

République algérienne démocratique et populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب  
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib  
Faculté des Sciences et de Technologie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes  
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie Appliquée  
Thème

**Contrôle Microbiologique De L'air Est Des Surfaces De  
Laboratoires Pédagogique de L'université de Ain  
Temouchent**

**Présenté Par :**

- 1) M. Mouloud BENOUSSAD
- 2) M. Zoubir DRIF

**Devant le jury composé de :**

Mme Ilies faiza	MCA	UAT.B. B (Ain Temouchent)	Président
Chibani hiba	MCB	UAT.B. B (Ain Temouchent )	Examineur
Lachachi meriem	MCB	UAT.B. B (Ain Temouchent )	Encadrant

*Année Universitaire 2020/2021*



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

” رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ  
الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ  
وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ  
وَأَدْخِلْنِي بِرَحْمَتِكَ فِي عِبَادِكَ  
الصَّالِحِينَ ”

صدق الله العظيم

سورة النمل الآية 19



## Remerciements

Tout d'abord الحمد لله رب العالمين le tout puissant de nous avoir accordé la puissance et la volonté et la patience pour la réalisation de ce travail.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire pédagogique de l'université de Ain Temouchent.

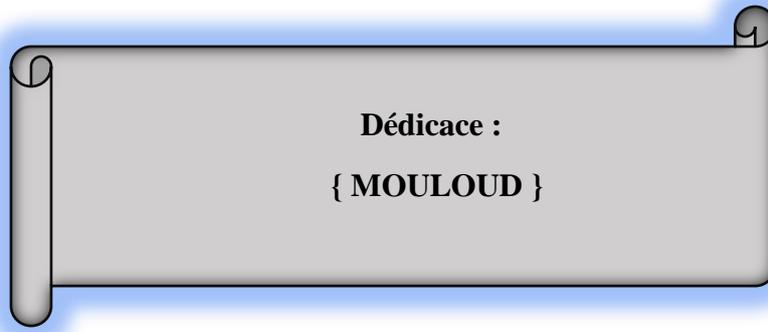
On remercie tout d'abord le Dr lachachi MERIEM notre encadreur pour tous les efforts fournis durant toute cette période de travail, sa patience son investissement et sa bienveillance ont fait que ce travail fut abouti avec succès, Merci beaucoup à vous chère Madame, votre bienveillance a fait que nous nous sommes surpassés afin de fournir le maximum d'effort possible, vous avez notre éternel reconnaissance gratitude.

Je tiens à remercier également nos enseignants de l'université Monsieur Ziane Mohammed mais également Monsieur Cherif nadjib et bennabi farid sans oublier Monsieur Sofiane benyamina qui ont été importants durant notre cursus, merci pour tout ce que vous avez fait pour nous et de votre soutien moral, votre gentillesse et votre humilité nous restera gravé à jamais.

On adresse nos plus vifs remerciements à Madame Iles faiza , de l'université Belhadj Bouchaib Ain Temouchent , D'avoir accepté de juger ce travail.

On adresse nos plus vifs remerciements à Mademoiselle Chibani HIBA, de l'université Belhadj Bouchaib Ain Temouchent , D'avoir accepté de juger ce travail.

On tiens à exprimer notre profonde reconnaissance à Monsieur khaled et nor eddine les ingénieurs du laboratoire pédagogique de l'université de Ain Temouchent et mademoiselle choukria pour leur aide durant le travail pratique vous avez notre éternel reconnaissance et gratitude.



Dédicace :  
{ MOULOUUD }

Je dédie tout d'abord ce travail a mes deux grand père **وتعالى سبحانه برحمته يرحمهم الله**, c'est les personnes qui ont le plus compté de ma vie, leur éducation et leurs conseils m'ont toujours été d'une aide précieuse, ils ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, ils sont plus de ce monde, mais il reste bien vivant dans ma tête et mon cœur, **مثواكم ويجعل يرحمكم الله الجنة**.

Je dédie ce travail bien sûr à mes parents qui m'ont toujours soutenue, encourager et poussée vers l'avant pour que je puisse à la hauteur des exigences je ne vous remercierais jamais assez pour tout ce que vous avez fait, j'espère juste être à la hauteur de vos exigences et j'espère que vous saurez fière de moi, merci pour tout.

Ce travail est dédié également à mes deux grand-mères qui ont fait en sorte que je sois a la hauteur et m'ont toujours poussée depuis la plus tendre enfance pour que je soie meilleure encore plus meilleure.

Je le dédie également a ma grand-mère paternelle et ma tante Dalila qui ne sont plus de ce monde mais qu'elle reste bien vivante dans ma mémoire et mon cœur **ويجعل يرحمكم الله الجنة مثواكم**.

A mes oncles paternelle Malik, Omar, Amine et ma tante Aziza, Ils ont été bien plus que des oncles et une tante, je ne vous remercierais jamais assez pour tout ce que vous avez fait pour moi, vous avez tous une grande part dans ma réussite ma réussite, chacun de vous a joué un rôle important et fait en sorte que je soie meilleure, merci pour tous.

A mes oncles Maternelle Meftahi Hassen, Mohammed et Larbi qui m'ont été d'un grand soutien moral pour la réussite de mes études et dans ma vie active, une dédicace spéciale a Larbi qui a toujours été pour moi un modèle de réussite et ma montré le chemin de cette réussite et m'a prouvé que tout été possible a condition de travaillé et faire des sacrifice merci beaucoup tonton

A mes tante Saliha et Lynda qui ont toujours cru en moi et a ma réussite, leur soutien moral m'a toujours poussé a ce que je sois meilleure merci beaucoup à vous.

A ma sœur qui m'a été toujours d'un soutien moral, aussi modeste soie-t-il mais qui été important pour moi, merci frangine.

A mes cousins, Benoussad Omar, Fouad, Cherif et le banjamain Iles, pour moi vous n'êtes pas des cousins mais les frères que je n'ai pas eus, j'espère être fier de vous autant que vous être fier de moi aujourd'hui.

A mes cousine, Benoussad Ines, Fetta, et la petite Ilhem j'espère être fier de vous, sans oublier Mefathi Ines et Eline, et Boudrari Sarah.

**A mes cousin Meftahi Ghiles, Samy, et le benjamain Yanis pour vos encouragements et votre soutien, merci pour votre soutien, sans oublier mes cousin et cousine Ait Maamar Larbi Zoubir Massinissa, Mohamed et Tahar, Asma et Yasmine pour tout votre soutien moral qui m'a fait progresser.**

**Au épouse de mes oncles qui ont été d'une aide précieuse durant mon parcours.**

**A mon cher Amis, Bousahla Mouhamed que je considéré comme un frère, tu as été plus qu'un ami je ne te remercierais jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi, ton soutien surtout dans le moment difficile m'a été bénéfique, merci mon frère.**

**A mes Amis d'enfance Said bensedik et Oussama berichi merci pour tous les moments passé ensemble.**

**A mon cher amis bourgir ilies qui a été présent dans les moments difficile**

**Une dédicace spéciale a Monsieur Gerouji Said mon professeur de SNV qui a été le moteur de ma jeune carrière et qui a su tirer le meilleur de moi-même, merci maitre j'espère être a la hauteur de vos Esperance.**

**Une dédicace spéciale a NZ, une personne chère, qui m'a été d'un grand soutien durant mon parcours universitaire et une sources d'inspiration qui me poussait a être meilleure, Merci beaucoup.**

**A mon binôme Drif zoubir, Malgré tout le stresse que tu m'a provoqué en plus des angoisse merci comme même pour cette collaboration.**

**A tous ceux qui me connaissent.**



**Dédicace :**  
**{ ZOUBIR }**

**Grace à dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail  
que je dédie**

**A mes très chers parents qui m'ont soutenu durant ce long trajet d'étude, car toute  
réussite dans ma vie est grâce à leur sacrifice et leur soutien**

**Merci infiniment....**

**A mon père ZOUBIR, mon exemple dans la vie, en signe de profonde et affectueux  
reconnaissance pour tous les sacrifices qu'il a bien voulu consentir pour moi.**

**A ma mère, qui est ma raison de vivre. Merci d'avoir apporté la joie à  
mon cœur en toute circonstances**

**A mes frères, ZOHEIR ZINOUE et ZAKARIA pour leur soutien moral et leurs conseils.**

**Je vous remercie d'être toujours là pour moi.**

**Et**

**A mon binome MOULOUD Malgré tout le stress que tu m'as provoqué en plus des  
angoisses merci comme même pour cette collaboration.**

**Et**

**A tous ceux que je connais de loin ou de près.**

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b>	<b>3</b>
1. La stratégie du contrôle microbiologique	3
2. les agents biologiques de l'air et des surfaces	3
3. Analyse de l'air	3
3.1. Les microorganismes aérocontaminants	4
3.2. Mécanismes et sources de contamination de l'air	4
3.3. FLORE MICROBIENNE DE L'AIR	5
3.4. Modes de transmission	6
3.5. Méthodes de contrôle microbiologique de l'air	7
4. Analyse des surfaces	8
4.1. CONTAMINATION DES SURFACES	8
4.2. Modalités de propagation des microorganismes dans les surfaces	9
4.3. Les risques pour les personnels	9
4.4. Conditions de multiplication des micro-organismes	10
4.5. Voies de propagation	10
4.6. Méthodes de contrôle microbiologique des surfaces	11
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes</b>	<b>12</b>
1. Présentation du lieu de travail et de prélèvement	12
2. Prélèvement	13
2.1. Prélèvement des échantillons d'air	13
2.2. Prélèvement des échantillons de surfaces	14
3. Méthode d'analyses microbiologique de l'air	16
3.1. Méthode de la sédimentation sur boîte	16
3.2. Méthode du capteur d'air (bio collecteur)	16
4. Méthode d'analyse des surfaces	17

4.1. Méthode la boîte RODAC .....	17
4.2 Méthode de l'écouvillonnage .....	18
5-Etude macroscopique des colonies sur les différents milieux de culture.....	19
6-Etude microscopique.....	20
6.1 Coloration de gram .....	20
6.2 Matériel .....	20
7. test enzymatique .....	21
7-1-Test de la coagulase pour l'identification des <i>Staphylocoques</i> a coagulase + pathogène et les <i>Staphylocoque</i> a coagulase- non pathogène.....	21
8. identification probabiliste par la galerie API 20 E .....	21
8-1 préparation de la suspension bactérienne.....	21
8-2 ensemencement de la galerie .....	21
<b>Troisième partie : Résultats et discussion.....</b>	<b>22</b>
1. l'analyse microbiologique de l'air et des surfaces.....	22
1-1-Résultat de L'analyse microbiologique de l'air par la méthode de sédimentation sur boîte.....	22
1-2-Résultat de l'analyse microbiologique de l'air par la méthode du bio collecteur (Capteur d'air).....	25
2. Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces.....	27
2-1 Méthode d'analyse des surfaces par la méthode de la boîte RODAC.....	27
2-2 Analyse microbiologique des surfaces par la méthode de l'écouvillonnage.....	28
3. Résultat de l'identification par la galerie API 20 E.....	34
3.1 Interprétation des résultats obtenus en utilisant la méthode de sédimentation sur boîte.	35
3.2 Interprétation des résultats obtenus par l'utilisation de la méthode du capteur d'air ...	35
4. Interprétation des résultats de l'analyse microbiologique des surfaces .....	35
4.1 Méthode de l'écouvillonnage .....	36
4.2 Résultat obtenus par l'utilisation de la méthode de la boîte RODAC .....	38
5.Résultat de l'analyse Microscopique.....	38

5.1. Résultat de l'analyse microscopique des colonies obtenu sur Chapman du prélèvement de la surface de la poignée de porte du laboratoire 07.....	38
5.2. Résultat de l'analyse microscopique des colonies obtenu sur Mac conckey du prélèvement de la surface de la paillasse à côté du robinet du laboratoire 07.....	39
6. Test d'identification biochimique (Test enzymatique) .....	41
6.1. Test de la coagulase.....	41
7. Résultat obtenu après stérilisation .....	41
7.1. Résultats de l'analyse microbiologique de l'air après stérilisation par la méthode de sédimentation sur boîte .....	42
7-2- Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces après stérilisation par la méthode d'écouvillonnage .....	43
8. Interprétation des résultats après stérilisation .....	49
9. Interprétations des résultats obtenus après identification par de la galerie API 20 E .....	49
9.1. Degrés de pathogénicité des bactéries obtenus .....	50
Discussion général .....	51
<b>Conclusion générale</b> .....	52
<b>Références bibliographique</b> .....	54

## Liste des Abréviations

API : Appareillage et procédés d'identification

GN: Gélose nutritive

RODAC: Replicating Organisms Direct Agar Contact

ONPG : test de l'enzyme  $\beta$ -galactosidase par hydrolyse du substrat o-nitrophényl-bD-galactopyranoside

ADH: décarboxylation de l'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase

LDC: décarboxylations de l'acide aminé lysine par la lysine décarboxylase

ODC: décarboxylations de l'acide aminé ornithine par l'ornithine décarboxylase

CIT: utilisation du citrate comme seule source de carbone

H2S: production de sulfure d'hydrogène

URE: test de l'enzyme uréase

TDA (Tryptophane désaminase): détection de l'enzyme tryptophane désaminase: réactif à mettre - Chlorure ferrique.

IND: Test Indole - production d'indole à partir de tryptophane par l'enzyme tryptophanase. Réactif - L'indole est détecté par l'ajout du réactif de Kovac.

VP : le test de Voges-Proskauer pour la détection de l'acétoïne (acétylméthylcarbinol) produite par fermentation du glucose par des bactéries utilisant la voie du butylène glycol

GEL: test de production de l'enzyme gélatinase qui liquéfie la gélatine

GLU: fermentation du glucose (sucre hexose)

MAN: fermentation du mannose (sucre hexose)

INO: fermentation de l'inositol (polyalcool cyclique)

SOR: fermentation du sorbitol (sucre d'alcool)

RHA: fermentation du rhamnose (sucre de méthyl pentose)

SAC: fermentation du saccharose (disaccharide)

MEL: fermentation du mélibiose (disaccharide)

AMY: fermentation de l'amygdaline (glycoside)

ARA: fermentation de l'arabinose (sucre pentose)

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Méthode par sédimentation prélèvement d'air passif ( <b>valençay 2016</b> ).....	7
<b>Figure 2</b> : Méthode par aspiration pour réaliser un prélèvement d'air actif ( <b>ISO.2003</b> ).....	8
<b>Figure 3</b> : Laboratoire pédagogique de biologie de l'université de Ain TEMOUCHENT....	12
<b>Figure 4</b> : prélèvement de l'ait par la méthode de sédimentation sur dans le compartiment à côté des étuves bactériologiques .....	13
<b>Figure 5</b> : prélèvement de l'air par la méthode du bio collecteur sur dans le compartiment à côté des étuves bactériologiques.....	13
<b>Figure 6</b> : prélèvement de la poignée du laboratoire pédagogique 08 par la méthode de la boite RODAC.....	14
<b>Figure 7</b> : Prélèvement de la surface de l'interrupteur du laboratoire 07 par la méthode de la boite RODAC.....	14
<b>Figure 8</b> : Prélèvement de la Poignée de l'étuve par la méthode de l'écouvillonnage .....	15
<b>Figure 9</b> : Prélèvement de surface de la Poignée de placard du laboratoire 07 par la méthode de l'écouvillonnage .....	15
<b>Figure 10</b> : Prélèvement de surface de la paillasse du laboratoire 07 par la méthode de l'écouvillonnage .....	15
<b>Figure 11</b> : Observation microscopique de bactéries gram+ en forme de cocci en grappe de raisin .....	38
<b>Figure 12</b> : Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram+ isolée ou en chaînette.....	38
<b>Figure 13</b> : Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram- (Forme coccoïde).....	39
<b>Figure 14</b> : Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram-.....	39
<b>Figure 15</b> : Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram-.....	39
<b>Figure 16</b> : Résultat du test de coagulase des colonies isolées sur Chapman du prélèvement de la poignée de porte.....	40

## Listes des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Avantages et inconvénients de la méthode par sédimentation.....	16
<b>Tableau 2 :</b> Avantages et inconvénients de la méthode par aspiration.....	17
<b>Tableau 3 :</b> Avantages et inconvénients des différentes méthodes.....	18
<b>Tableau 4 :</b> Le dénombrement après 24Heurs d'incubation (méthode de la sédimentation sur boite).....	24
<b>Tableau 5 :</b> Résultats de l'analyse microbiologique de l'air par la méthode du capteur d'air après 48 Heures d'incubation.....	25
<b>Tableau 6 :</b> Nombre de germes obtenus du contrôle de l'air par le bio-collecteur.....	26
<b>Tableau 7 :</b> Résultats après 48 Heures d'incubation de l'ensemencement sur la boite RODAC.....	27
<b>Tableau 8 :</b> Résultats de la méthode d'écouvillonnage sur gélose nutritive après 48 H d'incubation.....	31
<b>Tableau 9 :</b> Résultat de la méthode d'écouvillonnage sur Milieu Mac Conckey après 48 Heures d'incubation.....	32
<b>Tableau 10:</b> Résultat de la méthode de l'écouvillonnage sur milieu Chapman.....	34
<b>Tableau 11 :</b> Résultat de l'identification probabiliste sur la galerie API 20 E.....	34
<b>Tableau 12.</b> Récapitulatif des résultats obtenus par la technique de l'écouvillonnage au niveau de l'hôpital de Strasbourg (espèces, des genres soutes flores bactériens).....	36
<b>Tableau 13:</b> Résultat après stérilisation par évaporation de l'eau et par le formol par la méthode de sédimentation sur boite .....	42
<b>Tableau 14:</b> Résultat obtenu après stérilisation par des détergents, par la méthode d'écouvillonnage sur milieu Chapman.....	43
<b>Tableau 15:</b> Résultat obtenu après stérilisation par des détergents par la méthode d'écouvillonnage sur milieu Mac Conckey .....	45
<b>Tableau 16:</b> Résultat obtenu après stérilisation par des détergents par la méthode d'écouvillonnage sur milieu Gélose nutritive.....	48
<b>Tableau 17:</b> Bactérie isolée a partir de la paille du robinet et leur origine.....	48

# *Introduction*

### 1- Introduction

L'air et les surfaces sont naturellement contaminés par des micro-organismes d'origine environnementale ou humaine (**Parnell P, Wilcox MH. 2010**).

La flore atmosphérique est constituée d'une flore de base, présente sur les supports que sont les poussières, et composée d'organismes saprophytes résistant à la dessiccation et aux ultraviolets : bactéries à Gram positif (*Bacillus*, *Sarcines*, etc.) et champignons filamenteux (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, etc.), (**Galvin S, et al. 2014**).

La contamination des surfaces se fait par contact direct (mains) ou indirect (objets souillés) avec l'homme, par dissémination d'eau (milieu de vie de nombreux micro-organismes saprophytes), et par sédimentation des particules de l'air.

Cette interaction est continue puisque la remise en suspension (mouvements, techniques d'entretien inadaptées) de particules déposées sur les surfaces et chargées de micro-organismes peut contaminer l'air.

Certaines bactéries, comme *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii*, résistent aussi à la dessiccation et ont une survie prolongée sur surfaces sèches (**hirai Y,1991**). Le type de matériau (plastique, inox, cuivre, etc.) constituant la surface peut exercer une influence sur la survie (**Oxford J et al, 2014**), (**Grass G et al,2011**). L'adhésion des bactéries aux surfaces au sein d'un biofilm constitué est également un facteur important de leur pérennité, cette matrice de polymères extracellulaires formant une protection des microorganismes contre les agressions de tous types, dont les stress environnementaux et l'action des désinfectants. (**Espinal P,2012**).

les objectifs de cette étude étaient d'évaluer la Charge microbienne dans le Laboratoire pédagogique de biologie au Niveau de l'université de Ain Temouchent et les échantillons d'air émis pendant les travaux effectués avec diverses techniques d'échantillonnage. Plus précisément, nous nous sommes concentrés sur les bactéries totales, la diversité bactérienne qui peut se trouver sur ce lieu de travail

L'analyse microbiologique de l'air et des surfaces fait partie des examens les plus connus et reconnus dans le domaine de la microbiologie, du fait de son importance dans l'évaluation des risques sanitaires liés aux contaminations microbiennes, et de son importance dans la prévention de la santé humaine d'une part, et d'autre part par rapport à la qualité expérimentale lors des

## Introduction

---

manipulations qui peuvent fausser les résultats des analyses effectuées au sein d'un laboratoire d'analyse microbiologique.

Ces analyses ont pour but d'évaluer le taux et la charge de contamination, mais également la recherche spécifique et sélective de certaines bactéries qui peuvent être pathogènes et nuisibles à la santé humaine.

Pour cela, plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour dénombrer et cibler des germes

Potentiellement pathogènes, par leur efficacité et leur facilité de manipulation, afin d'obtenir de bons résultats.

Les individus sont constamment exposés à divers niveaux de particules biologiques (bioaérosols) et non biologiques. La nature et l'ampleur de ces expositions dépendent fortement de leurs sources. Alors que les particules non biologiques provenant des émissions des véhicules, des processus industriels et des sources naturelles sont relativement bien caractérisées, les bioaérosols sont moins bien compris, malgré leur rôle potentiellement important en tant que cause d'effets nocifs infectieux et allergènes sur la santé.

C'est dans ce cadre que nous proposons cette étude et qui consiste à :

Une évaluation du taux de la contamination de l'air du laboratoire pédagogique de l'université d'Ain Temouchent

Une recherche et une identification des bactéries isolées à partir de l'air et différentes surfaces du lieu d'étude.

# Synthèse bibliographique

### 1. La stratégie du contrôle microbiologique

Le contrôle consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus à des spécifications préétablies (**Le Hir, 2001**).

Les objectifs du contrôle sont de garantir une bonne qualité hygiénique et une bonne qualité marchande et de minimiser les pertes. Ils doivent permettre d'éviter la présence de microorganismes pathogènes dans les produits afin de ne pas risquer une altération de la qualité hygiénique des produits finis ou, au moins de détecter ces microorganismes s'ils sont présents (**scriban, 1999**).

La stratégie du contrôle doit permettre de localiser le problème, d'agir à temps et d'apporter les correctifs. Elle doit assurer le suivi du contrôle, elle a donc un caractère préventif et curatif. L'hygiène est à la base de tout contrôle microbiologique. Il faut s'assurer de l'hygiène du personnel (corporelle et vestimentaire), des locaux (murs, sol, atmosphère) et du matériel (lavage à la vapeur d'eau et avec des détergents spécifiques) (**Ghoul M, 2020**)

### 2. Les agents biologiques de l'air et des surfaces

Ce type de contaminants regroupe les micro-organismes (MO) vivants tels que les levures, moisissures, bactéries et virus. Ces organismes ont besoin, pour se développer et se multiplier, de conditions d'humidité et de chaleur. Nous devons donc veiller à maîtriser ces différents paramètres afin de minimiser le risque de développement de MO. La présence de MO dans les préparations stériles peut engendrer différents problèmes. D'une part si des MO pathogènes ou toxiques sont présents, ils peuvent transmettre leur pouvoir pathogène ou toxique (**Ernst T, 1994**).

### 3. Analyse de l'air

L'air est le premier des éléments indispensables à la vie, chose dont nous n'avons pas toujours conscience, mais c'est aussi le plus soumis aux pollutions d'origines humaines. Au cours des dernières années, la multiplication des alertes épidémiques dues aux aérosols microbiens et les

changements d'usage (urbanisation, agriculture intensive, traitements des déchets, transports, climatisation...) a conduit à la reconsidération des risques liés à la qualité de l'air et à l'exposition des personnes aux divers polluants. Nous passons 90 % de notre temps dans des environnements intérieurs et l'air que nous y respirons peut-être soumis à la fois aux pollutions d'origine endogène mais également aux sources extérieures via les systèmes de ventilation mécanique ou naturelle. Les populations telles que les nourrissons, les enfants, les personnes malades ou immunodéprimés et les personnes âgées sont particulièrement vulnérables face à la qualité microbiologique de l'air. Plusieurs environnements clos (crèches, hôpitaux, transport...) nécessitent des moyens efficaces de gestion de la qualité microbiologique de l'air et sont au cœur des préoccupations. (MOLETTA-DENAT, 2012)

### **3.1. Les microorganismes aérocontaminants**

L'air est un important vecteur de contamination. On y trouve surtout des bactéries à Gram + (Micrococcus, Bacillus), et des spores de champignons. Les micro-organismes de l'air sont présents sur des particules de plus grande taille (squames, microgouttelettes de salive, poussières).

### **3.2 Mécanismes et sources de contamination de l'air**

La contamination microbiologique de l'air a pour origine la formation d'un bioaérosol complexe qui peut contenir plusieurs contaminants biologiques : micro-organismes vivants (bactéries, virus, levures, moisissures), fragments microbiens antigéniques, toxines et/ou autres substances d'origine microbienne contrairement aux particules inertes, ces particules viables ont la capacité de se multiplier sur différents supports.

La contamination de l'air dépend de trois conditions essentielles (présence de sources de contamination, amplification microbienne par multiplication active et dissémination par perturbation du réservoir) qui conduisent à une contamination soit permanente, soit le plus souvent transitoire de l'air ambiant, ou flore microbienne de l'air.

La quantité de microorganismes présents dans l'air est variable en fonction des phénomènes météorologique (vents), des saisons et de l'activité du lieu (urbaine ou agricole).

Les réservoirs microbiens sont classiquement distingués en réservoirs vivants, c'est-à-dire les personnes présentes dans le local, et en réservoirs environnementaux

La dissémination des microorganismes se fait à partir de réservoirs humains d'une part, les microbiologistes et le personnel du laboratoire où de réservoirs environnementaux d'autre part, supports inserts (Surfaces, matériel, textiles) et fluides (air, eau, gaz). **(Huart C, 2011)**.

- **Sources environnementales**

Lors d'une perturbation de ces supports, il y a remise en suspension dans l'air de particules contenant en général des bactéries ou des spores de champignons. Ce mécanisme est la cause principale d'Aero biocontamination de l'air intérieur.

- **Sources humaines**

A l'intérieur des locaux, l'homme est considéré comme la principale source de microorganismes. **(Huart C, 2011)**.

### 3.3 Flore microbienne de l'air

La flore microbienne de l'air est composée de la flore environnementale et de la flore humaine, commensale et pathogène.

- **Flore d'origine environnementale**

La flore bactérienne environnementale est composée de Bacillus, microcoque staphylocoques coagulase négative et plus rarement de Staphylococcus aureus Les levures et les champignons (penicillium, aspergillus, et alternari par exemple) sont bien adaptés à la survie et à la multiplication dans l'environnement. La flore environnementale est en général non pathogène.

- **Flore d'origine humaine**

La flore d'origine humaine est composée des bactéries émises par l'organisme humain, essentiellement les flores commensales cutanées et éventuellement La flore digestive : Staphylococcus coagulase négative notamment Staphylococcus epidermidis et Staphylococcus hominis, Escherichia coli streptocoques et entérobactéries.

### 3.4 Modes de transmission

Les microorganismes peuvent contaminer par voie respiratoire, digestive, transcutanée, ou cutané-muqueuse. La connaissance de ces modes de pénétration est indispensable à l'appréhension des dangers lors des manipulations.

- **La contamination par voie respiratoire**

Elle résulte de l'inhalation de particules infectieuses véhiculées par des aérosols. Les aérosols sont constitués de gouttelette de liquide, ou de particules solides, détachées d'un produit sous l'action de forces mécaniques (vibrations, pression...).

- **La contamination par voie orale**

Elle peut être directe, par ingestion accidentelle à l'occasion d'un pipetage (à la bouche), dont la pratique doit formellement être proscrite tant pour les solutions chimiques que pour les liquides biologiques.

- **La contamination par voie cutané-muqueuse**

Elle peut se faire par projection ou contact direct cutané, sur peau lésée (plaie, Excoriations, lésions d'eczéma...), voire sur peau saine pour certaines bactéries qui peuvent traverser celle-ci (*brucella*, *leptospira*, *francisella*...)

Elle peut être aussi le fait d'une projection sur des muqueuses, en particulier au niveau des conjonctives oculaires très perméables aux transmissions infectées.

### 3.5 Méthodes de contrôle microbiologique de l'air

- **Méthode par sédimentation (prélèvement passif de l'air)**

Une boîte de Pétri contenant un milieu gélosé est laissée ouverte pendant une durée prédéterminée afin de recueillir les particules par sédimentation (Figure 1). Cette méthode simple à mettre en œuvre présente l'inconvénient majeur de la durée de prélèvement. (Nilson S, et al 1983).

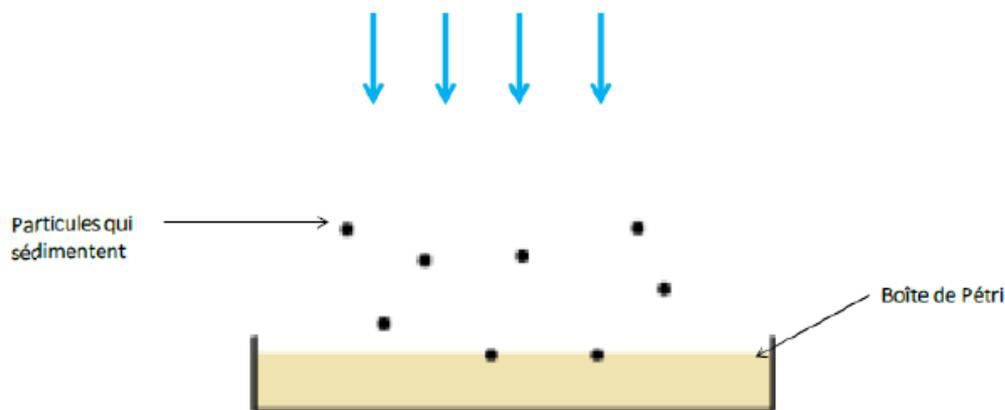
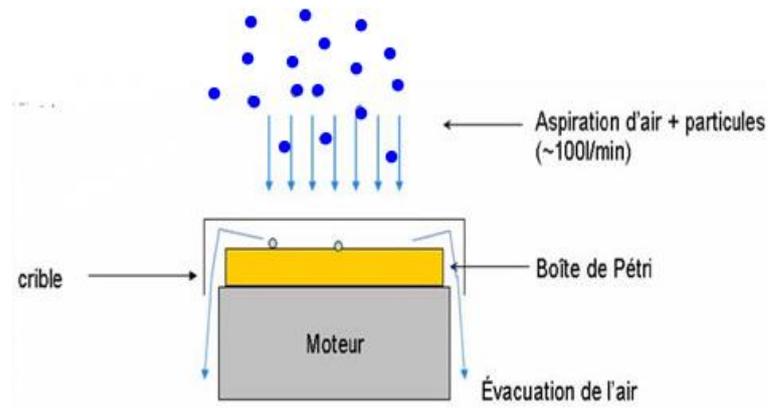


Figure 1 : Méthode par sédimentation prélèvement d'air passif (valençay 2016)

- **Méthode par aspiration (prélèvement actif de l'air)**

Des biocollecteurs d'air microbien sont utilisés afin de réaliser le prélèvement. Un certain volume d'air est aspiré au travers d'un crible qui permet de faire s'impacter les MO et particules sur une boîte de Pétri contenant un milieu gélosé. Le volume aspiré doit être représentatif de la zone considérée. Le débit de l'air doit être suffisant pour pouvoir prélever 1 m<sup>3</sup> d'air dans un temps raisonnable et afin d'obtenir une vitesse d'impaction appropriée, et d'assurer l'impaction des particules tout en assurant la conservation de la viabilité des particules. Cette méthode nécessitant l'usage d'un équipement présente également l'inconvénient majeur de la durée de prélèvement (BPF, 2011)



**Figure 2 :** Méthode par aspiration pour réaliser un prélèvement d'air actif (ISO.2003)

- **Sédimentation sur boîte de Petri ouverte**

C'est la technique la plus simple pour mettre en évidence les micro-organismes vivant dans l'air qui nous entoure et que nous inhalons. Une boîte de Pétri, remplie d'un milieu gélosé nutritif spécifique est laissée ouverte pendant 8h. Elle est placée ensuite à incuber plusieurs jours. Il reste à dénombrer et identifier les colonies qui apparaissent à la surface du milieu.

Comme toute méthode faisant appel à des milieux gélosés, seuls les germes vivants peuvent être isolés et le choix du milieu et de la température d'incubation sont déterminants.

## 4. Analyse des surfaces

Parmi les surfaces qui peuvent être source de contamination, on peut citer le sol, le plafond et les parois de laboratoire. Leur contamination est avant tout à des apports par contact (quand les gens les touchent) ou par sédimentation des contaminants aéroportés

Toutes les surfaces doivent faire l'objet d'un monitoring, que ce soient les sols, les murs ou les surfaces des équipements. (US FDA, 2004)

### 4.1 La contamination des surfaces

La maîtrise de l'hygiène des surfaces nécessite de bien adapter la conception de l'environnement, le choix des revêtements ainsi que les méthodes et fréquences d'élimination des contaminants aux activités exercées dans l'environnement considéré. On distingue les

surfaces ouvertes (cloisons, plafonds, sols, mobiliers, équipements...) des surfaces fermées des machines ou du matériel.

### **4.2 Modalités de propagation des microorganismes dans les surfaces**

Les surfaces constituent un support pouvant recevoir et héberger à la fois des salissures et des micro-organismes. Arrivés à proximité des surfaces réceptrices, par sédimentation ou par contact, les micro-organismes peuvent adhérer par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques, interactions qui dépendent des propriétés physico-chimiques de surface des micro-organismes et du revêtement. La rugosité et la topographie de la surface jouent également un rôle important sur le nombre de bactéries adhérentes.

Les surfaces peuvent favoriser la persistance de flores microbiennes indésirables, en particulier de flores résistantes à l'action d'agents antimicrobiens. Elles peuvent également se comporter comme émetteurs de micro-organismes.

### **4.3 Les risques pour les personnels**

En laboratoire de biologie, les laboratoires pédagogiques peuvent être contaminés par des micro-organismes provenant des échantillons (sang, selles, terre, eau...) ou des cultures (moisissures, bactéries.). En outre, certains agents biologiques peuvent être introduits involontairement dans les locaux par le biais d'objets (emballages, matériel de prélèvement...), ou encore de personnes (vêtements).

Lorsque ces micro-organismes sont dispersés dans l'air (renversement accidentel d'un flacon, utilisation de vortex...), ils peuvent contaminer des surfaces même éloignées (Meubles, sols, murs...) ensuite, les micro-organismes prolifèrent lorsqu'ils trouvent des conditions favorables.

### **4.4 Conditions de multiplication des micro-organismes**

Les micro-organismes se multiplient lorsqu'ils trouvent un milieu adéquat leur fournissant :

- suffisamment de nourriture (poussières, dépôts gras...);
- une humidité relative élevée (entre 70 et 100%);

-une température optimale de croissance pouvant varier selon les micro-organismes (ceux retrouvent chez l'homme préfèrent des températures situées autour de 37°C).

### **4.5 Voies de propagation**

En l'absence de nettoyage des surfaces en laboratoire, le personnel peut se contaminer par différentes voies

- **La contamination par voie respiratoire**

Les micro-organismes présents sur les surfaces ou les milieux de culture peuvent être inhalés lorsqu'ils sont mis en suspension dans l'air par des techniques de laboratoire (vortex, flambage des anses...) ou des mouvements d'air (ventilation, ouverture de porte...).

- **La contamination par voie cutané-muqueuse**

Lors de contacts avec les surfaces contaminées, les micro-organismes sont capables de pénétrer par les petites lésions de la peau ou à travers les muqueuses lorsque la personne porte les mains aux yeux ou au nez.

- **La contamination par voie digestive**

Les personnes sont susceptibles de se contaminer en portant à la bouche les mains contaminées au contact des surfaces.

### **4.6 Méthodes de contrôle microbiologique des surfaces**

- **Méthodes par empreinte**

- **Boîte contact**

Il s'agit d'une boîte de Pétri possédant un ménisque de milieu de culture convexe. La boîte est fixée à un appareil permettant une application facilitée sur la surface à contrôler.

- **Lame gélosée**

Elle est recouverte de chaque côté par un milieu de culture. On applique directement le milieu de culture sur la surface à contrôler.

- **Pétri film**

Il s'agit d'un milieu gélosé déshydraté placé entre deux films. On l'applique directement sur la surface à contrôler après réhydratation.

- **Méthode par écouvillonnage**

Un écouvillon sec ou humidifié est frotté contre la surface à contrôler. Cet écouvillon sert ensuite à ensemer des milieux de culture. (Le Gallou F, et al 2017).

- **La boîte RODAC (Replicating Organisms Direct Agar Contact)**

Cette technique consiste à utiliser une boîte de culture particulière dans laquelle le milieu gélosé dépasse le bord de la boîte sous la forme d'un ménisque convexe. En appliquant ce ménisque sur l'endroit suspect, une grande partie des germes restent "piégés" sur le milieu gélosé. (Zureik M, et al 2002).

*Matériel*

*et méthode*

### 1. Présentation du lieu de travail et de prélèvement

Le laboratoire pédagogique d'Ain Temouchent comprend plusieurs compartiments et postes de travail et compartiment de travail.

Ce laboratoire a une capacité a contenir un peu près de 18 a 20 personne.

1-Un compartiment isolé pour une haute a flux laminaire.

2-(4) paillasse (3 paillasse comme poste de travail et une pour les travaux de nettoyage et rangement du matériel)

3-un compartiment pour les étuves bactériologique.

4-un compartiment pour le rangement du matériel.

5-un compartiment pour la stérilisation du matériel contenant l'autoclave et un four pasteur.

6-un compartiment pour la conservation des produits (réfrigérateur)



**Figure 3 :** Laboratoire pédagogique de biologie de l'université de Ain TEMOUCHENT

## 2. Prélèvement

### 2-1 Prélèvement des échantillons d'air



**Figure 4 :** prélèvement de l'air par la méthode de sédimentation sur dans le compartiment à côté des étuves bactériologiques



**Figure 5 :** prélèvement de l'air par la méthode du bio collecteur sur dans le compartiment à côté des étuves bactériologiques

## 2-2-Prélèvement des échantillons de surfaces



**Figure 6** : prélèvement de la poignée du laboratoire pédagogique 08 par la méthode de la boîte RODAC



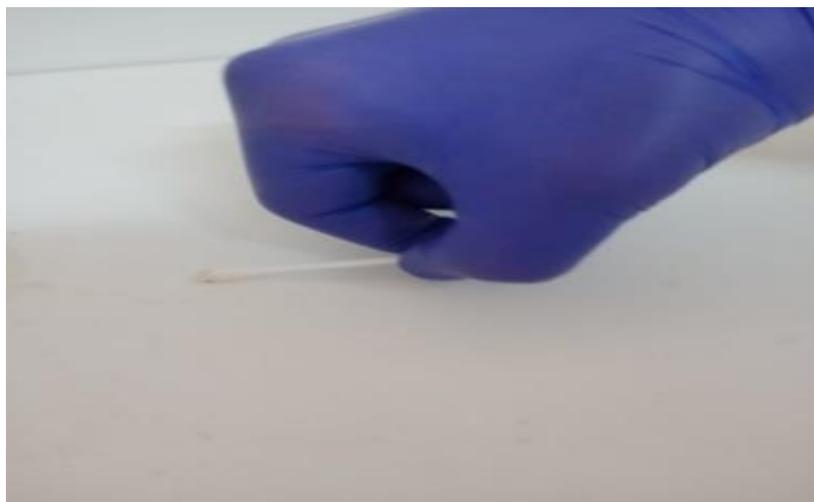
**Figure 7** : Prélèvement de la surface de l'interrupteur du laboratoire 07 par la méthode de la boîte RODAC



**Figure 8 :** Prélèvement de la Poignée de l'étuve par la méthode de l'écouvillonnage



**Figure 9 :** Prélèvement de surface de la Poignée de placard du laboratoire 07 par la méthode de l'écouvillonnage



**Figure 10 :** Prélèvement de surface de la pailleuse du laboratoire 07 par la méthode de l'écouvillonnage

### 3. Méthode d'analyse microbiologique de l'air

#### 3.1 Méthode de la sédimentation sur boîte

La sédimentation C'est une technique ancienne qui a été très répandue et a constitué une approche simple de l'aérocontamination. Cette technique consiste à exposer de façon passive un support nutritif ou non (boîte de Pétri, plexiglas, gel) à la chute naturelle des spores sous l'effet de la gravitation. Outre les avantages liés à un coût faible, à l'absence d'appareillage.

Cette technique permet d'exposer les supports pendant des durées importantes dans la limite toutefois de la dessiccation des gels et des milieux. Cependant le volume d'air ainsi traité n'est pas mesurable et dépend largement des flux au sein de l'espace échantillonné. Les inconvénients principaux qui ont fait abandonner cette méthode sont liés à la remise en suspension des spores les plus petites favorisant la sélection des spores les plus volumineuses. La reproductibilité de ce type d'échantillonnage est faible. Son usage est aujourd'hui abandonné (Nilson S et al, Berlin 1983).

**Tableau 1** : Avantages et inconvénients de la méthode par sédimentation

Avantages	Inconvénients
Pas besoin de matériel spécifique	Temps de prélèvement long (jusqu'à 4h par boîte)
Méthode peu onéreuse	Seuls les microorganismes qui sédimentent sur la gélose seront détectés, pas quantitatif.

#### 3.2 Méthode du capteur d'air (bio collecteur)

A l'aide d'un mini-aspirateur portable, aspiré l'air présent sur les surfaces du laboratoire, pour cela, on a veillé a bien stérilisé la sortie d'air par de l'éthanol.

On a utilisé une boîte de pétrie en verre de petit calibre contenant de la Gélose nutritive compatible a la surface ovale de la sortie d'air de l'appareille pour l'isolement non sélectif des micro-organismes de l'air, et une boîte de milieu CHAPMAN pour l'isolement des *staphylocoques*.

Ensuite incubé les boîtes a 37 °C pendant 48 Heures.

**Tableau 2 :** Avantages et inconvénients de la méthode par aspiration.

Avantages	Inconvénients
Facile d'utilisation	Altération de la viabilité des Microorganismes si temps de prélèvement trop long.
Facilement Maniable	Dessèchement de la gélose si temps de Prélèvement trop long.
Rapidité de prélèvement (environ 10min Pour 1m <sup>3</sup> d'air prélevé)	Pas de système de filtration, pour sélectionner le type de germe qu'on veut étudier ou avoir.

### 4.Méthode d'analyses des surfaces

Les méthodes utilisées lors de notre pratique au laboratoire sont la méthode de la boîte RODAC (Contact) et la méthode de l'écouvillonnage.

#### 4.1 Méthode La boîte RODAC

L'impaction Les propriétés d'inertie des particules sont souvent utilisées pour les extraire d'un écoulement transportant un aérosol. En effet dans le cas d'un écoulement curvilinéaire, l'inertie provoque la déviation des particules des lignes de courant du fluide.

Ce mécanisme est mis en œuvre, notamment dans les impacteurs au sein desquels l'air est brusquement accéléré par passage au travers d'une section réduite et brutalement dévié par une surface de collection solide (gélose ou surface adhésive) ou liquide.

Les particules selon leur inertie vont, soit suivre les lignes de courant, soit s'impacter sur la surface de collection pour celles possédant l'inertie la plus importante. L'impaction dépend de plusieurs facteurs tels que la taille, la densité et la vitesse initiale des particules ainsi que des paramètres physiques du dispositif de collecte (dimension de la buse, débit du gaz porteur, distance entre la buse et la surface de collection) (**Zureik M, Neukirch C, 2002**).

### 4.2 Méthode de l'Écouvillonnage

Avec un écouvillon stérile humide, sur une surface de 25 cm<sup>2</sup> est considéré comme équivalent au prélèvement par boîte contact à condition de décharger l'écouvillon en étoile sur une boîte de Pétri de diamètre 9 cm.

La standardisation est cependant difficile à obtenir et dépend du manipulateur. Ce système peu coûteux permet de réaliser des échantillonnages, dans toutes les circonstances et aboutit après culture, au minimum, à un résultat semi-quantitatif.

**Tableau 3 :** Avantages et inconvénients des différentes méthodes.

	<b>Boîte Contact</b>	<b>Écouvillonnage</b>
Prêt à l'emploi	Oui	Non
Facile d'utilisation	Oui	Non
Méthode Standardisée	Oui	Non
Milieu sélectif Possible	Oui	Oui
Action mécanique Possible	Non	Oui
Utilisation sur des Surfaces non planes possible	Non	Oui

- **Isolement et ensemencement**

Faire des prélèvements par écouvillonnage, après avoir trempé l'écouvillon stérile dans de l'eau distillée stérile, sur les différents compartiments :

**Poignée de porte du laboratoire 07**

**Interrupteur du laboratoire 07**

**Étuve du Laboratoire 07**

**Paillasse à côté du robinet du Laboratoire 07**

**Poignée du bain marie**

**Poignée de placard et de l'autoclave**

**Robinet du laboratoire 07**

**L'étuve du laboratoire 07**

**Paillasse du laboratoire 07**

**Poignée de L'étuve du laboratoire 07**

**Poignet de placard laboratoire 07**

**Paillasse A côté robinet laboratoire 07**

Ensuite on ensemence par écouvillonnage sur les différents milieux de cultures (milieu de base qui est la gélose nutritive) et milieux sélectifs Chapman (pour l'isolement des *Staphylocoques*) et Mac Conckey (pour l'isolement des *Entérobactérie*), en veillant à imbibée l'écouvillon dans l'eau distillée stérile à chaque retournement des boites à 120 degrés, ensuite incubé les boites à 37 °C pendant 48 H

## **5-Etude macroscopique des colonies sur les différents milieux de culture**

### **5-1-L'identification macroscopique se fait selon les critères suivants :**

-La taille

-La forme des colonies

- ✓ Allure de contours : lisse, dentelés, déchiquetés, irréguliers
- ✓ Relief : surface bombée, demi-bombée, plate.
- ✓ Centre : parfois surélève, parfois ombiliquée (en creux)

-La couleur des colonies.

## Matériel et méthode

---

-L'opacité (capacité a laissé ou empêché de passer la lumière)

-Les colonies sont décrites comme :

- ✓ Opaques (ne laissent pas passer la lumière)
- ✓ Translucides (laissent passer la lumière mais on ne voit pas les formes au travers, comme le verre dépoli)
- ✓ Transparentes (laissent passer la lumière et voir les formes au travers, comme le verre, on parle de gouttes de rosée"

-L'aspect de la surface

- ✓ La surface d'une colonie bactérienne peut être lisse, rugueux, renvoyer la lumière de façon à leur donner un reflet métallique ou un aspect irisé.

-La consistance (élastique, crémeuse, gélatineuse)

- ✓ Au moment du prélèvement il est possible d'apprécier si les colonies sont grasses, crémeuses (on obtient facilement des suspensions homogènes), sèches ou encore muqueuses (on obtient difficilement des suspensions homogènes)

## 6-Etude microscopique

L'identification a été réalisé dans le but d'identifié les genres bactériens qui ont fait leur croissance sur les différents milieux de culture après prélèvement des sur différent compartiment du laboratoire pédagogique.

La méthode utilisée dans nos travaux c'est la méthode de la coloration de Gram.

### 6-1 Coloration de gram

La coloration de gram permet de mettre en évidence la forme ; la coloration de la paroi des bactéries ainsi que le mode de regroupement des bactéries pour différencier entres les bactéries Gram+ et bactérie Gram-

#### • Méthode

Déposer sur une lame propre une goutte d'eau distillée à l'aide d'une pipette pasteur puis on prélève des fines colonies isolées sur boite (Gélose Chapman) a l'aide d'une pipette pasteur boutonnée ensuite bien étaler sur la lame ces colonies bactériennes puis flamber la lame par des passages rapide sur le bec bunsen.

## **7-test Enzymatique**

### **7-1-Test de la coagulase pour l'identification des *Staphylocoques* a coagulase + pathogène et les *Staphylocoque* a coagulase- non pathogène**

#### **-Méthode**

Verser 1ml de plasma humain (sérum) dans un tube a hémolyse stérile ensuite à l'aide d'une pipette pasteur on prélève des colonies bactériennes sur milieu gélosée Chapman puis on trempe la pipette dans le tube a hémolyse et on homogénéise et incubé a 37°C pendant 4H.

## **8. Identification biochimique par la galerie API 20 E Pour l'identification des *Entérobactérie* sur milieu Mac conckey**

### **8-1 préparation de la suspension bactérienne**

Prélever un type de colonies pour pouvoir identifier une souche pure.

Pour cela, on a préparé 2 suspension bactérienne différente avec une de chaque colonie prélevée sur milieu Mac Conkey du prélèvement de la paille à côté du robinet

### **8-2 ensemencement de la galerie**

Prélevé un volume de la suspension bactérienne et ensemencer la galerie en suivant les règles de remplissage (remplir le micro-tube et la cupule pour les tests encadré et seulement le micro-tube pour les autres tests.

Concernant les tests soulignés ensemencer seulement le micro-tube et on ajoute l'huile a immersion pour crée l'anaérobiose.

Après incubation on ajoute/

Une goutte réactif de Kovacs pour le test de le test de l'indole IND

Une goutte de réactif de VP1 puis VP2 pour le test VP.

Une goutte de réactif TDA pour le test TDA

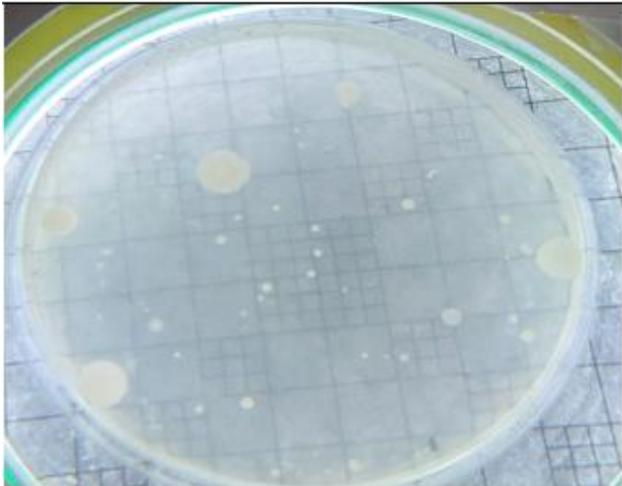
*Résultats et  
Discussion*

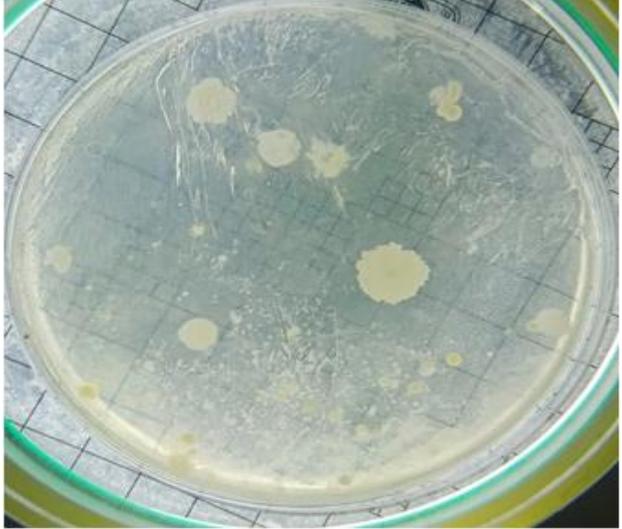
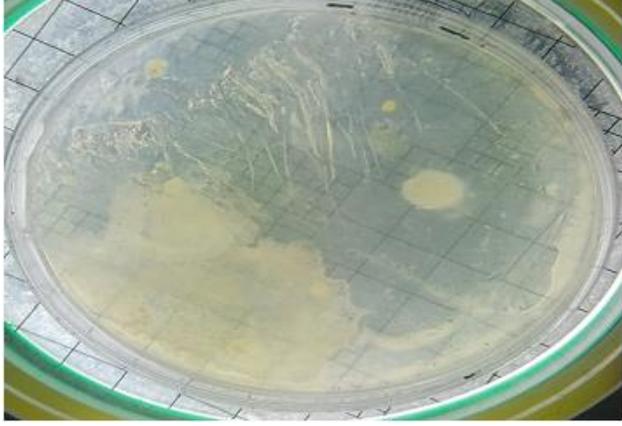
### 1-l'analyse microbiologique de l'air et des surfaces

Suite à une période de 2 semaines (du 23 Mai au 10 Juin 2021), l'analyse de la qualité bactériologique de l'air et des surfaces du laboratoire pédagogique de l'université belhadj bouchaib, A été évaluée par les méthodes de sédimentation sur boite et le bio collecteur (Capteur d'air) afin de déterminer le taux de contamination microbiologique de l'air, et par la réalisation de plusieurs prélèvements au niveau de différentes surfaces du laboratoire pour la recherche et l'identification des bactéries responsable de cette contamination.

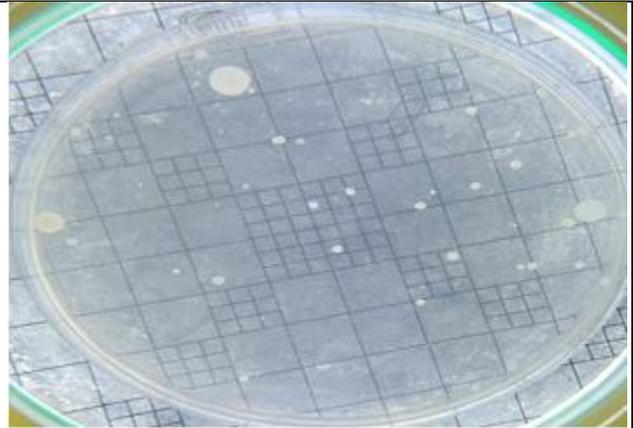
#### 1-1-Résultat de L'analyse microbiologique de l'air par la méthode de sédimentation sur boite

**Tableau 4 :** Le dénombrement après 24Heurs d'incubation (méthode de la sédimentation sur boite).

Compartiment du laboratoire prélevé	Résultats
L'étuve du laboratoire 07	 <p data-bbox="954 1496 1305 1532">52 UFC fine grosse colonies</p>

<p><b>Bureau de l'ingénieur du Laboratoire 07</b></p>	 A petri dish containing a bacterial culture on a grid background. The culture shows several distinct colonies of varying sizes, including some large, dense ones and many smaller, more diffuse ones.	<p><b>108 UFC (Présence de fines et de grosse colonie)</b></p>
<p><b>Au-dessus de la paillasse du laboratoire 07</b></p>	 A petri dish containing a bacterial culture on a grid background. The culture shows several distinct colonies, including a prominent large one and several smaller ones.	<p><b>80 UFC (Présence de fines et de grosse colonie)</b></p>
<p><b>A côté du lavabo du laboratoire 07</b></p>	 A petri dish containing a bacterial culture on a grid background. The culture shows several distinct colonies, including a prominent large one and several smaller ones.	<p><b>24 UFC((Présence de fines et de grosse colonie)</b></p>

### A côté du robinet du laboratoire 07



72 UFC (Présence de fines et de grosse colonie)

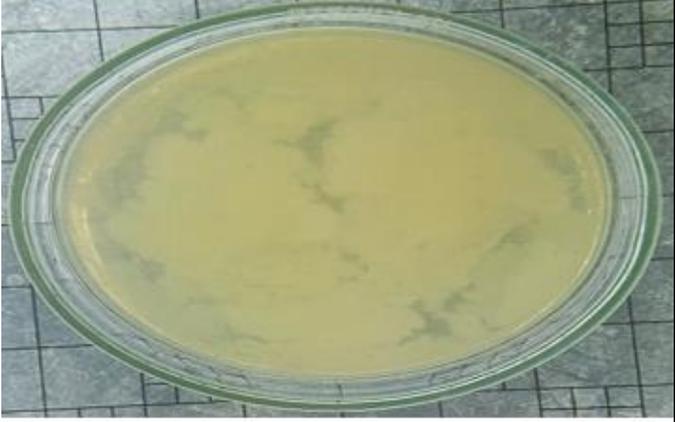
En Comparant nos résultats avec l'étude faite dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude au niveau d'une l'industrie pharmaceutique NADPHARMADIC Production en 2015 Par la méthode de sédimentation sur boite, ou les résultats ont été significatif concernant la présence de bactéries sur milieu PCA et moins significatif concernant les levures sur milieu Sabouraud, Nos résultat obtenus se rapproche des résultats obtenu lors de l'étude faite au niveau NADPHARMADIC Production en 2015, car le nombre de UFC varie entre  $24 < \text{UFC} < 108$  dans nos résultat obtenu alors que les résultat de l'étude au niveau de l'industrie pharmaceutique varie entre  $10 < \text{UFC} < 91$

La présentation des résultats obtenus dont le nombre de germes Recherchés doit être inférieur ou égale à 100 UFC/ 4 heures représentant la classe D dans la qualité microbiologique de l'air dans notre travaille st conforme selon la norme exigée.

Dans cette méthode on peut constater que le plus grand nombre d'unité forment colonies bactérienne ou de cellules fongiques viables dans un échantillon a été trouver a côté le bureau de l'ingénieur du laboratoire qui est de l'ordre de 108 UFC/ m<sup>3</sup> qui est au-dessous la limite des normes de l'US Pharmacopée qui doit être  $< \text{ou} = 200 \text{ UFC/ m}^3$  et en comparant ces résultats à d'autres études comme l'industrie pharmaceutique (ex : l'étude faite au niveau de l'industrie pharmaceutique **NADPHARMADIC** en **2015**) qui frôle la valeur maximale de 91 dans différents endroits on conclue que nos résultat son bien aux dessous des normes limitée.

### 1-2-Résultat de l'analyse microbiologique de l'air par la méthode du bio collecteur (Capteur d'air)

**Tableau 5 :** Résultats de l'analyse microbiologique de l'air par la méthode du capteur d'air après 48 Heures d'incubation.

Compartiment prélevé	Résultat
Surface et a côté de l'étuve et paillasse du laboratoire 07.	 Sur GN ( Indénombrable)
Surface a coté de l'étuve du laboratoire 07	 Sur CHAPMAN (Indénombrable)

Les résultats obtenus grâce à cette méthode se trouve en un nombre indénombrable d'UFC sur la surface a côté du paillasse et de l'étuve du laboratoire 7 indiquant d'une part l'efficacité de la méthode et l'accumulation d'un nombre assez important de colonie de bactéries supérieur aux normes de l'USP qui doivent être  $\leq 200$  UFC/m<sup>3</sup>, en comparant ces résultats avec l'étude faite au niveau de l'industrie pharmaceutique **NADPHARMADIC en 2015** (lors des travaux de mémoire de fin d'étude) dont les résultats avoisinent les 25UFC/m<sup>3</sup> ça nous montre que nos résultats sont bien au-dessus de la norme établie en comparant nos résultats avec ceux de l'industrie pharmaceutique (l'industrie pharmaceutique NADPHARMADIC) La qualité

## Résultats et discussion

microbiologique de l'air doit répondre aux normes de l'US Pharmacopée , dont le nombre de germes recherchés

Doit être inférieur ou égale à 200UFC/m<sup>3</sup> représentant la classe D. Les résultats obtenus dans notre travail(tableau7) sont conformes respect de la norme nombre de germes comptés est ≤ 200UFC/m<sup>3</sup>.

**Tableau 6** : Nombre de germes obtenus du contrôle de l'air par le bio-collecteur.

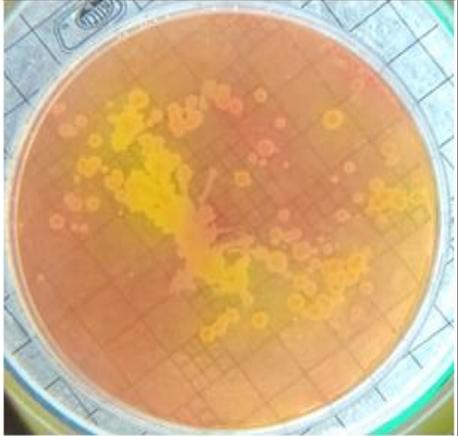
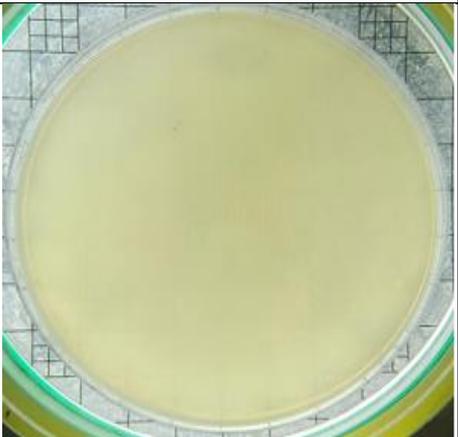
Les points de prélèvement	Le nombre de colonies sur le milieu P.C.A(UFC/m <sup>3</sup> )	Le nombre de colonies sur le milieu Sabouraud (UFC/m <sup>3</sup> )
<b>Le laboratoire</b>		
Salle de préparation	09	00
Salle d'incubation	02	00
Salle de manipulation  (PSM)	09	00

En comparant les résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique de l'air au niveau de l'industrie pharmaceutique et la nôtre, on peut arriver à déduire que nos résultats d'analyse ne répondent pas aux normes et que le laboratoire est trop chargé en micro-organismes potentiellement pathogène.

### 2. Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces

#### 2-1 Méthode d'analyse des surfaces par la méthode de la boîte RODAC

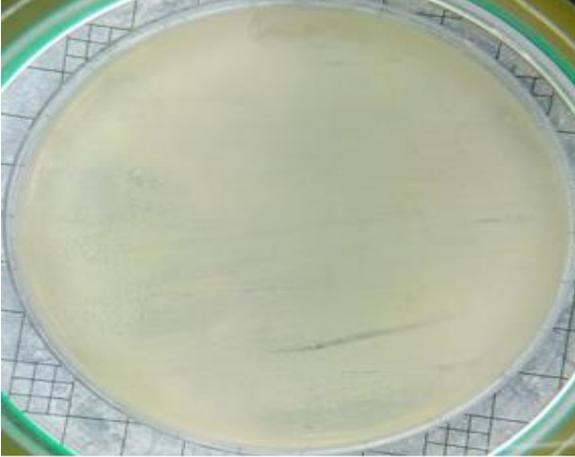
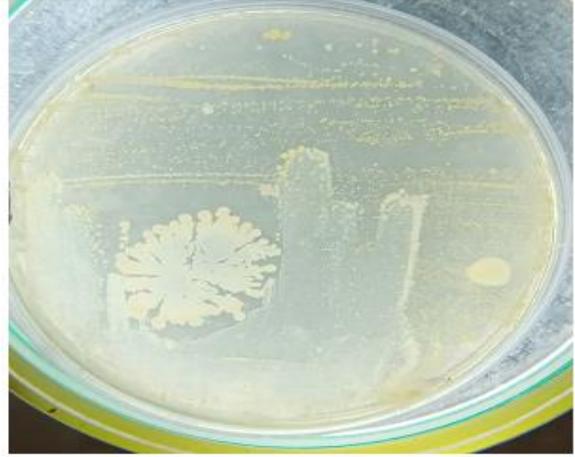
**Tableau 7 :** Résultats après 48 Heures d'incubation de l'ensemencement sur la boîte RODAC

Milieu de culture	Surface analysée	Résultat
Chapman	Poignée de porte du laboratoire 08	 68 UFC
Gélose nutritive	Interrupteur du laboratoire 07	 22 UFC

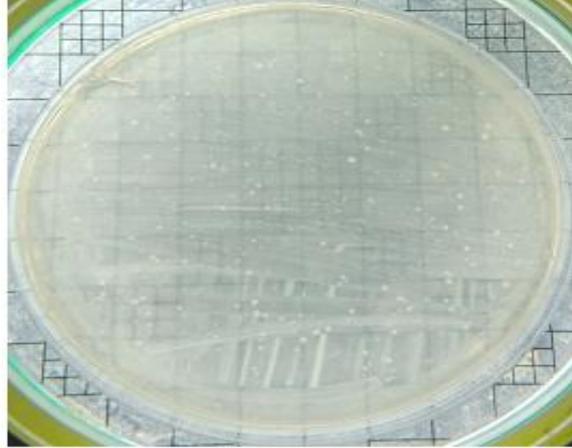
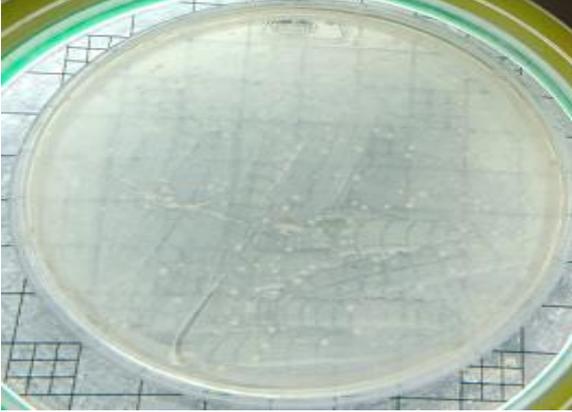
Dans l'analyse des surfaces par la méthode de la boîte RODAC on trouve une différence du nombre d'UFC d'une part par rapport au milieu de culture et d'autre part par rapport à la surface analysé avec un milieu de culture de Chapman sur la poignée de la porte du laboratoire 8 un nombre de 68 supérieurs à celui du milieu de gélose nutritive sur interrupteur du laboratoire 07 qui est de 22 UFC.

## 2-2 Analyse microbiologique des surfaces par la méthode de l'écouvillonnage

**Tableau 8** : Résultats de la méthode d'écouvillonnage sur gélose nutritive après 48 H d'incubation.

Compartiment du laboratoire prélevé	Résultat
Micro et macro-vice du microscope	 <p data-bbox="995 936 1570 981"><b>Indénombrable (Tapis bactérien)</b></p>
Poigné de placard Laboratoire 07	 <p data-bbox="995 1462 1570 1552"><b>Indénombrable présence de fines et des colonie fongique)</b></p>

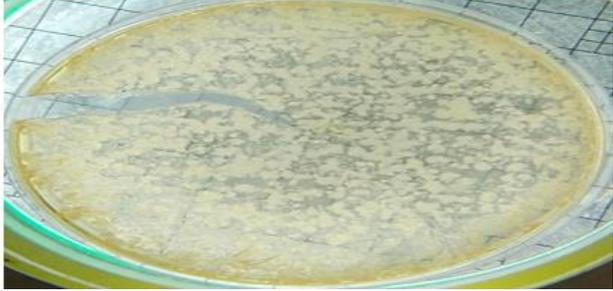
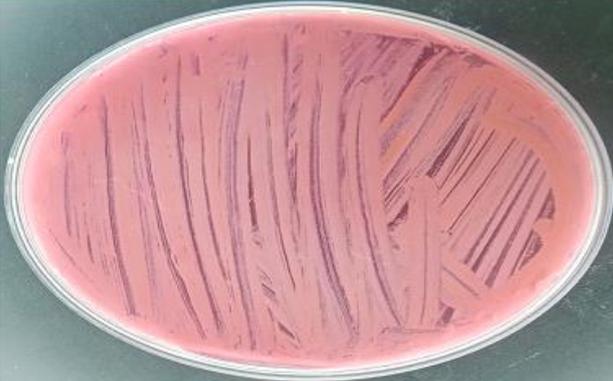
<p>Étuve du Laboratoire 07</p>	 <p><b>Indénombrable (présence de fines et grosses colonies)</b></p>
<p>Paillasse a côté du robinet du Laboratoire 07</p>	 <p><b>Indénombrable (présence de fines et grosses colonies)</b></p>
<p>Poignée du bain marie</p>	 <p><b>Indénombrable (tapis bactérien)</b></p>

<p>Poignée de placard et de l'autoclave</p>	 <p><b>Indénombrable (présence de fines et grosses colonies)</b></p>
<p>Robinet du laboratoire 08</p>	 <p><b>608 UFC (Présence de fines et très fines colonies )</b></p>
<p>Poignée du laboratoire 08</p>	 <p><b>452 UFC (présence de fines colonies)</b></p>

<p>L'étuve du laboratoire 07</p>	 <p><b>Indénombrable (présence de fines et grosses colonies)</b></p>
<p>Paillasse du laboratoire 07</p>	 <p><b>Indénombrable (présence de fines et grosses colonies)</b></p>

Dans ce milieu on constate un nombre indénombrable d'UFC dans la majorité des prélèvements indiquant la présence de plusieurs souche bactérienne et fongique.

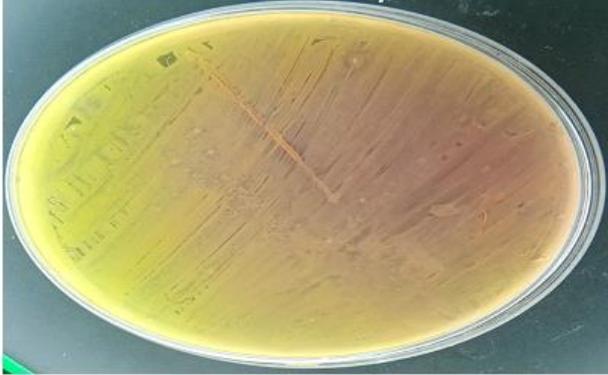
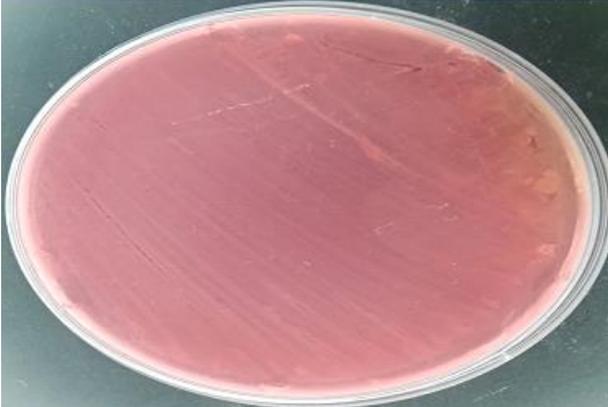
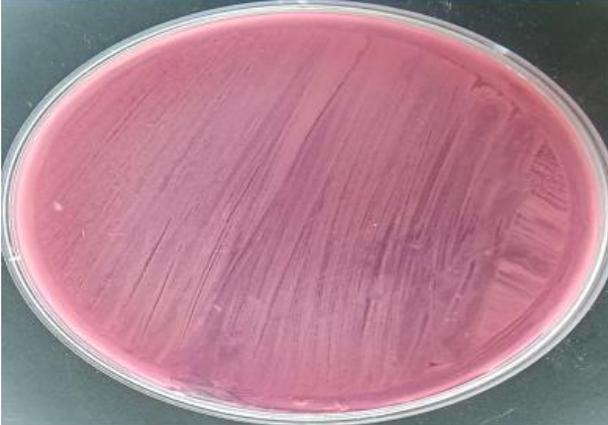
**Tableau 9 :** Résultat de la méthode d'écouvillonnage sur Milieu Mac Conckey après 48 Heures d'incubation.

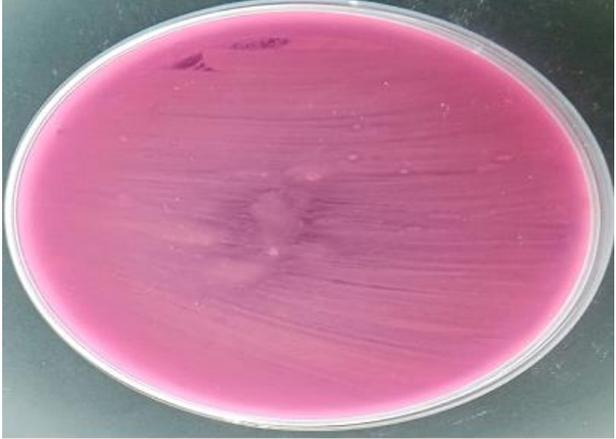
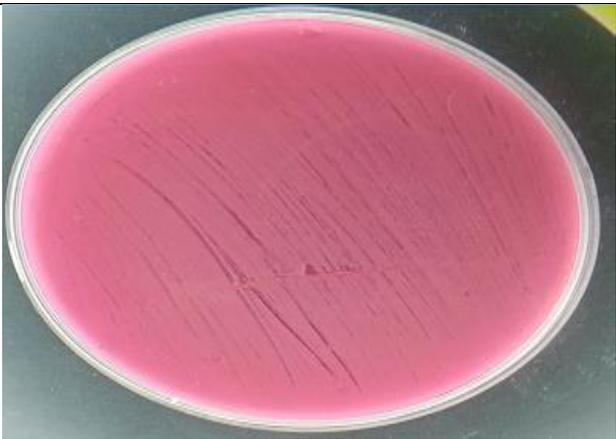
Compartiment du laboratoire prélevé	Résultats
La paillasse du laboratoire 07	 <p><b>Indénombrable (présence de fines et grosse colonies )</b></p>
La paillasse à côté du robinet de laboratoire 07	 <p><b>Indénombrable (Présence de fine et de grosses colonies ainsi que de grosse colonies fleurissantes)</b></p>
Poignée de L'étuve du laboratoire 07	 <p><b>Indénombrable (présence d'un tapis bactérien de fines colonies blanches)</b></p>

Ces résultats nous indiquent la présence de bactéries bacille gram négatif dispersées sur tout le laboratoire.

Résultat de l'analyse microbiologique des surfaces par la méthode de l'écouvillonnage après 48 H d'incubation sur milieu Chapman

Tableau 10: Résultat de la méthode de l'écouvillonnage sur milieu Chapman

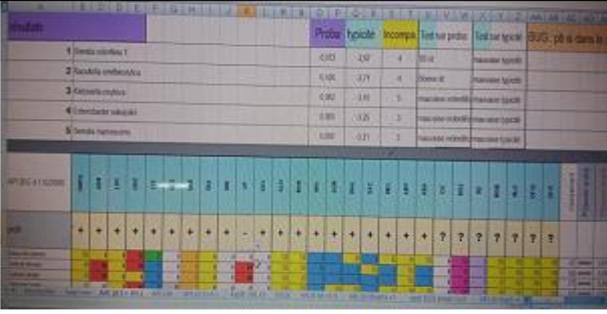
Compartiment du laboratoire prélevé	Résultat
Poignée de porte du laboratoire 07	 <p data-bbox="834 846 1353 936"><b>Indénombrable (présence de fine colonie blanche et de grosse colonies jaune)</b></p>
Poignet de placard laboratoire 07	 <p data-bbox="834 1377 1345 1467"><b>Indénombrable (présence de fine colonie blanche)</b></p>
Paillasse laboratoire 07	 <p data-bbox="834 1928 1345 2018"><b>Indénombrable (présence de fine colonie blanche)</b></p>

L'étuve du laboratoire 07	 <p><b>Indénombrable (présence de fine colonie blanche)</b></p>
A côté robinet laboratoire 07	 <p><b>Indénombrable (présence de fine colonie blanche)</b></p>

La présence d'un nombre indénombrable d'UFC sur le milieu de Chapman révèle la nature halophile et halotolérantes des bactéries dispersées sur les lieux prélevés du laboratoire citées ci-dessus

### 3. Résultat de l'identification par la galerie API 20 E

Tableau 11 : Résultat de l'identification probabiliste sur la galerie API 20 E

Résultat de la galerie	Identification
	
	

#### 3.1 Interprétation des résultats obtenus en utilisant la méthode de sédimentation sur boîte

En se basant sur les résultats obtenus, on peut observer 2 types de germes microbiens (fines et grosse colonies) avec une charge microbienne pas très importante en vus de la limite >180 UFC/m<sup>3</sup>

#### 3.2 Interprétation des résultats obtenus par l'utilisation de la méthode du capteur d'air

En se basant sur les résultats obtenus sur le milieu GN, on peut apprécier une importante charge microbienne assez importante ainsi qu'une diversité microbienne (présence de fine et de grosses colonies formant un tapis bactérien).

En se basant sur les résultats obtenus sur le milieu Chapman, on peut dire qu'il y'a un nombre élevé de bactéries pathogène au niveau du compartiment prélevé.

On peut conclure qu'il y'a un taux élevé de contamination par des micro-organismes, en plus de la présence de micro-organismes pathogènes dans le compartiment prélevé.

### 4. Interprétation des résultats de l'analyse microbiologique des surfaces

#### 4.1 Méthode de l'écouvillonnage

- **Résultats sur Milieu MacConckey**

Concernant les résultats obtenus du prélèvement de paillasse à côté du robinet sur le milieu MacConckey on peut observer 4 types de colonies bactériennes de la famille des *entérobactéries* (car il y'a présence de fines et de très fines colonies et de grosses colonies ainsi que la présence de bactérie fluorescente).

- **Résultats sur Milieu Chapman**

Concernant les résultats obtenus du prélèvement de la poignée de porte sur milieu Chapman on peut apprécier deux types de *Staphylocoques* (colonies jaunes et colonies blanches).

Concernant les autres résultats obtenus, on peut constater une présence de fines colonies blanches formant un tapis bactérien.

- **Résultats Milieu Gélose nutritif**

-Concernant les résultats obtenus du prélèvement de la poignée de porte sur milieu gélose nutritive on peut apprécier deux types de micro-organismes qui sont indénombrables.

Pour les autres résultats on peut apprécier plusieurs types de colonies bactériennes (fines et grosses), et même la présence de moisissures.

En se basant sur les résultats obtenus, on peut déduire que le laboratoire pédagogique est vraiment très contaminé et envahi par une multitude de micro-organismes divers et variés avec une charge microbienne importante, ce qui crée une biodiversité de ces dernières, que ça soit la flore commensale ou bien la flore de contamination qui est pathogène.

Pour comparer nos résultats, on a choisi une étude faite par le Laboratoire d'hygiène hospitalière, (Hôpitaux Universitaires de Strasbourg) ont effectué une analyse des surfaces similaire à la nôtre, leurs résultats de prélèvement de surfaces en milieu hospitalier. O. Meunier, C. Hernandez, M. Piroird, R. Heilig, D. Steinbach, A. Freyd *Ann Biol Clin* 2005; 63(5):481-6

### Les résultats d'analyse des surfaces sont répartis dans le tableau ci-dessous

**Tableau 12.** Récapitulatif des résultats obtenus par la technique de l'écouvillonnage au niveau de l'hôpital de strasbourg (espèces, des genres soutes flores bactériens).

	Nombre de prélèvements positifs	Bacillus sp	Pseudomonas sp	Pseudomonas aeruginosa	Stenotrophomonas maltophilia	Aeromonas hydrophila	Total des bactéries de la flore hydrique	S. coagulase négative différent de S. epidermidis	Staphylococcus epidermidis	S. aureus	Staphylococcus sp	Streptococcus	Total Entérobactéries	Entérobactéries "pathogènes"	Acinetobacter sp	Acinetobacter baumannii	Micrococcus
Direct + TCSA	78	16	8	9	0	0	17	14	13	2	29	0	13	12	3	0	0
		7,1 %	50,0 %	23,7 %	0,0 %	0,0 %	30,4 %	10,2 %	14,3 %	10,5 %	11,7 %	0,0 %	12,5 %	15,0 %	75,0 %	0,0 %	0,0 %
Direct + GS	96	15	10	8	2	0	20	22	20	3	45	0	12	11	2	0	2
		6,6 %	62,5 %	21,1 %	100,0 %	0,0 %	35,7 %	16,1 %	22,0 %	15,8 %	18,2 %	0,0 %	11,5 %	13,8 %	50,0 %	0,0 %	66,7 %
Enricht + TCSA	496	222	7	34	1	0	42	95	37	4	136	7	82	71	3	3	1
		98,2 %	43,8 %	89,5 %	50,0 %	0,0 %	75,0 %	69,3 %	40,7 %	21,1 %	55,1 %	87,5 %	78,8 %	88,8 %	75,0 %	60,0 %	33,3 %
Enricht + GS	650	226	16	38	1	1	56	137	91	19	247	8	102	79	4	5	3
		100,0 %	100,0 %	100,0 %	50,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	98,1 %	98,8 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %
<b>Nombre total de souches</b>		<b>226</b>	<b>16</b>	<b>38</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>56</b>	<b>137</b>	<b>91</b>	<b>19</b>	<b>247</b>	<b>8</b>	<b>104</b>	<b>80</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>3</b>

Trois cent soixante frottis de surface ont été réalisés dans les services cliniques à proximité des patients ou dans les locaux de soins.

Trois cent soixante frottis de surface ont été réalisés dans les services cliniques à proximité des patients ou dans les locaux de soins. Quarante-sept prélèvements (13,0 %) n'ont pas permis de mettre en évidence de colonies bactériennes, par l'une ou l'autre des quatre techniques et sont dits « négatif ». Sur l'ensemble des 313 prélèvements positifs, 718 souches bactériennes d'espèces différentes ont été isolées et identifiées. L'association des quatre techniques a permis d'isoler et d'identifier 1 seule espèce bactérienne dans 94 cas (26,1 % des prélèvements), 2 espèces bactériennes différentes dans 103 cas (28,6 % des prélèvements), 3 espèces bactériennes dans 77 cas (21,4 % des prélèvements) et 4, 5, 6, 7, 8 et 9 espèces bactériennes

Différentes dans respectivement, 22, 10, 3, 2, 1 et 1 cas. En moyenne, 1,99 bactéries ont ainsi été isolées et identifiées pour l'ensemble des 360 prélèvements et une moyenne de 2,29 bactéries pour chaque prélèvement positif.

D'après cette comparaison on peut déduire qu'il y'a une concordance avec notre travail de recherche concernant la présence de staphylocoques et entérobactéries.

On peut en conclure qu'il existe des microorganismes au niveau de notre laboratoire pédagogique qui sont semblable aux bactéries trouvées en milieu hospitalier et qui sont pathogènes et virulentes.

D'après cette comparaison avec nos résultats obtenus on peut déduire qu'il y'a une concordance avec notre travail de recherche concernant la présence de *staphylocoques* et *entérobactéries*.

On peut en conclure qu'il existe des microorganismes au niveau de notre laboratoire pédagogique qui sont semblable aux bactéries trouvées en milieu hospitalier et qui sont pathogènes et virulentes et probablement résistante aux antibiotiques.

Les bactéries les plus pathogène trouver de notre analyser les plus pathogènes se trouve au niveau de la poignée de porte et des paillasse du laboratoire.

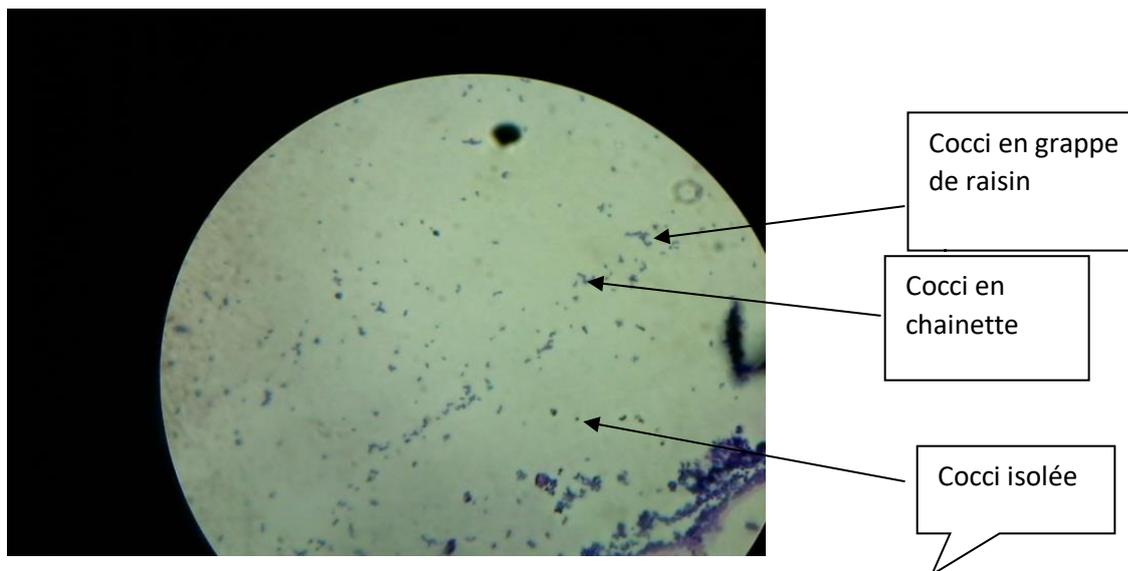
### 4.2 Résultat obtenus par l'utilisation de la méthode de la boîte RODAC

En se référant au résultat obtenu de l'analyse des surfaces par cette méthode sur milieu Chapman, on peut déduire qu'il y'a une contamination assez importante par des microorganismes pathogènes avec un taux élevé.

En se basant sur les résultats obtenus sur le milieu GN, on peut apprécier deux types de microorganisme (fines et grosses colonies) avec un taux pas très élevés (22 UFC).

### 5-Résultat de l'analyse Microscopique

#### 5-1-Résultat de l'analyse microscopique des colonies obtenu sur Chapman du prélèvement de la surface de la poignée de porte du laboratoire 07.



**Figure 11 :** Observation microscopique de bactérie gram+ en forme de cocci en grappe de raisin

## Résultats et discussion

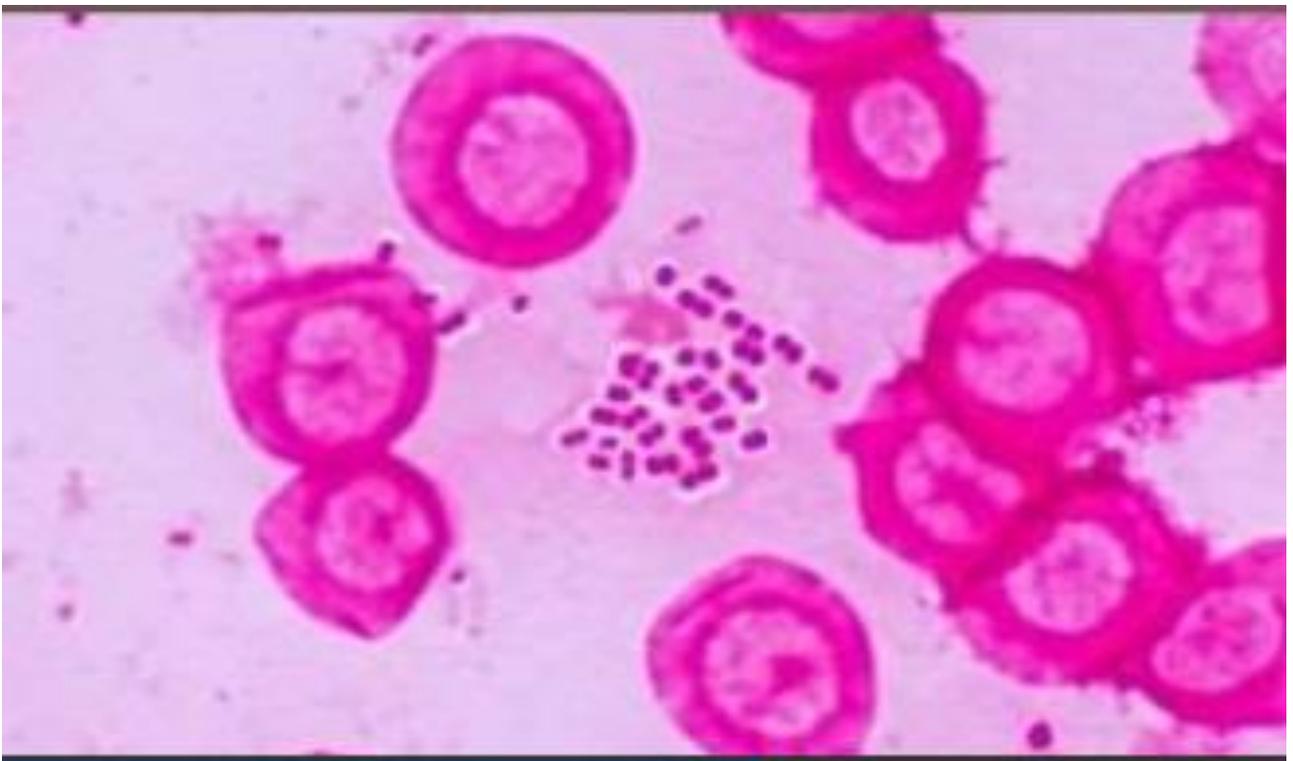
D'après les résultats de l'analyse microscopique par la méthode de coloration de Gram On observe des bactéries en forme cocci isolée et en grappe de raisin ainsi que d'autre en chaînette.

Cette observation microscopique est une orientation pour pouvoir déduire le genre et l'espèce de la bactérie isolée.

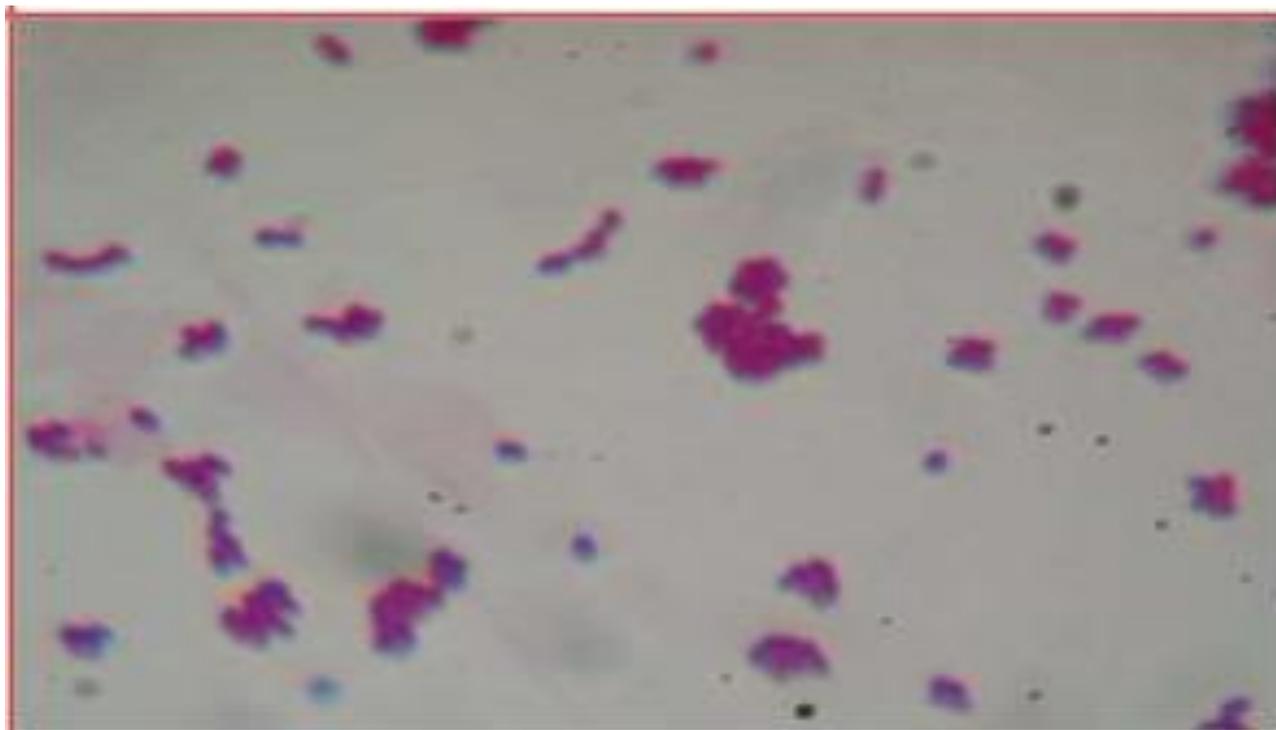
### 5-2-Résultat de l'analyse microscopique des colonies obtenu sur Mac coneckey du prélèvement de la surface de la paillasse à côté du robinet du laboratoire 07



**Figure 12 :** Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram+ isolée ou en chaînette



**Figure 13 :** Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram- (Forme coccoïde)



**Figure 14 :** Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram-



**Figure 15 :** Observation microscopique de bactéries en forme bacille gram-

### 6- Test d'identification biochimique (Test enzymatique)

#### 6-1-Test de la coagulase



**Figure 16 :** Résultat du test de coagulase des colonies isolées sur Chapman du prélèvement de la poignée de porte.

En se basant sur l'examen Macroscopique et microscopique des colonies ainsi que le test de coagulase on peut déduire que la bactérie isolée est *staphylococcus aureus* (Staphylocoque a coagulase +)

## 7. Résultat obtenu après stérilisation

### 7.1 Résultats de l'analyse microbiologique de l'air après stérilisation par la méthode de sédimentation sur boîte

**Tableau 13:** Résultat après stérilisation par évaporation de l'eau et par le formol par la méthode de sédimentation sur boîte

Compartiment du laboratoire prélevé	Résultat obtenu
A côté de l'Étuve du laboratoire 07 (Stérilisation par le formol)	 <p style="text-align: center;"><b>4 UFC</b></p>
Au-dessus de la paillasse du laboratoire 07 (stérilisation par évaporation de l'eau).	 <p style="text-align: center;"><b>6 UFC</b></p>
L'intérieur de l'étuve bactériologique (stérilisation par le formol)	 <p style="text-align: center;"><b>0 UFC</b></p>

A coté de la Paillasse du laboratoire 07  
(Stérilisation par évaporation de l'eau)

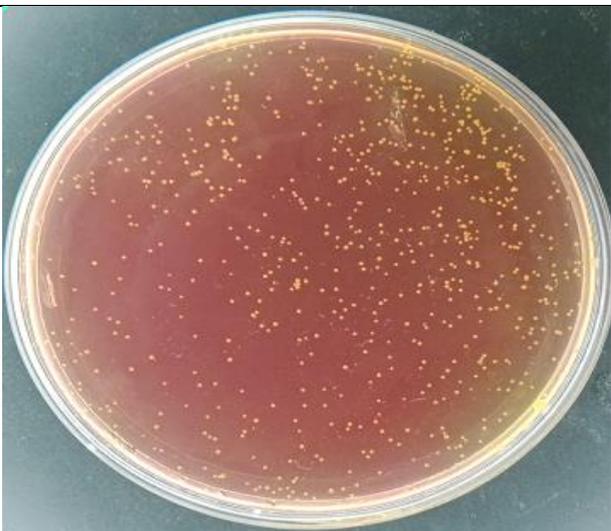


6 UFC

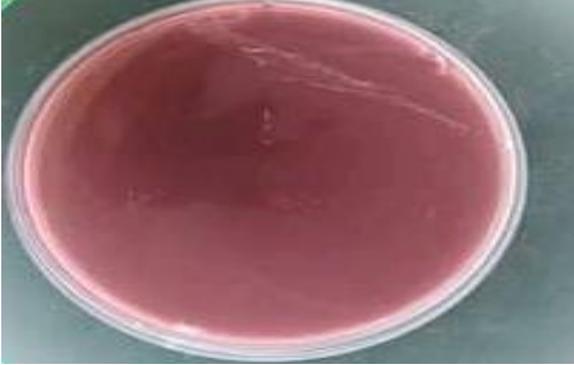
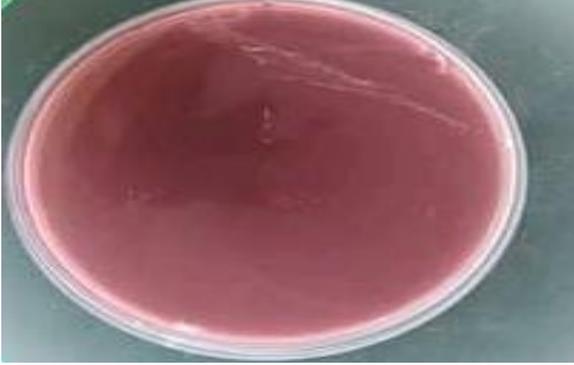
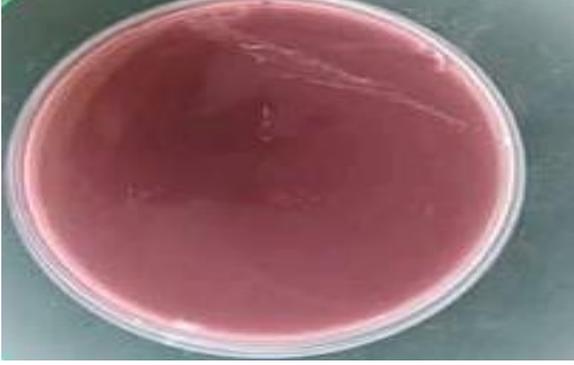
**7-2-Résultats de l'analyse microbiologique des surfaces après stérilisation par la méthode d'écouvillonnage**

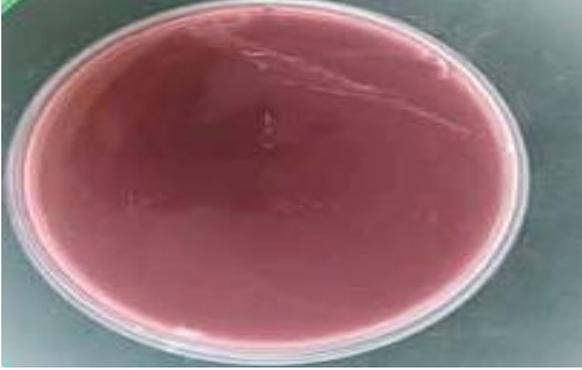
**Tableau 14:** Résultat obtenu après stérilisation par des détergents, par la méthode d'écouvillonnage sur milieu Chapman.

Compartiment du laboratoire prélevé	Résultats
Poignée de porte du laboratoire 07	 <p>0 UFC</p>
Poignée de placard du laboratoire 07	 <p>35 UFC (Présence de grosse colonies jaune)</p>

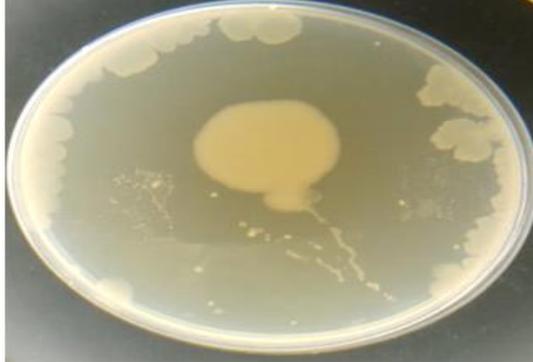
<p>Paillasse du laboratoire 07</p>	 <p><b>0 UFC</b></p>
<p>Poignée de L'étuve du laboratoire 07</p>	 <p><b>Indénombrable (présence de fines colonies jaune)</b></p>
<p>Robinet du laboratoire 07</p>	 <p><b>0 UFC</b></p>

**Tableau 15:** Résultat obtenu après stérilisation par des détergents par la méthode d'écouvillonnage sur milieu Mac Conckey

Compartiment du laboratoire prélevé	Résultats
Poignée de porte du laboratoire 07	 <p>0 UFC</p>
Poignée de placard laboratoire 07	 <p>0 UFC</p>
Paillasse du laboratoire 07	 <p>0 UFC</p>

<p>Poignée de L'étuve du laboratoire 07</p>	 <p>0 UFC</p>
<p>Robinet du laboratoire 07</p>	 <p>0 UFC</p>

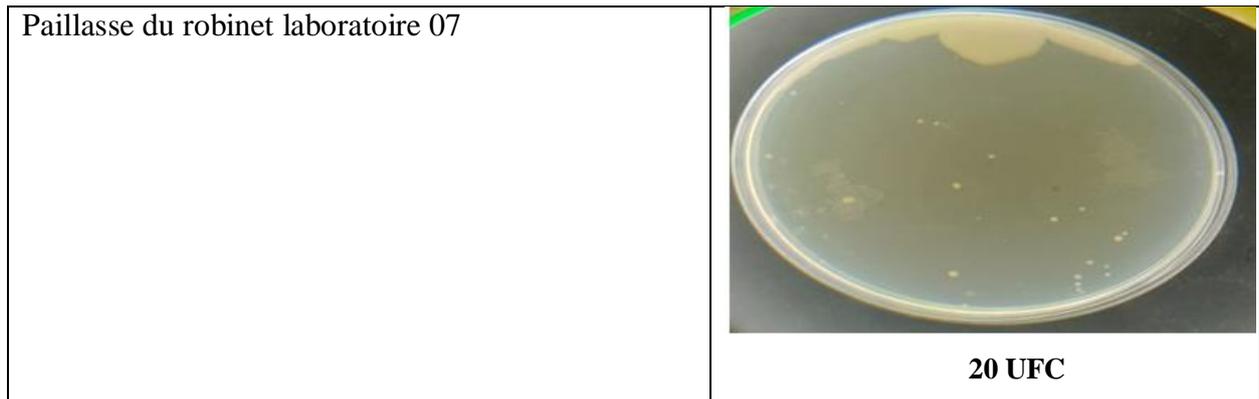
**Tableau 16:** Résultat obtenu après stérilisation par des détergents par la méthode d'écouvillonnage sur milieu Gélose nutritive

Compartiment du laboratoire prélevé	Résultat
<p>Micro et Marco vices du microscope</p>	 <p>Indénombrable (Colonie de Bacillus)</p>

## Résultats et discussion

Poignée de placard Laboratoire 07	 <p>A petri dish containing a bacterial culture. A small white label is placed in the center of the agar, with handwritten text: "poignée de placard", "labo (07)", and "(G.N)". The agar surface shows 9 distinct, small, white, circular colonies.</p> <p><b>9 UFC</b></p>
Interrupteur laboratoire 07	 <p>A petri dish containing a bacterial culture. The agar surface shows 3 distinct, small, white, circular colonies.</p> <p><b>3 UFC</b></p>
Poigné de l'étuve Laboratoire 07	 <p>A petri dish containing a bacterial culture. The agar surface is clear and shows no visible colonies.</p> <p><b>0 UFC</b></p>

<p>Paillasse du Laboratoire 07</p>	 <p><b>9 UFC</b></p>
<p>Robinet du laboratoire 07</p>	 <p><b>6 UFC</b></p>
<p>Poignée de porte du laboratoire 07</p>	 <p><b>0 UFC</b></p>



### 8- Interprétation des résultats après stérilisation

La stérilisation a donnée des résultats assez satisfaisants vu que le taux de la charge microbienne a diminué voir insignifiant et nul dans certain prélèvement de certain compartiment par rapport au prélèvement initial.

Malgré ces résultat la stérilisation n'a pas été total mais seulement partiel en vus des résultats obtenus.

### 9. Interprétation des résultats obtenus après identification par de la galerie API 20 E

D'après les résultats obtenus, les souches bactériennes responsables de la contamination de la paillasse, sont des espèces rares, mais elles sont pathogènes et elle se trouve dans l'environnement et la salive de l'être humain.

**Tableau 17:** Bactérie isolée a partir de la paillasse du robinet et leur origine.

Bactérie obtenue sur milieu Mac conckey	Origine
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Dispotive médicaux
<i>Pseudomonas putida</i>	Environnement
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	Urine, Respiratoire, COMBICATH, Hémoculture, Peau et Plaies, Biopsie cutanée
<i>Serratia odorifera</i>	D'une manière générale, les espèces du genre Serratia sont omniprésentes sur les plantes, le tube digestif des petits mammifères sauvages notamment les rongeurs, d'insectes, d'eau et du sol

### 9.1.Degrés de pathogénicité des bactéries obtenus

#### -Cas de *Raoultella ornithinolytica*

Cette bactérie convertit l'histidine en histamine provoquant un empoisonnement à l'histamine avec rougeur cutanée, mieux connu sous le nom de syndrome des scombroides associé à l'empoisonnement du poisson. (Kabbara WK, Zgheib YR 2015) -(Solak Y,2011).

En plus des rougeurs cutanées, ce syndrome peut provoquer des vomissements, de la diarrhée, des maux de tête ou un prurit selon la quantité d'histamine ingérée. (Nakasone E et al 2015), (Lee YC, et al 2013). Ce syndrome est principalement associé aux poissons « scombroides » appartenant aux *Scombridae* et *Scombere socidae* familles où se produit une décarboxylation microbienne exogène de l'histidine. (Lee YC, et al 2013) -(Kanki M et al, 2002).

Comme indiqué par Haruki et al (2014), *R. ornithinolytica* était considéré comme hautement virulent en raison de sa présence chez des patients fragiles avec des comorbidités importantes et de son association initiale avec le genre *Klebsiella*, qui comprend plusieurs souches virulentes. Cependant, selon des cas rapportés précédemment, le pronostic est très variable et dépend de l'état de santé général du patient et du type d'infection, et les résultats ne sont pas nécessairement mauvais lorsqu'un traitement approprié est mis en place rapidement (Haruki Y et al,2014).

La plupart des espèces du genre *Raoultella* sont généralement largement sensibles aux antibiotiques d'après les isolats des séries de cas de la littérature. 34 À l'instar de certaines espèces de *Klebsiella*, *Raoultella spp* . Présentent une résistance intrinsèque à l'ampicilline et à la ticarcilline qui sont le résultat de bêta-lactamases codées dans les chromosomes (Sekowska .A 2017 ) – (Pacilli M, Nataraja RM,2019).

#### Cas de *Serratia odorifera*

La septicémie à *Serratia* est connue pour causer une morbidité et une mortalité cliniquement significatives. Cliniciens ont été incertains quant au rôle du biogroupe 1 de *Serratia odorifera* en tant qu'agent pathogène humain, car la plupart des isolats n'ont pas été associés à une maladie invasive. *Serratia odorifera* biogroup1 a été identifié pour la première fois en 1978, et les cliniciens n'étaient pas certains de son rôle en tant qu'agent pathogène humain car il n'existe que 12 rapports antérieurs de cet organisme causant la maladie (J J Lopez Jr, 1998,M A Cook 1).

### *Cas de Acinetobacter baumannii*

L'*Acinetobacter* sont des bacilles aérobies gram-négatifs ou coccobacilles qui appartiennent à la famille des *Moraxellaceae*. Ils sont omniprésents et peuvent survivre sur des surfaces sèches jusqu'à un mois, sont fréquemment transportés par la peau des travailleurs du secteur de la santé, augmentant la probabilité que des patients soient colonisés et que des équipements médicaux soient contaminés. Il existe plusieurs espèces d'*Acinetobacter*; toutes peuvent entraîner une maladie chez l'homme, mais *Acinetobacter baumannii* représente près de 80% des infections (Wong D, et al,2017).

### *Cas de pseudomonas putida*

*Pseudomonas putida* est une cause rare d'infections de la peau et des tissus mous. Elle est souvent associée à un traumatisme ou à un état immunodéprimé. Nous présentons le premier cas mortel de bactériémie due à des infections de la peau et des tissus mous, qui avaient comme facteurs de risque la malnutrition, l'immobilité et les maladies vasculaires périphériques.

*Pseudomonas putida*, membre du groupe fluorescent des pseudomonades, est un bâtonnet flagellé à Gram négatif que l'on trouve dans tout l'environnement naturel. Les rapports de cas Dans la littérature décrivent un large éventail de conditions qui ont conduit à une bactériémie à *P putida*, y compris la pneumonie (Von Graevenitz et al,1971), (Yoshino Y et al,2011).

la cholécystite aiguë (Martino R et al,1996) (Souza Dias MB et 2008) et la cholangite (Martino R et al, 1996), l'amygdalite (Yoshino Y et al, 2011) la thrombophlébite (Yoshino Y et al, 2011) et infections de la peau et des tissus mous (ITSS). (Yoshino Y et al,2011), (Perz JF et al, 2005).

À notre connaissance, nous présentons le premier cas mortel de bactériémie à *P putida* due à une infection des tissus mous, même avec un traitement antimicrobien approprié.

### Discussion générale

L'implication directe de l'environnement du laboratoire pédagogique dans la survenue des infections chez le personnel reste peu documentée. Cependant le contrôle microbiologique minutieux de l'air et des surfaces doit être impératif.

Concernant le taux de contamination des surfaces, les résultats de ce travail peuvent présenter des biais en rapport avec la méthode de prélèvement choisi, car selon certains auteurs, La méthode utilisant la gélose contact est plus sensible pour détecter les bactéries globalement et

la présence des Cocci à Gram positif dans l'environnement, bien que la technique par écouvillonnage humide semble mieux détecter les bacilles à Gram négatif [**GANGNEUX 2002, LEMMEN 2001**].

Les sites les plus contaminées étaient les paillasses, les robinets, les poignées de portes, les lavabos et les étuves. Cette situation est liée aux faits que ces matériels sont fréquemment manipulés par le personnel ou les étudiants. Cette observation est confirmée par Marty [**MARTY 1998**].

Cette colonisation importante des sites constitue un risque réel de transmission manuportée des bactéries pouvant être à l'origine d'infection [**OIE 2002**]. Afin de réduire cette transmission manuportée au niveau des poignées des auteurs hygiénistes comme Séguier à Strasbourg, proposaient l'utilisation des poignées de portes ULNA.

Concernant les bactéries isolées une forte proportion des bacilles à Gram négatif est notée. Cette proportion élevée serait due à la méthode de prélèvement, car selon la littérature, la technique par écouvillonnage humide semble mieux détecter les bacilles à Gram négatif [**GANGNEUX 2002, LEMMEN 2001**].

La présence des bactéries (dans le tableau 15) constitue un risque infectieux pour le personnel du laboratoire les enseignants et les étudiants. Marquant ainsi la nécessité de l'hygiène du laboratoire démontré par la stérilisation entre autres dans notre expérience.

*Conclusion  
générale*

### ➤ Conclusion

Les méthodes de prélèvement et d'analyse microbienne dans les milieux de laboratoire pédagogique d'Ain Temouchent (air, surfaces) ont fait l'objet de nombreux travaux afin d'améliorer la collecte, la quantification et l'identification des micro-organismes.

Les efforts ont été plus marqués pour les prélèvements d'air avec le développement de nouveaux capteurs et bio collecteurs, notamment individuels, qui permettent, grâce à des durées plus importantes de recueil des micro-organismes (quelques heures), une meilleure évaluation de l'exposition humaine.

À côté des méthodes d'analyse culturales ou conventionnelles, qui restent toujours recommandées, de nouvelles méthodes, dites alternatives, de quantification et d'identification des micro-organismes sont disponibles. Elles apportent des temps de réponse plus courts et une meilleure connaissance de la flore microbienne de l'environnement étudié. Elles permettent une mesure directe des micro-organismes (bioluminescence, épifluorescence, cytométrie de flux) ou la détection de composants cellulaires (spectrométrie de masse, analyse du génome).

L'objectif de l'étude est de prouver qu'une efficace évaluation de l'aspect physicochimique et surtout microbiologique « bio évaluation » d'un contrôle microbiologique dans un laboratoire pédagogique « d'Ain Temouchent » va garantir une bonne qualité hygiénique en suivant les 5M (Milieu air + nettoyage des locaux, Matériel : nettoyage des équipements, Matière : eau, matière première, produit fini etc...). Main d'œuvre : hygiène du personnel et respect d'habillement, l'ensemble doit être en conformité avec la Méthode (pour toute référence et documentation approuvée de travail)

Les évolutions technologiques des méthodes microbiologiques, dans les domaines du prélèvement et/ou de l'analyse, font ainsi une place de choix à la surveillance microbiologique, réglementaire ou non, d'un laboratoire pédagogique, par les différents atouts qu'elle apporte au gestionnaire de cet environnement (points critiques mieux étudiés, actions correctives plus rapides...).

L'analyse de l'air et des surfaces du laboratoire pédagogique de l'université de Ain Temouchent, a donnée des résultats qui laisse sceptique, de ce fait les micro-organismes trouver sur différents compartiments du laboratoire pédagogique, sont en très grand nombre, et il se trouve qu'il y'a des bactéries pathogènes et qui sont nuisible à la santé humaine.

## Conclusion générale

---

De ce fait, des stérilisations ont été effectuées afin de permettre de savoir leur effet et impacte sur le développement microbien au niveau du laboratoire pédagogique, et s'est avéré qu'elles ont donné de bons résultats.

Pour cela une stérilisation quotidienne et hebdomadaire du laboratoire pédagogique est nécessaire pour le bon déroulement du travail ainsi à la prévention de la santé.

**Reference  
bibliographique**

**Bonne pratiques de fabrication (2011).** LD.1. Fabrication des médicaments stériles. [ed.] Bulletin Officiel. 2011. Vol. 8bis

**Ernst T, Rietschel P. Bacterial endotoxin. (1994).** molecular relationship of structure to activity and function. The FASEB Journal. Vol.8.

**Espinal P, Marti S, Vila J (2012).** Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect* 2012; 80:56–60.

**GANGNEUX JP, POIROT JL, MORIN O et al. (2002).** Surveillance mycologique de l'environnement pour la prévention de l'aspergillose invasive. Proposition de standardisation des méthodologies et modalités d'application. *Presse Med*; 31: 841-8.

**GHOUL Mostefa. (2020).** Les techniques du contrôle microbiologique

**Grass G, Rensing C, Solioz M (2011).** Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl Environ Microbiol* 2011 ;77:1541–7.

**Haruki Y, Hagiya H, Sakuma A, Murase T, Sugiyama T (2014), Kondo S.** Caractéristiques cliniques de la bactériémie à *Raoultella ornithinolytica* : une série de cas et une revue de la littérature . *J Infecter Chemother.* 2014 ; **20** (9 ):589-591. doi: 10.1016/j.jiac.2014.05.005

**Hirai Y (2019).** Survival of bacteria under dry conditions from a viewpoint of nosocomial infection. *J Hosp Infect* 1991 ;19:191–200

**Huart, C. (2011).** Le traitement de l'air en milieu hospitalier (place des unités mobiles) (Doctoral dissertation).

**ISO 14698-1:(2003).** Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control - General principles and methods

**JJ Lopez Jr J Am Ostéopathe Assoc 1998 septembre.** 98(9) : 505-7, Département de médecine, Sisters of Charity Medical Center, Staten Island, NY, USA.

**Kabbara WK, Zgheib YR (2015).** Diabetic foot infection caused by *Raoultella ornithinolytica*. *Am J Health Syst Pharm.* 2015;**72**(24):2147–2149. doi:10.2146/ajhp150221

**Kanki M, Yoda T, Tsukamoto T, Shibata (2002).** *T. Klebsiella pneumoniae* produces no histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* strains are histamine producers. *Appl Environ Microbiol.* 2002;**68**(7):3462–3466. doi:10.1128/AEM.68.7.3462-3466.2002

**Le Gallou, F., & Lepelletier, D. (2017).** Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôles microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé.

**Le Hir.2001,** Pharmacie galénique, bonne pratique de fabrication des médicaments, 7ème Edition, Masson, Paris, pp : 120-269

**Lee YC, Lin CM, Huang CY, et al (2013).** Determination and frying loss of histamine in striped marlin fillets implicated in a foodborne poisoning. *J Food Prot.* 2013;**76**(5):860–866. doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-298

**Martino R, Martínez C, Pericas R, Salazar R, Solá C, Brunet S, et al (1996).** Bactériémie due aux bacilles gram-négatifs non fermentants du glucose chez les patients atteints de néoplasies hématologiques et de tumeurs solides. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;**15**:610–615.

**Auger, C., Kondo, S., & Marty, A. (1998).** Multivesicular release at single functional synaptic sites in cerebellar stellate and basket cells. *Journal of Neuroscience,*

**Moletta-Denat Marina (2012),** Les aérosols microbiens dans l'air du temps : le point sur la microbiologie de l'air intérieur

**Nakasone E, Kaneshiro R, Min K, Tokeshi J (2015).** Emergence of *Raoultella ornithinolytica* on O'ahu: a case of community-acquired *R. ornithinolytica* urinary tract infection. *Hawai'i J Med Public Health.* 2015;**74**:174–175.

**Laurent, P., Holmgren, S., & Nilsson, S. (1983).** Nervous and humoral control of the fish heart: structure and function. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology,*

**OIE S. (2002),** Contamination of room door handles by methicillin-sensitive / methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Inf ;* 51: 140 -3.

**Oxford J, Berezin EN (2014),** Courvalin P, Dwyer DE, Exner M, Jana LA, et al. The survival of influenza A(H1N1) pdm09 virus on 4 household surfaces. *Am J Infect Control* 2014; 42:423–5.

**Pacilli M, Nataraja RM (2019).** *Raoultella planticola* associée à une perforation du diverticule de Meckel et à une péritonite chez un enfant : à propos d'un cas et revue systématique de la littérature pédiatrique. *J Infecter la santé publique.* 2019 ; **12** ( 5 ) : 605–607. doi: 10.1016/j.jiph.2019.05.003

**Perz JF, Craig AS, Stratton CW, Bodner SJ, Phillips WE, Jr, Schaffner W (2005).** Septicémie à *Pseudomonas putida* dans une pépinière de soins spéciaux en raison de solutions de rinçage contaminées préparées dans une pharmacie hospitalière. *J Clin Microbiol.* 2005;**43**:5316-5318.

**Scriban R. (1999),** Biotechnologie Tec & Doc. 5ème Edition, Paris, pp : 927

**Sekowska A (2017) .** *Raoultella* spp.-clinical significance, infections and susceptibility to antibiotics. *Folia Microbiol (Praha).* 2017;**62**(3):221–227. doi:10.1007/s12223-016-0490-7

**Solak Y, Gul E, Atalay H, Genc N, Tonbula H.** A rare human infection of *Raoultella ornithinolytica* in a diabetic foot lesion. *Ann Saudi Med.* 2011;**31**(1):93–94. doi:10.4103/0256-4947.75794

**Souza Dias MB, Habert AB, Borrasca V, Stempliak V, Ciolli A, Araújo MR, et al.** Récupération de cathéters veineux centraux à long terme lors d'une épidémie d'infections à *Pseudomonas putida* et *Stenotrophomonas maltophilia* associées à une solution de verrouillage de cathéter à l'héparine contaminée. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;**29**:125-130. - PubMed

**US FDA, 2004**, Good Manufacturing Practices for products: main principals, Technical Report Series, No. 961

**Laura Tordjman-Valençay**. Défi du dénombrement microbien dans l'industrie pharmaceutique : les nouvelles méthodes alternatives Sciences pharmaceutiques. 2016.

**Von Graevenitz A, Weinstein J**. Importance pathogène de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Yale J Biol Med*. 1971;44:265-273

**Wong D, et al 2017**. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: A century of challenges. *Clin Microbiol Rev* 30(1):409–447, 2017. doi: 10.1128/CMR.00058-16.

**Yoshino Y, Kitazawa T, Kamimura M, Tatsuno K, Ota Y, Yotsuyanagi H (2011)**. Bactériémie à *Pseudomonas putida* chez des patients adultes : cinq rapports de cas et une revue de la littérature. *J Infecter Chemother*. 2011;17:278-282

**Zureik, M., Neukirch, C., Leynaert, B., Liard, R., Bousquet, J., & Neukirch, F. (2002)**. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey.

## Résumé

Depuis plusieurs années, l'analyse de l'air et des surfaces font partie des analyses qui ont une importance capitale par leur importance sur le plan sanitaire et prévention des pathologies liées à la présence de microorganismes pathogènes, mais également la formation de biofilm qui suscite de plus en plus d'intérêt et d'inquiétude concernant la contamination des surfaces. L'air et les surfaces constituent un milieu de croissance idéal pour les microorganismes provenant de l'environnement et les micro-organismes aéroportés ainsi que les microorganismes responsables de la formation de biofilm. L'objectif de ce travail est d'étudier la qualité bactériologique de l'air et des surfaces au niveau du laboratoire pédagogique de Ain Temouchent afin d'isoler et d'identifier les microorganismes potentiellement pathogènes afin de prévenir les risques sanitaires liés à la contamination par des microorganismes pathogènes d'une part, d'un autre côté l'objectif est de dénombrer et quantifier les microorganismes qui sont en grand nombre susceptibles de créer une pathologie.

Les bactéries de l'air et des surfaces sont connues pour provoquer certaines maladies infectieuses. Notre objectif est de évaluer et contrôler tous les compartiments du laboratoire susceptibles d'être contaminés, pour cela plusieurs méthodes d'analyse ont été utilisées afin d'isoler et d'identifier les microorganismes responsables de la contamination et mettre en évidence l'origine de la contamination.

Les résultats du contrôle bactériologique de l'air et des surfaces ont révélé qu'il y avait un taux très élevé de microorganismes mais également des bactéries susceptibles d'être pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Raoultella ornithinolytica*, *Acinetobacter baumannii*).

La plupart des compartiments prélevés sont chargés en microorganismes, mais seulement quelques compartiments ou l'air et les surfaces sont contaminés par des microorganismes pathogènes.

Mot clé : Analyse de l'air et des surfaces, microorganismes pathogènes, maladie infectieuse

## ملخص

من والوقاية الصحة حيث من كبرى أهمية لها التي التحليلات من جزءًا والأسطح الهواء تحليل كان ، سنوات لعدة والقلق الاهتمام يثير الذي البيوفيلم تكوين أيضًا جهة ومن ، للأمراض المسببة الدقيقة الكائنات بوجود المرتبطة الأمراض الأسطح تلوث حول المتزايد

وكذلك الهواء في المحمولة الدقيقة والكائنات البيئة من الدقيقة الحية للكائنات مثالية لنمو وسيلة والأسطح الهواء يوفر البيوفيلم تكوين عن المسؤولة الدقيقة الحية الكائنات

أجل من تموشنت عين لجامعة التعليمي المخبر في والأسطح للهواء البكتريولوجية الجودة دراسة هو العمل هذا من الهدف من الميكروبيولوجي بالتلوث المرتبطة الصحية المخاطر منع أجل من للأمراض المسببة الدقيقة الحية الكائنات وتحديد عزل كبير عدد في تخلق أن المحتمل من التي الدقيقة الحية الكائنات وتحديد تعداد هو الهدف، أخرى جهة ومن جهة الأمراض من.

جميع ومراقبة تقييم هو هدفنا ، معينة معدية أمراضًا تسبب والأسطح الهواء في الموجودة البكتيريا أن المعروف من الحية الكائنات وتحديد عزل أجل من التحليل طرق من العديد استخدام تم لذلك ، ملوثة تكون أن يحتمل التي المخبر أقسام التلوث مصدر على الضوء لتسليط التلوث عن المسؤولة الدقيقة

البكتيريا وخاصة ،الدقيقة الحية الكائنات من جدًا عالية نسبة وجود والأسطح للهواء البكتريولوجية التحليل نتائج أظهرت مثل للأمراض مسببة تكون أن يحتمل التي

(*Staphylococcus aureus*, *Raoultella ornithinolytica*, *Acinetobactère baumanii*).

الأقسام بعض فقط ولكن ، الدقيقة الحية بالكائنات ملوثة كانت منها عينات أخذ تم التي البيداغوجي المخبر أقسام معظم للأمراض المسببة الدقيقة بالكائنات ملوثة كانت

لأمراض المسببة الدقيقة بالكائنات والأسطح الهواء في البكتيري التحليل ,المعدية الأمراض :المفتاحية الكلمات

## **Abstrat**

For several years, the analysis of air and surfaces have been part of the analyzes which are of capital importance due to their importance in terms of health and prevention of pathologies linked to the presence of pathogenic microorganisms, but also the formation of biofilm gives rise to growing interest and concern regarding surface contamination. The air and the surface provide an ideal growth medium for microorganisms from the environment and airborne microorganisms as well as microorganisms. The objective of this work is to study the bacteriological quality of the air and surfaces at the educational laboratory of Ain Temouchent in order to isolate and identify potentially pathogenic microorganisms in order to prevent the health risks linked to contamination. by pathogenic microorganisms on the one hand, on the other hand the objective and to enumerate and quantify the microorganisms which are in large number likely to create a pathology.

Bacteria in the air and surfaces are known to cause certain infectious diseases our objective is to evaluate and control all the compartments of the laboratory likely to be contaminated, for this several methods of analysis have been used in order to isolate and identify the microorganisms responsible for the contamination to highlight the origin of the contamination.

The results of the bacteriological control of the air and surfaces revealed that there was a very high rate of microorganisms but also of suceptibly pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Raoultella ornithinolytica*, *Acinéto bactére baumanii*).

Most of the compartments sampled are loaded with microorganism, but only some compartment or the air and the surfaces are contaminated with pathogenic microorganisms.

keyword :Air and surface analysis, pathogenic microorganisms, infectious disease

