion stricte aux procédures de biosécurité, notamment lors de la manipulation des dispositifs médicaux et des surfaces critiques.
- Promouvoir la communication et la responsabilité collective pour maintenir un environnement sécurisé pour les nouveau-nés.

4. Au niveau technique et matériel

- Prioriser l'entretien en utilisant les Filtres HEPA et la désinfection des équipements non nettoyés habituellement, tels que ventilateurs, climatiseurs, lunettes et boîtes d'oxygène.
- Assurer le suivi de l'état des équipements et prévoir le remplacement ou la réparation des dispositifs endommagés pouvant favoriser la rétention des spores.
- Mettre en place des protocoles d'évaluation régulière de la charge microbienne sur les surfaces critiques pour ajuster les pratiques de nettoyage et désinfection.

RÉFÉRENCES

1. Lotte R, Chevalier A, Boyer L, Ruimy R. *Bacillus cereus* Invasive Infections in Preterm Neonates: an Up-to-Date Review of the Literature. *Clin Microbiol Rev.* 20 avr 2022;35(2):e0008821. doi:10.1128/cmr.00088-21 PubMed PMID: 35138121; PubMed Central PMCID: PMC8826972.
2. Ben Hmida M, Ben Ayed H, Ben Jmaa M, Trigui M, Maamri H, Yaich S, et al. Prévalence et facteurs de risque des infections associées aux soins. *Médecine et Maladies Infectieuses.* sept 2020;50(6):S115-6. doi:10.1016/j.medmal.2020.06.239
3. McDowell RH, Friedman H. *Bacillus Cereus*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 [cité 24 mars 2026]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459121/> PubMed PMID: 29083665.
4. Benabbas DR, Kara S. Étude rétrospective sur les infections nosocomiales au niveau du service de néonatalogie du CHU de Constantine [Masteren Sciences biologiques]. [Algérie]: Université Frères Mentouri Constantine 1; 2019.
5. Agence de la santé publique du Canada. *Bacillus anthracis* : Fiche technique santé-sécurité : agents pathogènes [éducation et sensibilisation;lignes directrices] [Internet]. Canada; 2001 [cité 24 mars 2026]. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/bacillus-anthraxis-fiches-techniques-sante-securite-ftss.html>
6. OMS. Décontamination et gestion des déchets [Internet]. Genève: Organisation Mondiale de la Santé; 2023. p. 60. Disponible sur: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/231e6865-f37f-4b31-8a40-4b2f6eb412a7/content>
7. Ehling-Schulz M, Lereclus D, Koehler TM. The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. *Microbiology Spectrum.* 17 mai 2019;7(3):10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018. doi:10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018
8. Gillespie SH, Hawkey PM, éditeurs. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* [Internet]. 1^{re} éd. Wiley; 2006 [cité 24 mars 2026]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470017968> doi:10.1002/9780470017968
9. Enosi Tuipulotu D, Mathur A, Ngo C, Man SM. *Bacillus cereus*: Epidemiology, Virulence Factors, and Host-Pathogen Interactions. *Trends Microbiol.* mai 2021;29(5):458-71. doi:10.1016/j.tim.2020.09.003 PubMed PMID: 33004259.
10. Parte AC, Sardà Carbasse J, Meier-Kolthoff JP, Reimer LC, Göker M. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *Int J Syst Evol Microbiol.* nov 2020;70(11):5607-12. doi:10.1099/ijsem.0.004332 PubMed PMID: 32701423; PubMed Central PMCID: PMC7723251.

11. Granum PE, Lund T. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiol Lett. 15 déc 1997;157(2):223-8. doi:10.1111/j.1574-6968.1997.tb12776.x PubMed PMID: 9435100.
12. Drobniewski FA. *Bacillus cereus* and related species. Clin Microbiol Rev. oct 1993;6(4):324-38. doi:10.1128/CMR.6.4.324 PubMed PMID: 8269390; PubMed Central PMCID: PMC358292.
13. Wijnands LM, Dufrenne JB, Zwietering MH, van Leusden FM. Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. Int J Food Microbiol. 1 nov 2006;112(2):120-8. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.015 PubMed PMID: 16860423.
14. Wijnands LM, Dufrenne JB, Zwietering MH, van Leusden FM. Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. Int J Food Microbiol. 1 nov 2006;112(2):120-8. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.015 PubMed PMID: 16860423.
15. Yu S, Yu P, Wang J, Li C, Guo H, Liu C, et al. A Study on Prevalence and Characterization of *Bacillus cereus* in Ready-to-Eat Foods in China. Front Microbiol. 15 janv 2020;10:3043. doi:10.3389/fmicb.2019.03043 PubMed PMID: 32010099; PubMed Central PMCID: PMC6974471.
16. VIDAL, AFP. VIDAL [Internet]. 2026 [cité 24 mars 2026]. Rappel de laits infantiles : qu'est-ce que le céréulide, la toxine mise en cause ? Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/37399-rappel-de-laits-infantiles-qu-est-ce-que-le-cereulide-la-toxine-mise-en-cause.html>
17. Doit C, Biran V, Aujard Y. Infections nosocomiales en néonatalogie. Infections néonatales. 2015;91-106. doi:10.1016/B978-2-294-74135-7.00009-7 PubMed PMID: null; PubMed Central PMCID: PMC7152006.
18. Ehling-Schulz M, Fricker M, Scherer S. *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. Mol Nutr Food Res. déc 2004;48(7):479-87. doi:10.1002/mnfr.200400055 PubMed PMID: 15538709.
19. Lotte R, Chevalier A, Boyer L, Ruimy R. *Bacillus cereus* Invasive Infections in Preterm Neonates: an Up-to-Date Review of the Literature. Clin Microbiol Rev. 35(2):e00088-21. doi:10.1128/cmr.00088-21 PubMed PMID: 35138121; PubMed Central PMCID: PMC8826972.
20. Chouaïd A, Baron A, Bonacorsi S, Caseris M, Assad Z. Infections à *B. cereus* en néonatalogie. Médecine et Maladies Infectieuses Formation. 1 mai 2023;Journées Nationales de l'Infectiologie2(2, Supplement):S129-30. doi:10.1016/j.mmifmc.2023.03.303

21. Glasset B, Herbin S, Granier SA, Cavalié L, Lafeuille E, Guérin C, et al. *Bacillus cereus*, a serious cause of nosocomial infections: Epidemiologic and genetic survey. *PLoS One*. 2018;13(5):e0194346. doi:10.1371/journal.pone.0194346 PubMed PMID: 29791442; PubMed Central PMCID: PMC5966241.
22. SF2H. Bonnes pratiques de soins aux nouveau-nés pour prévenir les infections sur dispositifs invasifs et la transmission croisée en secteurs de soins de néonatalogie [Internet]. France: Société française d'Hygiène Hospitalière; 2022. Disponible sur: https://www.cpias-ile-de-france.fr/docprocom/doc/sf2h-avis-bonnes-pratiques-neonat-150722_V200722.pdf
23. SF2H. AVIS N° 2018-02/SF2H du 23 mars 2018 relatif au traitement d'air au bloc opératoire pour la prévention du risque infectieux en chirurgie [Internet]. France: Société française d'Hygiène Hospitalière; 2018. Disponible sur: https://www.sf2h.net/k-stock/data/uploads/2018/04/Avis_2018_02_SF2H_Traitement_air.pdf
24. Sasahara T, Hayashi S, Morisawa Y, Sakihama T, Yoshimura A, Hirai Y. *Bacillus cereus* bacteremia outbreak due to contaminated hospital linens. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. févr 2011;30(2). doi:10.1007/s10096-010-1072-2 PubMed PMID: 20938704.
25. Decousser JW, Ramarao N, Duport C, Dorval M, Bourgeois-Nicolaos N, Guinebretière MH, et al. *Bacillus cereus* and severe intestinal infections in preterm neonates: Putative role of pooled breast milk. *Am J Infect Control*. oct 2013;41(10):918-21. doi:10.1016/j.ajic.2013.01.043 PubMed PMID: 23769834.
26. Beecher DJ, Pulido JS, Barney NP, Wong AC. Extracellular virulence factors in *Bacillus cereus* endophthalmitis: methods and implication of involvement of hemolysin BL. *Infect Immun*. févr 1995;63(2):632-9. doi:10.1128/iai.63.2.632-639.1995 PubMed PMID: 7822032; PubMed Central PMCID: PMC173042.
27. Janagond A, Sastry A, Bhat SK. ResearchGate [Internet]. 2018 [cité 24 mars 2026]. *Essentials of Medical Microbiology, 2nd Edition* | Request PDF. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/330324522_Essentials_of_Medical_Microbiology_2nd_Edition
28. WHO. WHO guidelines on hand hygiene in health care [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2009 [cité 24 mars 2026]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241597906>
29. Setlow P, Christie G. What's new and notable in bacterial spore killing! *World J Microbiol Biotechnol*. 2021;37(8):144. doi:10.1007/s11274-021-03108-0 PubMed PMID: 34351499; PubMed Central PMCID: PMC8342367.

30. Lasemi E, Kalantar Motamedi MH, Navi F, Rezae M, Hoday Nikfar N, Danial Z, et al. Effects of Different Times of Glutaraldehyde 2% on *Bacillus subtilis* Spores (In Vitro). *Hospital Practices and Research*. 1 déc 2017;2(4):118-21. doi:10.15171/hpr.2017.28
31. WHO. Laboratory biosafety manual, 4th edition [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020 [cité 24 mars 2026]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>
32. Stenfors Arnesen LP, Fagerlund A, Granum PE. From soil to gut: *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Rev*. juill 2008;32(4):579-606. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x PubMed PMID: 18422617.
33. Setlow P. Germination of spores of *Bacillus* species: what we know and do not know. *J Bacteriol*. avr 2014;196(7):1297-305. doi:10.1128/JB.01455-13 PubMed PMID: 24488313; PubMed Central PMCID: PMC3993344.
34. Beggs CB. The Airborne Transmission of Infection in Hospital Buildings: Fact or Fiction? *Indoor and Built Environment*. févr 2003;12(1-2):9-18. doi:10.1177/1420326X03012001002
35. Rutala WA, Weber DJ. Disinfection, sterilization, and antisepsis: An overview. *Am J Infect Control*. juin 2019;47S:A3-9. doi:10.1016/j.ajic.2019.01.018 PubMed PMID: 31146848.

ANNEXES

PREPARATION DE MYP

FICHE TECHNIQUE

1. DOMAINE D'UTILISATION

La gélose sélective pour *Bacillus cereus* selon Mossel est utilisée pour la détection et le dénombrement des spores et formes végétatives de *Bacillus cereus* dans les produits alimentaires. Elle est utilisée pour le dénombrement à 30 °C des *Bacillus cereus* présomptifs (NF EN ISO 7932). En méthode de détection ou pour les petits nombres, la méthode NF EN ISO 21871 préconise aussi ce milieu. La formule-type répond à la composition de la gélose MYP (au mannitol, jaune d'œuf et polymyxine) définie dans les normes NF EN ISO 7932 et NF EN ISO 21871.

2. HISTORIQUE

En 1967, Mossel *et al.* ont préconisé l'utilisation d'un milieu au mannitol, rouge de phénol et jaune d'œuf, dont le principe de fonctionnement est fondé sur l'absence de fermentation du mannitol par *Bacillus cereus* et la présence d'une lécithinase chez la majorité des souches testées. Les auteurs ont démontré qu'en présence de polymyxine B à 10 mg/L, le degré de sélectivité obtenu était satisfaisant.

3. PRINCIPES

La Tryptone de soja favorisent la croissance de *Bacillus cereus*. L'émulsion stérile de jaune d'œuf utilisée comme additif permet de mettre en évidence la présence d'une lécithinase chez la majorité des souches de *Bacillus cereus*. Les produits insolubles résultant de la dégradation de la lécithine du jaune d'œuf s'accumulent autour des colonies pour former un précipité blanchâtre. La présence de mannitol permet de différencier les microorganismes contaminants qui le fermentent. Ils sont identifiés par le virage au jaune du rouge de phénol. La polymyxine, présentée sous forme de supplément lyophilisé, permet d'inhiber la presque totalité de la microflore secondaire lorsque l'échantillon à tester est fortement contaminé.

4. FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales. Pour 500 mL de milieu complet :

Tryptone de Soja 10,0 g -

D-mannitol	5,5 g -
Polymyxine B	1x10 ⁵ UI -
Emulsion de jaune d'œuf stérile	50 mL - Agar
agar bactériologique	5,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,2 ± 0,2.

5. PREPARATION

Mettre en suspension 22,5 g de milieu déshydraté dans 500mL d'eau distillée ou déminéralisée.

- ✦ Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- ✦ Répartir en flacons à raison de 50 mL.
- ✦ Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- ✦ Refroidir et maintenir à 44-47 °C. Reconstitution : 22,5 g pour 500 mL
- ✦ Stérilisation : 15 min à 121 °C
- ✦ Dans chaque flacon de 500 mL de milieu de base, ajouter stérilement 50 mL d'émulsion stérile de jaune d'œuf avec Polymyxine B (BS055).
- ✦ Homogénéiser parfaitement.
- ✦ Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

NOTE : A la place de 50 mL d'émulsion stérile de jaune d'œuf à la polymyxine, il est possible d'ajouter 10 mL d'émulsion de jaune d'œuf (BS066) et 2 mL de supplément polymyxine (supplément BS007 réhydraté avec 5 mL d'eau stérile).

6. MODE D'EMPLOI

Comptage des *Bacillus cereus* à 30 °C (NF EN ISO 7932)

- ✦ Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- ✦ A la surface du milieu ainsi préparé ou bien du milieu pré-coulé, transférer 0,1 mL de l'échantillon à analyser et de ses dilutions décimales successives.
- ✦ Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile. Ensemencement : 0,1 mL en surface Incubation : 18 h à 48 h à 30 °C
- ✦ Incuber à 30 °C pendant 18 à 24 heures. Si les colonies ne sont pas bien visibles, ré-incuber pendant 24 heures supplémentaires. Détection ou comptage des petits nombres de *Bacillus cereus* (NF EN ISO 21871)

- ✦ A la surface du milieu ainsi préparé ou bien du milieu pré-coulé (BM038, BM199), repiquer une öse de chaque tube de bouillon d'enrichissement.
- ✦ Incuber à 30 °C pendant 18 à 24 heures. Si les colonies ne sont pas bien visibles, ré-incuber pendant 24 heures supplémentaires. Ensemencement : En surface Incubation : 18 h à 48 h à 30 °C

7. LECTURE

Les colonies présumées de *Bacillus cereus* sont de couleur rose (mannitol-négatif) et presque toujours entourées d'un halo de précipité, indiquant la production de lécithinase. En général, elles mesurent de 2 à 5 mm, et présentent des bords « effilochés ».

NOTE : Si les boîtes ont une forte teneur en flore contaminante fermentant le mannitol, la coloration rose de la gélose et des *Bacillus cereus* peut ne plus être visible.

8. CONTROLE QUALITE

Milieu de base déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.

Aspect lyophilisat Polymyxine : blanc, donnant après reconstitution une solution incolore et limpide.

Suppléments au jaune d'œuf : émulsion jaunâtre, opaque, présentant un précipité qui peut être remis en suspension.

Milieu préparé (complet) : gélose rosée à orangée, opaque. Réponse culturale après 24 (1) ou 48 heures d'incubation à 30 °C (NF EN ISO 11133) :

9. CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30 °C.

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri : 2-8 °C. **Emulsion stérile de jaune d'œuf** : 2-8 °C

Emulsion stérile de jaune d'œuf à la Polymyxine B : 2-8 °C **Supplément sélectif Polymyxine B** : 2-8 °C.

Milieu de base préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu complet préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

Supplément polymyxine réhydraté (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

Gélose MYP (pour *Bacillus cereus* selon Mossel

Détection et dénombrement des *Bacillus cereus*.

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 30 °C.

Tableau XII : Procédure Opérationnelle Standard (SOP) = fiche technique

Situation de contamination	Seuil / Contexte	Mesure de Biosécurité Prioritaire
Charge Élevée	>10 ¹ UFC/ml	Désinfection de Choc : Utilisation de biocides sporicides (H ₂ O ₂) et arrêt temporaire des admissions dans la zone impactée.
Charge Faible	<10 ¹ UFC/ml	Maintenance Préventive : Renforcement de la fréquence du bionettoyage et contrôle hebdomadaire des points critiques.
Couveuses	Zone A (Critique)	Asepsie Rigoureuse : Nettoyage des parois internes avec solution sporicide + Remplacement des filtres à air + Lavage des mains Savon/Eau.
Matériel Médical	Fils O ₂ , Tables, Lits	Rupture de Transmission : Remplacement systématique des tubulures exposées et protection stérile des dispositifs non utilisés.
Signes Cliniques	Diarrhée, Sepsis, Détresse	Alerte Épidémique : Prélèvements biologiques d'urgence + Isolement protecteur du patient + Antibiothérapie probabiliste adaptée.
Échec Nettoyage	Persistance de la charge Bactérienne	Audit de Procédure : Remplacement du matériel de nettoyage (lavettes) par du jetable + Décontamination des conduits d'air (Zone B).

Tableau XIII : Protocole de Bionettoyage (Unité de Néonatalogie)

Étapes	Actions de Biosécurité	Matériel / Produits	Points de Vigilance
1. Préparation	Lavage des mains (eau + savon) et habillage (EPI).	Savon doux, Gants, Masque.	Éliminer les spores par action mécanique dès l'entrée.
2. Tri initial	Évacuation des déchets et du linge souillé en sacs fermés.	Sacs DASRI et sacs à linge hermétiques.	Ne jamais secouer le linge pour éviter la suspension des spores.
3. Surfaces Hautes	Nettoyage humide (étagères, plans de travail, chariots).	Lavettes à usage unique + Détergent-Désinfectant Sporicide.	Aller du plus propre vers le plus sale (Zone A vers C).
4. Zone Critique (A)	Désinfection minutieuse des couveuses et moniteurs.	Solution sporicide (Norme EN 13704) + Chiffon microfibre jetable.	Respecter le temps de contact (5 à 15 min) sans rincer.
5. Zone Technique (B)	Nettoyage des bouches de ventilation et climatisation.	Aspirateur à filtre HEPA + Lavette humide sporicide.	Nettoyer les grilles pour bloquer le vecteur "Air".
6. Zone Sol (C)	Balayage humide (méthode de la godille) et lavage.	Bandeau de lavage monocoup (jetable) + Solution sporicide.	Interdiction du balayage à sec (risque de vol de poussière).
7. Finalisation	Retrait des EPI, hygiène des mains et traçabilité.	Solution Hydro-Alcoolique (après lavage savon) + Fiche de suivi.	Émarger la fiche de traçabilité immédiatement.

RÉSUMÉ

Introduction : Les infections associées aux soins représentent un enjeu majeur de santé publique, particulièrement en néonatalogie où les nouveau-nés prématurés sont hautement vulnérables. *Bacillus cereus*, bactérie Gram positive sporulée ubiquitaire, est de plus en plus impliquée dans des infections néonatales graves du fait de sa capacité de résistance environnementale et de formation de biofilms. Dans les établissements de santé de Bamako, la maîtrise de la contamination environnementale constitue un levier essentiel de prévention. Cette étude visait à évaluer la contamination environnementale par *B. cereus* dans les unités de néonatalogie et à analyser l'impact des pratiques de biosécurité sur le risque infectieux.

Matériel et méthodes : Une étude prospective, descriptive et analytique a été menée sur six mois (octobre 2025–mars 2026) dans les services de néonatalogie des CSRéf des Communes V et VI de Bamako. Un total de 186 prélèvements environnementaux a été réalisé sur des surfaces critiques (couveuses, lits), semi-critiques et indirectes. L'isolement de *B. cereus* a été effectué sur gélose MYP après traitement thermique. Une évaluation comparative avant/après nettoyage a permis d'analyser l'efficacité des pratiques de biosécurité. Une analyse de risque a été réalisée selon l'approche ISO 31000.

Résultats : La fréquence globale de contamination est passée de 59,8 % lors de la première campagne à 94,9 % lors de la seconde, traduisant une diffusion importante du germe. Les surfaces critiques (catégorie A) présentaient les niveaux de risque les plus élevés, avec des charges sporulées persistantes malgré le nettoyage. Les systèmes de ventilation constituaient des réservoirs majeurs (catégorie B). Une efficacité partielle du nettoyage a été observée, avec des phénomènes de recontamination, suggérant des insuffisances dans les protocoles et les pratiques (matériel de nettoyage, absence de désinfectants sporicides).

Conclusion : La contamination environnementale par *B. cereus* en néonatalogie à Bamako est élevée et constitue un risque significatif d'infections nosocomiales. Le renforcement des pratiques de biosécurité, notamment l'utilisation de désinfectants sporicides, la formation du personnel et la surveillance microbiologique continue, apparaît indispensable pour améliorer la qualité des soins et réduire la morbi-mortalité néonatale.

Mots-clés : *Bacillus cereus* ; contamination environnementale ; néonatalogie ; infections nosocomiales ; biosécurité ; Bamako.

ABSTRACT

Introduction: Healthcare-associated infections (HAIs) represent a major public health challenge, particularly in neonatology where premature newborns are highly vulnerable. *Bacillus cereus*, a Gram-positive spore-forming ubiquitous bacterium, is increasingly implicated in severe neonatal infections due to its environmental persistence and biofilm-forming capacity. In healthcare facilities in Bamako, controlling environmental contamination is a key strategy for infection prevention. This study aimed to assess environmental contamination by *B. cereus* in neonatal units and to analyze the impact of biosafety practices on infection risk.

Materials and Methods: A prospective, descriptive, and analytical study was conducted over six months (October 2025 to March 2026) in the neonatology units of referral health centers (CSRéf) in Communes V and VI of Bamako. A total of 186 environmental samples were collected from critical (incubators, beds), semi-critical, and indirect surfaces. Isolation of *B. cereus* was performed on Mannitol Egg Yolk Polymyxin (MYP) agar following heat treatment. A comparative before-and-after cleaning assessment was carried out to evaluate the effectiveness of biosafety practices. Risk analysis was performed using the ISO 31000 framework.

Results: The overall contamination rate increased from 59.8% during the first campaign to 94.9% during the second, indicating widespread dissemination of the organism. Critical surfaces (Category A) exhibited the highest risk levels, with persistent spore loads despite cleaning. Ventilation systems were identified as major reservoirs (Category B). Cleaning procedures showed partial effectiveness, with evidence of recontamination, suggesting shortcomings in protocols and practices, including inadequate cleaning materials and lack of sporicidal disinfectants.

Conclusion: Environmental contamination by *B. cereus* in neonatology units in Bamako is high and constitutes a significant risk for healthcare-associated infections. Strengthening biosafety practices, including the use of sporicidal disinfectants, staff training, and continuous microbiological surveillance, is essential to improve quality of care and reduce neonatal morbidity and mortality.

Keywords: *Bacillus cereus*; environmental contamination; neonatology; healthcare-associated infections; biosafety; Bamako.