



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Désinfection des endoscopes

Présenté par : Alaoui belrhiti amal

Encadré par : Pr. Iraqui mohammed (FST Fès)

Pr. Oumokhtar bouchra (FMPF)

Soutenu le : 11/06/2019

Devant le jury composé de :

- **Pr. Iraqui mohammed**
- **Pr. Oumokhtar bouchra**
- **Pr. Tazi abdelali**

Stage effectué à : La faculté de médecine et de pharmacie de Fés

Année universitaire 2018-2019



Tout d'abord, louanges à « Allah » qui m'a guidée sur le droit chemin tout au long du travail et m'a inspirée les bons pas et les justes réflexes. Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donnée la force et le courage pour concrétiser mes aspirations..

J'adresse mes remerciements au chef du laboratoire de microbiologie professeur Oumokhtar Bouchra, Vous avez manifestée à mon égard une grande disponibilité et vous m'avez accueillie avec bienveillance et sympathie, ce projet est pour moi l'occasion de vous exprimer toute ma considération, ma grande admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines et de vous témoigner ma profonde gratitude.

Je remercie également le professeur Iraqui Mohammed de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, de m'avoir encadrée et orientée durant toute la période de ce stage. Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apportée, votre patience infinie, votre aide et présence ainsi que vos précieux conseils professionnels.

Ma gratitude s'adresse également au Professeur Tazi abdelali.

Que vous acceptiez de siéger parmi cet honorable jury est pour moi un grand honneur. Mes remerciements, à mes collègues Rajae, Hanane, Maroua et Youssra pour leur soutien et aide qui m'ont été très utiles dans mes recherches, Ainsi que les bons moments que nous avons passé ensemble.

je vous souhaite réussite et bon courage.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi à tout le personnel du Laboratoire, pour son soutien, aide, enthousiasme et les conseils qui m'ont beaucoup aidée pour réaliser ce travail. Avec l'expression de mon profond respect, mon admiration et ma reconnaissance à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Je dédie mon projet de fin d'études

A mon cher papa, autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soit face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite, Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serais demain et je ferais toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

A ma chère tante Souad, Affable, honorable et aimante. Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de la tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tout les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A Ma chère sœur Chaymae et Mes chers frères Ayoub et Achraf, Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Mes accompagnants dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. Complicité fraternelle et amour inconditionnel nous réunissent. Je n'oublierai jamais l'aide que vous m'aviez réservée, vous m'avez poussée à faire des pas en avant par vos encouragements. Le temps est venu pour moi de vous exprimer mon affection et ma gratitude, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A Toutes mes chères amies, Imane, Houda, Fatim et Lina pour votre présence à mes côtés, pour vos conseils, pour tous ces grands moments partagés, et pour votre amitié de longue date. Soyez assurés de mon amitié. Merci d'avoir supporté mes nombreux doutes et découragements et merci pour votre optimisme et votre motivation résistante à toute épreuve.

A smokey, mon chat. Merci pour tout les beaux moments passés en ta compagnie, je n'aurai jamais réussi cette année sans tes bêtises qui me remonte à tout les coups le moral. je t'aime de tout mon cœur.

A toute ma famille, pour leur soutien et présence.

A Toute personne qui a œuvré et participé à ma formation, je lui dis que je resterai reconnaissante à vie pour les efforts qu'elle a déployés dans mon intérêt.

Table des matières :

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Cadre de stage :	1
❖ Préparation et stérilisation des milieux de cultures.....	3
❖ Ensemencement d'un prélèvement.....	3
❖ Identification des bactéries.....	6
❖ Antibiogramme.....	9
❖ Extraction d'ADN.....	10
❖ PCR.....	10
Application pratique : la désinfection des endoscopes	12
❖ Introduction.....	13
❖ Revue bibliographique.....	14
I) Généralités :.....	15
I-1) définition d'un endoscope.....	15
I-2) types d'endoscopes.....	15
II) Risques infectieux lié à l'endoscopie :.....	15
II-1) l'évaluation du risque.....	15
II-2) les infections nosocomiales liées à l'endoscope.....	16
III) Traitement des endoscopes :.....	18
III-1) traitement manuel.....	18
III-2) traitement automatique.....	21
IV) Traçabilité en endoscopie	22
V) Contrôle microbiologique en endoscopie.....	22
❖ Matériel et méthodes.....	24
I) Le prélèvement.....	25
II) Le traitement.....	25
❖ Résultats et discussion.....	27
❖ Conclusion.....	29
❖ Références.....	30

Liste des figures :

Figure1 : Préparation d'un milieu de culture

Figure2 : Ensemencement par la technique des quadrants (5 étalements)

Figure 3 : Vue micro-scopique de Cocci Gram- après une coloration de Gram

Figure 4 : Résultat d'un test d'oxydase

Figure 5 : Résultat d'un test de catalase

Figure 6 : Résultat d'un test de coagulase

Figure 7 : Résultat d'une identification par la galerie Api 20E

Figure 8 : Résultat d'un antibiogramme d'une Entérobactérie

Figure 9 : Révélation d'une PCR par électrophorèse sur gel d'agarose.

Figure 10 : Un endoscope bronchique

Figure 11 : Poste de nettoyage manuel d'un endoscope bronchique

Figure 12 : Laveur-désinfecteur d'endoscope bronchique

Figure 13 : Technique de prélèvement endoscopique

Figure 14 : Un prélèvement endoscopique

Figure 15 : Poste de filtration du prélèvement endoscopique

Figure 16 : Les résultats du prélèvement après incubation 24h, 48h et 5jours

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Traitement d'endoscope selon le niveau de risque infectieux

Tableau 2 : Les différents micro-organismes qui peuvent contaminés un endoscope

Tableau 3 : Interprétation des résultats du contrôle microbiologique.

Tableau 4 : Résultats de la lecture de l'analyse bactériologie de la solution de prélèvement, et dénombrement de la flore mésophile aérobie.

Liste des abréviations :

ADN : Acide Désoxyribonucléique/**ARN** : Acide Ribonucléique.

BHI : Brain-Heart Infusion ou Infusion du cerveau et du Cœur.

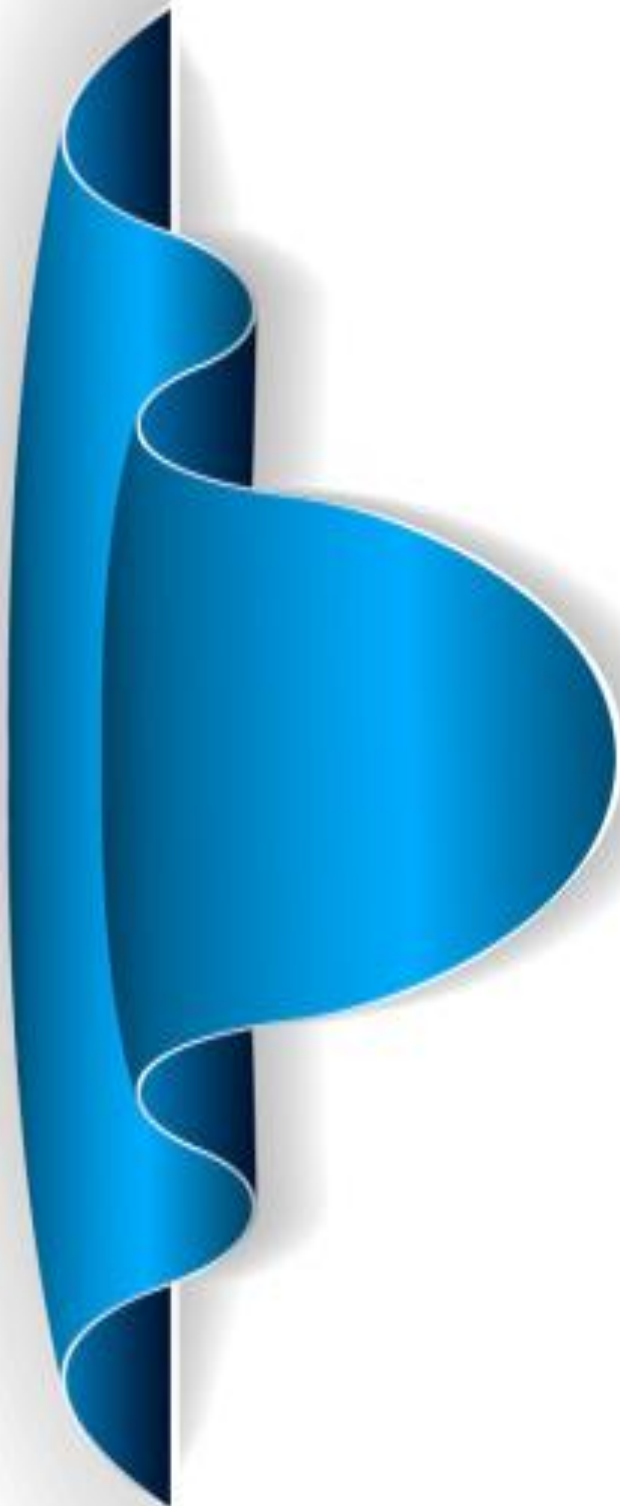
PCR : Polymerase Chain Reaction ou Réaction en Chaîne par Polymérase.

UFC : Unité de Formation de Colonie.

VHB : Hépatite B.

VHC : Hépatite C.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.



Cadre du stage

J'ai effectué mon stage de fin d'étude au laboratoire de microbiologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès, afin d'obtenir ma licence en Science Biologique Appliqué et Santé.

Le laboratoire de microbiologie et de biologie moléculaire fait partie du laboratoire de recherche en pathologie humaine, biomédecine et environnement. Les différentes équipes qui composent ce laboratoire sont :

- Anatomie pathologique
- Microorganismes et facteurs oncogènes
- Physiopathologie et nutrition
- Génomique et santé
- Maladies de l'appareil digestif
- Les éléments traces métallique

Mon stage au laboratoire de microbiologie était un stage d'observation qui a duré environ deux mois, durant cette période j'ai eu la chance d'enrichir mon savoir avec les différentes techniques de microbiologie et de biologie moléculaire que j'ai pu apprendre, parmi lesquelles je cite :



❖ Préparation et stérilisation des milieux de cultures :

Avant de commencer la préparation d'un milieu, il faut respecter plusieurs consignes telles que :
Lors de la réception d'un milieu il est nécessaire de noter la date de réception et de le conserver suivant les recommandations données par le fabricant.
Après l'ouverture du milieu il faut vérifier la date de péremption en notant sa date d'ouverture.

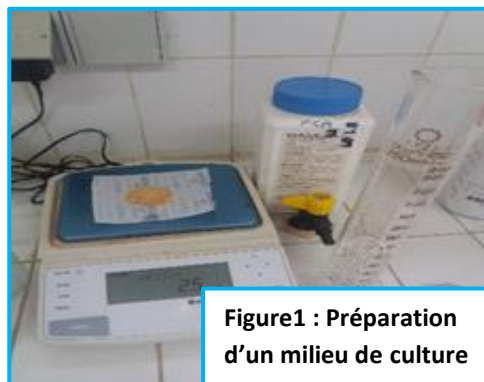


Figure1 : Préparation d'un milieu de culture

Les étapes de préparation des milieux sont les suivantes :

1. La dissolution :

Une quantité appropriée du milieu est pesée à l'aide d'une balance, on y ajoute le volume d'eau distillée nécessaire à sa reconstitution, avant de porter à ébullition dans un bain marie. La dissolution n'est complète que lorsque la solution ne contient plus aucune particule d'agar s'accrochant aux parois du récipient.

2. La stérilisation :

Les milieux de cultures sont stérilisés dans l'autoclave pendant environ une heure à une température de 121 °C.

3. Refroidissement et répartition :

Après la stérilisation, les milieux sont refroidis sur une surface thermorésistante à une température ambiante, puis ils sont coulés dans des tubes ou des boîtes de pétri, en conditions aseptique pour éviter toute contamination, on les laisse se solidifier à une température ambiante.

4. Contrôle de qualité :

Avant la conservation des milieux au réfrigérateur, ils sont incubés pendant 24h dans l'étuve à 35°C.

Ainsi une absence de culture bactérienne indique une absence de contamination.

❖ Ensemencement d'un prélèvement :

L'ensemencement se fait dans des conditions de stérilité rigoureuse, à partir des colonies ou d'une suspension bactérienne, sur un milieu solide ou liquide.

1. Ensemencement d'un milieu solide :

On distingue des techniques d'ensemencement sur des boîtes ou sur des tubes.

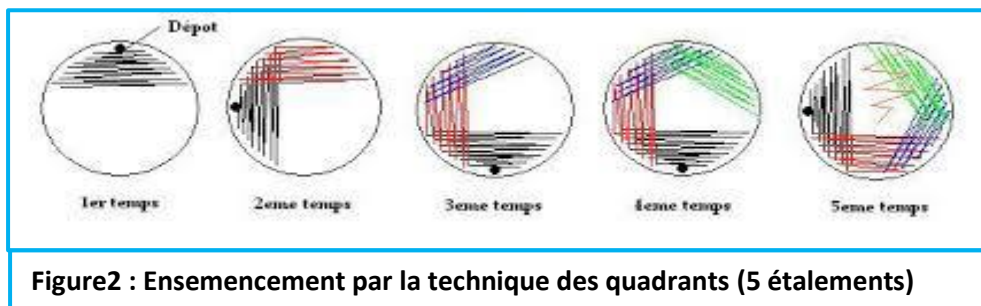
- Ensemencement sur boîte :

a) Ensemencement par quadrants ou épuisement :

Cette technique permet l'obtention des colonies bien isolées et bien différenciées, ainsi que la vérification de la pureté des souches. L'ensemencement est réalisé selon la procédure suivante :

Les colonies sont étalées à l'aide de l'anse dans l'un tiers ou la moitié de la boîte. Après stérilisation de l'anse on étale une partie des stries précédentes en réalisant une rotation de la boîte pour diminuer la charge bactérienne.

Les stries doivent être serrées et l'anse de platine doit être flambée entre chaque cadran.



b) Ensemencement en tapis :

C'est la technique utilisée pour la réalisation de l'antibiogramme.

• Ensemencement sur tube :

a) Sur milieu incliné en pente :

Le milieu est ensemencé de bas en haut par des stries serrées (Ex : milieu Citrate de Simmons).

b) Sur milieu en culot :

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale.

c) Sur milieu en culot + pente :

Ensemencement de la pente en premier, avec des stries serrées de haut en bas, puis du culot par piqûre centrale (Ex : milieu Hajna Kligler).

2. Ensemencement d'un milieu liquide :

L'ensemencement d'un milieu liquide est réalisé à partir d'un produit liquide en mettant quelques gouttes d'une suspension bactérienne, à l'aide d'une micropipette, sur le milieu à ensemencer.

Ou à partir d'un produit solide en écrasant une colonie prélevée, à l'aide d'une anse de platine, sur la paroi du tube, pour obtenir une suspension homogène. (Ex : milieu RM et Urée-Tryptophane).

3. Culture sur milieux sélectifs :

Les milieux sélectifs que nous avons utilisés au laboratoire sont :

- Le milieu Chapman : c'est un milieu sélectif des bactéries qui fermentent le mannitol. Grâce à sa teneur élevée en NaCl il permet l'isolement des bactéries halophiles (comme *Staphylococcus*) et l'inhibition de la croissance de la majorité des autres bactéries.

La fermentation du Mannitol est révélée grâce au virage de l'indicateur du pH, le rouge de phénol, du rouge au jaune (incubation de 48h).

- Le milieu EMB : c'est un milieu sélectif des Entérobactéries qui permet de différencier les espèces qui fermentent le lactose et celles qui ne le fermentent pas.

Ce milieu inhibe la croissance des bactéries Gram+ grâce à la présence des colorants : l'éosine et le bleu de méthylène.

Après une incubation de 24h à 37°C, une croissance bactérienne est alors constatée :

Les colonies violettes désignent une fermentation du lactose avec une production d'acides (pH acide). Alors que celles grisâtres désignent une absence de fermentation du lactose (pH neutre ou basique).

4. Culture sur milieux non sélectifs :

Les milieux non sélectifs que nous avons utilisés au laboratoire sont :

- Le milieu TSA : la gélose Trypto-caséine Soja ou gélose nutritif est un milieu universel qui assure une excellente nutritivité bactérienne. Il est utilisé d'une part pour la culture et l'isolement des bactéries aérobie et anaérobie, d'autre part pour favoriser la croissance des germes particulièrement exigeants.

Après une incubation de 24h à 37°C, une croissance bactérienne est alors constatée.

- Le milieu MH : la gélose Mueller Hinton est un milieu de base non sélectif, permettant la réalisation de l'antibiogramme standard. C'est un milieu relativement riche mais qui ne permet que la culture des bactéries non exigeantes.

C'est un milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides. Sa formulation est conforme aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

❖ **Identification des bactéries :**

1. **Coloration de Gram :**

Cette coloration permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne. On distingue des bactéries Gram+ (paroi riche en peptidoglycane) colorées en violet et Gram- (paroi externe supplémentaire) colorées en rose. Cette coloration suit les étapes suivantes :

- Préparation du frottis par étalement d'une souche bactérienne sur une lame à l'aide d'une goutte d'eau distillé, puis séchage de la goutte à l'aide de la flamme.
- Immersion de la lame dans du cristal violet (1 min), puis de Lugol (1min), ensuite d'alcool (10 sec) et enfin de safranine (1 min).

Le rinçage à l'eau est nécessaire après chaque étape.

- Observation de la lame par microscope optique.

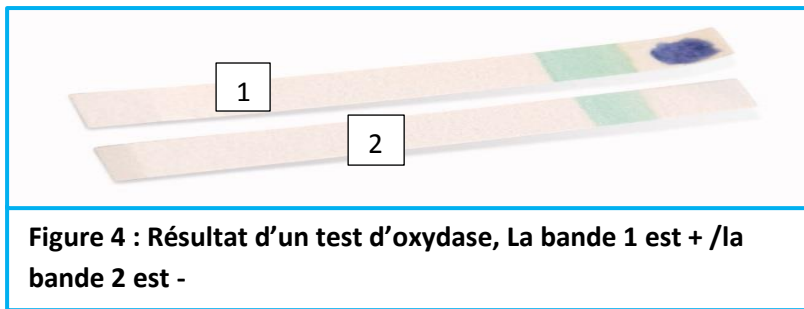


Figure 3 : Vue microscopique de Cocci Gram- après une coloration de Gram

2. **Test d'oxydase :**

Ce test permet l'identification des bactéries Gram- par la mise en évidence de la présence d'une enzyme : la phénylène diamine oxydase qui oxyde le réactif N-diméthyle paraphénylène diamine.

Le test se fait par l'étalement, à l'aide de l'anse, d'une colonie sur la bande d'oxydase.



3. Identification biochimique des Entérobactéries :

- Hajna Kligler :

C'est un milieu complexe qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques, comme : la dégradation du glucose et lactose (coloration jaune), la production de H₂S (précipité noir) et la libération de gaz (décollement de la gélose).

- Citrate de Simmons :

Dans ce milieu le citrate est l'unique source de carbone. Sa dégradation, en aérobie, se traduit par une alcalinisation du milieu (coloration bleu).

- RM :

Ce milieu permet de mettre en évidence les bactéries qui produisent des acides organiques par la voie des acides mixtes.

La révélation se fait par le rouge de méthyle (coloration rouge =RM+).

- Urée -tryptophane :

Ce milieu (liquide) permet de mettre en évidence les bactéries qui dégradent l'urée par l'uréase et ceux qui produisent l'indole par la tryptophanase.

La présence de l'indole est révélée par le réactif de Kovacs et la dégradation de l'urée par une coloration rose.

4. Identification des staphylococcus :

- Test de catalase :

Ce test permet l'identification des bactéries Gram+. Il met en évidence la présence d'une enzyme (la catalase) qui catalyse les peroxydes en eau avec libération d'oxygène.

Sur une lame on met une goutte d'eau oxygénée dans laquelle on y dépose une colonie bactérienne. Une effervescence, indique un dégagement gazeux de dioxyde donc la présence de la catalase.



Figure 5 : Résultat d'un test de catalase

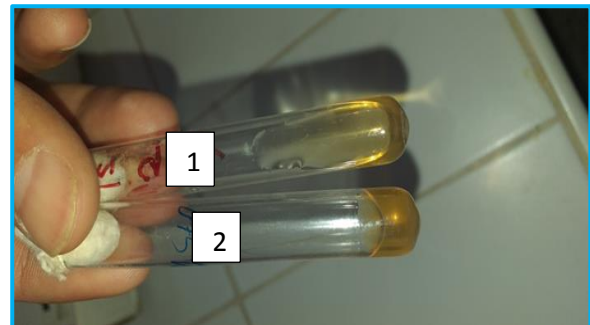
- Test de coagulase :

Ce test permet l'identification de *staphylococcus aureus*.

Le test est réalisé en mettant dans un tube à hémolyse 0,5 ml de plasma oxalaté et 0,5 ml de culture microbienne enrichie au BHI.

La lecture se fait dans les 6h qui suivent le test.

Un résultat positif se traduit par une coagulation du milieu.



**Figure 6 : Résultat d'un test de coagulase =
Le tube 1 est coagulase -, Le tube 2 est
coagulase +**

5. Identification par l'Api 20E :

L'Api 20E est une galerie composée de 21 tests biochimiques miniaturisés pour l'identification des Entérobactéries et d'autres bacilles Gram-.

Le principe est basé sur une fermentation et oxydation de 10 sources de carbone, ainsi sur l'utilisation de 10 tests enzymatiques par les Entérobactéries Gram-.

La galerie est composée de 20 micro-tubes et cupules contenant des substrats déshydratés. Ces tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Après incubation de 24h, les réactions se traduisent par des virages des couleurs spontanées ou révélées par l'addition de réactifs.

La lecture des résultats se fait grâce au tableau de lecture, et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique.



Figure 7 : Résultat d'une identification par la galerie Api 20E

❖ L'antibiogramme :

L'antibiogramme est une technique qui permet de tester la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques, selon les étapes suivantes :

1. Préparation de l'inoculum :

On réalise une suspension bactérienne par ensemencement d'une colonie provenant d'une culture jeune (18 à 24h) dans un tube stérile contenant 5ml d'eau physiologique stérile. Ceci est effectué dans le but d'obtenir une suspension d'opacité 0,5 sur l'échelle de Macfarland.

2. Ensemencement sur milieu Mueller-Hinton (MH) :

L'Ensemencement est réalisé, à partir d'inoculum bactérien, sur toute la surface de la boîte pour obtenir un tapis bactérien (la procédure est répétée 3 fois).

3. Dépôt des antibiotiques :

Les antibiotiques utilisés sont listés par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Chaque souche a 2 boîtes. Chaque boîte porte 7 antibiotiques.

4. Lecture des résultats :

Pour chaque antibiotique, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition en millimètres.

Ainsi nous pouvons déterminer si la bactérie est résistante, sensible ou possède une résistance intermédiaire.

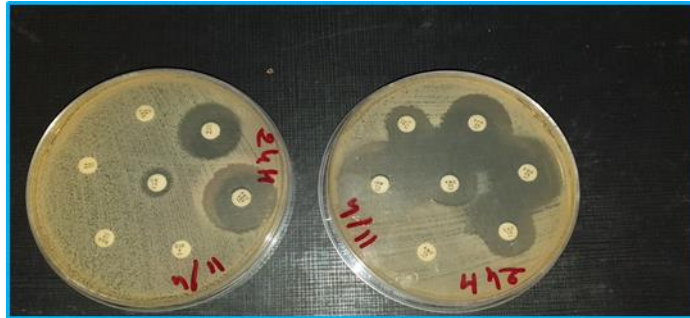


Figure 8 : Résultat d'un antibiogramme d'une Entérobactérie

❖ L'extraction d'ADN :

C'est une technique qui permet d'extraire l'ADN d'une cellule, d'un tissu ou d'une bactérie pour l'utiliser par la suite dans des études moléculaires. Il existe deux types d'extraction :

1. Extraction par choc thermique :

A partir d'une culture jeune, nous allons prélever quelques colonies qu'on mélange avec de l'eau distillée stérile dans un tube Eppendorf. Les tubes sont ensuite chauffés dans un bain marie pendant 10min, refroidis dans la glace pendant 2min.

Après centrifugation on récupère le surnageant contenant l'ADN extrait.

2. Extraction chimique :

Elle est réalisée à l'aide d'un kit d'extraction appelé PrepMan^R.

❖ PCR :

C'est une technique d'amplification in vitro d'un fragment d'ADN ou d'ARN, dans le but d'obtenir des millions de copies seulement en quelques heures. Les étapes de la PCR sont réalisées dans un thermocycleur et chaque cycle suit les étapes suivantes :

- Dénaturation de l'ADN à 95 °C ;
- Hybridation des amorces à 60 °C ;
- Elongation grâce à la Taq polymérase à 72 °C.

La révélation se fait par électrophorèse sur gel d'agarose.

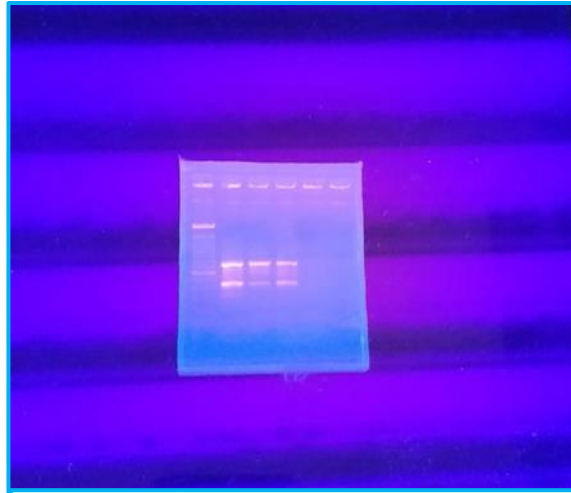
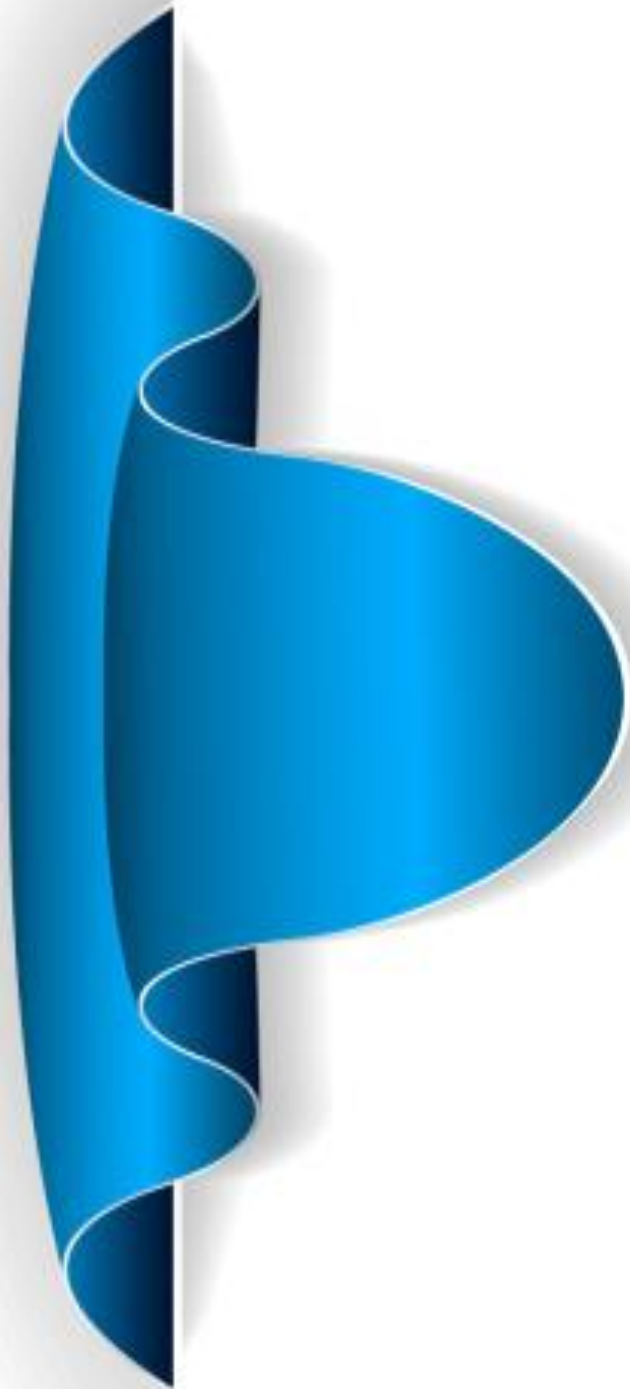


Figure 9 : Révélation d'une PCR par électrophorèse sur gel d'agarose.

Pour compléter ce que nous avons appris, nous avons réalisé une application pratique qui concerne « La désinfection des endoscopes ».



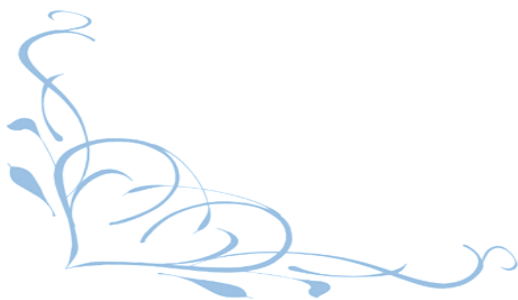
Introduction :

Un dispositif médical utilisé pour un acte invasif peut être contaminé par des agents pathogènes présents dans les liquides biologiques et les tissus qui ont été en contact avec ce dispositif. Bien que souvent mal évalué, le risque de transmission des micro-organismes par cet instrument contaminé doit être pris en compte en particulier dans un contexte d'infection à bactéries multi-résistantes. La maîtrise du matériel médical devrait être basée sur des actions bien ciblées ayant démontré leur pertinence et leurs impacts sur la diminution des infections nosocomiales.

Ainsi, un traitement du dispositif médical doit être assuré pour le rendre stérile avant l'utilisation.

Dans cette application, nous avons choisi de travailler sur les endoscopes bronchiques qui en raison de leur structure creuse complexe sont difficiles à nettoyer et à désinfecter. La surveillance microbiologique est un moyen important d'évaluer la qualité des résultats des procédures de traitement et constitue un instrument de contrôle en endoscopie.

L'objectif de cette application est d'évaluer l'efficacité des procédures de nettoyage-désinfection des endoscopes bronchiques dans le service des explorations fonctionnelles du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II de Fès. Ce travail permettrait de Contribuer à la validation des procédures et au repérage de situation potentiellement à risque infectieux.





Revue

bibliographique

I) Généralités :

I-1) Définition d'un endoscope :

L'examen endoscopique permet de visualiser l'intérieur des organes, conduit ou cavité naturelle. Cet endoscope est composé de tubes rigides/souples de longueurs variables, de fibres optiques et d'une source de lumière. Il est relié à une caméra vidéo qui projette sur écran les images recueillies durant son parcours dans le corps. L'endoscope est muni à son extrémité d'une pince à guide lui permettant d'effectuer des prélèvements (biopsie) (9).



Figure 10 : Un endoscope bronchique

I-2) Types d'endoscopes :

Grace à l'évolution des matériels, le champ d'endoscopie s'est étendu.

Selon l'organe ou la cavité à explorer, on distingue différents types d'endoscopes :

- Gastroscope → l'exploration de l'estomac ;
- Bronchoscope → l'exploration des bronches ;
- Coloscope → l'exploration du colon ou gros intestin ;
- Cystoscope → l'exploration de la vessie ;
- Arthroscope → l'exploration des articulations ;
- Etc (9).

II) Risques infectieux liés à l'endoscopie :

Le traitement efficace d'un endoscope reste très difficile à réaliser en raison de sa nature complexe qui combine des composants mécaniques et électriques.

Cette complexité de structure peut mener à l'accumulation de salissures dans les recoins difficilement atteints lors du nettoyage en constituant un point d'encrage des microorganismes et des substrats favorables à leur multiplication en aboutissant à la formation des biofilms.

II-1) L'évaluation du risque :

Les éléments pris en compte dans l'évaluation du niveau de risque sont :

- La cavité explorée par l'endoscope (bronches) ;
- L'association à l'acte endoscopique des gestes plus invasifs (biopsies, scléroses...) ;
- Le type d'endoscope utilisé, son état d'usure et sa maintenance ;
- La qualité du processus de traitement de l'endoscope utilisé **(3)**.

En 1972, le docteur Earl Spaulding a proposé un système de classification concernant le nettoyage, la désinfection et la stérilisation des dispositifs médicaux. Ce système se divise en 3 catégories selon le risque d'infection **(10)**.

Suivant la classification de Spaulding trois niveaux de désinfection (d'endoscope) peuvent être atteints :

Tableau 1 : Traitement de l'endoscope selon le niveau de risque infectieux

Destination de l'endoscope	Classement	Niveau de risque infectieux	Niveau de traitement requis
Cavité stérile	Critique	Haut risque	Stérilisation/Usage unique/Désinfection de haut niveau
Contact avec une muqueuse	Semi-critique	Risque médian	Désinfection de niveau intermédiaire
Contact avec la peau Intact du patient ou sans contact	Non critique	Risque bas	Désinfection de bas Niveau

II-2) les infections nosocomiales liées aux endoscopes :

Les infections nosocomiales liées à l'endoscopie, signalées et publiées, restent exceptionnelles. Ceci est dû soit à la rareté réelle des cas ou au fait que ces infections passent inaperçues si elles sont facilement masquées par les symptômes principaux à l'origine du recours à la bronchoscopie.

Ces infections peuvent être causées par la flore endogène (microorganismes provenant du patient lui-même) ou par des microorganismes exogènes (provenant de l'endoscope) **(2)**.

- Infections Endogènes :

Ces infections surviennent lorsque la flore microbienne du patient atteint la circulation sanguine ou une cavité stérile de l'organisme, suite à une introduction du dispositif médical au niveau des muqueuses (2).

Ces infections n'ont aucun rapport avec des problèmes de traitement des dispositifs médicaux.

Normalement il n'y a pas de flore résidente à l'intérieur des poumons. Cependant la surface muqueuse des voies respiratoires supérieures contient une quantité d'environ 10⁶ UFC/g de microorganismes qui peuvent être véhiculés vers les voies respiratoires inférieures lors de l'introduction du tube du bronchoscope dans le poumon par la bouche.

- Infections Exogènes :

Ces infections surviennent lorsque les microorganismes provenant des endoscopes sont introduits à l'intérieur de l'organisme du patient lors de l'examen. Ceci peut s'éviter en respectant le protocole de désinfection des endoscopes.

Les microorganismes de source exogène peuvent provenir soit d'un endoscope mal traité soit d'une contamination par l'environnement lors du traitement (microorganismes présents dans l'eau ou sur la peau) (2).

Tableau 2 : Les différents micro-organismes qui peuvent contaminés un endoscope

Microorganismes provenant des patients	Microorganismes provenant de l'environnement
Flore normale et autres colonisants : <i>E. coli</i> , <i>Serratia spp</i> , <i>Klebsiella spp</i>	Solution d'irrigation : <i>Pseudomonas spp</i> , Mycobactéries atypiques (<i>M. avium</i> , <i>intracellulaire</i> , <i>chelonae</i> , <i>xenopi</i> , etc.)
Infections ou portage : <i>Salmonella spp</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis etc.</i>	Germes pouvant contaminer les laveurs désinfecteurs d'endoscope : <i>Pseudomonas spp</i> , <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , etc.
Virus VHB, VHC, VIH	

III) Traitement des endoscopes :

L'endoscope bronchique est un dispositif médical de classe semi critique et à risque infectieux médian, ce qui nécessite une désinfection de niveau intermédiaire avec rinçage à l'eau bactériologiquement maîtrisée.

III-1) Traitement manuel :

Les principales étapes du traitement des endoscopes sont :

- Le pré-traitement :

Cette étape est importante dans le traitement de l'endoscope. Elle désigne l'élimination mécanique des saletés visibles. Elle est réalisée immédiatement après l'examen pour éviter le séchage des salissures et la formation des biofilms **(4)**.

Il faut procéder aux étapes suivantes :

- Essuyage de la partie externe de l'endoscope avec un matériel à usage unique (chiffon, compresse) ;
- Aspiration et insufflation de tous les canaux de l'endoscope dans un récipient contenant de l'eau de réseau **(3)**.

- Test d'étanchéité :

Ce test a pour but de détecter toute rupture à l'extérieur ou à l'intérieur de l'endoscope. Ces ruptures peuvent endommager les structures internes (fils électriques, faisceau de lumière) de l'endoscope qui ne sont pas faites pour être en contact avec les liquides **(3)**.

Ce test précède le nettoyage et doit être conforme aux recommandations du fabricant :

- Application d'une pression d'air à l'intérieur de l'endoscope ;
- Immersion de l'endoscope dans un bassin d'eau ;
- Vérification de l'absence de fuite (bulles d'air) ;

L'endoscope est ensuite dégonflé et ressortit de l'eau **(3)(4)**.

- Le nettoyage (double) :

Le nettoyage suit l'étape du pré-traitement. Il a pour but l'élimination des salissures et la diminution du nombre des microorganismes présents sur le matériel. Tout nettoyage associe un agent chimique détergent et un travail mécanique.



Figure 11 : Poste de nettoyage manuel d'un endoscope bronchique

*Premier nettoyage :

Le temps nécessaire à l'accomplissement de cette étape est au minimum 10 minutes. Ce premier nettoyage manuel comporte les actions suivantes :

- Immersion de l'endoscope dans un bain de détergent désinfectant ;
- Nettoyage des parties externes de l'endoscope ;
- Démontage et nettoyage minutieux des valves, pistons et autres éléments amovibles (brossage doux) ;
- Ecouvillonnage soigneux de tous les canaux en maintenant l'endoscope en immersion ;
- Veiller à ce que le détergent désinfectant s'écoule bien dans tous les canaux de manière à chasser toutes les bulles d'air et faire circuler la solution dans toutes les parties internes ;
- Enlever l'endoscope hors du bassin de détergent désinfectant et rincer avec l'eau de réseau (rinçage abondant afin d'éliminer toute trace de détergent) ;
- Purger les canaux avec de l'air (pour éliminer l'eau) **(3)(5)**.

NB : le testeur d'étanchéité doit être connecté/déconnecté en dehors du bassin.

*Deuxième nettoyage :

Le deuxième nettoyage complète l'action du premier nettoyage. Cette phase prend environ 5 min. L'endoscope est immergé dans un nouveau bain avec irrigation de tous les canaux. Ces canaux sont rincés puis purgés afin d'éliminer toute trace de détergent et d'eau (afin d'éviter la dilution du bain de désinfectant) **(3)**.

- La désinfection :

La désinfection est un procédé qui permet d'éliminer ou d'inactiver les microorganismes et les virus nuisibles avec l'usage de produit chimique (désinfectant) pour le traitement des surfaces ou objets inertes **(10)**.

Les désinfectants utilisés sont choisis selon le niveau de traitement voulu. Ils doivent être caractérisés par un large spectre antimicrobien, un délai d'action rapide, une compatibilité avec le dispositif et une non toxicité pour le personnel, les patients et l'environnement.

Les désinfectants qui tuent les bactéries sont des bactéricides, alors que ceux qui arrêtent simplement leur croissance sont dits bactériostatiques **(3)(4)**.

NB : la concentration du produit et le temps du trempage varient selon le niveau de désinfection.

Les étapes de la désinfection sont :

- Vérification de l'efficacité du désinfectant en utilisant des bandelettes-Test (fournis par le fabricant) ;
- Immerger l'endoscope dans un bassin remplis de la solution désinfectante ;
- Irriguer tous les canaux de manière à chasser toute bulle d'air ;
- Laisser tremper l'endoscope dans la solution désinfectante ;
- Purger les différents canaux avec de l'air pour éliminer toute trace de désinfectant et faciliter le rinçage terminal **(3)(4)**.

- Le rinçage terminal :

Il a pour but de diminuer le risque toxique en éliminant tout résidu de désinfectant.

L'eau utilisée pour cette étape est une eau bactériologiquement maîtrisée. Après traitement, elle a une qualité bactériologique supérieure à celle de l'eau de réseau **(6)**.

Ce rinçage terminal doit être réalisé à l'intérieur et à l'extérieur de l'endoscope en faisant circuler l'eau dans tous les canaux afin d'éliminer toute trace de désinfectant **(8)**.

NB : la manipulation de l'endoscope nécessite le port de gants stériles.

- Le séchage :

L'étape de séchage est nécessaire avant le stockage pour empêcher la prolifération microbienne dans les canaux de l'endoscope.

Cette opération suit les étapes suivantes :

- L'intérieur des canaux est bien séché par une insufflation d'air comprimé ;
- L'endoscope est mis dans une position verticale pour faciliter le séchage ;
- Les parties amovibles sont entreposées séparément de l'endoscope (3)(4).
- Le stockage :

Le stockage doit protéger le dispositif de toute contamination en respectant la structure de l'appareil.

- Les endoscopes sont recouverts d'un emballage stérile à usage unique ;
- Ils sont stockés dans une pièce bien ventilée dédié au stockage des endoscopes (3)(4).

NB : Si le stockage de l'appareil dépasse les 12 heures, une désinfection avant utilisation devient nécessaire.

III-2) Traitement automatique :

Le traitement automatique des bronchoscopes est effectué par des laveurs-désinfecteurs. Ces machines facilitent la désinfection et réduisent le risque d'exposition du personnel aux agents chimiques (3). Certains laveurs-désinfecteurs n'acceptent que certains désinfectants chimiques à usage unique. Alors que d'autres peuvent travailler avec une large gamme de désinfectant réutilisable. Dans tous les cas il faut suivre les indications du fabricant et ne traiter dans ces machines que des endoscopes compatibles (4).

Les laveurs désinfecteurs actuels réalisent tous des

cycles de désinfection et rinçage. En plus de ces étapes de bases ils peuvent avoir l'une ou plusieurs des capacités suivantes :

Test d'étanchéité- étape de nettoyage- rinçage - cycle de séchage.

Toutefois, un nettoyage manuel reste obligatoire avant le lancement du laveur-désinfecteur.

Le nettoyage dans la machine fournit simplement une sécurité additionnelle et ne peut pas remplacer un nettoyage manuel avec prétraitement et test d'étanchéité (3)(4).

Aussi quelque soit la durée de séchage proposée par le laveur-désinfecteur, un séchage avec de l'air comprimé est recommandable avant stockage.

NB : Avant le début du traitement, un cycle d'auto-désinfection du laveur-désinfecteur est réalisé.



Figure 12 : Laveur-désinfecteur d'endoscope bronchique

IV) Traçabilité en endoscopie :

Chaque acte endoscopique doit avoir un historique qui lui permet en cas de disfonctionnement de retrouver l'équipement, les produits et le personnel potentiellement associés, ainsi que les patients ayant été concernés (7).

L'enregistrement de ces éléments doit être facilement exploitable selon une méthodologie bien définie. La traçabilité de l'endoscope repose sur l'enregistrement des éléments suivants :

- La date, l'heure et le type d'examen pratiqué ;
- L'identification du patient ;
- Le nom de l'opérateur et aide opérateur effectuent l'acte endoscopique ;
- Le numéro d'identification de l'endoscope, même en cas de prêt ou de démonstration ;
- La date, l'heure et la procédure du traitement de l'endoscope avant et après l'examen du patient (7).

Ces recommandations s'appliquent à tous les actes endoscopiques, même ceux en dehors des unités d'endoscopie (l'urgence).

NB : les éléments enregistrés sont conservés tout au long de la durée de conservation du dossier du patient.

V) contrôles microbiologiques en endoscopie :

Le contrôle microbiologique donne un résultat qui permet de détecter la présence d'un écart entre la qualité microbiologique obtenue et celle attendue, d'en chercher les causes et de proposer des mesures correctives (7)(1).

Le contrôle microbiologique comporte trois étapes successives :

1. Un prélèvement qui doit suivre une méthodologie validée et qui inclut deux phases :
 - L'injection dans l'endoscope d'une solution de prélèvement :

Cette solution doit être stérile. Elle doit posséder un bon pouvoir de récupération des microorganismes sans influencer leur viabilité et leur croissance (7) ;

- Le recueil de cette solution dans un récipient stérile.
2. Une analyse microbiologique de ce prélèvement en deux étapes :
 - L'évaluation du niveau de contamination en dénombrant la flore microbienne totale (aspect quantitatif du contrôle) (7) ;

- L'identification des colonies apparues pour vérifier l'absence de microorganismes indicateurs d'un dysfonctionnement comme : *les Entérobactéries, Pseudomonas, Stenotrophomonas maltophilia, Acinetobacter sp, Staphylococcus aureus et Candida sp* (8).

3. Une interprétation des résultats selon les critères suivants :

- Niveau cible : niveau de conformité ;
- Niveau d'alerte : nécessite des contrôles voire des mesures correctives d'emblées ;
- Niveau d'action : impose la prise de mesures correctives immédiates (7).

Ce contrôle est réalisé au moins une fois par an pour chaque endoscope ou tous les trois mois selon le niveau de risque du dispositif.

Tableau 3 : Interprétation des résultats du contrôle microbiologique.

NIVEAU CIBLE	NIVEAU D'ALERTE	NIVEAU D'ACTION
Flore totale < 5 UFC et absence de microorganisme indicateur	Flore totale 5- 25 UFC et absence de micro-organisme indicateur	Flore totale > 25 UFC ou présence de micro-organisme indicateur



Matériels

Et méthodes

I. Le prélèvement :

Le prélèvement a été réalisé après le traitement manuel de l'endoscope bronchique par le Glutaraldéhyde à 2%. Nous avons utilisé comme solution de décrochage un sérum physiologique qui est composé de sel de chlorure de sodium et d'eau purifiée.

Le prélèvement est fait au niveau des canaux internes du bronchoscope puisqu'ils sont les parties les moins accessibles au nettoyage.

Nous avons injecté 100 ml à l'aide d'une seringue stérile de la solution de décrochage dans le canal opérateur de l'endoscope. Nous l'avons aussitôt récupéré dans un flacon stérile à l'extrémité du canal.



Figure 13 : Technique de prélèvement endoscopique

II. Le traitement :

Nous avons transporté le flacon immédiatement au laboratoire où nous l'avons traité par la méthode de filtration sur membrane en nitrate de cellulose, de porosité 0.45 μm .

Après la désinfection des postes de la pompe avec de l'alcool, on y pose la membrane et on filtre les 100 ml de la solution recueilli dans le flacon stérile.

Après la filtration, on pose la membrane perpendiculairement (pour éviter les bulles d'air) sur gélose PCA.

Le milieu PCA ou Plate Count Agar (gélose pour dénombrement) est un milieu nutritif qui ne contient pas d'inhibiteurs et qui favorise le développement de toutes les bactéries déposées.



Figure 14 : Un prélèvement endoscopique



Figure 15 : Poste de filtration du prélèvement endoscopique

Nous avons incubé la boîte dans l'étuve pendant 5 jours.

La lecture du résultat se fait dans les 24h, 48h et 5 jours (les résultats sont exprimés en unité formant colonie UFC).



Après la fin de la période d'incubation (5jours), voici les résultats obtenus :

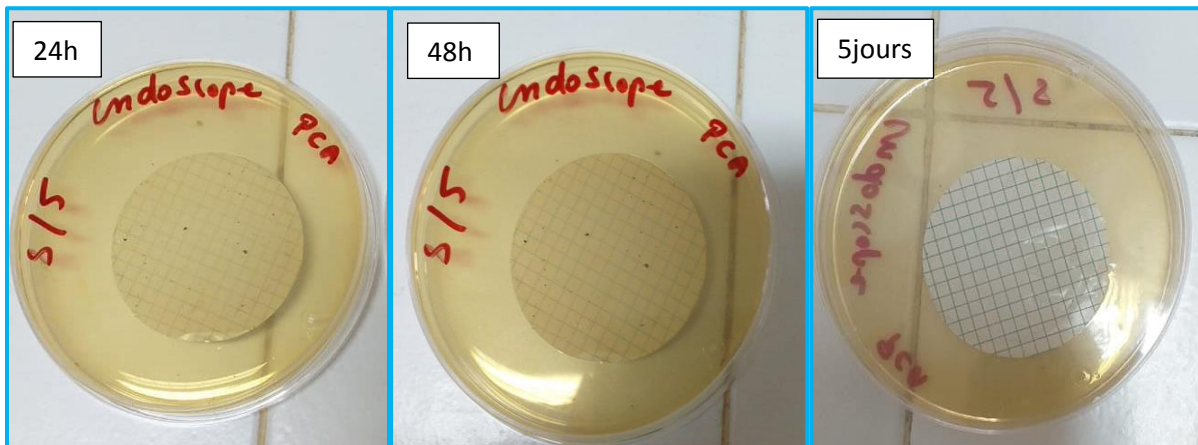


Figure 16 : Les résultats du prélèvement après incubation 24h, 48h et 5jours

Voici le résultat du dénombrement :

Tableau 4 : Résultats de la lecture de l'analyse bactériologie de la solution de prélèvement, et dénombrement de la flore mésophile aérobie.

	flore mésophile aérobie revivable (FAR)	Niveau d'action
24 h	0 UFC/100ml	≥ 1UFC/100ml
48 h	0 UFC/100ml	≥ 1UFC/100ml
5 jours	0 UFC/100ml	≥ 1UFC/100ml

Aucune colonie n'est apparue sur la gélose PCA.



Donc la procédure de désinfection est bien réussie vue l'absence de micro-organismes indicateurs de contamination. Toutes les étapes ont été respectées, ce qui élimine le risque de contamination d'un patient par ce dispositif médical. Le glutaraldéhyde est donc un efficace désinfectant qui malgré sa toxicité, pour le personnel et les patients en cas où l'endoscope est mal rincé, reste compatible pour la désinfection du bronchoscope.

Conclusion :

J'ai effectué mon stage de fin d'étude au laboratoire de microbiologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès. Cette expérience m'a permis d'enrichir mon savoir et d'acquérir une expérience pratique dans les différentes techniques utilisées au laboratoire de microbiologie (préparation de milieu et stérilisation, ensemencement d'un prélèvement, identification bactérienne, antibiogramme) et celui de biologie moléculaire (extraction d'ADN, PCR). Encadrée par Pr. Oumokhtar Bouchra, j'ai pu traiter le sujet de « la désinfection des endoscopes ».

Chaque patient a le droit d'être examiné sans risque de contamination par des agents infectieux qui peuvent provenir d'un traitement insuffisant de l'endoscope. Le protocole du traitement doit être respecté par le personnel du service avec le même degré de rigueur après chaque procédure endoscopique.

Ainsi pour évaluer l'efficacité des procédures de nettoyage-désinfection, on a réalisé un prélèvement dont le contrôle a donné un résultat favorable, indiquant une bonne décontamination du dispositif.

Ce contrôle microbiologique est un moyen important qui permet d'évaluer la qualité du traitement et de détecter toute situation à risque infectieux potentiel.



Références

- (1) Beilenhoff, U., C. Neumann, J. Rey, H. Biering, R. Blum, et V. Schmidt. « ESGE-ESGENA Guideline for Quality Assurance in Reprocessing: Microbiological Surveillance Testing in Endoscopy ». *Endoscopy* 39, no 02 (27 février 2007) : 175-81.
- (2) Public Health Agency of Canada. Lignes directrices pour la prévention et le contrôle des infections transmises par les appareils souples d'endoscopie digestive et de bronchoscopie. Ottawa, Ont. : Agence de santé publique du Canada, 2011.
- (3) Vallet Benoît, Anne-Marie Armenteras, Ministère des affaires sociales et de la santé. « Guide Technique : Traitement des endoscopes thermosensibles a canaux », république française 2016 p4-27.
- (4) Sylvie Alvarez, jacqueline Barret et *al* « recommandations pour le traitement manuel des endoscopes non autoclavables » Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiale Sud –Est-décembre 2003 p10-44.
- (5) U. Beilenhoff, C. S. Neumann, J. F. Rey, H. Biering, R. Blum, V. Schmidt and the ESGE Guidelines Committee Institutions, World Gastroenterology Organization Practice Guidelines: «disinfection des endoscopes» Published ahead of print *Endoscopy* 2007; 39: 175–181 Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York ISSN 0013-726X.
- (6) Sylvie Arzac, Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiale Sud – Est « Les catégories d'eau dans les établissements de santé » version 3 Mars 2010, p4-5
- (7) Dr Joseph HAJJAR et *al*, Ministère de la santé et de la solidarité, Direction Générale de la Santé, Direction de L'hospitalisation et de L'organisation des Soins, Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins Conseil supérieur d'hygiène publique de France « Eléments d'assurance qualité en hygiène relatifs au contrôle microbiologique des endoscopes et à la traçabilité en endoscopie », république française Mars 2007 p8-36.
- (8) Jean-François Rey, David Bjorkman et *al* « Désinfection des endoscopes-une approche tenant compte des ressources à disposition » World Gastroenterology Organisation/ World Endoscopy Organization Global Guidelines Février 2011 p3-12.
- (9) www.futura-sciences.com – (11 Mai 2019)
- (10) www.areco.fr – (15 Mai 2019)