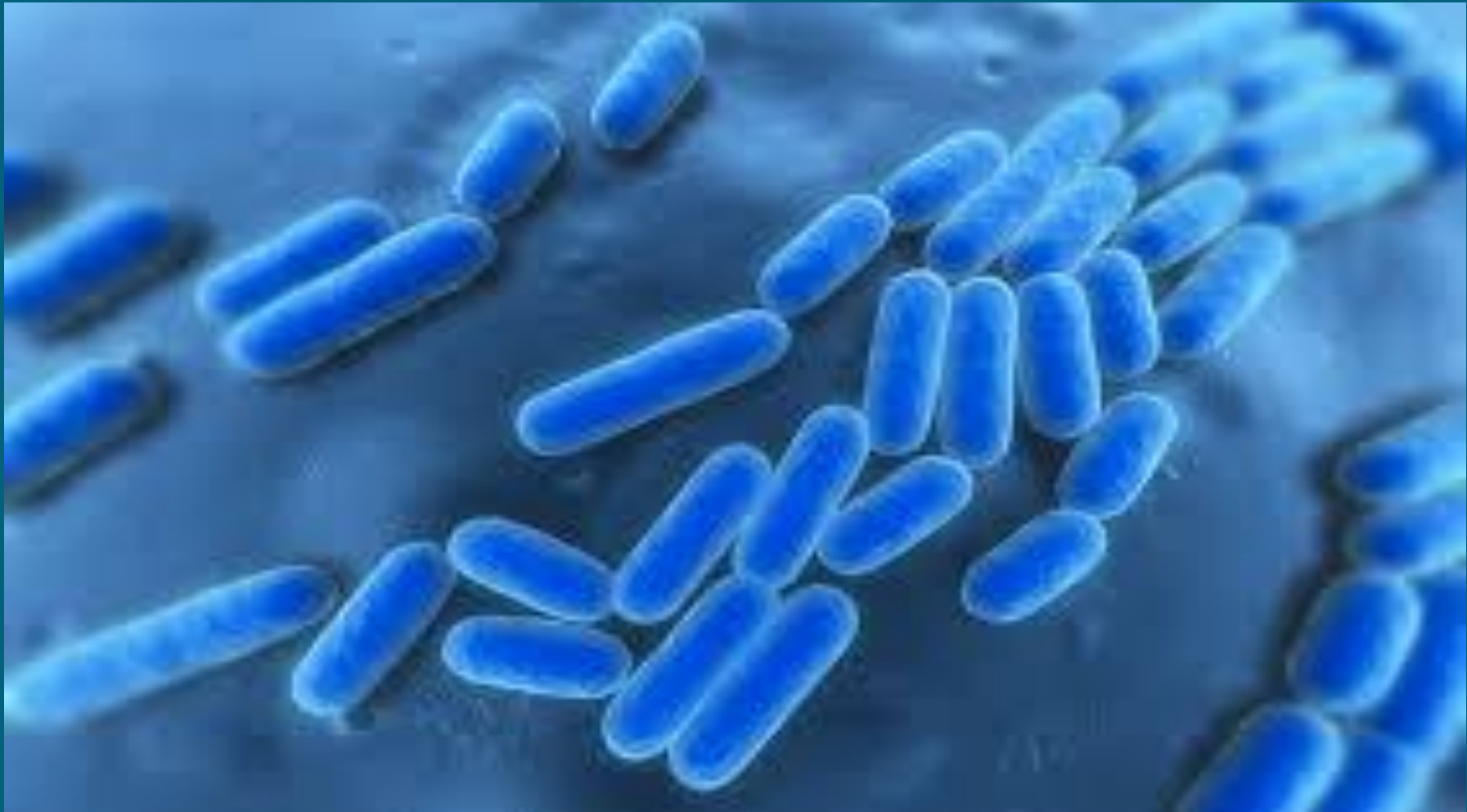
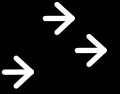


# Microbiologie de l'air

## Chapitre 4

## Contamination et hygiène des locaux



Les poussières atmosphériques d'origine naturelle contiennent, en plus de particules de terre, pollen et autres, des virus, des bactéries, des algues, des protozoaires ainsi que des spores bactériennes et des spores de champignons et également les toxines que certains d'entre eux synthétisent.

la présence de micro-organismes jusqu'à des altitudes de 6000 ou même plus de 27 000 mètres.



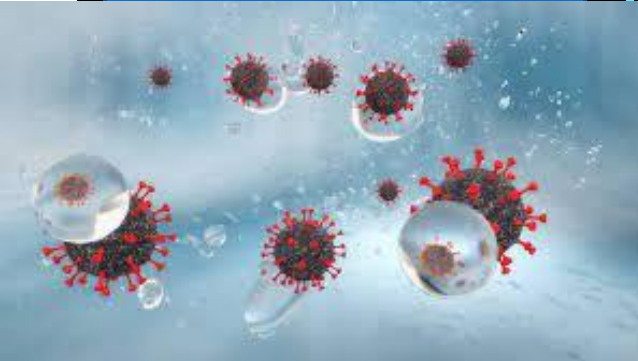
il s'agissait de moisissures des genres *Alternaria*, *Aspergillus* et *Qadosporium* trouvées dans des échantillons prélevés, à l'aide d'un échantillonneur transporté-en ballon, à des altitudes de 9000 à 27 500 mètres où ces genres prédominaient

La présence de ces contaminants peut être source de "danger" pour le produit (altération des produits alimentaires, dysfonctionnement des systèmes électroniques), mais aussi pour l'homme

## La biologie de l'air

L'air n'est pas un milieu propice à la croissance des micro-organismes vu l'absence de nourriture et le manque d'humidité. Il n'y a donc pas, à proprement parler, de microflore particulière de l'air

Les bactéries qui y sont présentes ne peuvent donc pas s'y multiplier et s'y installer durablement. Elles sont en transit



flore de surface du sol

Des matières en décomposition ou de la végétation qui est soulevée par le vent

Micro-organismes fixés sur des poussières d'origine diverse ou dans des gouttelettes d'eau en aérosol provenant de chutes d'eau

De liquides de pulvérisation et d'irrigation associés aux activités de la région

L'épandage par pulvérisation de fumier liquide ou de purin, entre autres, est une source importante de germes pour les zones avoisinantes.

Ces micro-organismes survivent un certain temps dans l'air avant de disparaître

les plus résistants persistant plus longtemps, c'est le cas, en particulier, des spores de moisissures et de bactéries.

Les levures peuvent également être présentes, mais elles sont généralement moins abondantes que les bactéries et les moisissures

Le froid, les ultraviolets du soleil et les précipitations réduisent la densité des micro-organismes dans l'air.

La densité et les types de micro-organismes présents dans l'air des **habitations** varient considérablement en fonction de plusieurs facteurs

le taux de renouvellement

l'agitation de l'air  
(courants d'air,  
ventilation,  
mouvements des  
personnes...)

l'humidité  
température

l'activité  
qui y est  
exercée

le nombre  
de  
personnes

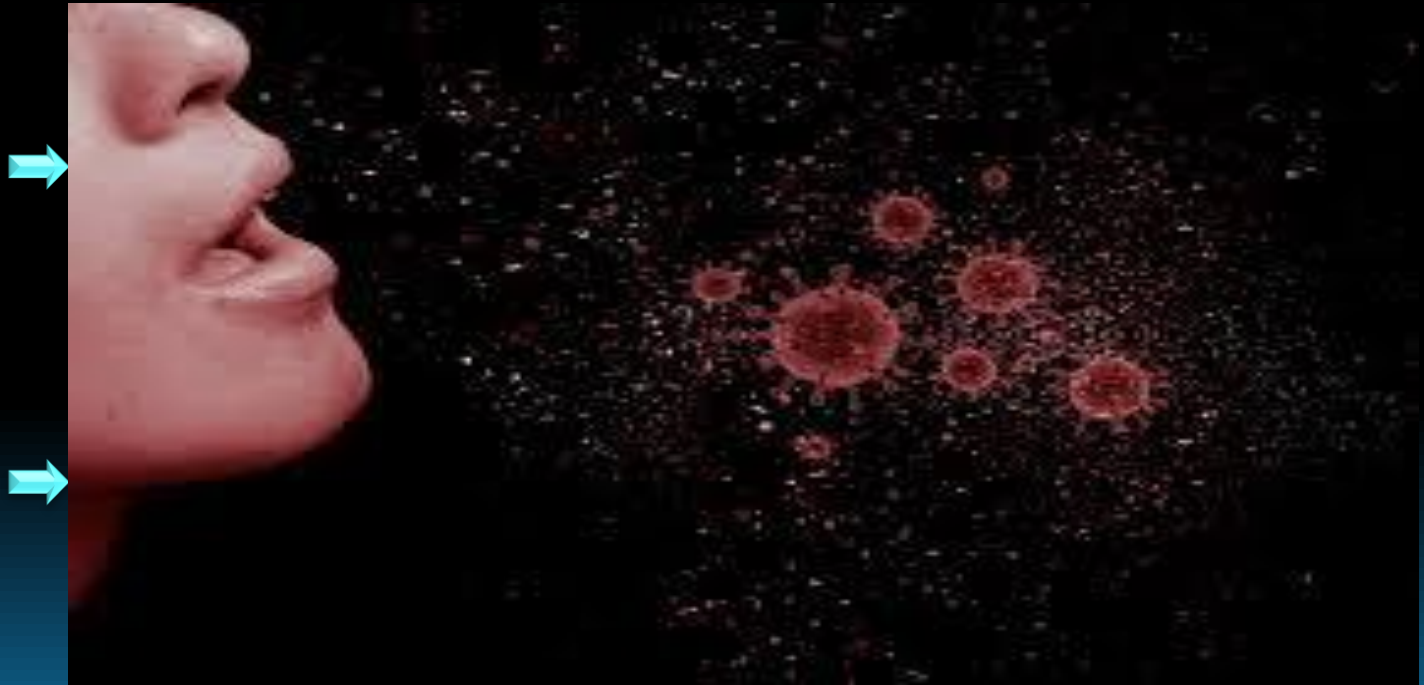
la quantité de  
poussière ou  
de gouttelettes  
de liquide en  
suspension

La dispersion des micro-organismes dans l'air est le résultat des fluctuations turbulentes des vents

Les gouttelettes buccales et nasales émises par les humains (ventilation pulmonaire, paroles, éternuements, toux...) renferment de grandes quantités de micro-organismes de la flore respiratoire.

Ces germes meurent plus ou moins rapidement au contact de l'air.

La conversation, la toux et l'éternuement produisent des milliers de gouttelettes, mais l'éternuement est le mode de génération le plus puissant:



Dans les systèmes de ventilation mécanique, les filtres doivent être fréquemment changés ou stérilisés, car ils peuvent devenir une cause de contamination de l'air.

→ D'après les résultats d'études, l'air polaire ainsi que l'air tropical au-dessus de l'océan ne sont pas entièrement exempts de bactéries et de champignons, l'air tropical en contenant plus que l'air polaire.

→ la présence de bactéries et de moisissures à plus de 400 miles marins (environ 740 km) de la terre ferme a été signalé

En l'absence de tout mouvement d'air, les plus grosses particules sédimentent, il ne reste que les poussières les plus fines. Les MO y sont donc en nombre plus faible.

Les bactéries apportées par l'air extérieur sont des microcoques, des staphylocoques et des *Bacillus*. En somme, la flore de l'air renferme essentiellement des MO résistants à la dessiccation, c'est ce qui explique la prédominance des Gram+ et des spores fongiques par rapport aux Gram-

## Les microorganismes contaminants

### Les bactéries

environnements très variés

Milieu invraisemblables

dans des milieux contenant très peu de nutriments

à des températures élevées mais aussi très basses

auprès de sources hydrothermales à des températures comprises entre 80 et 110°C (bactéries hyperthermophiles) par 2500 m de fond ou il règne des pressions de 250 atmosphères.

survivre à des pH extrêmes (eaux acides, lacs de soude)

On a pour habitude de classer les bactéries en fonction de leur comportement vis-à-vis de l'oxygène.

Les bactéries aérobies strictes ne peuvent vivre qu'en présence d'oxygène. En industrie agroalimentaire, conditionnement sous vide ou sous atmosphère.

Les bactéries anaérobies facultatives sont capables de se multiplier indifféremment en présence ou en absence d'oxygène.

Les bactéries anaérobies strictes ne peuvent pas se développer en présence d'oxygène. Si le conditionnement sous vide ou sous atmosphère modifiée permet d'éliminer les bactéries aérobies, il favorise la multiplication des bactéries anaérobies.

Les bactéries dans des conditions favorables (température, pH, nutrition) sont capables de se multiplier rapidement. Ainsi, à 37°C toutes les 20-30 minutes, la population d'*Escherichia coli* est multipliée par deux. Ainsi, au bout de 24 heures, une bactérie aura donné naissance à  $4,72 \times 10^{21}$  bactéries.

Cependant, les bactéries se trouvent rarement dans les conditions optimales de croissance et le substrat nutritif s'épuise rapidement et la plupart des bactéries meurent.

Cette rapidité de multiplication permet aux bactéries de modifier leur patrimoine génétique et de s'adapter, par conséquent, à de nouveaux environnements. On parle alors de mutation. Ainsi, les bactéries peuvent acquérir rapidement une résistance aux antibiotiques utilisés par l'homme, ce qui peut parfois poser problème dans le monde hospitalier où se développe une flore résistante aux ATB même les plus complexes.



## Toxines

Les bactéries sous certaines conditions peuvent produire des toxines qui, même à faible dose, peuvent entraîner la mort lors de leur ingestion.

Ces toxines peuvent résister aux traitements thermiques destinés à détruire les bactéries. Ce qui fait qu'un produit microbiologiquement correct peut être dangereux par la présence de toxine.

Parmi les bactéries productrices de toxine, on peut citer *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* et certaines souches d'*Escherichia coli*.

Certaines toxines sont synthétisées dans le produit alimentaire, d'autres ne le sont qu'une fois que la bactérie a été ingérée.



## Les virus

Ces molécules d'acide nucléique sont encapsidées (enveloppées d'une capsule protéique).

Les virus pénètrent dans les cellules (animales, végétales ou bactériennes) et utilisent les enzymes de la cellule hôte pour synthétiser les protéines qui leur permettent de se multiplier.

Les nouveaux virus vont quitter la cellule hôte pour coloniser d'autres cellules.

Comme pour les bactéries, cette multiplication rapide permet aux virus de s'adapter rapidement à l'environnement.

## Les moisissures

Certaines espèces peuvent se développer dans conditions extrêmes (pH, température).

Leur croissance peut être très rapide (ex. *Rhizopus* s'accroît de 50 mm par 24 heures).

Ces microorganismes produisent des spores qui leur permettent de survivre lorsque l'environnement est défavorable, mais aussi de coloniser d'autres substrats par l'intermédiaire de l'air.

Les spores de moisissures sont les contaminants les plus fréquents de l'air.



## Sources de contaminations microbiennes des locaux

### L'air

Les microorganismes sont présents dans l'air, notamment sous forme de spores bactériennes ou de moisissures, ce qui leur permet de survivre en attendant de se trouver dans un environnement favorable à leur croissance.

Les bactéries sont en général associées à des particules inertes. La contamination du produit se fait par sédimentation de ces particules ou par impacte de ces particules sur le produit.

L'air est lui-même contaminé par le produit (ex. tranchage de produits alimentaires), le personnel ou encore l'eau (aérosolisation). Les systèmes de ventilation lorsqu'ils ne sont pas régulièrement nettoyés et désinfectés entraînent une contamination continue de l'air et donc de l'ensemble des locaux.

### L'eau

Comme l'air l'eau peut apporter des bactéries au cours de la production (utilisation d'une eau contaminée lors de la fabrication) ou au cours des opérations de nettoyage et désinfection (contamination des surfaces de travail).

## Les surfaces

Les surfaces de travail, restent, notamment en industrie agro-alimentaire, une source de contamination importante. Elles peuvent être elles-mêmes contaminées par l'air, le personnel, l'eau et le produit. Lorsque le produit alimentaire entre en contact avec une surface contaminée, la contamination microbiologique pourra être transférée de la surface vers le produit.

## Le produit

Le produit lui même, ou les matières premières entrant dans sa fabrication peuvent être à l'origine de la contamination d'autres produits. Ainsi, l'utilisation en industrie agro-alimentaire de matières premières contaminées entraîne la fabrication de denrées pouvant être impropres à la consommation car trop contaminées. La contamination croisée d'un produit par un autre peut se faire par l'intermédiaire des surfaces. Par exemple, une lame de trancheur pourra être contaminée. Les produits tranchés ensuite seront contaminés par la lame.

## Le personnel

L'homme est un vecteur de contamination important. En effet, la peau est recouverte de milliard de bactéries et comme l'être humain génère en permanence des particules (peau, cheveux, particules émises lors de l'expiration,..) il contamine en permanence l'air et par conséquent le produit.

## Principales contaminations

Le risque lié à la contamination biologique dépend du produit fabriqué ainsi que des traitements qu'il subira après cette contamination.

Ainsi, en pharmacie, pour un produit injectable il ne sera toléré aucune contamination microbienne alors que celle d'un fromage pourra être beaucoup plus importante sans pour autant être dangereuse.

Les conséquences d'une bio-contamination sont de deux ordres:

Conséquences pour le produit : altération du produit.

Conséquences pour l'homme: présence de microorganismes pathogènes pour le consommateur (ex : *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*).

## L'industrie pharmaceutique

Cette industrie doit mettre sur le marché des produits exempts de contamination

les médicaments s'adressent à des "malades" dont les défenses contre les microorganismes peuvent être affaiblies.

La fabrication et le conditionnement des produits se déroulent donc dans des conditions d'asepsie très strictes.

L'industrie pharmaceutique doit donc lutter contre la contamination. cette bio contamination, sans être dangereuse pour l'homme, peut être à l'origine de l'altération du produit (fermentation,...).

## En milieux industriels

## L'industrie électronique

Les produits fabriqués par cette industrie se sont considérablement miniaturisés.

sur une très faible surface, sont présents de nombreux éléments et circuits de quelques mm.

Une bactérie face à certains de ces éléments peut apparaître comme un "géant".

Sa présence sur un circuit peut entraîner sa "coupure". Inversement, un microorganisme peut relier entre des éléments qui ne devraient pas l'être.

En milieux  
industriels

L'industrie  
agroalimentaire

Dans cette industrie, le produit alimentaire est en général lui même une source de contamination, ce qui rend la lutte antimicrobienne plus difficile.

C'est pourquoi à l'exception de certains produits (lait Upérisation à Haute Température,...), un certain taux de contamination peut être toléré (Arrêté du 21 décembre 79).

De plus, la présence de microorganismes peut être volontaire (produits fermentés comme le yaourt ou le saucisson sec).

Cependant, la présence de certains microorganismes peut être néfaste pour le produit (altération du produit et de ses propriétés organoleptiques), mais aussi pour le consommateur (présence de bactéries pathogènes comme *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*).

## Milieus hospitaliers

Le secteur hospitalier doit également lutter contre les bio-contaminations. En effet, les malades sont plus sensibles aux agents infectieux.

De fait, ils peuvent acquérir au cours de leur hospitalisation une infection, on parle alors d'infection nosocomiale.

Ces infections nosocomiales entraînent un surcoût pour l'hôpital et la société.

En effet, des études récentes montrent que les infections prolongent le séjour hospitalier de 4 jours en moyenne.



## Bio contamination par aérosol au laboratoire

En fonction de la taille des particules, on distingue la transmission « air » (taille des particules inférieure à  $5\ \mu\text{m}$ ), de la transmission « gouttelettes » (taille des particules supérieure à  $5\ \mu\text{m}$ ).

Les particules, véhiculées sous forme d'aérosol, représentent un risque infectieux réel au laboratoire.

Plus la particule est petite et plus la vitesse à laquelle elle est propulsée est grande, plus le risque d'aérosolisation est élevé.

Ce phénomène n'étant pas macroscopiquement visible, sa reconnaissance et son évaluation sont complexes. C'est classiquement le mode de transmission le plus fréquent au laboratoire.

Le risque le plus important se situe dans l'environnement immédiat de la formation de l'aérosol, mais il peut s'étendre à la faveur de courants d'air ou de pollutions massives (ex. : bris de flacons de culture).

## En pratique, au laboratoire, les aérosols sont dus :

- à la centrifugation qui par les mouvements d'accélération, de freinage entraîne des vibrations, sources importantes de production d'aérosols

- à la rupture de film liquide à l'orifice d'un flacon, à l'extrémité d'une pipette ou au contact d'une anse d'ensemencement.

- aux vibrations induites lors de l'utilisation de certains appareils (ultrasons, vortex...) qui projettent des gouttelettes par effet « catapulte »

- au broyage

- au mélange gaz-liquide occasionné par l'agitation d'une culture, d'une éprouvette, ou du fait d'un brusque rejet de liquide hors d'une pipette ou d'une seringue qui contenait quelques bulles d'air.

- au flambage d'anses d'ensemencement en métal, passage d'un récipient à la flamme, qui, sous l'effet de la chaleur, provoquent la vaporisation de liquides résiduels, si rapidement que les micro-organismes sont encore infectieux.

- à l'ouverture des boîtes de subculture d'hémocultures ou à l'examen olfactif en particulier lorsqu'il s'agit d'espèces comme *Brucella* et *Francisella* (l'arrêté du 16 juillet 2007 interdit clairement la pratique de l'examen olfactif)

- à l'« explosion » d'une goutte qui tombe sur une surface et engendre la formation de gouttelettes secondaires, plus importante s'il y a accélération comme celle provoquée par l'expulsion du résidu d'une pipette.

- à l'ouverture de récipients sous vide, au grattage de matériels desséchés ou lyophilisés, à la filtration favorisant l'émission de petites particules.

# Mise en évidence de la biocontamination

## Contamination du produit

Les micro-organismes sont mis en évidence par les techniques classiques de microbiologie : cultures sur milieux nutritifs, pouvant être sélectifs pour certaines espèces bactériennes. La présence de toxines peut être révélée par des méthodes immuno-enzymatiques de type ELISA (anticorps spécifiques d'une toxine donnée).

## Contamination de l'air

La contamination de l'air peut être mesurée par prélèvement de l'air et impact des particules présentes dans cet air sur un milieu nutritif. Les bactéries cultivables donneront naissance à des colonies qui seront dénombrées. Le prélèvement peut également être effectué par sédimentation.

## Contamination des surfaces

La contamination des surfaces peut être estimée à l'aide de supports gélosés (nutritifs) que l'on applique sur la surface et que l'on incube à une température adéquate.

## Modes d'enlèvement des micro-organismes

### Filtres

L'efficacité des filtres à air pour l'enlèvement des micro-organismes est fonction du taux de filtration de l'air à travers le filtre, des dimensions des particules que l'on désire enlever, de la nature et des caractéristiques du filtre.

### Laveurs et épurateurs d'air

### Précipitateurs électrostatiques

### Incinérateurs

### Radiations ultraviolettes

La région du spectre électromagnétique comprise entre 2500 et 2600 Å est reconnue pour ses propriétés bactéricides, mais les radiations ultraviolettes ne possèdent qu'un faible pouvoir de pénétration. En d'autres termes, ces longueurs d'ondes doivent être en contact direct avec les organismes en suspension dans l'air. L'œil et la peau des humains sont très sensibles à ces rayons qui peuvent les irriter.

### Aérosols

On trouve sur le marché différentes bombes aérosols, contenant un agent chimique bactéricide avec ou sans antibiotique, que l'on peut vaporiser dans l'air d'une pièce. Ces produits doivent être exempts de substances toxiques ou irritantes pour les humains.

## Sédimentation naturelle

La sédimentation naturelle dans l'air tranquille ne peut être considérée comme un moyen efficace de débarrasser l'air des diverses particules qu'il contient. La pluie et la neige concourent d'une certaine façon à nettoyer l'atmosphère de ses impuretés, mais cela est insuffisant et inefficace dans notre civilisation de plus en plus industrielle.

## Technique combinée

Une technique tout à fait spéciale et efficace utilisée dans certaines pièces de bâtiments des *National Institutes of Health des Etats-Unis*

*L'air y pénètre par la partie supérieure des murs et, grâce à une pression positive, il se déplace du haut vers le bas et s'échappe par des ouvertures près du plancher.*

*La turbulence engendrée par les marcheurs est en grande partie limitée à une hauteur de 50 cm au-dessus du sol.*

*Le dispositif de filtration est précédé de pré-filtres en fibre de verre et suivi d'une post-filtration électrostatique. L'humidification se fait par pulvérisation de chlorure de lithium afin d'obtenir un effet bactéricide.*

*On obtient ainsi un courant d'air ultra-pur de 34 m<sup>3</sup>/minute, OU le dénombrement bactérien est d'une bactérie /0,0283 m<sup>3</sup>*