

# PLO6 - DETERGENCE, DESINFECTION ET PRIONS

FRANÇOISE ROCHEFORT (LYON)

Au sein d'un service de stérilisation, les instruments chirurgicaux réutilisables suivent un processus maintenant très encadré de nettoyage et de stérilisation ou désinfection. Le nettoyage est une phase dont on mesure de plus en plus l'importance, en particulier dans la prévention de la transmission des Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC).

## LE CONTEXTE HOSPITALIER

Deux catégories de produits doivent être envisagées : l'instrumentation chirurgicale stérilisable et les dispositifs non stérilisables : il s'agit essentiellement des endoscopes souples. Le processus de traitement de l'instrumentation chirurgicale souillée commence en France au bloc opératoire par une prédésinfection, sauf cas particulier. Les instruments sont ensuite transportés dans le service de stérilisation, plus ou moins rapidement selon les cas. En stérilisation, le nettoyage en laveur-désinfecteur est recommandé et si le dispositif ne le supporte pas, il sera nettoyé en ultrason ou manuellement. La dernière étape, après un conditionnement, est une stérilisation à la vapeur d'eau, avec un plateau de stérilisation de 18 mn à 134°, comme le préconise la circulaire 138 du 14 mars 2001.

Pour les endoscopes souples, le circuit est différent puisque le traitement s'effectue habituellement dans le service utilisateur : il met en œuvre un double nettoyage et une désinfection terminale, utilisant un **désinfectant**.

Il est intéressant de se reporter aux définitions données par les normes afin de bien préciser les termes de lavage, nettoyage, détergence, désinfection... (normes ISO 15883-1, NF EN ISO 862, NFT 72101..) mais on ne trouve pas de définition de la propreté.

## PROPRIETES D'UN DETERGENT

Le détergent utilisé va mettre en œuvre le phénomène de détergence, avec une efficacité qui va dépendre de la formulation utilisée. Il a 2 actions, une action chimique de dénaturation de la souillure et une action détergente: la souillure est décrochée, désagrégée pour être en partie solubilisée et en partie émulsifiée. Un détergent va permettre l'élimination des salissures de son support grâce à

- **Son pouvoir mouillant** qui diminue la tension superficielle de l'eau qui peut ainsi pénétrer dans la salissure et provoquer son ramollissement.

- **Le décollement et la fragmentation des salissures** : La salissure est «encerclée» par le liquide et va glisser sur le support.

- **Son pouvoir émulsionnant** va maintenir les salissures en suspension.

Le détergent peut avoir une action sur la paroi bactérienne qui explique alors une **action désinfectante**.

## LES DETERGENTS

La formulation d'un détergent est complexe et il y a souvent association de plusieurs principes actifs et d'adjuvants. On distingue les détergents alcalins à base d'hydroxyde de sodium ou de potassium, les tensioactifs qui abaissent la tension superficielle du liquide (On retrouve ces tensioactifs dans la formulation des détergents dits «neutres ou faiblement alcalins»), les détergents acides à base d'acide phosphorique ou d'acide citrique et les détergents enzymatiques qui font appel à des enzymes qui vont couper les liaisons intramoléculaires: hydrolase, oxydase, peroxydase.

Selon les formulations, les associations sont variables et vont avoir un pouvoir détergent plus ou moins marqué.

## LES FACTEURS QUI VONT INFLUENCER LA QUALITE DU NETTOYAGE

- **Les souillures** : leur origine (minérale, organique), leur concentration et leur éventuel séchage sur le support.

- **La température** : l'action optimale de chaque détergent est associée à une plage de température.

- **Le temps de contact**, déterminé par le fabricant, il sera d'autant plus long que l'instrument à nettoyer a une structure complexe

- **La qualité de l'eau** : Le calcium et le magnésium présents dans l'eau dure diminuent l'action détergente du produit.

- **La force mécanique** appliquée, par les bras d'aspersion dans le laveur ou par le frottement lors du lavage manuel.

- **Les instruments eux-mêmes** : leur forme plus ou moins complexe, la présence de charnières, d'anfractuosités, de canaux... et leur état de surface.

Si on reprend la définition du nettoyage, citée ci-dessus, il est mis en œuvre «pour éliminer la contamination d'un objet jusqu'au niveau requis ». Comment caractériser ce niveau requis ? Intervient alors la notion de propreté qui est une notion très relative liée à l'évaluation de l'efficacité du nettoyage, et qui dépend donc de la limite de sensibilité de la méthode utilisée. En dessous de quelle valeur résiduelle, peut-on parler de propreté?

Pour évaluer l'efficacité du nettoyage, la norme NF EN ISO 15883 indique 3 méthodes: l'examen visuel, l'utilisation de souillure-test, mais il est difficile de standardiser les souillures et la recherche de protéines. L'Annexe C de la norme 15883-1 cite 3 méthodes : test à la ninhydrine, test du Biuret, méthode OPA (dialdéhyde orthophtalique). De nombreux articles ont testé ces méthodes, ainsi que d'autres techniques, afin de détecter le plus finement possible les protéines résiduelles encore présentes après nettoyage mais elle sont plus ou moins accessibles à un service de stérilisation centrale. Les tests prêts à l'emploi, basés sur un écouvillonnage et une réaction du Biuret ou à la ninhydrine sont faciles d'emploi mais d'une sensibilité non suffisante en cas de chirurgie à risque.

Plusieurs études anglaises ont recherché la contamination protéique sur des instruments dans des boîtes chirurgicales traitées en stérilisation et prêtes à être utilisées. Ces études mettent en évidence un taux élevé de protéines résiduelles, sur pratiquement tous les instruments testés, de l'ordre d'une centaine de microgrammes, voir jusqu'à 1 ou 2 mg selon l'instrument.(1 microgramme de résidu protéique peut contenir 1014 protéines).

## LES DESINFECTANTS

Une désinfection de haut niveau ne sera mise en route que pour du matériel ne supportant pas la stérilisation. Les propriétés bactéricide, virucide, sporicide et fongicide peuvent être vérifiées par des normes. Il existe de nombreuses catégories de désinfectants, les principaux sont les composés chlorés avec l'hypochlorite de sodium, les aldéhydes avec principalement le glutaraldéhyde, les oxydants avec l'acide peracétique et les phénols. Le glutaraldéhyde, excellent désinfectant, induit la réticulation des protéines entre elles et a une action stabilisante sur les prions. La circulai-

re 138 du 14 mars 2001, relative à la prévention de la transmission des ATNC, préconise son abandon. Les différentes préparations à base d'acide peracétique contiennent de l'acide peracétique (APA), du peroxyde d'hydrogène, de l'acide acétique et de l'eau en proportions variables (900 à 4000 ppm) et sont classées par la circulaire 138, dans le groupe II des produits à efficacité partielle.

## PROBLEMATIQUE DU PRION

Rappelons que dans les Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST), les Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC) sont constitués d'une protéine prion anormale PrP<sup>Sc</sup>. Elle diffère de la protéine PrP naturellement présente dans l'organisme humain par sa configuration spatiale: elle est constituée essentiellement de feuilletés bêta plissés, très hydrophobes. Ces prions se caractérisent par une grande résistance aux enzymes protéolytiques (protéases) et par une faible solubilité dans les détergents. Ils sont résistants à la plupart des procédés habituels de stérilisation et de désinfection. Il existe une corrélation entre le taux de PrP<sup>Sc</sup> évalué par immunodétection et le titre infectieux obtenu après inoculation à l'animal, cependant il existe des situations cliniques et expérimentales où une dissociation a été observée. L'inoculation à l'animal reste la méthode de référence. Cependant l'efficacité de la transmission à l'animal varie en fonction de l'inoculum (espèce, souche, tissu), de la voie d'inoculation, de la dose, de l'animal hôte et de l'éventuel traitement préalable du produit infecté. L'**inactivation** se définit par l'absence de détection d'infectiosité sur le dispositif médical et dans les effluents. L'**élimination** (voir le terme « **décontamination** » dans les études) correspond à une absence d'infectiosité sur le dispositif mais à une présence dans les effluents. Il est aussi évoqué un pouvoir de « déstabilisation » de la protéine prion qui devient alors sensible à la protéinase K et donc peut être ensuite dégradée.

Au Royaume-Uni, des scénarios visant à évaluer en chirurgie le risque de contamination d'un patient pris en charge après un patient contaminé ont été élaborés en 2001. En 2006, le ESAC-pr (Engineering and Science Advisory Committee into the decontamination of surgical instruments including Prion Removal), comité créé par le NHS (National Health Service) en 2005 pour étudier les applications pratiques de la recherche sur la décontamination des instruments chirurgicaux, a réactualisé ces scénarios :

### Infectivité des tissus :

Infectivité (ID <sub>50</sub> /g)	prévision
SNC, partie postérieure de l'œil	8 logs
Partie antérieure de l'œil	3-4 logs
Formations lymphoïdes : Rate, Amygdales	4-5 logs
tissus	3 logs

### Charge infectieuse sur les instruments :

Quantité de tissus restant sur l'instrument	
après l'intervention	10 mg
Effet du 1 <sup>er</sup> nettoyage	1 à 3 logs
Effet du 1 <sup>er</sup> autoclavage	2 à 3 logs
Infectiosité transférée à chaque réutilisation	1 à 10 % donc jusqu'à 1 mg
Effet des nettoyages ultérieurs	1 log
Effet des stérilisations ultérieures	0 log

## ETUDES MENEES

On peut noter une évolution des études parues pour rechercher une action d'élimination ou une action d'inactivation des prions. Les premiers travaux publiés, il y a une quinzaine d'années, étudiaient les méthodes reconnues comme ayant une efficacité sur les prions (hypochlorite, soude, autoclavage...) mais dans des conditions sans rapport avec la pratique hospitalière française (autoclave à déplacement de gravité, action simultanée de la soude et de l'autoclavage...). Essentiellement depuis 2004, sont apparus des travaux étudiant l'action des détergents et des désinfectants dans des conditions plus proches de celles rencontrées lors d'une intervention chirurgicale. Ces études sont basées sur des tests in vitro recherchant la PrP<sup>Sc</sup> après action du détergent sur des lames de verre ou d'acier contaminées et par des études in vivo utilisant des tiges d'acier implantées dans le cerveau de hamsters après avoir été contaminées et en contact avec le détergent étudié. Ces études diffèrent par le support utilisé, la souche de prion, le niveau de contamination, le temps de contact choisi, la température... et leurs résultats ne sont pas tous comparables. Les détergents testés sont des produits utilisés habituellement pour le nettoyage des instruments mais ces études se placent dans les circonstances les plus défavorables: sans prédésinfection, souvent sans passage dans un laveur, sans action mécanique et sans stérilisation ultérieure. Il apparaît que des produits ou des procédés possèdent une efficacité certaine mais il est difficile de comparer les efficacités obtenues dans les différentes études.

## LES DETERGENTS ETUDIES

Un certain nombre de détergents ont été étudiés, avec des concentrations et des temps de contact variables. Compte tenu de l'importance de la formulation dans l'action résultante, il est difficile de faire des généralités sur des catégories de détergents (détergent alcalin ou enzymatique).

A l'heure actuelle, les principaux détergents étudiés et qui ont montré une certaine efficacité sont les suivants. :

- **28 ALKAONE®** (laboratoire DECONEX). Dans l'état actuel des travaux, il est préconisé le lavage en LD avec **ALKAONE 0,5% à 70°C, pendant 5 minutes.**

- **HAMO 100®** (laboratoire STERIS). Les études expérimentales ont été faites avec différentes conditions : au départ avec une concentration de 1,6% puis finalement de **0,5%, à 55°C pendant 15 minutes ou 1% à 60°C, pendant 15 minutes.** La proposition en routine est de **0,2% à une température d'au moins 43°C, pendant 4 minutes.**

- **PRIONZYME®** (laboratoire GENENCOR). Ce produit n'est pas commercialisé actuellement en France.

- **SEPTOCLEAN®** (laboratoire Docteur Weigert). En dehors de la concentration standard, il est préconisé 2 types de cycle de lavage, selon le niveau d'action : « un cycle avec déstabilisation des prions » faisant appel à une concentration de **5ml/l à 55°** pendant 5 minutes ou un « cycle complet avec déstabilisation, inactivation et décontamination des prions » qui comprend un double nettoyage : **5 ml/l à 55° pendant 5 minutes pour le premier et 10ml/l à 60°C pendant 10 minutes pour le deuxième lavage.**

## LES PROCÉDES DE DESINFECTION OU DE STERILISATION ETUDIES

Le procédé de lavage **OXIVARIO®**, mis au point par la société MIELE met en œuvre un double nettoyage et utilise le pouvoir de libération d'oxygène actif sous conditions alcalines. Un premier

lavage utilise un détergent alcalin, pH 12 à 13 pendant 10 minutes à 90°. Un deuxième nettoyage associe le même détergent alcalin sans tensioactif et un acide peracétique pendant 10 minutes à 60°C.

**Le peroxyde d'hydrogène** sous forme liquide, à forte concentration (59% ou 60% pendant 10 à 20 minutes) a une efficacité partielle. Il est testé sous forme de gaz plasma, dans le STERRAD 100S (avec un cycle standard avec 2 injections ou un cycle spécial avec 4 injections) et cette stérilisation seule n'est pas efficace mais son emploi après l'action d'un détergent alcalin ou enzymatique montre une efficacité contre les prions. L'emploi de peroxyde d'hydrogène vaporisé (appareil V-PRO 1 STERIS), même sans nettoyage préalable apparaît également actif sur les prions.

## LES DESINFECTANTS ETUDIÉS

- **L'hypochlorite de sodium à 2% de chlore actif**, sert de référence.
- **Acide peracétique** : Les conditions de routine (concentrations et temps de contact) ne permettent pas l'inactivation des prions et des études récentes montrent un pouvoir de fixation des protéines plus faible que pour le glutaraldéhyde mais qui varie d'une formulation à une autre.
- **Glutaraldéhyde** : la circulaire 138 demande son remplacement. En fait son pouvoir de fixation des protéines semble variable selon sa formulation.
- Une solution à base d'orthophtaldéhyde (**CIDEX®**) à 0,55% pendant 5 minutes s'est avérée inefficace
- Un désinfectant phénolique **Environ LpH®** 5% 30 min à 20°C montre une efficacité.

Il serait important d'arriver à démontrer que l'utilisation d'un détergent donné dans des conditions précises de concentration, de température et de durée d'action, permet d'obtenir une efficacité suffisante pour remplacer l'étape d'inactivation par la soude dans la prévention de la transmission des EST. Un protocole standard doit être publié par l'AFSSAPS qui permettra l'étude des détergents dans des conditions communes.

Il restera à vérifier que les instruments inox mais aussi les autres métaux (tungstène, titane...) également présents au sein de l'instrumentation chirurgicale supportent à long terme l'emploi en routine de ces détergents. Enfin la phase de désinfection qui a un effet limité sur les prions ou au contraire qui renforce la fixation des protéines, doit donc être précédée d'un nettoyage extrêmement soigneux et efficace.

## REFERENCES

BAXTER R.L., BAXTER H.C., CAMPBELL G.A., GRANT K., JONES A., RICHARDSON P., WHITTAKER G. Quantitative analysis of residual protein contamination on reprocessed surgical instruments. *J Hosp Infect* 2006 63: 439-444.

DRAGHICI A., GAUER J., MICHELS W., ROTH K. Etudes sur les performances du nettoyage selon la norme prEN/ISO 15883-1. *Zentral sterilization* 2005; 13 (F2) : 59- 64.

ESAC-Pr. Report from ESAC-Pr: The decontamination of surgical instruments with special attention to the removal of proteins and inactivation of any contaminating human prions. 2007; [http://www.dh.gov.uk/PublicationsAndStatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/PublicationsPolicyAndGuidanceArticle/fs/en?content\\_ID=41423181chk=MU5nKS](http://www.dh.gov.uk/PublicationsAndStatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/PublicationsPolicyAndGuidanceArticle/fs/en?content_ID=41423181chk=MU5nKS).

FICHET G., ANTLOGA K., COMOY E., DESLYS JP., McDONNELL G. Prion inactivation using a new gaseous hydrogen peroxide sterilisation process. *J Hosp Infect*. 2007; 67(3): 278-286.

FICHET G., COMOY E., DEHEN C., CHALLIER L., ANTLOGA K., DESLYS JP., Mc DONNELL G. Investigations of a prion infectivity assay to evaluate methods of decontamination. *J Microbiol Methods*. 2007; 70 (3): 511-518.

FICHET G., HARRISSON J., MC DONNELL G. Réduction du risque de transmission des prions par les instruments chirurgicaux par l'utilisation de procédures de nettoyage efficaces. *Zentr Steril* 2007 ; 15 (3) : 82-91.

FRIEDRICH T., ROTH K., GAUER J., HEEG P. Etudes concernant le taux de récupération de la contamination résiduelle lors de la validation des laveurs désinfecteurs en conformité avec la norme EN 15883-partie 1. *Zentral Sterilisation*. 2007; 15 (F2) : 51-58.

FRIEDRICH T., ROTH K., GAUER J., HEEG P. Sensibilité des méthodes de détection, visant à évaluer la contamination résiduelle des instruments chirurgicaux après leur retraitement. *Zentral Sterilisation*. 2007 ; 15 (F1) : 11-15.

LIPSCOMB I.P., PINCHIN H.E., COLLIN R., HARRIS K., KEEVIL C.W. The sensitivity of approved ninhydrin and biuret tests in assessment of protein contamination on surgical steel as an aid to prevent iatrogenic prion transmission. *J Hosp Infect* . 2006; 64 (3): 288-292.

LIPSCOMB I.P., SIHOTA A.K., KEVIL C.W. Comparative study of surgical instruments from sterile service departments for presence of residual gram negative endotoxin and proteinaceous deposits. *J Clin Microbiol*. 2006; 44(10): 3728-3733.

LIPSCOMB I.P., PINCHIN H., COLLIN R., KEEVIL C.W. Effect of drying time, ambient temperature and pre-soaks on prion-infected tissue contamination level on surgical stainless steel: concerns over transportation of instruments from theatre to central service departments. *J Hosp Infect*. 2007; 65 (1): 72-77.

LIPSCOMB I.P., PINCHIN H.E., COLLIN R., HARRIS K., KEEVIL C.W. Are surgical stainless steel wires used for intracranial implantation of PrPSC a good model of iatrogenic transmission from contaminated surgical stainless steel instruments after cleaning? . *J Hosp Infect* . 2006; 64 (4): 339-343.

LIPSCOMB I.P., SIHOTA A.K., BOTHAM M., HARRIS K.L., KEEVIL C.W. Rapid method for the sensitive detection of protein contamination on surgical instruments. *J Hosp Infect*. 2006; 62: 141-148.

MARCHETTI B., VILLARD E. Risque de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob en endoscopie digestive. *Hygiène*. 2002- volume X-n°6 : 388-394.

MURDOCH H., TAYLOR D., DICKINSON J., WALKER J.T., PERRETT D., RAVEN N.D.H., SUTTON J.M. surface decontamination of surgical instruments: an ongoing dilemma. *J Hosp Infect*. 2006 . 63 (4): 432-438.

PINEAU L., DESBUQUOIS C., MARCHETTI B., LUU DUC D. Comparison of the fixative properties of five disinfectant solutions. *J Hosp Infect*. 2008 ; 68 (2) : 171-177.

ROSENBERG U. B. Procédés efficaces de nettoyage et « efficacité sur les prions » *Zentral Sterilisation* 2005 ; 13 (F1) : 25- 38.

SCHMIDT V., STAFFELDT J., WAGEMANN W., HEEG P., ROTH K. Efficacy of a multifunctional detergent against microorganisms, viruses and prions. *Zentral sterilization* 2007; 15 (5): 341- 353.

Circulaire n° DGS/5C/DHOS/E2/2001/138 du 14 mars 2001 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels.