

# Le nettoyeur à vapeur a-t-il une place dans la prise en charge des dispositifs médicaux réutilisables à corps creux en stérilisation?

A. Bros<sup>1\*</sup>, R. Mazet<sup>1,2</sup>, L. Choïnard<sup>2</sup>, N. Sylvoz<sup>1</sup>, P. Bedouch<sup>1</sup>, C. Guimier-Pingault<sup>1</sup>

## I Summary

**Has the steamer a place in the support of reusable hollow medical devices in a department of sterilization?**

*In sterilization, the management of complex reusable medical devices is a major problem. This study aims to evaluate the effectiveness of the steamer more and more used in place of the ultrasonic unit for the pre-cleaning step. We compared the efficiency of these two devices for the management of complex hollow-body medical devices, using the total residual protein assay with the BiCinchoninic acid Assay BCA method. Two types of medical devices (swabbable and non-swabbable) and two situations encountered in practice (desiccation of soil or not) have been investigated. We assembled a body of evidence that improved that the steamer is more efficient for hollow body devices. However, this equipment has limitations that lead us to favor single use for some complex medical devices.*

## I Résumé

En stérilisation, la prise en charge des dispositifs médicaux réutilisables complexes est une problématique majeure. Cette étude vise à évaluer l'efficacité du nettoyeur à vapeur utilisé comme alternative au bac à ultrasons pour réaliser l'étape de pré-nettoyage. Nous avons comparé l'efficacité de ces deux équipements pour la prise en charge des dispositifs médicaux complexes à corps creux, via le dosage des protéines résiduelles totales par la méthode à l'acide bicinchoninique BCA. Deux types de dispositifs médicaux modèles (écouvillonnables et non écouvillonnables) et deux situations rencontrées en pratique (dessiccation ou non des souillures) ont été investigués. Nous avons réuni un fais-

ceau de preuves d'une meilleure efficacité du nettoyeur à vapeur pour les dispositifs médicaux à corps creux. Toutefois, cet équipement présente des limites qui nous amènent à privilégier l'usage unique pour certains dispositifs médicaux complexes.

## I Introduction

### A. Contexte

À la différence des dispositifs médicaux stériles à usage unique, les dispositifs médicaux réutilisables présentent un risque infectieux de contamination inter-patient. Les dispositifs médicaux (DM) utilisés au cours d'une intervention chirurgicale peuvent être contaminés par les agents pathogènes présents dans les liquides biologiques et/ou les tissus du patient pris en charge. Ces agents pathogènes sont classés en 6 catégories : les bactéries, les endotoxines, les virus, les parasites microscopiques, les champignons et les prions. Ces derniers sont responsables des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles, telles que la maladie de Creutzfeldt-Jakob (1). Ainsi, pour assurer la sécurité du patient et ne pas l'exposer à un risque infectieux, tout dispositif médical critique réutilisable préalablement utilisé pour un autre patient, doit subir un traitement adapté pour le rendre stérile (2). La ligne directrice n° 1 des Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière définit d'une part, l'étape de pré-désinfection et d'autre part, les étapes de lavage, de conditionnement, de stérilisation, de contrôles, de stockage et de mise à disposition. En dehors de la pré-désinfection, ces opérations sont obligatoirement mises en œuvre par le service de stérilisation dans des locaux affectés à cette activité

## MOTS CLÉS

- dispositifs médicaux à corps creux
- pré-nettoyage
- nettoyeur à vapeur
- bac à ultrasons
- dosage des protéines résiduelles totales
- méthode BCA

(3). Dans ce processus, si l'étape de stérilisation doit être parfaitement maîtrisée, un nettoyage soigneux est la condition *sine qua non* d'un abaissement efficace de la charge contaminante indispensable à une stérilisation sûre (4). Il faut aussi rappeler que c'est le fabricant qui fixe les modalités de traitement du DM qu'il commercialise, à savoir, la procédure de désinfection, de nettoyage et de stérilisation, ainsi que le nombre limité de réutilisations, donc de re-stérilisations.

\* Aurélie Bros, Grenoble Alpes, France  
E-mail : abros@chu-grenoble.fr

1 Pôle pharmacie, CHU Grenoble Alpes, France

2 Département de Pharmacochimie Moléculaire, CNRS UMR 5063, Université Grenoble Alpes, France

Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, CS 10217, 38043 Grenoble Cedex 9, France

**Tableau I : Critères d'acceptation pour l'évaluation de la performance du nettoyage pour les dispositifs médicaux souillés en conditions réelles extraits du *Guide de validation du nettoyage et de la désinfection chimique manuels des dispositifs médicaux (5)***

Groupe	Instruments types	Méthodologie	Valeurs de référence
1	Instruments sans articulations ni corps creux (curettes, écarteurs)	Contrôle visuel	< 10–15 µg/4–5 cm <sup>2</sup>
2	Instruments avec articulations (ciseaux, pinces)	Détection au moins semi-quantitative des protéines, après élution en sachet PE	< 75 µg/instrument (jusqu'à 15 cm de long) < 100 µg/instrument (plus de 15 cm de long)
3	Instruments à tiges coulissante	– Détection quantitative des protéines, après élution de l'instrument complet en sachet PE – Elution partielle de la partie fonctionnelle, en éprouvette à l'aide d'ultrasons	< 100 µg/instrument < 50 µg/instrument
4	Instruments creux (instruments à gaine)	Détection quantitative : – Gaine d'un instrument démontable échantillonnée uniquement à l'intérieur (rinçage) – Chacune des pièces de travail, éluées p. ex. dans un tuyau fermé des deux côtés – Uniquement mors avec articulation, en éprouvette à l'aide d'ultrasons	< 75 µg/instrument (gaine < 4 mm de diamètre intérieur) < 100 µg/instrument (gaine > 4 mm de diamètre intérieur) < 50 µg/pièce de travail < 40 µg/mors avec articulation
5	Instruments de chirurgie mini-invasive	Détection quantitative des protéines, après élution de l'instrument complet	< 50 µg/instrument < 20 µg/instrument (instruments ophtalmologiques)

## B. Pré-nettoyage et nettoyage des dispositifs médicaux réutilisables

### 1. Aspect réglementaire

Selon la norme NF EN ISO 15883-1, l'étape de nettoyage des dispositifs médicaux correspond à une « élimination de la contamination d'un article jusqu'au niveau requis pour son traitement ultérieur et pour l'utilisation à laquelle il est destiné ». Cette étape doit permettre d'éliminer les souillures visibles ou microscopiques, d'abaisser la contamination au niveau le plus bas possible et de prévenir la formation d'un biofilm. L'objectif recherché est d'éliminer l'effet protecteur des souillures résiduelles sur les micro-organismes vis-à-vis des agents stérilisants. La norme EN ISO 15883 ne définit pas concrètement le niveau de propreté requis et le niveau d'assurance propreté selon les dispositifs médicaux à prendre en charge.

De ce fait, la DGKH (Société allemande d'hygiène hospitalière), la DGSV (Société allemande de stérilisation hospitalière), l'AKI (Cercle de travail pour le retraitement des instruments) et la VAH (Association allemande pour l'hygiène appliquée) se sont inspirés de cette norme pour élaborer un *Guide de validation du nettoyage et de la désinfection chimique manuels des dis-*

*positifs médicaux*. Leurs critères d'acceptation pour l'évaluation de la performance du nettoyage du guide sont reportés dans les Tableaux I et II (5). A noter que tous les dispositifs médicaux souillés en conditions réelles doivent être visuellement propres et ce n'est qu'à cette condition qu'ils font l'objet de tests semi-quantitatifs ou quantitatifs de mise en évidence de résidus protéiniques.

### 2. Procédure institutionnelle au CHU Grenoble Alpes (CHUGA)

#### • Pré-désinfection au bloc opératoire

Au cours de l'intervention chirurgicale, les DM standards sont débarrassés des résidus biologiques résiduels avec une com-

presse. En fin d'intervention, les DM sont plongés dans le bain de pré-désinfection, en veillant à leur immersion complète. Après 15 minutes effectives de trempage, la solution de pré-désinfection est éliminée. Les DM sont soigneusement et abondamment rincés à l'eau froide et l'eau de rinçage est également éliminée. Pour les DM à corps creux, une étape supplémentaire d'irrigation à l'eau stérile ou au sérum physiologique est assurée en per-opérateur. En fin d'intervention, les canaux sont irrigués à la seringue avec la solution de pré-désinfection (Salvanios pH7 0,5%) jusqu'à observer le libre écoulement de la solution.

**Tableau II : Critères d'acceptation pour l'évaluation de la performance du nettoyage pour les dispositifs d'épreuve de procédé (DEP) extraits du *Guide de validation du nettoyage et de la désinfection chimique manuels des dispositifs médicaux (5)***

Critères d'acceptation	Protéines par DEP (albumine de sérum bovin (BSA))
Valeur limite	> 150 µg, à ne pas atteindre ni dépasser
Valeur d'alerte	> 80 ≤ 150 µg
Valeur de référence	≤ 80 µg

• **Pré-nettoyage**

Cette étape complémentaire ne concerne que les DM présentant une configuration complexe et/ou des cavités difficilement accessibles (6). Il s'agit d'instruments à tige tubulaire (instruments de chirurgie mini-invasive, aspirateurs, instruments canulés, rasoirs d'arthroscopie), microchirurgicaux, ou flexibles (alésoirs pour le forage du canal médullaire, pinces de biopsie flexibles, pinces flexibles de préhension de corps étrangers). Elle n'est pas nécessaire pour les DM standards dont la surface est lisse et plane, donc sans difficultés de prise en charge. Cette étape se déroule dans le service de stérilisation centrale.

Les agents disposent de brosses souples, d'écouvillons, de seringues pour irrigation, et d'équipements mécanisés tels que le bac à ultrasons (US) et/ou le nettoyeur à vapeur (NV). Dans le bac à ultrasons, les ondes ultrasonores déclenchent successivement des phases de compression et de décompression complexes qui provoquent le décollement des impuretés même dans les recoins inaccessibles. Son utilisation est préconisée pour les dispositifs médicaux réutilisables creux dont la conception rend le nettoyage manuel ou en laveur désinfecteur difficile. En pratique au CHUGA, les dispositifs sont placés dans le bac à ultrasons pour un cycle de 5 minutes à 35kHz et 45 °C sans raccords d'irrigation (bain sans détergent). Cet équipement est qualifié annuellement (3). Le nettoyeur à vapeur est un générateur de paillasse qui envoie de la vapeur sous pression. Des propriétés décapantes lui sont conférées grâce à sa nature gazeuse, sa vitesse de propulsion, sa température et son humidité. Théoriquement, les canules non écouvillonnables peuvent être nettoyées avec grande efficacité et très rapidement grâce à cet équipement. Cependant, aucune recommandation ni modalités de qualification ne sont établies. En pratique au CHUGA, le nettoyeur à vapeur est utilisé avec un embout universel durant 5 secondes pour chaque dispositif.

• **Nettoyage**

L'étape de nettoyage est manuelle pour les DM non immergeables et automatisée via les laveurs désinfecteurs pour les autres dispositifs. Au CHUGA et notamment durant la période de l'étude, le cycle « instruments » en laveur désinfecteur est programmé pour deux prélavages à froid

(1 min et 30 sec à 20 °C), suivis d'une phase de lavage avec un détergent alcalin potassique (3 min à 70 °C), d'une neutralisation acide (3 min à 70 °C) et d'un rinçage (5 min à 20 °C), puis d'une désinfection thermique permettant d'obtenir un  $A_0=3000$  (5 min à 90 °C) et d'un séchage (30 min à l'air chaud). La qualité d'eau utilisée est contrôlée régulièrement : pour les étapes de pré-lavage, de lavage et de rinçage acide, il s'agit d'eau adoucie et pour le rinçage final et la désinfection thermique il s'agit d'eau osmosée. Le laveur désinfecteur est qualifié annuellement selon la norme NF EN 15883.

**3. Les méthodes de contrôle de l'étape de nettoyage**

En France, les services de stérilisation des établissements de santé réalisent un simple contrôle visuel (œil nu ou loupe) pour l'évaluation de l'efficacité du nettoyage des instruments chirurgicaux car il est simple à mettre en œuvre, rapide et peu onéreux. Toutefois, l'incapacité à surveiller de faibles niveaux de contamination infectieuse ou protéique en routine sur les dispositifs médicaux et le risque que des agents biologiques résistants puissent rester pathogènes et non détectés ont amené à rechercher des solutions permettant de les contrôler de manière moins subjective. Parmi celles-ci, nous pouvons citer le contrôle par tests de souillures, les modèles d'échantillon à fente ou de simulation de cavités, ou encore la méthode par bioluminescence – ATPmétrie et le dosage protéique (test à la ninhydrine, la méthode OPA (*o*-phtaldialdéhyde)) (7) (8) (9). Enfin, il existe des méthodes colorimétriques

telle que la méthode à l'acide bicinchoninique (BCA) qui repose sur la réduction de l'ion cuivrique Cu(II) en ion cuivreux Cu (I) en milieu alcalin par les liaisons peptidiques des protéines (10).

Au-delà de ces méthodes, le contrôle de l'étape de nettoyage doit aussi passer par l'élaboration d'une cartographie des risques permettant une analyse prévisionnelle des risques liés au nettoyage. Cette analyse est réalisée via la méthode d'Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité (AMDEC). Des moyens de maîtrise sont alors proposés dans le but de diminuer chaque risque identifié. Le suivi quotidien des non-conformités complète cet outil par un inventaire des points non conformes aux exigences du processus de nettoyage. Il permet de définir les actions préventives ou correctives à mettre en œuvre.

Cette étude a pour objectif d'évaluer l'intérêt du nettoyeur vapeur comparativement au bac à ultrasons, pour la prise en charge des dispositifs médicaux complexes à creux creux.

**I Matériels & Méthodes**

La souillure « type » utilisée est du sang humain prélevé en l'absence d'anticoagulant chez un sujet sain de sexe féminin. Les résidus protéiques éventuellement encore présents sur les dispositifs après application de la procédure institutionnelle (pré-désinfection, +/- pré-nettoyage, nettoyage) sont élués dans une solution de dodécylsulfate de sodium (SDS 20%, Sigma® 0,1%, NaCl 0,9%). Le SDS est un tensioactif couramment utilisé pour ses capacités

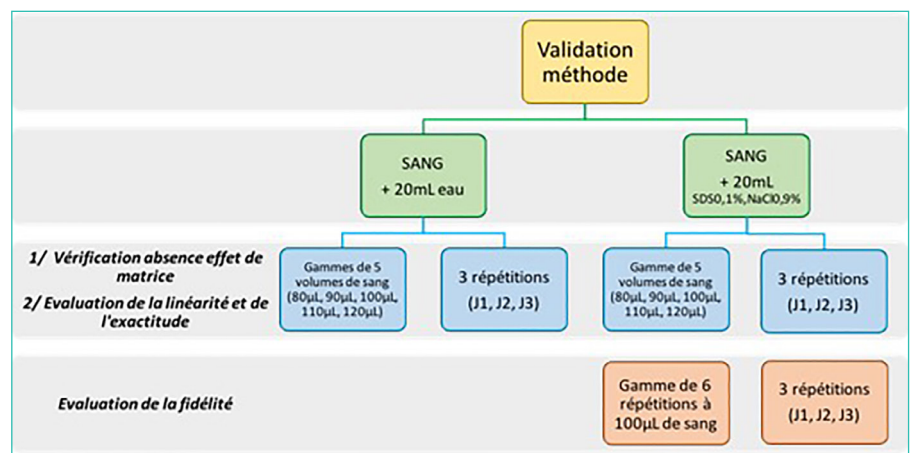


Figure 1 : Etapes de validation de la méthode BCA

à éluer les protéines (11). La teneur en protéine résiduelle totale exprimée par DM est quantifiée dans cette solution d'élution à l'aide d'un kit de dosage BCA à 562 nm (Novagen®).

#### A. Validation de la méthode BCA

La méthode de dosage BCA mise en œuvre pour quantifier les protéines résiduelles du sang pouvant être encore présentes sur les dispositifs médicaux à l'issue des essais a été validée par une procédure adaptée du référentiel ICH Q2(R1). Les étapes de validation de la méthode BCA sont schématisées dans la Figure 1.

L'absence d'interférence dans le dosage en présence de solution d'élution (SDS 20%, Sigma® 0,1%, NaCl 0,9%) (effet de matrice), la linéarité et l'exactitude ont été vérifiées en réalisant 2 gammes répétées sur 3 jours (Tableau III).

L'absence d'effet de matrice est vérifiée par comparaison des pentes et ordonnées à l'origine des deux droites entre les gammes avec et sans SDS (p-valeur égalité des pentes = 0,243 ; p-valeur égalité des ordonnées à l'origine = 0,545). Nous concluons à l'absence d'effet de matrice significatif au seuil  $\alpha=5\%$  (système de référence = gamme 1).

La linéarité de la gamme sur l'ensemble de l'étendue de concentration de sang a été vérifiée par une analyse ANOVA (p-valeur régression=0,0005 ; p-valeur linéarité = 0,9290) et en considérant les coefficients de déterminations  $R^2$  satisfaisants, nous concluons que la régression est significative et qu'il y a une absence de manque d'ajustement linéaire au seuil  $\alpha=5\%$ .

L'exactitude de la méthode a été vérifiée par calcul de recouvrement réalisé sur chaque niveau de gamme (recouvrement moyen = 99,99%, IC 95% : [99,48% ; 100,50%]). La méthode est considérée comme exacte.

La fidélité de la méthode a été vérifiée sur la solution standard de sang à 100  $\mu\text{L}/20\text{mL}$  dosée à 6 reprises par jour sur une période de 3 jours en condition de fidélité intermédiaire. Le coefficient de variation de répétabilité = 5,3% et le coefficient de variation de la reproductibilité = 5,8%, ce qui est considéré comme satisfaisant. La méthode est donc considérée comme fidèle.

La méthode de dosage des protéines résiduelles en présence de SDS 0,1%, NaCl 0,9% est considérée comme validée au regard de l'ensemble de ces critères.

**Tableau III : Gammes d'étalonnage avec sang humain prélevé dans un tube sans anticoagulant**

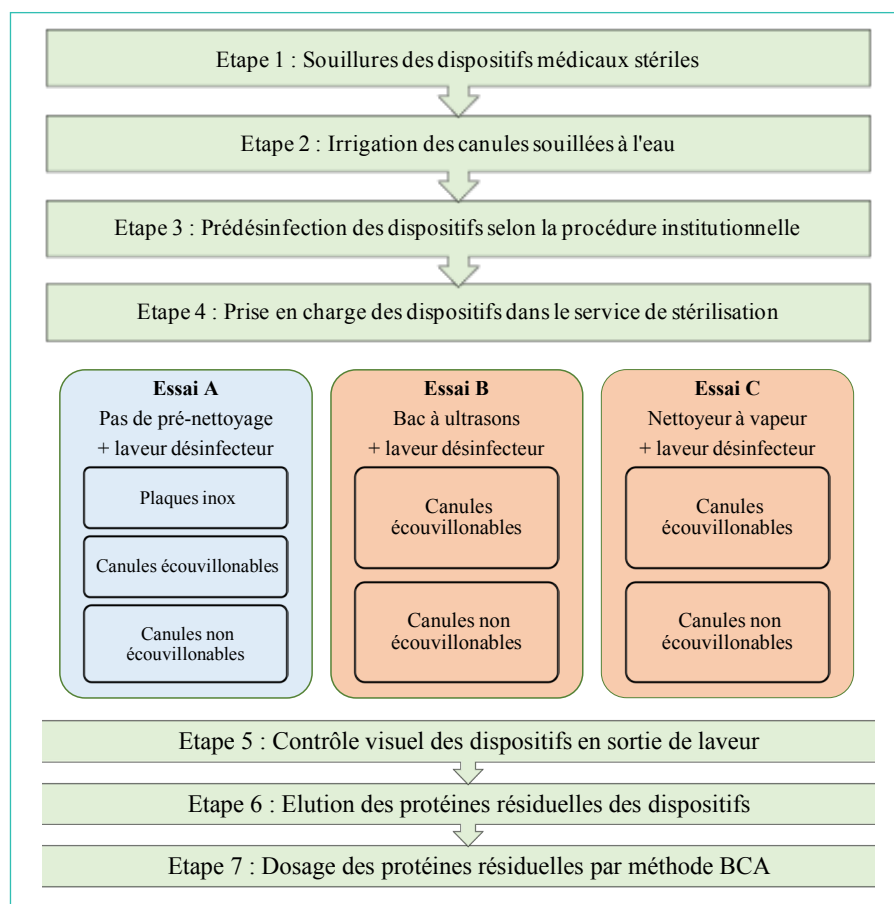
Gammes d'étalonnage	Niveaux de gamme ( $\mu\text{L}/20\text{mL}$ )	Répétitions
Gamme 1 : sang + 20 mL eau	80 $\mu\text{L}$ , 90 $\mu\text{L}$ , 100 $\mu\text{L}$ , 110 $\mu\text{L}$ et 120 $\mu\text{L}$	Jour 1 : 0,01009X+0,03983 ( $R^2=0,987$ ) Jour 2 : 0,00858X+0,03714 ( $R^2=0,979$ ) Jour 3 : 0,00643X+0,22849 ( $R^2=0,982$ )
Gamme 2 : sang + 20 mL SDS 0,1 %, NaCl 0,9%	80 $\mu\text{L}$ , 90 $\mu\text{L}$ , 100 $\mu\text{L}$ , 110 $\mu\text{L}$ et 120 $\mu\text{L}$	Jour 1 : 0,00694X+0,15436 ( $R^2=0,993$ ) Jour 2 : 0,00561X+0,25619 ( $R^2=0,925$ ) Jour 3 : 0,00688X+0,18854 ( $R^2=0,999$ )

#### B. Essais sans mise en situation défavorable (Cas 1)

Comme l'illustre le protocole présenté en Figure 2, deux typologies d'essais ont été réalisées dans cette étude. D'une part, des essais comportant une pré-désinfection suivie d'un passage en laveur désinfecteur durant un cycle « instruments » de 1h15 sans étape de pré-nettoyage (essais A). D'autre part, deux procédures alternatives pour lesquelles une étape supplémentaire de pré-nettoyage par passage dans un bac à ultrasons (essais B) ou au

nettoyeur à vapeur (essais C) ont été investiguées. Les dispositifs médicaux utilisés pour l'étude sont :

- Des plaques en inox simple (4cm x 1,5 cm), utilisées en tant que témoin de nettoyage simple sans pré-nettoyage,
- Des canules écouvillonnables (CE) de 2,8 mm de diamètre interne et 95 mm de long,
- Des canules non écouvillonnables (CNE) de 0,6 mm de diamètre interne



**Figure 2 : Présentation des étapes de l'essai.**

et 115 mm de long. Ces deux dernières sont considérées comme dispositifs médicaux complexes à corps creux (Figure 3).

**Etape 1 :** Les plaques en inox, les canules écouvillonnables et non-écouvillonnables sont souillées avec environ 100 µL de sang que nous avons pesé.

**Etape 2 :** Chaque canule est irriguée avec 2 mL d'eau déminéralisée dans les 10 minutes qui suivent le dépôt de la souillure (simulation de l'irrigation per-opératoire).

**Etape 3 :** Les dispositifs sont immergés dans un bac de pré-désinfection avec détergent-désinfectant (Salvanios pH7 0,5%) pendant 15 minutes à température ambiante, écouvillonnés (si possible) et rincés à l'eau.

**Etape 4 :** Les dispositifs sont +/- pré-nettoyés et nettoyés selon l'une des trois méthodes suivantes :

- A. passage direct en laveur désinfecteur
- B. pré-nettoyage dans le bac à ultrasons (cycle de 5 minutes à 35kHz, 45 °C) puis passage en laveur désinfecteur
- C. pré-nettoyage au nettoyeur à vapeur (5 secondes) puis passage en laveur désinfecteur

En parallèle, pour chaque série d'essais, une plaque, une canule écouvillonnable et une canule non écouvillonnable sont souillées avec 100 µL de sang et chacune est directement placée dans un tube à essai contenant 20 mL de solution de d'élution (SDS 0,1%, NaCl 0,9%) des protéines résiduelles, sans étape préalable de pré-désinfection, pré-nettoyage et nettoyage. Ces dispositifs correspondent aux témoins de contrôle qui permettent d'évaluer l'étape d'élution et ainsi de contrôler que nous récupérons la totalité des protéines déposées sur chaque dispositif.

**Etape 5 :** Les dispositifs sont récupérés en sortie de laveur désinfecteur et contrôlés à l'œil nu.

**Etape 6 :** Les dispositifs sont placés dans un tube à essai en verre contenant 20 mL d'une solution d'élution des protéines au SDS 0,1%, NaCl 0,9%. Le tube subit trois cycles successifs dans un bac à ultrasons (soit 15 minutes à 35kHz) et une agitation manuelle durant 5 minutes dans le but de décrocher les protéines résiduelles de la surface du DM.

**Etape 7 :** Après homogénéisation, l'absorbance des échantillons et des témoins de contrôle est mesurée au spectrophoto-

mètre à 562nm, selon la méthode de dosage BCA.

D'après la notice technique du fournisseur, le kit BCA utilisé pour déterminer la quantité protéique résiduelle présente une limite de détection théorique à 20 µg/mL (échantillon de mesure de 50 µL prélevé dans 1 mL de solution à doser). Dans les conditions expérimentales de l'étude, la limite de détection est ramenée à 400 µg/DM. En effet, l'échantillon de mesure (50 µL) est prélevé dans le tube à essai contenant 20 ml de solution d'élution à doser.

**C. Essais avec mise en situation défavorable (Cas 2)**

Pour évaluer l'impact des écarts de procédure rencontrés en pratique, nous nous sommes appuyés sur la cartographie des risques du processus de stérilisation. La situation la plus à risque et la plus fréquemment rencontrée correspond à la dessiccation des souillures. Celle-ci survient notamment en fin de journée et les veilles de week-end (unités de stérilisation fermée à partir de 21h et tous les dimanches). Ainsi, l'essai consistait à laisser sécher la souillure de sang durant 12 heures. Le plan d'échantillonnage et les étapes qui suivent la dessiccation sont identiques à ceux présentés dans la Figure 2.

**I Résultats**

Les témoins de contrôle relatifs aux essais A, B et C présentent tous des dépôts sanguins insolubles dans les tubes à essai après l'étape d'élution des protéines.

Lors des essais, deux types de situation ont été évalués :

- Situation suivant la procédure dite institutionnelle (cas 1). Le DM est pris en charge immédiatement après utilisation et le dépôt sanguin n'a pas le temps de sécher.



Figure 3 : Canule écouvillonnable (diamètre interne 2,8 mm) et canule non écouvillonnable (diamètre interne 0,6 mm)

Les différentes procédures de nettoyage envisagées dans l'étude sont reportées en Figure 2.

- Situation critique ne suivant pas strictement la procédure institutionnelle (cas 2). Le DM n'est pas pris en charge immédiatement après utilisation et le dépôt sanguin a le temps de sécher. Il s'agit d'une situation défavorable pour le lavage du DM.

**A. Résultats des essais pour les dispositifs médicaux standards**

L'efficacité du passage des DM standards (plaque en inox) en laveur désinfecteur seul (essai A, Figure 2) a été investiguée en situation critique ou non (cas 1 et 2). Pour l'ensemble des essais, aucune souillure résiduelle n'a été observée. De plus, les teneurs en protéines résiduelles mesurées sont systématiquement inférieures à la limite de détection (<400 µg/DM). Les erreurs standards ne sont donc pas calculables (Tableau IV).

Tableau IV : Résultats pour les DM standards après passage en laveur désinfecteur

Type d'échantillon	Nombre d'échantillons	Quantité moyenne de protéines résiduelles (µg/DM)	Erreur standard (µg/DM)
Plaque inox Sang séché	n=2	< 400	NA
Plaque inox Sang séché	n=2	< 400	NA

(NA : non accessible)

**Tableau V : Résultats des contrôles visuels pour les canules écouvillonnables et non écouvillonnables: (+) présence de souillures visibles à l'œil nu ; (-) absence de souillures visibles à l'œil nu.**

Type de pré-nettoyage	Essai A Pas de pré-nettoyage		Essai B Bac à ultrasons		Essai C Nettoyeur à vapeur	
Type de nettoyage	Laveur désinfecteur					
Type de situation	Cas 1 Sang non séché	Cas 2 Sang séché	Cas 1 Sang non séché	Cas 2 Sang séché	Cas 1 Sang non séché	Cas 2 Sang séché
Canule écouvillonnable (n=5 par série d'essais)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Canule non écouvillonnable (n=5 par série d'essais)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)

## B. Résultats des essais pour les dispositifs médicaux à corps creux

### 1. Contrôle visuel

Les résultats pour les dispositifs médicaux à corps creux observés lors du contrôle visuel en sortie de laveur désinfecteur sont résumés dans le Tableau V. L'efficacité des différentes procédures de nettoyage (essais A, B et C, Figure 2) sur les dispositifs médicaux à corps creux a été investiguée en situation critique ou non (cas 1 et 2). Les observations de souillures résiduelles à l'œil nu des différents DM en sortie de laveur sont reportées dans le Tableau V.

### 2. Dosage protéique

Les résultats des dosages protéiques résiduels pour les canules écouvillonnables et non écouvillonnables en sortie de laveur désinfecteur sont résumés dans le Tableau VI.

Une synthèse des résultats du Tableau VI collectés au cours des différents essais de nettoyage en situation critique (cas 2) ou non (cas 1) est illustrée dans le Figure 4.

## I Discussion

Certains dossiers techniques industriels visant à évaluer les procédures de nettoyage ou le choix de certains détergents sur les DM, reposent sur l'utilisation de « souillure test » constituée de sang de bœuf citraté (qu'il est possible de coaguler avec du chlorure de calcium) ou de sang de mouton défibriné (4). Or, au même titre que l'héparine, le citrate ou l'absence de fibrine empêche la coagulation du sang, ce qui pourrait entraîner une surévaluation de l'efficacité réelle des procédures testées. Dans l'objectif d'être le plus proche

de la pratique hospitalière, le dépôt utilisé pour souiller les DM dans le cadre de cette étude est un échantillon sanguin prélevé en absence d'anticoagulant.

La présence de fibrine dans le sang humain permet au sang d'adhérer aux surfaces solides, notamment aux dispositifs médicaux. Une recherche de protéines résiduelles totales sur les DM est donc intéressante pour valider la procédure de nettoyage à l'échelle moléculaire. La recherche de résidus protéiques se justifie d'autant plus que le prion est une protéine qui acquiert une conformation structurale anormale lui conférant la propriété de s'accumuler dans le système nerveux central et de créer des lésions irréversibles conduisant à la démence et à la mort. Comme indiqué dans le *Guide de validation du nettoyage et de la désinfection chimique*

**Tableau VI : Résultats des dosages protéiques résiduels pour les canules écouvillonnables et non écouvillonnables**

Type de pré-nettoyage	Quantité moyenne de protéines résiduelles (µg/DM)					
	Essai A Pas de pré-nettoyage		Essai B Bac à ultrasons		Essai C Nettoyeur à vapeur	
Type de nettoyage	Laveur désinfecteur					
Type de situation	Cas 1 Sang non séché	Cas 2 Sang séché	Cas 1 Sang non séché	Cas 2 Sang séché	Cas 1 Sang non séché	Cas 2 Sang séché
Canule écouvillonnable	<400 NA	<400 NA	<400 NA	<400 NA	<400 NA	<400 NA
Nombre d'échantillons	4	4	5	5	5	5
Canule non écouvillonnable	574,52 118,519	1448,6 651,852	3984,4 1936,8	3353,2 841,77	<400 NA	934,4 868,6
Nombre d'échantillons	4	4	5	5	5	4

(NA : non accessible)

manuels des dispositifs médicaux rédigé par la DGKH, la DGSV et l'AKI (5), le dosage protéique n'a d'intérêt que si le dispositif médical est visuellement propre. Il est évident que si l'œil nu détecte la présence de souillure, le seuil d'acceptabilité est *a fortiori* dépassé (12). Ainsi, une méthode de dosage protéique trouve son intérêt en 2<sup>ème</sup> ligne, lorsque la conception du dispositif médical ne permet pas le contrôle visuel, pour des campagnes d'évaluation des pratiques sous forme d'audits, de cartes de contrôle ou encore pour des tests dédiés à des dispositifs médicaux pour lesquels le niveau d'assurance propreté est douteux, notamment lors de sa conception (13).

La méthode de dosage utilisée pour notre étude doit permettre une détection protéique plus sensible que le contrôle visuel, notamment pour les DM non écouvillonnables, pour lesquels le contrôle visuel (œil nu, loupe ou optique) n'est pas réalisable. La méthode BCA présente les meilleures performances globales en matière de sensibilité de détection, de gamme d'utilisation, de reproductibilité (CV 10–15%), de compatibilité avec les substances non protéiques dans l'échantillon, de praticité et de coût. Son signal linéaire permet d'avoir une absorbance directement proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans la solution et peut être estimée par comparaison avec une protéine standard telle que l'albumine bovine sérique (BSA) ou à un échantillon étalon (14, 15, 16). La méthode BCA présente peu de variabilité du signal selon les protéines, ce qui est essentiel pour la fiabilité de mesure des protéines hétérogènes ou particulières comme des protéines membranaires, ou des mélanges complexes (extraits cellulaires) (17). Enfin, la méthode BCA est tolérante à une gamme de détergents ioniques et non-ioniques tels que NP-40, Triton X-100 et aux agents dénaturants tels que l'urée, qui ont tendance à interférer avec d'autres méthodes de quantification de protéines colorimétriques (15). La notice technique du fournisseur du kit BCA utilisé pour l'étude renseigne une liste de substances compatibles pour l'analyse et la solution d'éluion (SDS 0,1% ; NaCl 0,9%) utilisée pour les essais en fait partie. Cependant, nous avons identifié une limite à l'utilisation du kit BCA dans les conditions expérimentales de notre étude. En effet, la limite de détection correspond à 400 µg/DM, valeur supérieure

aux diverses normes ISO ou recommandations émises. Ce paramètre nous empêche d'avancer des conclusions fermes et tranchées puisque nous ne pouvons juger si une absorbance nulle révèle réellement l'absence totale de protéines résiduelles. Toutefois, ces premiers résultats mettent en avant des faisceaux de preuves qu'il faudra confirmer par une méthode de détection plus sensible telle que le kit microBCA commercialisé par Thermo Fischer Scientific. Cette version spécialisée du dosage protéique BCA permet la quantification des protéines d'échantillons dilués. Cependant, la lourdeur de la méthode BCA ainsi que les moyens humains et budgétaires alloués aux services de stérilisation ne permettent pas son utilisation en routine.

L'efficacité de différentes procédures de nettoyage a été évaluée sur deux types de DM tels que proposés dans le protocole de la Figure 2. Pour tous les témoins de contrôle des essais A, B et C, des dépôts de sang insolubles ont été observés dans les échantillons à doser. Ainsi, l'obtention d'une solution protéique résiduelle homogène et reproductible, à la suite de l'étape d'éluion, ne peut être réalisée. En conséquence, le dosage des protéines résiduelles encore présentes sur ces DM sera soit sous-estimé, soit surestimé. Il en est de même pour les échantillons des essais A et B présentant des caillots de sang visibles en sortie de laveur désinfecteur (Tableau V). Ces résultats montrent la

nécessité absolue d'une action mécanique (écouvillonnage) avant le lavage pour les DM souillés par un dépôt sanguin susceptible de coaguler voire de sécher (cas 2). Les résultats reportés dans le Tableau V montrent que dans le cas des canules écouvillonnables (CE) aucun résidu sanguin n'a été visuellement observé, quelle que soit la procédure utilisée (essais A, B ou C) et la situation (cas 1 et 2). En complément, comme le montre le Tableau VI et l'illustre la Figure 4, les quantités de protéines résiduelles dosées en fin de procédure sont systématiquement inférieures à la limite de détection (400 µg/DM) du système de mesure utilisé. Toutefois, nous ne pouvons pas affirmer l'absence totale de résidus protéiques ou à des niveaux de traces acceptables tels que recommandés dans le *Guide de validation du nettoyage et de la désinfection chimique manuels des dispositifs médicaux* (5).

Dans le cas des canules non écouvillonnables (CNE), le passage en laveur désinfecteur seul (essai A) ou avec pré-nettoyage préalable au bac à ultrasons (essai B) n'est pas suffisant pour obtenir des canules exemptes de résidus sanguins visibles à l'œil nu (Tableau V). Ceci même dans le cas favorable où les souillures n'ont pas séché au préalable (cas 1). Par contre, les CNE ne présentent aucun résidu sanguin visible lorsqu'elles sont pré-nettoyées au nettoyeur à vapeur avant passage en laveur désinfecteur (Tableau V, essais C). Les résultats reportés dans le Tableau VI et illus-

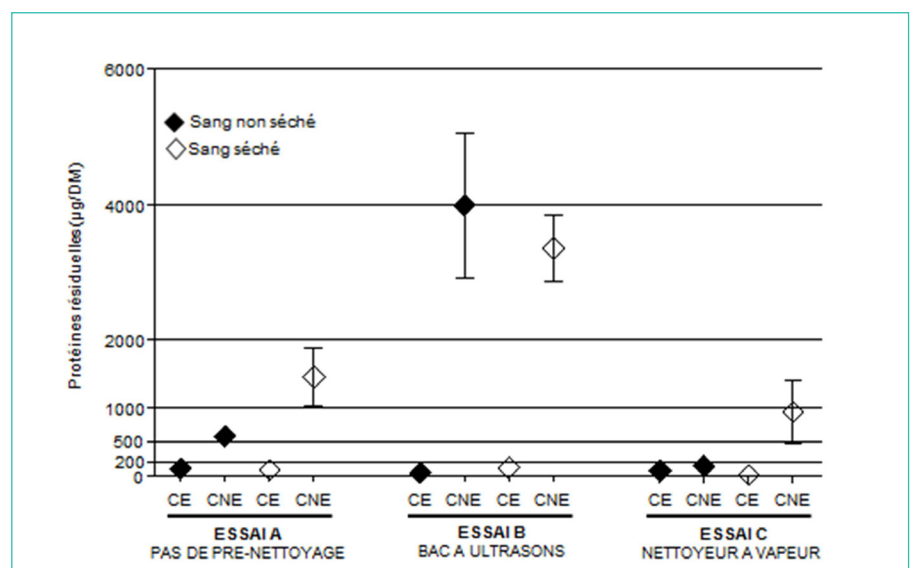


Figure 4 : Représentation graphique des quantités moyennes de protéines résiduelles totales (µg/DM) obtenues lors des essais A, B, C

trés sur le Figure 4 montrent que, pour les CNE, la quantité de protéines résiduelles est inférieure au seuil de détection uniquement en cas d'utilisation du nettoyeur vapeur (essais C) sur un DM souillé par du sang non séché au préalable (cas 1). Dans les autres cas, la quantité de protéines résiduelles est systématiquement supérieure à la limite de détection (400 µg/DM), quelle que soit la procédure mise en œuvre. Ces résultats montrent que l'utilisation du nettoyeur vapeur à la place du bac à ultrason pourrait dans certains cas s'avérer plus efficace (situation où le sang n'a pas séché). Comme l'illustre l'amplitude des intervalles de confiance reportés dans le Figure 4, une dispersion importante de la quantité de protéines résiduelles mesurée est généralement observée. Ces résultats peuvent s'expliquer par le faible nombre de plaques et canules testées mais probablement aussi par la grande difficulté à obtenir une procédure de pré-nettoyage reproductible et par l'inadaptation de la procédure de dosage lorsque des caillots de sang sont visibles à l'œil nu dans les tubes à essai. Les quantités de protéines résiduelles mesurées sur les CNE, après passage au nettoyeur à vapeur, peuvent être considérées comme inférieures à celles observées pour ces mêmes DM après passage au bac à ultrason (p-valeur = 0.002). Ces résultats confirment l'avantage fonctionnel du nettoyeur à vapeur même si, de manière globale, aucune méthode de pré-nettoyage n'est systématiquement satisfaisante.

Rappelons qu'en pratique, le nettoyage des dispositifs médicaux doit se faire selon les instructions des fabricants. Encore faut-il que ces recommandations soient compatibles avec les procédés opérationnels dans les services de stérilisation ! Le nettoyeur à vapeur, encore peu connu dans ce domaine d'application, n'apparaît pas dans ces instructions, bien que son utilité ait été avancée par diverses études (6, 18). Notre étude vient conforter cette idée. Néanmoins, le manque d'information quant à la qualification de cet équipement et le fait que son utilisation soit opératoire dépendante sont des limites à ne pas négliger. Son utilisation mériterait d'être mieux maîtrisée, tant en matière de reproductibilité que de risques pour le personnel. L'autre problématique est de savoir si cet équipement permet d'atteindre le niveau d'assurance propreté attendu et notam-

ment d'avoir la certitude que la vapeur atteint bien l'extrémité distale des lumières (13). Il faut également se poser la question du risque de coagulation des protéines lié à la haute température de la vapeur.

Pour les autres DM dont le design ne présente pas de complexité majeure, nous avons objectivé que le respect strict de la procédure institutionnelle (ne pas laisser sécher les souillures en fin d'intervention en irrigant, réaliser la pré-désinfection et l'écouvillonnage) est un pré requis incontournable et efficace dans la prise en charge des DM. Toutefois, notre étude permet de reconsidérer la place des DM pour lesquels un contrôle visuel n'est pas possible et pour lesquels les outils de détection protéique prêts à l'emploi ne sont pas adaptés (Clean Trace® par exemple) notamment pour des DM non écouvillonnables. Avec les équipements dont nous disposons actuellement en stérilisation, il est impossible de garantir le niveau de propreté requis pour les canules non écouvillonnables et il semble indispensable de remplacer les dispositifs médicaux qui ne peuvent être pris en charge de façon sécuritaire par de l'usage unique, et ce, même si cela représente un surcoût.

## Conclusion

Au Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, la propreté des dispositifs médicaux réutilisables est contrôlée visuellement à l'œil nu ou à la loupe. Cependant, il existe des dispositifs médicaux complexes pour lesquels ce contrôle s'avère irréalisable, en particulier pour les dispositifs médicaux à corps creux. Faute de pouvoir visualiser les souillures résiduelles, nous avons souhaité objectiver et évaluer l'efficacité du pré-nettoyage avec le nettoyeur à vapeur versus le bac à ultrasons afin de valider le processus de nettoyage des dispositifs médicaux à corps creux.

Grâce à la méthode de dosage protéique à l'acide bicinchoninique (BCA), nous avons réuni un faisceau de preuves d'une meilleure efficacité du nettoyeur à vapeur par rapport au bac à ultrasons pour le pré-nettoyage des dispositifs médicaux à corps creux souillés par du sang. Cependant, il est indispensable d'en rendre son utilisation plus reproductible et plus sûre. D'autre part, la méthode au BCA que nous avons utilisée a montré ses limites en matière de sensibilité, et un prochain travail pourrait

exploiter la méthodologie d'essai ici décrite en utilisant le kit microBCA dont la sensibilité est plus importante.

Notre travail a également permis d'objectiver que les dispositifs médicaux non écouvillonnables ( $d < 0.6$  mm) doivent être remplacés par de l'usage unique puisqu'il est impossible d'en garantir un niveau d'assurance propreté satisfaisant et sécuritaire pour le patient. Ainsi, la conception d'un dispositif médical impacte directement son aptitude à être correctement nettoyé. Si le fabricant est tenu de fournir les modalités de nettoyage de son dispositif médical, celles-ci doivent être en accord avec la réglementation et les normes applicables en France. Une collaboration entre les utilisateurs et les fournisseurs, devrait aider dans cette démarche pour autant que les utilisateurs signalent les difficultés rencontrées et leurs contraintes. Une vidéo de sensibilisation destinée aux industriels concepteurs de dispositifs médicaux réalisée au sein des services de stérilisation du CHU Grenoble Alpes et des Hospices Civils de Lyon illustre ces propos (19). ■

## Références

1. Prusiner SB, Hsiao KK. Human prion diseases. *Ann Neurol*. 1994 Apr;35(4): 385-395.
2. Guide de Bonnes Pratiques de Désinfection des dispositifs médicaux, Conseil supérieur d'hygiène publique de France, secteur prophylaxie des maladies transmissibles, Comité Technique National des Infections Nosocomiales, 1998 [Internet]. [cited 2016 Aug 6]. Available from: [http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/Ministere\\_Sante/1998\\_desinfection\\_ministere.pdf](http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/Ministere_Sante/1998_desinfection_ministere.pdf)
3. Guide des bonnes pratiques de pharmacie hospitalière [Internet]. 2001 [cited 2016 Jul 19]. Available from: <http://affairesjuridiques.aphp.fr/textes/arrete-du-22-juin-2001-relatif-aux-bonnes-pratiques-de-pharmacie-hospitaliere/telecharger/600292>
4. Binder A. Méthodes de contrôle des processus de nettoyage, de désinfection et de stérilisation, Société Suisse de Stérilisation Hospitalière [Internet]. [cited 2017 Dec 2]. Available from: [http://www.sssh.ch/uploads/media/f0203\\_Binder\\_F.pdf](http://www.sssh.ch/uploads/media/f0203_Binder_F.pdf)
5. Leitlinie von DGKH, DGSV und AKI für die Validierung und Routineüberwachung maschineller Reinigungs- und thermischer Desinfektionsprozesse für Medizinprodukte und zu Grundsätzen der Geräteauswahl. Zentral Sterilisation [Internet]. 2008; Available from: [http://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/leitlinien/validierung\\_weiss.pdf](http://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/leitlinien/validierung_weiss.pdf)



6. Beaugas A. Procédés de pré nettoyage: nettoyeurs vapeur - traitements ultrasons, 36<sup>èmes</sup> Journées Nationales d'Études sur la Stérilisation [Internet]. 2014 [cited 2016 Mar 5]. Available from: <http://docplayer.fr/9253772-Annette-beaugas-praticien-hospitalier-pharmacienne-ch-paimpol-marie-agnes-gaillard-assistante-specialiste-chu-limoges.html>
7. O'Connor H, Armstrong N. An evaluation of washer-disinfectors (WD) and dishwashers (DW) effectiveness in terms of processing dental instruments. *J Ir Dent Assoc*. 2014 May;60(2): 84–89.
8. McCormick PJ, Kaiser JJ, Schoene MJ, Shlatz DL, Norton SE. A designed experiment for evaluation of the OPA method for cleaning studies of medical devices. *Biomed Instrum Technol*. 2007 Aug;41(4): 324–331.
9. Fushimi R, Takashina M, Yoshikawa H, Kobayashi H, Okubo T, Nakata S, et al. Comparison of adenosine triphosphate, microbiological load, and residual protein as indicators for assessing the cleanliness of flexible gastrointestinal endoscopes. *Am J Infect Control*. 2013 Feb;41(2): 161–164.
10. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Malleria AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem*. 1985 Oct;150(1): 76–85.
11. Hager D, Burgess R. Elution of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels, removal of sodium dodecyl sulfate, and renaturation of enzymatic activity: Results with sigma subunit of Escherichia coli RNA polymerase, wheat germ DNA topoisomerase, and other enzymes. *Anal Biochem*. 1980 Dec 1;109: 76–86.
12. Detection of blood residue on various surfaces, HemoCheck™ Sample Policy, 2016 [Internet]. [cited 2018 Jan 28]. Available from: [http://www.healthmark.info/CleaningVerification/HemoCheck/hemocheck\\_sample\\_policy\\_7\\_2016.pdf](http://www.healthmark.info/CleaningVerification/HemoCheck/hemocheck_sample_policy_7_2016.pdf)
13. Ney H. Nettoyage des instruments creux: le niveau d'assurance creux: le niveau d'assurance de propreté est-il garanti? Retour d'expérience à la stérilisation centrale des Hôpitaux Universitaires de Genève.
14. Olson BJSC, Markwell J. Assays for determination of protein concentration. *Curr Protoc Protein Sci Editor Board John E Coligan Al*. 2007 May;Chapter 3: Unit 3.4.
15. Friedenauer S, Berlet HH. Sensitivity and variability of the Bradford protein assay in the presence of detergents. *Anal Biochem*. 1989 May 1;178(2): 263–268.
16. Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 1994;32: 9–15.
17. Grintzalis K, Papapostolou I, Georgiou C. Protocol for the quantification of protein ng quantities by a Coomassie Brilliant Blue G-250-based hydrophobic assay. *Protoc Exch [Internet]*. 2009 Oct 27; Available from: <http://www.nature.com/protocolexchange/protocols/617>
18. Bondon A.C., Rousseaux D., Denis C. Le nettoyeur vapeur: intérêt et positionnement dans un service de stérilisation [Internet]. CHRU de Lille, Secteur Stérilisation, 2 avenue Oscar Lambret, 59037 Lille. Available from: [http://www.cefh-ceps.com/actualite/posters/35ieme\\_journee/Poster%20n%C2%B0%2014.pdf](http://www.cefh-ceps.com/actualite/posters/35ieme_journee/Poster%20n%C2%B0%2014.pdf)
19. CHU Grenoble, Hospices Civils de Lyon, AFS, ECCAMI, -CARE. Processus de stérilisation des DM complexes en milieu hospitalier [Internet]. Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=HnElz59GVJU>