SGSV
SSSH
SSSO
Schweizerische Gesellschaft für Sterilgutversorgung
Société Suisse de Stérilisation Hospitalière
Società Svizzera di Sterilizzazione Ospedaliera

21. Schweizerische Fachtagung über die Sterilisation
Journées Nationales Suisses sur la Stérilisation

Wirtschaft und AEMP
18.– 19. Juni 2025 im Kongresshaus Biel/Bienne

Economie et SRDM
18 – 19 juin 2025 au Palais des Congrès à Biel/Bienne

Contrôles microbiologiques des endoscopes flexibles : le point de vue du laboratoire

PD Dr Dominique Blanc MER

Centre Hospitalier Universitaire Vaudois

Directive suisse pour le retraitement des endoscopes flexibles Version 2.0 du 23 février 2021

Annexe 1 - Critères d'évaluation

Le seuil de référence du nombre de colonies est de ≤ 20UFC par canal

Les microorganismes suivants ne doivent pas être présents :

- *Escherichia coli*, autres *Enterobacteriaceae*, entérocoques
  - ➢ Indication d'un nettoyage ou d'une désinfection insuffisants
- *Pseudomonas aeruginosa*, et autres non-fermenteurs
  - ➢ Indication d'une qualité d'eau pauvre lors du rinçage final et d'un séchage insuffisant
- *Staphylococcus aureus*
  - ➢ Indication d'une contamination en raison d'un stockage insuffisant ou d'une hygiène des mains déficiente
- Streptocoques alpha-hémolytiques
  - ➢ Indication d'un nettoyage ou d'une désinfection insuffisantes

Considérations sur cette directive:

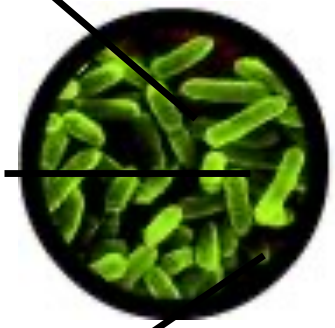
- Absence de protocole précis pour le laboratoire (inoculation, conditions de culture) !
- La notion de «autres non-fermenteurs » n'est pas assez précise. D'autant plus que la majorité des bactéries isolées dans les 20 cfu sont des non-fermenteurs --> toutes les analyses montrant une croissance (>0 cfu) seraient considérées comme non conformes.
- Les autres germes qui ne doivent pas être présents sont tous des pathogènes humains
- ≤ 20UFC par canal
  - 19 cfu: conforme
  - 21 ufc: non conforme ???

Considérations microbiologiques

Enumération des germes

Compte cultivable ou revivifiable

Viable, cultivable



Viable, non cultivable

Compte viable

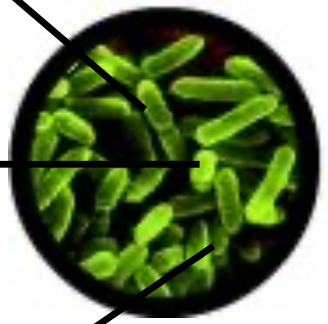
Morte

Compte total

Méthodes de dénombrement

Culture : une particule donne naissance à une colonie: ufc (ou cfu)

Viable, cultivable



Viable, non cultivable

Morte

Colorations biochimiques

Microscopie

Germe viable non cultivable

- Métabolisme de la bactérie trop différent de celui qu'elle devrait utiliser dans le milieu de culture (stress)
- Pas de croissance sur le milieu de culture (manque facteur de croissance)
- Pas de croissance dans les conditions de culture (T°, air, durée …)

➢ Influence sur le dénombrement des germes!!!

Les conditions de culture influencent la croissance des germes:

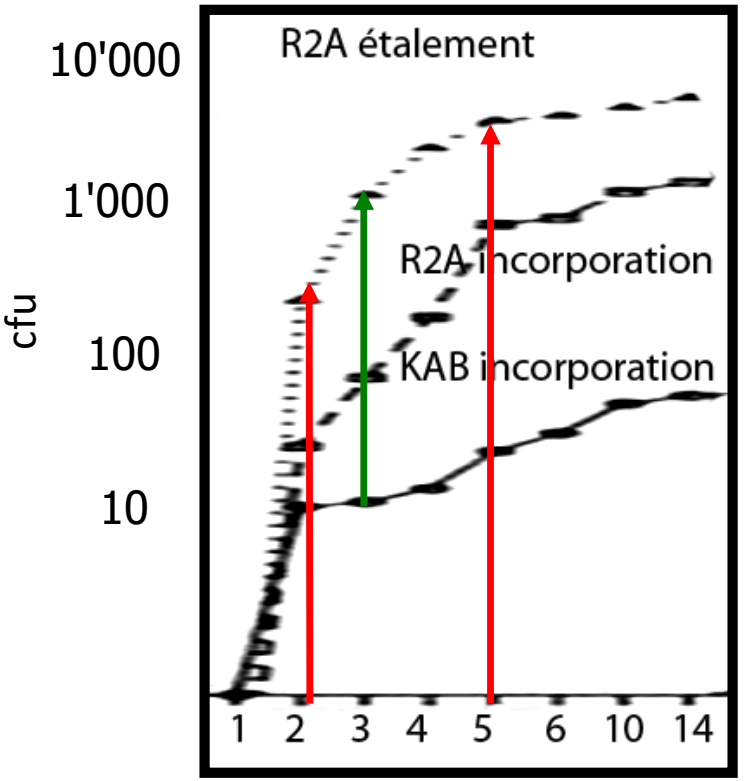
- Composition du milieu (pauvre, riche..)
- Température d'incubation
- Atmosphère d'incubation (air, CO_2)
- Durée d'incubation

➢ Ces paramètres doivent être définis si un nombre de bactéries limite à ne pas dépasser est indiqué dans une norme !

Influence des conditions de culture sur le dénombrement

Trois paramètres:

1. Milieu: R2A versus KAB
2. Méthode: étalement versus incorporation
3. Durée d'incubation



Influence de la durée d'incubation :
2 j: 200 cfu
5 j: 2000 cfu
10 X

Influence du type de milieu (gélose) et technique:
à 3 j d'incubation
KAB : 10 cfu
R2A: 1000 cfu
100 X

Korsholm et Sogaard, 1987, Zbl Bakt. Hyg. B. 185:112

Qualité de l'eau de rinçage final des L/D - Norme 15883-1:

chap. 6.4.2.4:

Effectuer un dénombrement de la flore bactérienne mésophile aérobie viable

- Filtration sur membrane d'un échantillon de min. 100 ml d'eau de rinçage finale
- Milieu R2A
- Incubation entre 28° et 32°C pendant au moins 5 jours

Qualité de l'eau de rinçage final des L/D d'endoscopes thermolabiles - Norme 15883-4

chap. 4.9.2.3 et 6.3

- <10 cfu/ 100 ml de bactéries mésophile aérobie viable
- Absence de *Pseudomonas aeruginosa* / 100 ml
- Absence de mycobactérie / 100 ml

Filtrer sous vide une aliquote de 100 ml de l'échantillon à l'aide d'un filtre de 0,2 µm et d'une taille adaptée pour son transfert et son incubation tels que décrits ci-après (par exemple, 47 mm de diamètre). Transférer en conditions aseptiques le filtre à la surface d'une gélose Middlebrook6) 7H10 et l'incuber à (30 ± 2) °C. Il convient d'observer régulièrement les géloses. Il convient de poursuivre l'incubation pendant 28 jours avant de conclure à une croissance nulle.

Nouvelle directive à paraître

- Toutes les solutions obtenues sont collectées et filtrées à travers une membrane d'une porosité de 0,45 µm.
- La membrane filtrante est placée sur une plaque de gélose non sélective
- Géloses non sélectives: gélose tryptone soja, gélose au sang de mouton Columbia, gélose pour dénombrement
- Incubation 3 jours à 37°C
- La composition de la membrane a aussi de l'importance dans l'énumération (acétate de cellulose)
- PCA: utilisé pour le dénombrement de la portion revivifiable de la flore mésophile aérobie totale (Norme AFNOR NF T 90-401 et 402). C'est un milieu nutritif sans inhibiteurs, dont l'intérêt est de favoriser le développement à 30 °C de tous les microorganismes qu'on y a déposés.
- Gélose pour dénombrement: dans le domaine alimentaire ou pharmaceutique. Possiblement pas approprié pour une recherche de pathogènes en médecine
- COL (gélose columbia au sang de mouton) est un milieu de croissance enrichi non-sélectif pour la culture de germes exigeants comme les streptocoques et pneumocoques. L'incubation se fait à 37°C; cette gélose et la T° d'incubation favorise la détection des pathogènes.

Conclusions

- Les résultats dépendent de la méthode d'analyse utilisée au laboratoire
- La méthode d'analyse doit être détaillée dans la norme/directive
- Si pas le cas, le laboratoire utilise une méthode permettant d'atteindre au plus près les objectifs des recommandations (…)
- Le laboratoire doit être accrédité (utilisation systématique de la même méthode [annonce si modification], participe à des contrôles de qualité externes)