

C'e dans l'air

C'est dans l'air...

Evaluation de la charge microbienne dans l'air: comparaison entre les méthodes d'échantillonnage actives et passives dans les salles blanches

Marcella Barbieri Saraceno

Voilà quelques années que la qualité microbiologique de l'air fait l'objet d'une attention accrue. A ce titre, on peut, sans exagération, affirmer que l'air est le reflet des conditions d'hygiène qui prévalent en tout endroit donné. Ce constat vaut en particulier pour les hôpitaux, dans lesquels la lutte contre la contamination de l'air est devenue un instrument de prévention indispensable.

Toutefois, les méthodes, l'interprétation des résultats et ainsi que les valeurs de contamination maximales admissibles sont aujourd'hui encore loin de faire l'unanimité.

Il n'est en effet pas facile de déterminer la quantité de microbes présents dans l'air; les méthodes utilisées actuellement peuvent, en principe, être classées en quatre groupes :

- Détermination du nombre d'unités formant colonie par mètre cube d'air (UFC/m³)
- Détermination du nombre d'unités formant colonie sur des plaques de sédimentation (UFC/m²)
- Mesure d'un composant chimique des cellules microbiennes (ADN, enzyme) par mètre cube
- Comptage au microscope

A ce jour, et en raison de problèmes de sensibilité des instruments utilisés, la mesure d'un composant chimique des cellules microbiennes ne permet pas d'obtenir de résultats fiables. Le comptage au microscope et le comptage automatique par fluorescence font l'objet d'études, mais leur utilisation se heurte à diverses limitations.

La méthode la plus répandue est donc la détermination du nombre d'UFC, grâce à laquelle les microorganismes vivants capables de se reproduire peuvent effectivement être dénombrés. A cette fin, les échantillons d'air peuvent être prélevés de deux manières :

- 1) par des échantillonneurs « actifs », qui mesurent le nombre d'UFC par mètre cube d'air: ils aspirent une quantité donnée d'air, la font passer à travers un milieu de culture et mesurent ensuite, après une durée d'incubation définie, la croissance des microorganismes;
- 2) par des échantillonneurs « passifs », méthode qui consiste à utiliser des plaques de sédimen-

tation avec milieu de culture solide, et à laisser celles-ci ouvertes pendant une durée définie.

La comparaison entre ces deux méthodes vise à montrer s'il convient de privilégier une méthode par rapport à l'autre, et le cas échéant, dans quels cas. D'une manière générale, l'utilisation des échantillonneurs actifs est rapide, et diverses normes internationales préconisent la mesure de la charge microbienne par mètre cube d'air. Ces dispositifs, disponibles sur le marché, sont donc aujourd'hui largement répandus.

Plusieurs études ont toutefois mis en évidence que différents échantillonneurs actifs enregistrent des résultats variables, alors même qu'ils ont été installés au même endroit et au même moment. De plus, les données collectées par les différents échantillonneurs ne peuvent pas, ou mal, être comparées entre elles: d'une part, le comptage final varie d'un appareil à l'autre, et d'autre part, il ne ressort pas toujours quel échantillonneur choisir en fonction de quel critère. Enfin, ces échantillonneurs sont difficiles à stériliser, ils sont chers et bruyants, et doivent souvent être rééchantillonnés.

L'une des principales limitations des échantillonneurs d'air concerne la quantité d'air à prélever: certains appareils ont une capacité de 80 l/min. L'analyse doit porter sur 1 mètre cube d'air, avec un temps d'exposition de 15 minutes. Mais pour qu'un échantillon d'air soit représentatif, il se peut qu'il faille prolonger de 15 minutes la durée de prélèvement. Dans les zones critiques, des turbulences peuvent survenir, qui déstructurent les flux d'air normaux, accroissant par-là la probabilité de contamination. Qui plus est, lors de l'échantillonnage, une quantité importante de bioparticules actives est inactivée par contact avec l'appareil et le milieu de culture. Enfin, toutes les prescriptions officielles relatives au contrôle des microorganismes aéroportés se fondent en principe sur la détermination du nombre d'UFC par mètre cube d'air, sans préciser toutefois l'échantillonneur à utiliser (seule exception: la Grande-Bretagne). Cette situation est très problématique, compte tenu de la grande variabilité des appareils, évoquée plus haut.

L'échantillonnage passif se fait au moyen de plaques de sédimentation. Celles-ci sont porteuses d'un milieu de culture solide et sont exposées pendant un laps de temps défini. Les microbes, transportés par des particules inertes, tombent sur la surface du milieu de culture et après incubation à 37°C, leur nombre augmente proportionnellement à la charge microbienne dans l'air.

Initialement, diverses critiques avaient été émises à l'encontre de cette méthode: il ne s'agissait pas d'une approche quantitative, car biaisée par la mesure des particules et les mouvements de l'air ambiant; le volume d'air contenant les particules ne pouvait pas être mesuré; et la durée d'exposition, pouvant aller de 15 minutes à une heure ou plus, n'était pas claire. Aussi plusieurs scientifiques conclurent-ils à l'inadéquation de la méthode des plaques de sédimentation comme système de contrôle de la charge microbiologique de l'air dans les salles d'opération.

Plus tard, dans le sillage d'essais spécifiques, certains auteurs revinrent sur leurs propres conclusions, affirmant que les plaques de sédimentation – puisqu'elles mettent en évidence la charge bactérienne dans l'environnement immédiat dans lequel sont effectuées les interventions chirurgicales – pouvaient malgré tout être utilisées pour contrôler l'air dans des zones critiques. Les plaques de sédimentation sont stériles, bon marché et leur interprétation est aisée; elles permettent de surveiller de nombreux emplacements simultanément; leurs résultats sont fiables et reproductibles; enfin, les données – collectées par différentes personnes, en différents endroits, sur différentes plaques – peuvent être comparées et interprétées. Les plaques permettent de mesurer les microbes dangereux présents à un moment donné sur des surfaces critiques, et d'évaluer la contamination des surfaces par l'air; elles offrent une meilleure reproductibilité (par comparaison avec les échantillonneurs actifs) des conditions de charge de particules qui se déposent dans les plaies, et – en tant qu'indicateurs de la contamination effective des plaies – elles mettent en évidence, de manière pratique et pertinente, la charge bactérienne présente sur les surfaces.

Ces deux méthodes ont chacune leurs partisans et leurs détracteurs, et scindent les milieux scientifiques qui travaillent à l'élaboration de normes et de bonnes pratiques.

L'ISO 14698-1:2003 est la seule norme internationale qui stipule expressément les deux méthodes. Elle les décrit toutes deux et fournit une longue liste des aspects dont il faut tenir compte pour le choix de la méthode d'échantillonnage, sans toutefois indiquer laquelle privilégier dans quelles conditions :

- Type et taille des particules à prélever
- Sensibilité des particules vivantes à la méthode d'échantillonnage
- Concentration escomptée de particules vivantes
- Capacité de mesurer de manière fiable des concentrations très élevées et très basses de biocontamination
- Milieu de culture adapté
- Heure et durée du prélèvement
- Conditions ambiantes du lieu de prélèvement
- Interférences de l'échantillonneur sur le flux laminaire
- Caractéristiques de l'appareil (vitesse du flux d'air / de l'impact, équipement auxiliaire, nécessité d'une pompe à vide, d'eau, d'électricité, etc.)
- Facilité de nettoyage, désinfection ou stérilisation
- Probabilité intrinsèque à l'appareil que celui-ci accroisse le nombre de particules vivantes de la biocontamination à mesurer.

Diverses études ont cherché à comparer les charges microbiennes prélevées au moyen des méthodes actives et passives, mais les résultats se sont révélés très hétérogènes : certains travaux ont mis en évidence une corrélation, d'autres ne sont pas parvenus aux mêmes conclusions.

La méthode de prélèvement d'air n'étant pas normée, les résultats des différentes études ne peuvent être comparés entre eux. Exemple : tandis que Whyte observait une corrélation entre les méthodes passives et actives avec l'« *Active Casella Slit Sampler* », Sayer, utilisant l'« *Andersen Active Sampler* », déboucha sur la conclusion inverse.

En 2012, un groupe de recherche de l'Hôpital universitaire de Bari mena une intéressante étude, qui visait à évaluer – au moyen d'échantillonnages actifs et passifs – la charge microbienne dans les salles d'opération. Il s'agissait de déterminer si les valeurs obtenues au moyen de diverses méthodes corrôlaient les résultats enregistrés.

Sur la base d'un échantillonnage passif, les chercheurs déterminèrent l'indice de la charge microbienne de l'air (*Index of Microbial Air Contamination, IMA*), soit le nombre d'unités formant colonie mesuré dans une boîte de Pétri de 9 centimètres de diamètre, et disposé selon le schéma 1/1/1 (1 heure, à 1 mètre du sol et à 1 mètre du mur). Les

plaques IMA ont été disposées dans la salle d'opération à 1 mètre de la table d'opération et le résultat a été converti en UFC/m²/h. Les directives italiennes ne fixant pas de valeur limite officielle pour les plaques IMA, les chercheurs ont pris comme référence les valeurs limites préconisées par l'Association suisse des hôpitaux pour les salles d'opération à flux turbulents, soit ≤ 5 UFC/plaque de $\varnothing 9$ cm/h *at rest*, ainsi que ≤ 25 UFC/plaque de $\varnothing 9$ cm/h *in operational*.

Pour les échantillonneurs actifs, ils utilisèrent des *Surface System Sampler (SAS)* avec un débit de 180 l/min, disposés à côté des plaques de sédimentation. Etant donné qu'il n'existe pas de documents officiels réglant le contrôle de la biocontamination dans les salles d'opération (volume d'air à filtrer, durée d'échantillonnage, etc.), c'est une étude qui a servi de référence. 500 litres d'air *at rest* ont été filtrés en un prélèvement unique (sans activités, les résultats de l'échantillon reflètent avant tout la performance du système de climatisation et ventilation). Dans ces conditions, un prélèvement unique en continu est comparable à une exposition d'une heure des plaques de sédimentation.

A l'inverse, les résultats du prélèvement *in operational* indiquent si les procédures d'hygiène et de comportement sont respectées. Aussi l'échantillonnage actif a-t-il été effectué parallèlement à l'exposition des plaques, mais en cinq prélèvements distincts de 100 litres chacun, et à 12 minutes d'intervalle, d'autres études avançant que les échantillonnages actifs *in operational* effectués à intervalles réguliers sont plus probants. Au total, ce sont 32 prélèvements *at rest*, mais seulement 19 échantillons *in operational* qui ont été effectués, 13 salles d'opération n'ayant pas été utilisées après les prélèvements *at rest*.

La valeur maximale admissible pour l'échantillonnage actif est tirée des Directives ISPEL (2009) relatives aux échantillons d'air en salles d'opération à flux turbulents, soit 180 UFC/m³.

La diminution linéaire observée (illustrations 1 et 2) indique, pour les deux méthodes (IMA et SAS), un lien direct important entre présence de personnes et nombre de particules vivantes.

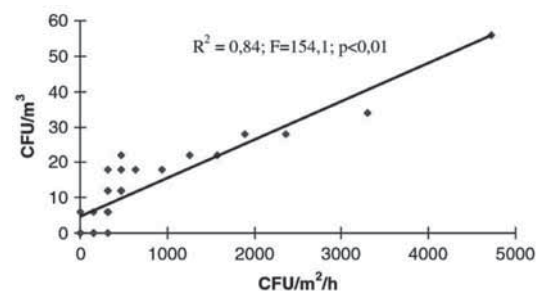
La qualité microbiologique de l'air dans les salles d'opération constitue un indicateur primordial dans la lutte contre les infections nosocomiales. La charge microbiologique peut être contrôlée au moyen d'une méthode active ou passive. Bien qu'on trouve des recommandations de valeurs limites, il n'existe actuellement aucune directive précise sur la manière de mesurer ces valeurs.

La présente étude arrive à la conclusion que les résultats des échantillonnages actifs et passifs, pour autant que ceux-ci respectent scrupuleusement le protocole établi, sont en corrélation tant *at rest* que *in operational*. Le choix de la méthode utilisée dépend des informations que l'on souhaite obtenir :

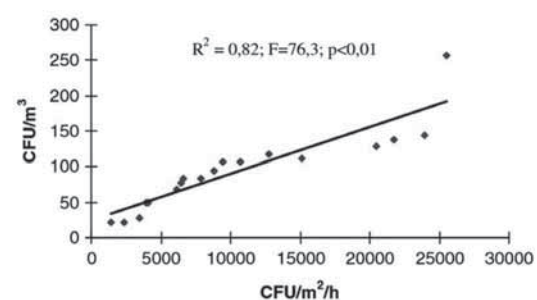
si l'on s'agit de surveiller le risque de contamination d'une plaie, on privilégiera l'échantillonnage passif ; inversement, si l'on cherche des informations sur la concentration de toutes les particules actives inhalables, on optera de préférence pour la méthode active.

BIBLIOGRAPHIE

- Annals of Agricultural and Environmental Medicine, Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals – Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria.; 2015, Band 22, Nr. 4, 670-673.
- Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro. Linee guida per la definizione degli standard di sicurezza e di igiene ambientale dei reparti operatori, 2009.
- Napoli C., Marcotriggiano V., Montagna M., Air sampling procedure to evaluate microbial contamination : a comparison between active and passive methods in operating theatres. BMC Public Health, 2012 ; 12 : 594
- Pasquarella C., Pizzurra O., Savino A.; The index of microbial air contamination. Journal of hospital infection (2000) 46 : 241-256
- Pasquarella C, Veronesi L, Castiglia P, Liguori G, Montagna MT, Napoli C, Rizzetto R, Torre I, Masia MD, Di Onofrio V, Colucci ME, Tinteri C, Tanzi M : Italian multicentre study on microbial environmental contamination in dental clinics : a pilot study. Sc Total Environ. 2010, 408 : 4045-4051. 10.1016/j.scitotenv.2010.05.010.
- Perdelli F, Sartini M, Orlando M, Secchi V, Cristina ML : Relationship between settling microbial load and suspended microbial load in operating rooms. Ann. Ig. 2000, 12 : 373-380.
- Whyte W. Sterility Assurance and models for assessing bacterial contamination. Parenter Sc Tecnol 1995 ; 40 : 188-197. |



III. 1



III. 2