

Biocontamination dans un Laboratoire de Niveau 1 de Sécurité Biologique à Antananarivo en 2019

Zakaso Mbololona RAVAOARISAINA^{1*}, Vonintsoa Lalaina RAHAJAMANANA², Zely Arivelo RANDRIAMANANTANY², Andry RASAMINDRAKOTROKA²

¹ Département Microbiologie, CHU Mère-Enfant Ambohimandra, Antananarivo, Madagascar

² Département Biologie Médicale, Faculté de Médecine d'Antananarivo, Madagascar



Résumé

Introduction : Face à la bio contamination, un laboratoire de niveau 1 de sécurité biologique n'est pas doté d'appareil de sécurité et les paillasse n'ont pas de protection contre la dissémination des agents biologiques. L'objectif de cette étude est d'identifier les zones les plus contaminées dans l'environnement de travail dans le laboratoire de bactériologie.

Méthodes : Cette étude a été réalisée dans le laboratoire d'analyses médicales du Centre Hospitalier Universitaire d'Ambohimandra à Antananarivo (Madagascar) en 2019. Des prélèvements de l'environnement (air et surfaces) et cutanés ont été effectués avec des écouvillons secs stériles imbibés d'eau physiologiques stérile. Les germes isolés ont été ceux qui ressemblent morphologiquement aux contaminants des milieux de culture lors des examens des échantillons de patients. Une identification et un antibiogramme ont été faits sur les bactéries isolées.

Résultats : Durant l'étude, 14 prélèvements ont été faits dont 10 étaient positifs notamment aux Staphylocoques. Les Staphylocoques à coagulase négative étaient prédominant et trouvés sur tout type de prélèvement (air, surfaces, mains) mais plus particulièrement au niveau des mains des techniciennes. Des entérobactéries du genre *Klebsiella pneumoniae* et des bactéries non fermentaires ont été également observées respectivement au niveau de l'air et au niveau des surfaces.

Conclusion : La contamination biologique de l'environnement et des mains du personnel impacte sur les résultats d'analyses biologiques gênant l'interprétation voire induisant à l'erreur des résultats. Des mesures correspondant au niveau de sécurité biologique du laboratoire doivent être adaptées pour prévenir ces erreurs.

Mots clés - Biocontamination; Bactéries; Hygiène hospitalière; Laboratoire d'analyses ; Sécurité biologique.

Abstract

Background: A level 1 biosecurity laboratory is not equipped with a safety device and the benches have no protection against the spread of biological agents. The objective of this study is to identify the most contaminated areas in the working environment in the bacteriology laboratory.

Methods: This study was carried out in the medical analysis laboratory of the Ambohimandra University Hospital Center in Antananarivo (Madagascar) in 2019. Samples of the environment (air and surfaces) and skin were collected with sterile dry swabs humidified with physiological water. Isolated organisms were studied if they have similar morphology similar to culture media contaminants in examinations of patient samples. Identification and antibiotic susceptibility testing have been done on each isolated bacteria.

Results: During the study, 14 samples were collected, 10 of which were positive, particularly with Staphylococci. Coagulase negative staphylococci were predominant and found on all types of samples (air, surfaces, hands), but more particularly on hands of technicians. *Klebsiella pneumoniae* and non-fermentative bacteria were also observed respectively in the air samples and surfaces.

Conclusion: The biological contamination of the environment and of the hands of the personnel impacts on the results of biological analyzes hindering the interpretation even leading to the error of the results. Measures corresponding to the biological safety level of the laboratory must be adapted to prevent these errors.

Keywords - Biocontamination; Bacteria; Hospital Hygiene; Laboratory; Biological Safety.

I. INTRODUCTION

La Bio contamination se définit comme la présence d'un élément biologique dans un produit ou l'environnement du produit (air, surface, eau) [1]. Face à la bio contamination, un laboratoire de niveau 1 de sécurité biologique n'est pas doté d'appareil de sécurité et les paillasse n'ont pas de protection contre la dissémination des agents biologiques [2]. Les manipulations dans ces laboratoires doivent être basées sur les bonnes techniques microbiologiques (BTM).

La contamination dans le laboratoire d'analyses se définit par mise en évidence des microbes non présents dans le site prélevé. Les principales causes sont relatives à l'inoculum environnemental et au respect des règles de prélèvements et d'exploitation au laboratoire. Elle concerne donc ceux ou celles qui prélèvent auprès des patients et ceux ou celles qui mettent en œuvre les techniques de laboratoire. La contamination de l'environnement d'un laboratoire de bactériologie peut entraver les résultats d'analyses. Les résultats de laboratoire doivent être aussi précis que possible, tous les aspects des activités de laboratoire doivent être fiables et le rendu des résultats doit être correct afin d'être utilisé à des fins cliniques ou de santé publique.

Il existe toujours un certain degré d'inexactitude lors de la réalisation des analyses y compris les analyses bactériologiques. Pour un laboratoire à faible niveau de sécurité biologique dont la protection des échantillons de la contamination est minime par rapport aux laboratoires avec un niveau élevé de sécurité. Le défi est de réduire autant que possible le niveau d'inexactitude, en tenant compte des limites de nos systèmes d'analyse. Un niveau d'exactitude de 99% peut apparaître à première vue comme acceptable, mais le 1% d'erreur en découlant peut devenir particulièrement grand dans un système dans lequel de nombreux événements se produisent, cas typique du laboratoire d'analyse [3]. Les conséquences d'un résultat rendu inexact sont très graves si on ne cite que les traitements inutiles et ses possibles complications, le traitement inapproprié voire le retard dans l'établissement d'un diagnostic correct et la prescription des analyses supplémentaires inutiles. Par conséquent, une augmentation en coût, en temps de séjour et en temps d'occupation par le personnel soignant pourrait être rencontrée.

Après la découverte successive d'une contamination des cultures microbiologiques d'échantillons de patients par *Staphylococcus spp*, le contrôle de contamination dans le laboratoire pour identifier les sources possibles de la contamination a paru primordial pour améliorer la qualité des résultats.

Tous les laboratoires médicaux sont soumis à une menace quotidienne de contamination des milieux de culture et des échantillons de patients. Aucune étude de la flore microbienne de l'environnement et de flore cutanée des techniciens n'a été réalisée dans le service du laboratoire du CHU Mère-Enfant d'Ambohimandra (Antananarivo). Aucune étude similaire réalisée à Madagascar n'a été trouvée dans la littérature.

Les objectifs de ce travail sont de déterminer les zones les plus contaminées dans le laboratoire de bactériologie puis d'identifier les bactéries fréquemment trouvées dans les contaminations de culture dans l'environnement et au niveau de la peau des personnels techniques du laboratoire et enfin d'apporter des recommandations de bonnes pratiques de nettoyage pour l'amélioration de la qualité des résultats d'analyses bactériologiques.

II. MATERIELS ET METHODES

2.1. Cadre d'étude

Cette étude a été réalisée dans le secteur bactériologie du laboratoire de Biologie Médicale polyvalente du CHU Mère-Enfant d'Ambohimandra à Antananarivo-Madagascar.

Le personnel du laboratoire est constitué d'un biologiste, de deux techniciennes de laboratoire, de deux secrétaires et d'un agent de surface qui fait aussi le tour dans les autres services de l'hôpital comme les services de pédiatrie et de maternité.

Ce laboratoire polyvalent assure des analyses biologiques d'Immunologie, d'Hématologie, de Biochimie, de Bactériologie. Il est ouvert 12 H sur 24 H et 7j/7. L'analyse bactériologique est introduite trois mois avant le début de cette étude. Les analyses effectuées sont orientées vers les pathologies de la femme enceinte et de l'enfant vu que c'est un hôpital Mère-Enfant. Actuellement, le laboratoire pratique 5 examens bactériologiques dont l'examen cytotabériologique des urines (ECBU), l'examen cytotabériologique des sécrétions vaginales, l'examen cytochimique et bactériologique du LCR, l'examen bactériologique des selles et l'hémoculture.

Le secteur bactériologie est constitué d'un local de 2 m x 3 m dédié à la manipulation des échantillons biologiques et un nouveau local de 2 m x 3 m qui sera dédié à la préparation des milieux de culture et pour toute manipulation considérée stérile. Pendant la réalisation de cette étude, ce nouveau local est en cours de finition. Les prélèvements étaient réalisés afin de préparer le local à son utilisation pour la préparation des milieux stériles. Les

appareils existants dans le secteur bactériologie actuel sont un réfrigérateur combiné avec un congélateur, une étuve à 37°C. Le plateau technique est constitué d'un robinet d'eau pour le lavage des mains et des matériels, une paillasse pour toutes les activités bactériologiques incluant la manipulation et la préparation des milieux. Un bec bunsen sert de stérilisation du milieu environnant.

Les équipements en hygiène disponibles dans le laboratoire sont des postes de lavage de mains et des points d'eau, avec un savon liquide à côté, des gants nitriles non-stériles. Des chiffons jaunes réutilisables sont utilisés pour le nettoyage des paillasses et d'autres chiffons réutilisables sont dédiés pour le séchage des mains après lavage.

Le nettoyage des paillasses se fait à la fin de la journée et celui du sol, une fois par jour en fin de journée. Le produit de nettoyage utilisé dans le service est l'eau de javel diluée au 1/5^e avec de l'eau du robinet.

Pour l'évacuation des déchets et le traitement des effluents, des conteneurs jaunes avec de l'eau de javel pure sont disposés sur la paillasse pour recevoir les objets et les effluents contaminés. Le traitement de ces déchets dure 48H sur la paillasse puis incinérer toutes les semaines par l'agent de surface.

Pour l'autoclavage des verreries et la préparation des milieux, le laboratoire possède une cocotte chauffée à la plaque électrique.

2.2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude observationnelle monocentrique, prospective à visée investigation et à titre pédagogique pour un personnel technique non habitué et non encore habilité à réaliser des examens bactériologiques avec un niveau de sécurité biologique P1.

2.3. Durée et période de l'étude

Ce travail a été réalisé sur une période de deux semaines. La durée totale de l'étude étaient de 3 mois allant du mois de Mars au mois de Juin 2019 suite à l'introduction des activités bactériologiques dans le laboratoire.

2.4. Prélèvements

L'étude a porté sur 14 prélèvements réalisés sur des sites répertoriés au laboratoire en laissant les boîtes de pétri ouvertes pendant 20 minutes sur les sites étudiés pour le prélèvement d'air, à l'aide d'écouvillons secs stériles humidifiés avec de l'eau physiologique stérile pour les prélèvements de surface et par dépôts d'empreintes digitales sur le gélose pour le prélèvement cutané tandis qu'un brin

de cheveux coupé dans des conditions d'asepsie a été adopté pour le prélèvement des cheveux.

Ainsi, à part le prélèvement cutané au niveau des doigts de la main avant et après lavage et des cheveux de chaque technicienne, les sites les plus souvent touchés par le personnel qui sont susceptibles d'être une source de contamination des échantillons de patients et des milieux de culture préparés ont été inclus dans cette étude. Ils ont été subdivisés en trois domaines.

2.4.1. Prélèvement d'environnement

Quatre prélèvements de surfaces et quatre prélèvements d'air ont été effectués.

Il s'agissait au niveau des surfaces de :

- Deux prélèvements au niveau des zones de manipulation de bactéries vivantes et de produits biologiques dont un prélèvement au niveau de la paillasse de manipulation des échantillons de patients et un prélèvement au niveau de la paillasse de la nouvelle salle dédiée à la préparation des milieux,
- Deux prélèvements au niveau des zones les plus touchées par les techniciennes dont la porte du réfrigérateur et la porte de l'étuve.

Il s'agissait au niveau de l'air de :

- un prélèvement au niveau de la paillasse de manipulation des échantillons de patients,
- un prélèvement au niveau de la paillasse de la nouvelle salle dédiée à la préparation des milieux,
- un prélèvement dans l'étuve,
- un prélèvement dans le réfrigérateur.

2.4.2. Prélèvement cutané

Six prélèvements cutanés ont été réalisés dont trois par techniciennes avec :

- un prélèvement de doigts avant lavage des mains,
- un prélèvement de doigts après lavage des mains au savon puis laisser sécher à l'air,
- un prélèvement d'un brin de cheveux de chaque pour les techniciennes de laboratoire.

2.5. Sites prélevés

2.5.1. Critères d'inclusion de site :

Tous les sites dans le secteur bactériologie citée dans le chapitre « Prélèvement » ont été inclus dans l'étude.

2.5.2. Critères d'exclusion de site :

Tous les sites en dehors des salles de bactériologie ont été exclus de l'étude.

2.5.3. Critères de non inclusion

Tous les sites dans le secteur bactériologie mais non citée dans le chapitre « Prélèvement » n'ont pas été inclus dans l'étude. Ils ont été considérés comme présentant un risque moindre d'être une source de contamination des milieux.

2.6. Examen bactériologique

L'isolement des bactéries ont été effectués sur gélose au sang pour l'isolement de tous les germes et des milieux sélectifs URSELECT pour les bactéries à gram négatifs.

La lecture des boîtes a été faite après 24 heures d'incubation. La flore totale a été dénombrée en tenant compte de toutes les colonies présentes sur la gélose. Une identification des colonies similaires aux colonies suspectes contaminant les milieux avant l'étude, avec les techniques usuelles de bactériologie, a été effectuée.

Cette identification a été faite en observant l'aspect des colonies sur gélose au sang, en procédant aux tests coagulase et catalase suivi par la coloration de gram pour le genre *Staphylococcus*. Elle s'arrête à la différenciation des Staphylocoques à coagulase négative et des *Staphylococcus aureus*. Pour les Bacilles à gram négatifs, l'identification a été faite en utilisant l'oxydase, la coloration de gram et la galerie API 20E pour les entérobactéries et la galerie API 20NE pour les bactéries non-fermentaires.

Un antibiogramme a été réalisé sur toutes les souches isolées et identifiées.

Pour les SCN et les *Staphylococcus aureus*, les mêmes listes d'antibiotiques utilisés pour les patients constituées de 14 antibiotiques ont été testés dont Pénicilline G (P1U), Céfoxitine (FOX30), Kanamycine (K30), Tobramycine (TOB30), Gentamicine (CN30), Erythromycine (E15), Clindamycine (DA2), Norfloxacin (NOR30), Ciprofloxacine (CIP5), Rifampicine (RD5), acide Fusidique (FD30), Pristinamycine (PT30), Cotrimoxazole (SXT25), Fosfomycine (FOT200).

Pour les entérobactéries et les BGN non fermentaires, 21 antibiotiques ont été testés dont Amoxicilline (AML25), Amoxicilline acide-clavulanique (AMC30), Céfoxitine (FOX30), Céfotaxime (CTX30), Cefotaxime (CAZ30), Céfadroxil (CFR30), Céftriaxone (CRO30), Céfépime (FEP30), Céfixime (CFM5), Imipénème (IPM10),

Ertapénème (ETP10), Ciprofloxacine (CIP5), Amikacine (AK30), Tobramycine (TOB30), Gentamicine (CN30), Fosfomycine (FOT200), Acide nalidixique (NA30), Levofloxacine (LEV5), Chloramphénicol (C30), Cotrimoxazole (SXT25), Colistine (CT10).

Un test de synergie, caractérisé par un rapprochement des disques AMC avec les C3G distant de 3 mm, a été effectué pour la confirmation de BLSE.

L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé de KIRBY-BAUER. L'interprétation des diamètres d'inhibition a été faite selon les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie / European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (CA-SFM/EUCAST), version 2018. Les résultats de l'antibiogramme ont été catégorisés sensibles (S), intermédiaire (I) et résistante (R).

A l'antibiogramme, la recherche de résistance aux antibiotiques habituels a été effectuée. Les staphylocoques ont été évalués selon leur résistance à la Mécilline via le disque de Céfoxitine selon les recommandations du CA-SFM 2018 (les souches ayant un diamètre inférieur à 22 mm sont définies comme résistantes à la Mécilline) [4]. La multirésistance des germes aux antibiotiques est également étudiée. Elle se définit par des bactéries qui ne sont sensibles qu'au maximum à un petit nombre de familles ou de sous-familles d'antibiotiques utilisables en cliniques avec une probabilité forte d'efficacité thérapeutique.

2.7. Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée sur Excel 2013. L'effectif et le pourcentage ont été utilisés pour l'analyse des variables.

III. RESULTATS

Durant l'étude, 14 prélèvements ont été effectués dont 8 prélèvements de l'environnement et 6 prélèvements cutanés. Parmi eux, 10 prélèvements sont revenus positifs et 4 négatifs (**Tableau I**). Ceux qui ont été indemnes de contamination étaient la porte de l'étuve et la paillasse de la bactériologie.

Sur les 10 prélèvements positifs, 19 colonies semblables aux contaminants ont été ré-isolées et étudiées. Le nombre de colonies ayant poussé en 24 h était variable allant d'une colonie au niveau de l'étuve à 30 colonies au niveau des doigts des techniciennes avant lavage.

Les Staphylocoques étaient les bactéries les plus fréquemment isolées avec 57,89% (n = 11) suivi par les

bactéries non fermentaires avec 21.05% (n = 4) comme le montre la **figure 1**.

Parmi les bactéries isolées (**Tableau II**), les SCN ont été prédominants avec 42.10% (n = 8). *K. pneumoniae* a été la seule entérobactérie isolée. Des bactéries non fermentaires comme *Sphingomonas paucimobilis*, *Chryseobacterium meningoseptum*, *Burkholderia cepacia* ont été observées. Deux souches de *Candida albicans* (10.53%) a été rencontrées.

Selon le site de prélèvement, les Staphylocoques étaient surtout isolés au niveau cutané, mais également au niveau de l'air et des surfaces. Les deux *K. pneumoniae* étaient isolés de l'air. Les bactéries non fermentaires ont été isolées au niveau des surfaces (**figure 2**).

Pour chaque germe identifié, le **Tableau III** montre la positivité des cultures pour chaque site prélevé.

Les SCN étaient la bactérie prédominante de cette étude. Le profil de sensibilité de ces germes a été étudié particulièrement du fait de la contamination fréquente des cultures par ces germes (**Tableau IV**). A l'issue de l'antibiogramme, les souches de SCN isolées au niveau de l'air ont été des souches résistantes à la Céfoxitine, marqueur d'une résistance à la Méricilline. Tous types de prélèvement confondus, six souches de SCN ont été résistantes à la Pénicilline, cinq ont été résistantes aux cotrimoxazoles (SXT), une résistance à tous les aminosides a été retrouvée chez 4 cas. Cinq souches sur huit ont été résistantes à l'érythromycine dont deux ont été isolées de l'air. Six souches ont été résistantes à l'acide fusidique dont deux au niveau de l'air, deux au niveau des surfaces, et deux au niveau cutané.

Pour les souches isolées de SCN au niveau cutané, un profil KT a été rencontré, toutes ont été résistantes aux quinolones testées.

Aucune des deux *Staphylococcus aureus* isolés au niveau des doigts n'étaient résistantes à la méricilline dites *Staphylococcus aureus* sensible à la Méricilline (ou SASM). Elles étaient résistantes à la pénicilline et à l'acide fusidique

IV. DISCUSSION

Cette étude est axée sur le contrôle de l'environnement du laboratoire afin d'éviter des résultats erronés. Cependant, ce contrôle d'environnement n'a pas été réalisée afin de juger si le laboratoire est conforme ou non, ni d'établir un certificat de bonne ou de mauvaise conduite vis-à-vis des procédures de nettoyage. Il s'agit d'une étude réalisée avec des moyens simples dans l'objectif d'améliorer la qualité

des résultats bactériologiques et d'apporter des modifications sur les pratiques quotidiennes des techniciens dans un centre où le niveau de sécurité biologique du laboratoire d'analyses est faible de niveau 1 et où l'espoir d'obtenir des équipements de protection adaptée via l'Etat est encore inenvisageable. La prévention des contaminations des milieux de culture, des matériels existants dans le laboratoire et des mains des personnels est le principal but de cette étude. Sur le plan pédagogique, l'objectif étant de faire connaître aux techniciens, travaillant dans des laboratoires à faible niveau de sécurité biologique, les zones les plus contaminées et les zones dont la stérilité doit être préservée au maximum durant la manipulation.

Au cours de cette étude, il a été remarqué que tous les sites prélevés ont été positifs sauf la paillasse de la bactériologie et la porte de l'étuve. La stérilité de la paillasse de bactériologie pourrait être expliquée par le fait qu'un nettoyage préalable à l'eau de javel ait eu lieu avant le prélèvement qui a été aléatoire sans tenir compte du moment de nettoyage. La porte de l'étuve quant à elle, est souvent manipulée avec des gants. Les SCN ont été les germes les plus observés quel que soit le type de prélèvement (environnement ou cutané) et le site prélevé vu qu'ils sont manuportés et trouvés en grande quantité au niveau des mains des personnels. Les entérobactéries retrouvées dans cette étude étaient toutes des *K. pneumoniae*. Les Klebsiella sont des bactéries très répandues dans la nature (l'eau, le sol, les végétaux, la flore fécale des animaux), sur la peau et les muqueuses [5]. La contamination des échantillons de patients par ce germe sera difficile à éliminer surtout lorsqu'il s'agit d'une culture mono-microbienne. Ainsi, une bonne pratique lors de la manipulation est importante pour éviter le risque de contamination et la difficulté lors de l'interprétation notamment lors de l'hémoculture ou de l'examen cyto bactériologique des urines.

L'absence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méricilline (SARM) et d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) observée durant cette étude doit être maintenue par une bonne hygiène de l'environnement et des mains. Ces deux bactéries multi-résistantes constituent un problème de santé publique en milieu hospitalier notamment pour les patients hospitalisés car elles sont à l'origine de nombreuses infections nosocomiales. La réalisation des contrôles d'environnement (air, eaux, surfaces) fait partie de la politique de lutte contre les infections nosocomiales [6]. Ce sont des indicateurs qui s'intègrent dans un plan d'action qualité visant à la gestion du risque infectieux. En effet, pour le laboratoire, cette étude est à visée d'investigation pour permettre l'intégration de la

qualité dans les techniques de laboratoires dans un site à faible niveau de sécurité car il est important de différencier une contamination de l'échantillon de patient avant l'arrivée au 1 laboratoire ou pendant la manipulation d'une véritable infection ou d'une véritable colonisation du patient par le germe trouvé.

Pour la nouvelle salle dédiée à la préparation de milieux, l'étude a été réalisée dans le cadre d'une procédure de qualification du local afin qu'elle soit prête à recevoir son nouveau rôle et de le préparer à cet effet en entamant des

procédures de nettoyage efficaces avant qu'elle soit fonctionnelle.

Comme il s'agit d'un laboratoire de niveau I de sécurité biologique (P1), les seuls moyens de protection contre les contaminations des milieux, des échantillons et des risques infectieux disponibles sont le port de gants, des blouses et la manipulation à 20 cm du bec bunsen. Des fois, faute de moyens, les techniciennes sont obligées de réutiliser les gants après les avoir enlevés. Cette situation est un facteur de risque de contamination accru des milieux et des matériels touchés par le personnel.

Tableau I : Résultats des cultures et nombre de colonies selon le site de prélèvement

Prélèvements	Sites prélevés	URISELECT		GELOSE AU SANG	
		Cultures	Nombre de colonies	Cultures	Nombre de colonies
AIR					
	Paillasse bactériologie	Positif	10	Positif	10
	Paillasse salle stérile	Positif	13	Positif	8
	Intérieur réfrigérateur	Positif	2	Positif	1
	Intérieur de l'étuve	NEGATIF	0	Positif	1
SURFACES					
	Paillasse bactériologie	NEGATIF	0	NEGATIF	0
	Paillasse salle stérile	Positif	4	Positif	2
	Porte du réfrigérateur	Positif	4	Positif	2
	Porte de l'étuve	NEGATIF	0	NEGATIF	0
CUTANÉES					
Doigts avant lavage	Doigts 1 ^{er} technicien	Non réalisé	Non réalisé	Positif	30
	Doigts 2 ^e technicien	Non réalisé	Non réalisé	Positif	25
Doigts après lavage	Doigts 1 ^{er} technicien	Non réalisé	Non réalisé	Positif	10
	Doigts 2 ^e technicien	Non réalisé	Non réalisé	Positif	10
Cheveux	Cheveux 1 ^{er} technicien	Non réalisé	Non réalisé	NEGATIF	0
	Cheveux 2 ^e technicien	Non réalisé	Non réalisé	Positif	2

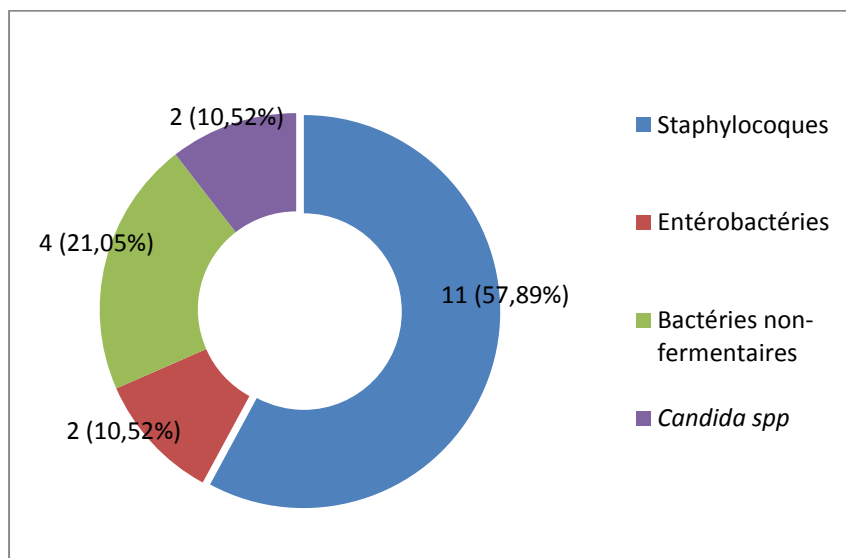


Figure 1: Répartition des germes isolés selon leur genre

Tableau II: Répartition des germes isolés selon leur espèce

Souches	Effectif (n)	Pourcentage (%)
Staphylocoques (n = 11)		
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	15.79
Staphylocoques à coagulase négative	8	42.10
Entérobactéries (n = 2)		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	10.53
Bactéries non-fermentaires (n = 4)		
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	5.26
<i>Chryseobacterium meningoseptum</i>	2	10.53
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	5.26
<i>Candida albicans</i>	2	10.53
Total	19	100

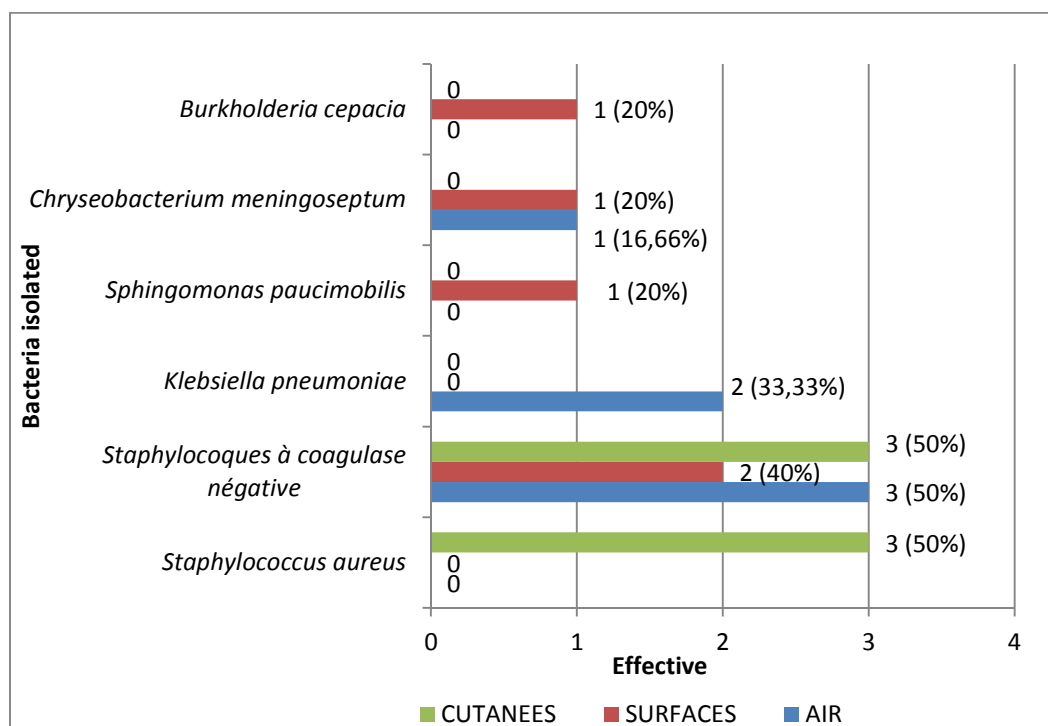


Figure 2 : Distribution des bactéries isolées selon le site de prélèvement

(+) : Culture positive. (-) : Culture négative

S. aureus : *Staphylococcus aureus*, SCN : Staphylocoques à coagulase négative, *K. pneumoniae* : *Klebsiella pneumoniae*, *C. meningoseptum* : *Chryseobacterium meningoseptum*, *B. cepacia* : *Burkholderia cepacia*, *S. paucimobilis* : *Sphingomonas paucimobilis*, *C. albicans* : *Candida albicans*.

Tableau III : Distribution de la positivité des cultures et des germes isolés selon les sites prélevés

Sites prélevés	<i>S. aureus</i>	SCN	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. meningoseptum</i>	<i>B. cepacia</i>	<i>S. paucimobilis</i>	<i>C. albicans</i>
AIR							
Paillasse de la salle bactériologie	-	+	-	+	-	-	-
Paillasse de la nouvelle salle	-	+	+	-	-	-	-
Intérieur du réfrigérateur	-	+	+	-	-	-	-
Intérieur de l'étuve	-	-	-	-	-	-	-
SURFACES							
Paillasse de la salle bactériologie	-	-	-	-			
Paillasse de la nouvelle salle	-	+	-	+	+	-	+
Porte du réfrigérateur	-	+	-	-	-	+	+
Porte de l'étuve	-	-	-	-	-	-	-
CUTANES							
1 ^{er} technicien	Doigts avant lavage	+	+	-	-	-	-
	Doigts après lavage	+	-	-	-	-	-
	Cheveux	-	-	-	-	-	-
2 ^e technicien	Doigts avant lavage	-	+	-	-	-	-
	Doigts après lavage	+	-	-	-	-	-
	Cheveux	-	+	-	-	-	-

Tableau IV : Profil de sensibilité aux antibiotiques des SCN isolés selon les sites prélevés

Sites prélevés	P1U	FOX	K	TOB	CN	CIP	NOR	RIF	SXT	E	DA	PT	FA	FOS
AIR														
Paillasse de la salle bactériologie	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	R	R
Paillasse de la nouvelle salle	R	R	R	R	R	S	R	R	I	I	R	I	R	R
Intérieur du réfrigérateur	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R
SURFACES														
Paillasse de la nouvelle salle	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R
Porte du réfrigérateur	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	S
CUTANEE														
Doigts 1 ^{er} technicien avant lavage	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
Doigts 2 ^e technicien avant lavage	R	S	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S
Cheveux 2 ^e technicien	S	S	R	R	S	S	R	S	R	S	R	S	R	S

P1U : Pénicilline 1 unité, FOX : Céfoxitine, K : Kanamycine, TOB : Tobramycine, CN : Gentamicine, CIP : Ciprofloxacine, NOR : Norfloxacine, RD : Rifampicine, SXT : Sulfaméthoxazole-Triméthoprime, E : Erythromycine, DA : Clindamycine, PT : Pristinamycine, FD : Acide Fusidique, FOS : Fosfomycine.

A l'issue de cette étude, les pratiques de laboratoire, les procédures de nettoyage et de décontamination sont à revoir afin d'éviter la contamination par les germes de l'environnement du laboratoire et des mains des personnels du laboratoire. Ces améliorations faciliteront l'interprétation des résultats et de distinguer la contamination du milieu de culture ou d'un échantillon, la colonisation du patient d'une vraie infection. Une classification des niveaux de preuve pour évaluer l'implication d'un réservoir environnemental comme source d'une infection a été proposée par Weber [7].

Concernant les infrastructures et les équipements, une réhabilitation des infrastructures et un renouvellement des matériels d'autoclavage et autres matériels usés dans le laboratoire selon les normes et standards minimales requises sont primordiales pour éviter les pullulations de germes.

Concernant l'hygiène et la sécurité au laboratoire, des mesures de classe 1 sont dédiées au laboratoire de niveau de sécurité biologique 1 ou P1 [8] telles l'application des principes de bonnes pratiques dans les laboratoires microbiologiques, l'interdiction formelle d'un pipetage avec la bouche et la promotion de l'utilisation des pipettes mécaniques (poires, pro-pipettes, pipettes automatique, ...), l'utilisation des aiguilles de seringues et les canules avec précaution pour éviter les accidents et leur élimination comme des déchets spéciaux (objets tranchants coupants), l'éviction de la création d'aérosol, l'interdiction de la présence d'aliments, de boissons et de tabac dans le laboratoire. Le port de vêtements (blouse de travail) uniquement pour le laboratoire est recommandé.

Le laboratoire doit être tenu propre, en ordre et sans la présence de matériel n'étant pas en relation avec le travail. Les plans de travail doivent être décontaminés à l'eau de javel diluée avant de commencer la manipulation, s'ils ont été souillés par des produits potentiellement dangereux ainsi qu'à la fin de la journée de travail.

Tous les matériels, échantillons et cultures contaminés doivent être décontaminés avant d'être jetés ou s'ils sont réutilisables nettoyés avant de réutiliser. Les fenêtres doivent être gardées fermées jusqu'à l'obtention de grillages pour empêcher la pénétration des arthropodes.

Le lavage des mains doit toujours être suivi de l'utilisation de solutions hydro-alcooliques, avant de commencer la manipulation des échantillons de patients, un lavage des mains est exigé afin de diminuer le risque de contamination des milieux.

V. CONCLUSION

Un contrôle de la contamination biologique est indispensable dans les établissements de santé notamment dans les salles d'hospitalisation. Une étude de la biocontamination dans les laboratoires à faible niveau de sécurité a été jugée indispensable afin d'obtenir des résultats de bonne qualité et adapter les procédures techniques selon les zones à risque infectieux et contaminés lors des examens bactériologiques. L'isolement des bactéries contaminant fréquemment les milieux de culture comme les *Staphylocoques* à coagulase négative dans cette étude nous a permis de rendre compte aux techniciennes que tous germes isolés même mono-microbien ne sont pas toujours du patient.

REFERENCES

- [1] P. GARRY. La contamination biologique. Bull. Liaison CTSCCV. 1998 ; 8 (N°3). 157 – 161.
- [2] OMS. Manuel de sécurité biologique en laboratoire Troisième édition. Genève. 2005.
- [3] OMS. Système de Gestion de la Qualité au Laboratoire. Introduction à la qualité. [Consulté le 10 Aout 2019]. https://extranet.who.int/lqsi/sites/default/files/attachedfiles/LQMS%201%20Intro%20to%20quality_1.pdf
- [4] Société Française de Microbiologie. *Staphylococcus* spp. In : CASFM / EUCAST : Société Française de Microbiologie Ed ; 2018: 57-63.
- [5] LEON LE MINOR, MICHEL VERON, Bactériologie Médicale 2ème Edition Paris, 1989, 396- 795p.
- [6] Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé ; Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé, DGS/DHOS, CTIN, 2002.
- [7] Weber DJ, Rutala WA. Environmental issues and nosocomial infections. In :Wenzel RP. Prevention and control of nosocomial infections (3rd ed). Williams &Wilkins, Baltimore, 1997, 491-514.
- [8] CUSSTR Commission Universitaire de Sécurité et Santé au Travail Romande. Dangers et risques biologiques. [Consulté ce 18 Aout 2019]. <http://cusstr.ch/repository/133.pdf>.