

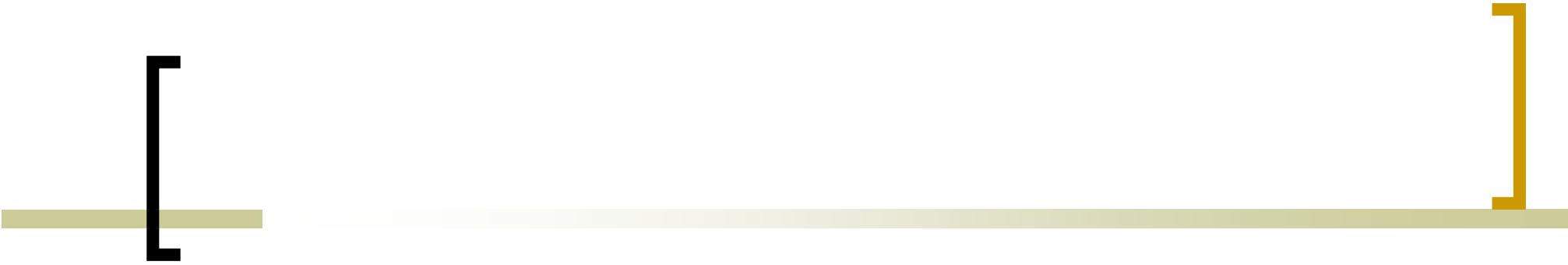


Détergence et désinfection vis-à-vis du prion

Françoise Rochefort

Groupement Hospitalier Nord

Hospices Civils de Lyon

- 
- prévention de la transmission des ATNC
 - Études concernant les **méthodes d'inactivation** (autoclavage, soude, hypochlorite de sodium...)
 - Le **retraitement** des instruments chirurgicaux après utilisation a un rôle fondamental

 - Fait partie d'un process complet

[Contexte hospitalier]

■ **DM stérilisable**

- **Prédésinfection** --> détergent désinfectant
- **Lavage** --> détergent
- **Stérilisation** 134°C + 18 mn

■ **DM non stérilisable: endoscopes**

- **Double nettoyage** --> détergent
- **Désinfection** --> désinfectant

[Définitions (1)]

- **Nettoyage** (ISO 15 883-1) :
Élimination de la contamination d'un article jusqu'au niveau requis pour son traitement ultérieur et pour l'utilisation à laquelle il est destiné.
- **Lavage** (ISO 15 883-1) :
Élimination de la contamination sur les surfaces devant être nettoyées au moyen d'un milieu aqueux, contenant ou non des produits chimiques, selon les besoins.

[Définitions (2)]

- **Détergence** (NF EN ISO 862):

Processus selon lequel les salissures sont détachées de leur substrat et mises en solution ou dispersion

- **Désinfection** (ISO 15 883-1):

Réduction du nombre de micro-organismes viables sur un produit jusqu'à un niveau préalablement défini comme approprié pour l'utilisation ultérieure de ce produit



détergents

Détergent: Va mettre en oeuvre le phénomène de détergence

- Élimination de la souillure grâce à:
 - **Pouvoir mouillant**: diminue la tension superficielle de l'eau qui va pénétrer dans la salissure et provoquer son ramollissement
 - **Décollement et fragmentation de la salissure**
 - **Pouvoir émulsionnant** va maintenir la salissure en suspension
- **Action désinfectante** éventuelle

Les détergents (1)

■ Détergents alcalins

- À base de potasse ou soude
- PH > 10
- Très efficaces
- Agressivité

■ Détergents « neutres »

- À base de Tensioactifs
- pH 7 à 10
- Efficacité moindre
- Tolérance (aluminium)

[Les détergents (2)]

■ Détergents acides

- À base d'acide phosphorique ou citrique
- Souillures minérales
- action de détartrage + passivation

■ Détergents enzymatiques

- À base d'enzymes qui vont couper des liaisons :
protease, lipase, amylase...
- Associés à un détergent neutre ou alcalin

[Les détergents (3)]

■ Adjuvants

- Anti-corrosion → silicates
- Séquestrants → EDTA, polyphosphates
- Agents de dispersion → polyacrylates
- Agents de solubilisation → glycols
- Oxydants → hypochlorite, perborates
- Agents anti mousse...

■ Importance de la formulation

Les facteurs influençant la qualité du nettoyage (1)

■ Les souillures

○ Nature

- Organique protéines, lipides glucides
- Minérale
- Prion: adsorption importante et durable

○ Concentration

○ éventuel séchage de la souillure

■ La température: lié au détergent

■ Le temps de contact: lié au détergent

Les facteurs influençant la qualité du nettoyage (2)

- **La qualité de l'eau:**
 - Ca et Mg diminuent l'action détergente
- **La force mécanique**
- **Les instruments**
 - Matériau
 - Forme simple ou complexe
 - Présence de charnières, canaux...
 - État de surface, corrosion

Comment caractériser l'efficacité du nettoyage? (1)

- **Norme NF EN ISO 15883-1:**

le nettoyage est mis en œuvre pour éliminer la contamination d'un objet jusqu'au niveau requis

- **Comment caractériser ce niveau requis?**

- **Notion de propreté très relative**

- Dépend de l'évaluation de l'efficacité de nettoyage
- Dépend donc de la **limite de sensibilité de la méthode utilisée**

Comment caractériser l'efficacité du nettoyage? (2)

- Norme NF EN ISO 15883 indique 3 façons
 - **Examen visuel**
 - L'œil peut détecter jusqu' 10µg/ cm² de pigments rouges
 - **Souillure test (NF EN ISO 15883-5):**
 - liste de souillures selon les pays
 - Pas de standardisation
 - En cours de révision
 - **Recherche des protéines résiduelles**

Recherche de protéines résiduelles

- **NF EN ISO 15883 indique 3 méthodes**
 - **Test à la ninhydrine** par écouvillonnage
 - **Test du Biuret** par écouvillonnage ou par rinçage au SDS (Sodium Dodecyl Sulfate)
 - **Test à l'OPA** (dialdéhyde ortho-phtalique) par rinçage au SDS
- Tests prêts à l'emploi
 - Facilité d'emploi
 - Détection moyenne: 5 à 10 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (Lipscomb)
- **techniques plus sensibles**
 - Méthodes de laboratoire
 - Détection jusqu'à un picogramme/ mm^2

Publications anglaises sur la charge protéique (Lipscomb, Baxter, Murdoch)

- NHS
- **Collecte de boîtes chirurgicales prêtes à l'emploi**
- **Recherche de contamination protéique d'instruments**
- **Taux élevés: qq centaines de μg jusqu'à 1 à 2 mg,**
 - Variations selon le service de stérilisation
 - Pas de corrélation avec la complexité de l'instrument
 - Taux élevé sur instruments pour amygdaléctomie (pas de neurochirurgie)
- **Études de l'influence d'un prétraitement par un détergent au bloc opératoire**



désinfectants

[Désinfectants (1)]

- **Normes** pour vérifier les propriétés bactéricides, virucides, sporicides et fongicides

- **Nombreux produits**
 - Composés chlorés: **HYPOCHLORITE DE SODIUM**
 - Aldéhydes: formaldéhyde, **GLUTARALDEHYDE**,
 - Oxydants: **ACIDE PERACETIQUE**, phénols
 -

[Désinfectants (2)]

■ Glutaraldéhyde

- Circulaire 138 du 14 mars 2001
 - Fixation des protéines → action stabilisante du prion
 - Groupe I « procédé inefficace, susceptible de fixer l'infectiosité résiduelle »
 - À abandonner

[Désinfectants (3)]

■ Acide peracétique

- Circulaire 138 du 14 mars 2001
 - Groupe II efficacité partielle
 - Concentrations différentes selon les formulations (1000 à 4000 ppm)
 - Variations → bandelettes
 - Contrôle du marché des désinfectants à base APA par Afssaps avril 2004

[Détergent désinfectant]

- Prédésinfection
- Quasi obligatoire en France (BPPH)
- Formulation complexe
- Possibilité d'évaluer l'action désinfectante mais pas l'action détergente



Protéine prion

[prion]

- Protéine PrP^{res} infectieuse
- Diffère de la protéine PrP naturelle par sa configuration spatiale
 - caractère très hydrophobe
 - grande résistance aux enzymes protéolytiques
 - Faible solubilité dans les détergents
- Résistance aux procédés habituels de stérilisation et de désinfection

Hypothèses de réduction de la charge infectieuse (1)

- ESAC-Pr: *Engineering et Science Advisory Committee into the decontamination of surgical instruments including Prion Removal*
- Comité créé par le NHS en 2005 pour la mise en application pratique de la recherche sur la décontamination des instruments chirurgicaux

Hypothèses de réduction de la charge infectieuse (2)

- Scénarios pour évaluer le risque de contamination d'un patient pris en charge après un patient contaminé

	Department of Health UK 2001	Department of Health UK / ESAC-Pr 2006
Quantité de tissu restant sur l'instrument après intervention	10 mg	10 mg
Effet du 1er nettoyage	2 à 3 log	1 à 3 log
Effet du 1er autoclavage	3 à 6 log	2 à 3 log
Infectiosité transférée à chaque réutilisation	1 à 10% donc jusqu'à 1 mg	1 à 10% donc jusqu'à 1 mg
Effet des nettoyages consécutifs	0 à 2 log	1 log
Effet des stérilisations successives	0 à 3 log	0 log

Hypothèses de réduction de la charge infectieuse (3)

Chirurgie SNC :

- **ID₅₀/g** quantité nécessaire pour infecter 50% des receveurs
- Infectiosité du tissu cérébral: : **10¹⁰ ID₅₀/g de tissu**
- Hypothèse de 10 mg résiduel sur un instrument → **10⁸ ID₅₀**
- Nettoyage + autoclavage: 3 à 6 log (→ 5log) → **10³ ID₅₀**
- 10% des tissus persistants sur l'instrument peuvent être transférés lors d'une nouvelle utilisation → **10² ID₅₀**
- Boite: 20 instruments/ boîte en moyenne → **2x10³ ID₅₀**
- lavage et stérilisation ultérieure: 1 log → **2x10² ID₅₀**

→ **Boite potentiellement infectieuse pour 2 ou 3 patients**



**Études menées pour évaluer
l'efficacité sur les prions**

Études menées pour évaluer l'efficacité des produits (1)

- < 2000: Études des méthodes reconnues
 - Hypochlorite
 - Soude
 - Autoclavage
- Conditions éloignées de la pratique hospitalière
- → évaluation des détergents, désinfectants dans des conditions plus proches

Études menées pour évaluer l'efficacité des produits (2)

■ Méthodes in vitro

- propriété “déstabilisante” du détergent:
rend la protéine prion sensible à l'action de la
protéinase K
- disparition de la PrP^{res} en western blot

[Études menées pour évaluer l'efficacité des produits (3)]

■ Méthodes *in vivo*

- Propriété “décontaminante” du détergent (→ les tiges ne sont plus infectieuses)
 - Brins d'acier contaminés
 - Traités par le détergent
 - Implantés chez le hamster
- Propriété “inactivante” du détergent
 - Contact entre Homogénat infectieux et détergent
 - Neutralisation du détergent
 - Injection intracérébrale

Études menées pour évaluer l'efficacité des produits (4)

- Il existe une corrélation entre le taux de PrP^{res} évalué par immunodétection et le titre infectieux obtenu par inoculation à l'animal
- cas où dissociation --> inoculation à l'animal reste méthode de référence

Études menées pour évaluer l'efficacité des produits (5)

- Conditions très défavorables
 - Sans prédésinfection
 - Parfois simple trempage dans un bain de détergent, sans action mécanique
 - Pas de stérilisation ultérieure
- Conditions d'étude non standardisées
 - Support
 - Niveau de contamination
 - Durée d'observation des animaux inoculés...

Études menées pour évaluer l'efficacité des produits (6)

- Résultats
 - efficacité pour certains produits
 - difficile de comparer les efficacités obtenues
 - Compte tenu de l'importance de la formulation, difficile de faire des généralités sur des catégories de détergents

Détergents étudiés

- Détergents ayant montré une certaine efficacité
- **DECONEX 28 ALKAONE** ® (ALKAPHARM)
 - 1% 55°c 10 min
 - 0,5% 70°c 10 min
- **HAMO 100** ® (STERIS)
 - 1,6% 43°c 15 min ou 0,8% 43°c 7 min
 - Proposition actuelle: 0,2% 43°c à 70°c 4 min
- **PRIONZYME** ® (GENENCOR)
- **SEPTOCLEAN** ® (Dr WEIGERT)
 - Double nettoyage
 - 5 ml/l 55°c 5 min puis 10 ml/l 60°c 10 min

[Procédés étudiés]

- **OXIVARIO** ® (MIELE)
 - Double nettoyage
 - Détergent alcalin 10 min 90°C
 - puis détergent alcalin + acide peracétique 10 min 60°C
- Peroxyde d'hydrogène plasma
 - **STERRAD** ® (ASP)
 - Testé seul ou après détergent alcalin ou enzymatique
- VHP: peroxyde d'hydrogène vaporisé
 - **V-PRO** ® (STERIS)

Désinfectants étudiés

- **Hypochlorite de sodium** 2% de chlore actif
→ la référence
- **Formaldéhyde:** aucune inactivation
- **Glutaraldéhyde**
 - Peu d'études
 - différentes concentrations, températures, durée
→ dernières études: 2%, 20mn, t° ambiante
 - Pouvoir de fixation des protéines,
 - en particulier dans les canaux des endoscopes
 - Fixation augmente avec la répétition des désinfections
 - Pouvoir d'inactivation nul ou limité selon études



■ **Acide peracétique**

- différentes concentrations, températures, durée
- Pas ou peu d'efficacité aux concentrations et temps de contact habituels
- Pouvoir de fixation des protéines variable selon les formulations

■ **Environ LpH** ® (dérivé phénolique)

- 5% 30 min à 20°C

conclusion

- Certains détergents à privilégier pour les instruments utilisés dans des actes à haut risque?
- Nécessité d'études selon un protocole standardisé permettant de valider les réductions de titre infectieux annoncées
- Pourront remplacer la soude?
- Vérifier la bonne tolérance à long terme (inox, tungstène, titane...)
- La phase de désinfection a un effet limité sur les prions
 - Nécessité d'un nettoyage soigneux et efficace