

Méthodes de contrôle des processus de nettoyage, de désinfection et de stérilisation

par Andrea Binder, Sterilgut-, Logistik-, Instrumentenmanagement, Wels (Autriche)

La rédaction se réjouit de pouvoir présenter à ces lectrices et lecteurs, dans cette édition et les deux suivantes, un projet de travail autrichien. Il a été fait pour le cours de formation niveau 3 et poursuit les deux objectifs principaux suivants :

Ce travail de projet poursuit, dans l'ensemble, deux objectifs : d'une part, il constitue une critique théorique des méthodes de contrôle, études, normes actuelles, etc. D'autre part, il vise à élaborer un plan de contrôle clair et praticable pour les laveurs-désinfecteurs et les stérilisateur à vapeur de notre stérilisation centrale en tenant compte des conditions-cadre légales et adaptées à l'état actuel des connaissances et de la technique et si possible des aspects économiques également.

1^e partie:

Méthodes de contrôle des processus de nettoyage et de désinfection des laveurs-désinfecteurs

Longtemps, le contrôle des processus de stérilisation a revêtu une fonction cruciale. Toutefois, un nettoyage soigneux représente la condition sine qua non d'une désin-

fection efficace suivie d'une stérilisation sûre. Par nettoyage, on entend l'élimination de substances indésirables, comme par exemple du sang natif frais, du sang séché ou coagulé, de la fibrine, des graisses, etc. souillant des surfaces internes et externes. Dans ce cadre, je désire attirer votre attention sur les relations et les interactions importantes entre les différents facteurs et paramètres en jeu pour un nettoyage et une désinfection optimal.

Facteurs en jeu lors du nettoyage en machine

Pour un nettoyage optimal, il convient avant tout de déterminer quatre paramètres essentiels (facteurs mécaniques, durée, température, qualité de l'eau), qui - dans le cadre du respect de certaines consignes - doivent être définis dans un rapport adéquat entre eux. Entre autres, une règle importante consiste à établir la température de nettoyage en fonction du type de produit nettoyant et à programmer une durée d'action suffisamment longue.

Une autre consiste à savoir que les limites des paramètres de nettoyage peuvent être modifiées tout en respectant les valeurs

minimales. Une désinfection fiable ne peut avoir lieu que sur du matériel rincé et propre. C'est pourquoi il est nécessaire de contrôler le processus de nettoyage ou le degré de propreté, en sus des mesures de température physique.

Méthodes de contrôle de l'effet du nettoyage/de la désinfection

Les méthodes de contrôle peuvent être considérées, en fonction de leur définition, selon deux points de vue. D'une part, elles peuvent refléter la structure (moment, responsable, cycle de contrôle, etc.) des contrôles, d'autre part elles peuvent être distinguées en fonction des méthodes ou procédures permettant la détection de l'efficacité du processus de nettoyage, ou de désinfection. En principe, on distingue entre contrôle des paramètres du processus (p. ex. contrôle in-process au moyen d'éléments de mesure) et examens des produits finis par échantillons au hasard.

Afin d'avoir une meilleure vue d'ensemble, je considérerai par la suite les méthodes de contrôle individuelles, dans la mesure du possible, sous forme de groupes. L'ordre des méthodes citées ne correspond pas à une

évaluation, car chacune des méthodes, selon le type et le moment de contrôle, possède des avantages et des inconvénients et a sa propre justification. Actuellement, on ne dispose d'aucun procédé de mesure simple qui nous permettrait d'évaluer de manière quantitative toutes les impuretés imaginables. Ainsi, selon le Prof. P. Heeg, Tübingen, le large spectre de variation des souillures possibles ainsi que la difficulté à quantifier le nettoyage représente un problème crucial dans la validation des méthodes de nettoyage et il en a conclu que l'évaluation de l'aptitude d'un dispositif médical à être nettoyé n'est actuellement possible que par la combinaison de plusieurs méthodes d'examen et de souillures-tests correspondant à l'utilisation prévue.

Contrôle visuel

Le contrôle visuel représente sans aucun doute, dans la routine, une méthode d'évaluation importante du succès du nettoyage. Des restes de colorant d'hémoglobine sont reconnaissables à la quantité de 10 µg/cm² seulement. Mais on est rapidement confronté à différentes difficultés. Par exemple, dans l'évaluation d'instruments très petits et présentant des filigranes, on peut s'aider d'une loupe lumineuse. Les limites de contrôle visuel sont très rapidement atteintes dans l'évaluation d'instruments de diamètre intérieur très étroit. Dans une étude multicentrique publiée récemment, on a constaté que 20-50% des instruments déclarés propres présentaient encore 30-90µg de protéines. On peut en conclure que la seule méthode de "contrôle visuel" ne suffit pas à évaluer avec fiabilité le succès d'un procédé de nettoyage.

Souillures-tests

Le projet de norme prEN ISO 15883-1 a encouragé le contrôle de l'effet nettoyant au moyen de souillures-tests. La souillure-test doit être déterminée en fonction de l'usage prévu de l'appareil de nettoyage et de désinfection. et il convient de choisir celle-ci de manière à imiter la souillure la plus difficile à éliminer rencontrée en pratique. L'annexe

B de la prEN ISO 15883-1 indique une liste de différentes souillures-tests et méthodes de test les plus courantes sur le plan national selon le type de souillure, qui peuvent cependant fournir des résultats variables.

Pour le contrôle du type de souillure "instruments chirurgicaux" en Autriche, on utilise la souillure-test selon Koller. Celle-ci est composée de nigrosine (afin d'améliorer l'évaluation visuelle), de farine d'avoine, d'oeuf, de flocons de pommes de terre séchées et d'eau. Ces ingrédients doivent être mélangés dans un ordre précisément établi. La souillure-test prête à l'emploi est appliquée à la main sur les instruments à examiner, les parois du laveur-désinfecteur, etc.. Pour éliminer la souillure-test, le jet d'eau doit être dirigé dans toutes les directions avec une pression suffisante. Ceci n'est pas toujours possible en cas d'excès de souillures, de pression hydrique déficitaire ou de performance insuffisante, ce qui a pour conséquence une invalidation du processus.

Les souillures-tests utilisées en Europe sont très variables: en Allemagne, la souillure-test pour le type de saleté "instruments chirurgicaux" est composée de sang, de jaune d'oeuf et de pouding de semoule, en Angleterre de sang de cheval défibriné, de jaune d'oeuf et de mucine de porc déshydratée, en Suède de sang de boeuf citraté coagulé avec du chlorure de calcium et aux Pays-Bas, elle se compose de fraction d'albumine sérique de boeuf de type 5, de mucine d'estomac de porc de type 3 et de fraction de fibrinogène de boeuf 1. Dans de nombreux pays, pour d'autres types de souillures, comme p. ex. sur les instruments d'anesthésie, appareils en verre, endoscopes souples, on applique d'autres souillures-tests en fonction du pays et selon prEN ISO 15883-1.

Bio-indicateurs avec souillure-test et échantillon

En Allemagne, on applique différentes souillures-tests sur des échantillons en les contaminant par ailleurs avec des organismes-tests. Cette méthode de test repose sur l'hypothèse selon laquelle la réduction des germes est parallèle à l'élimination de la souillure, ce qui signifie que la

mesure de la réduction des germes permet de prédire l'efficacité du nettoyage. On applique sur le produit-test la bactérie thermorésistante *Enterococcus faecium* ATCC 6057, un germe-test de laboratoire apathogène. Il convient d'obtenir une réduction des germes de 5 décimales logarithmiques, ce qui correspond à un facteur de réduction de 5 si le taux de germes de départ > 107 UFC/échantillon (UFC = unité formant colonie).

Dans le contrôle du type RKI (programme des épidémies) on utilise depuis 1980 des échantillons dont le taux de germes de départ est plus élevé (> 108 UFC/échantillon), le but étant d'obtenir la destruction totale des germes-tests.

Le choix de l'échantillon et de la souillure-test dépend du matériel nettoyé à contrôler (type de souillure):

Pour le contrôle du type de souillure "instruments chirurgicaux" la souillure avec bouillie de semoule, ou avec du sang de mouton défibriné est répartie sur des vis. Cela représente la méthode standard nationale (bio-indicateurs selon RKI). Pour le matériel d'anesthésie, on utilise des vis et des segments de tuyau avec du sang de mouton défibriné. Le sang de mouton défibriné réactif à la protamine peut être utilisé dans le contrôle des endoscopes souples (échantillons de contrôle: 2 tuyaux m), les endoscopes rigides et les instruments MIC (échantillons de contrôle : Dummy) ; pour le contrôle des récipients, on utilise l'albumine de boeuf avec mucine appliquée sur des plaquettes.

Bio-indicateurs sans souillure-test

L'industrie met également à disposition un test qualitatif pour le contrôle de l'effet désinfectant. L'organisme-test est également l'*Enterococcus faecium* ATCC de souche 6057. Les germes-tests se trouvent à une concentration minimale de 10⁵ sur un portecoton, inclus dans une membrane soudée imperméable aux bactéries afin d'éviter toute contamination supplémentaire du matériel à désinfecter et de la machine, et tout détachement des bactéries-tests. De plus, la membrane imperméable aux bactéries est revêtue d'une enveloppe de plastique solide.

Les papiers-tests sont fixés dans l'appareil de nettoyage et de désinfection et soumis au programme correspondant. Le résultat est obtenu après 7 jours, car le porte-coton doit être mis en culture pendant une semaine dans un bouillon de caséine-farine de soja-peptone à 37 °C. Ce test n'autorise cependant aucune prédiction sur la qualité des performances nettoyantes (spectre de rinçage, etc.) du laveur-désinfecteur.

Indicateurs de nettoyage – corps-tests de simulation

Pour le contrôle de l'effet nettoyant, on peut utiliser en alternance des indicateurs de nettoyage standardisés possédant une forme définie et une souillure-test déterminée. L'élimination de la souillure-test peut être déterminée sur le plan quantitatif au moyen du contrôle visuel, le cas échéant chimique également.

Echantillon à fente

Le système de contrôle est composé d'un échantillon à fente présentant une souillure-test définie, similaire au sang humain (hémoglobine et fibrine), apposé sur une plaquette d'acier inox. La formation de fentes permet de simuler des zones à problèmes, comme par exemple des articulations des instruments chirurgicaux. Pour l'exécution du test, les corps-tests sont placés dans les plateaux à instruments selon un schéma établi au moyen d'un clip de plastique et introduits dans le programme correspondant. Au terme du programme, les corps-tests sont évalués de manière visuelle. Le résultat peut être déterminé au moyen d'une assistance à l'interprétation. Des prestations mécaniques (aspersion) et chimiques (produit de nettoyage) déficitaires peuvent être reconnues en fonction de leur position. Depuis peu, on dispose d'un nouveau échantillon à fente sur le marché qui possède, en lieu et place de souillure corrélée au sang humain, une souillure résistante à base de protéines, qui ne peut être éliminée qu'à l'aide d'un effet intense dénaturant les protéines. La souillure se base sur de l'albu-

mine soluble, qui se transforme lors d'une seconde étape seulement, en une forme non hydrosoluble. Une dénaturation par la chaleur à l'eau à 90 °C solidifie les chaînes de protéines, qui adhèrent en outre très fortement à la surface d'acier de l'échantillon. Cette souillure à base de protéines ne se dissout entièrement qu'au moyen de cycles de nettoyage avec un produit nettoyant fortement alcalin et après une durée d'action de 10 minutes à 90 °C.

Echantillon de simulation pour cavités

L'échantillon a été conçu pour contrôler l'effet nettoyant des instruments à lumière étroite (instruments MIC, etc.). Ce système-test est composé d'un échantillon en acier inox à l'intérieur duquel se trouve une souillure-test standardisée similaire à du sang humain. L'échantillon, qui est muni à l'une de ses extrémités d'un raccord pour Luer lock, est placé sur une fixation correspondante et introduit dans le programme à tester. A la fin du programme, les échantillons sont également examinés à l'œil nu et le résultat peut être évalué à l'aide d'un auxiliaire d'interprétation.

Détection des protéines

Après utilisation, les souillures provenant du patient, adhérant à l'instrument, contiennent en général des protéines. Afin d'évaluer la pureté, en sus de l'inspection visuelle importante, il convient donc de procéder, à une analyse des protéines. L'analyse des protéines permet aussi de distinguer les taches de résidus de protéines de taches dues à la corrosion ou à des dépôts de silicate.

Test à la ninhydrine

Le test à la ninhydrine est mentionné dans le prEN ISO 15883-1 comme méthode de détection de souillures résiduelles issues des protéines. Pour ce test, il faut disposer de porte-coton pour frottis (avec poignée en plastique), de 2 % de ninhydrine dans 70 % d'isopropanol, d'eau stérile distillée et d'un incubateur (110 °C). Le porte-coton est

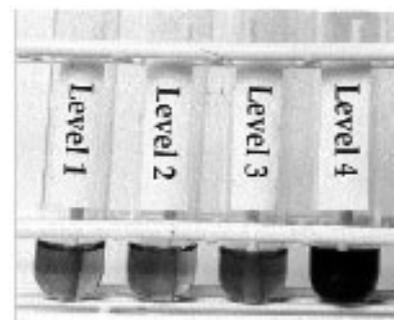
humidifié d'eau stérile, puis l'instrument est frotté. Ensuite, on verse une goutte du réactif à la ninhydrine sur le porte-coton qui doit sécher pendant cinq minutes à température ambiante. Si, après cinq minutes, aucune réaction n'est visible, le bâtonnet d'ouate doit être incubé pendant une heure à 110 °C. afin d'obtenir un résultat probant, et le cycle doit être interrompu immédiatement avant la phase de désinfection pour pouvoir déterminer les résidus de protéines sur les instruments. Aux Pays-Bas, le test a été évalué dans deux hôpitaux pour déterminer son applicabilité à la pratique. Il s'est avéré que le test du frottis à la ninhydrine, en cas de contamination non visible, s'est avéré positif dans moins de 4 % des cas seulement. Cependant, dans les hôpitaux, une majorité d'instruments présente de toute façon des souillures résiduelles à l'inspection visuelle, raison pour laquelle la valeur ajoutée du test à la ninhydrine est limitée. Cette étude doit encore être poursuivie.

Méthode de Biuret

La méthode de Biuret est un procédé chimique qui permet la détermination semi-quantitative des protéines au-delà de la limite de visibilité. Elle est effectuée au moyen d'un porte-coton et se base sur le fait que les substances positives au Biuret donnent, en solution alcaline, un complexe coloré avec les ions cuivre. Les protéines sont rendues visibles à l'aide d'une coloration en quatre étapes, puis la coloration est comparée à une échelle de couleurs. La méthode de Biuret est relativement simple à effectuer lorsqu'on dispose de l'expérience nécessaire et convient aux examens par échantillonnage. La méthode de Biuret modifiée offre une autre possibilité. Celle-ci s'effectue non pas à l'aide d'un frottis mais au cours d'un procédé de rinçage, lors duquel la majeure partie des protéines potentiellement présentes se dissout et permet d'en déterminer la quantité totale.

Evaluation du dosage des protéines par le méthode de Biuret (Konica « N » Swab-test)

Quantité d'albumine de boeuf mesurée	Détection visuelle	Détection par Swab- N -Test
0 mg / m ₂	Non visible	Niveau 1
15 mg / m ₂	Non visible	Niveau 2
40 mg / m ₂	Non visible	Niveau 3
100 mg / m ₂	Faiblement visible	Niveau 3
1500 mg / m ₂	Visible	Niveau 4



Méthode OPA

La méthode OPA est mentionnée dans la prEN ISO 15883 en tant que procédé permettant d'évaluer les souillures résiduelles à base de protéines. La méthode photométrique par l'o-phthaldialdéhyde sert à la mesure quantitative des résidus de protéines. Cette méthode devrait être effectuée à l'aide d'échantillons munis de souillures contenant des protéines définies. Le prélèvement des corps résiduels doit avoir lieu en fonction de l'étape de nettoyage. C'est pourquoi cette méthode ne convient pas, dans le programme RKI, à la détection de résidus de protéines, car ce programme prévoit un nettoyage et une désinfection combinés au cours de la première étape. La méthode OPA est très fastidieuse et ne peut être effectuée que par un personnel de laboratoire instruit. Elle se justifie donc lors de contrôle de type et de réduction, mais son coût est démesurément élevé pour des contrôles de routine.

Méthode par bioluminescence – ATP

La méthode par bioluminescence est un procédé photométrique lors duquel, à l'aide de la luciférase, la quantité restante d'ATP (adénosine-triphosphate), présent en grandes quantités dans le sang humain, est utilisée comme marqueur de souillures résiduelles après la phase de nettoyage. La méthode ATP permet on aussi bien de mesurer des résidus microbiens que des résidus issus de matériel organique. Cependant, les substances mises en évidence ne peuvent pas être différenciées. Les souillures résiduelles ne contenant pas de sang ne peuvent être détectées. De plus, certains produits de nettoyage peuvent abaisser l'activité de

l'ATP et donc falsifier les résultats de mesure. Pour les instruments de structure compliquée, avec lumière intérieure, etc., ce test ne convient pas car il est effectué selon la technique d'essuyage et nécessite de ce fait une surface relativement régulière à essuyer. La détection d'ATP résiduelle en surface à l'aide de la méthode par bioluminescence convient comme paramètre général du résultat de nettoyage.

Méthodes de contrôle thermoélectrique

Trois paramètres sont essentiels au succès de la désinfection thermique : la température effective de désinfection, la durée d'exposition et le volume d'eau circulante nécessaire à la répartition de chaleur dans la chambre. La température de désinfection peut être suivie à l'aide de senseurs de température ou de thermo-loggers. La norme prEN ISO 15883-1 détermine A_0 comme étalon de destruction des micro-organismes pour les procédés à la chaleur humide, et établit la température nécessaire et la durée d'action: A_0 est l'équivalent temporel en secondes, à 80 °C, pour lequel un effet désinfectant est donné. La valeur D est la

durée nécessaire, à une température donnée, pour abaisser le nombre de germes à 10 % (par étapes de 1 log10). La valeur z est l'élévation de température nécessaire pour réduire la valeur D à 1/10. Si la température fixée est de 80 °C et la valeur z 10, on utilise la notion A_0 . A_0 est la durée de destruction en secondes à 80 °C, et pour une valeur z de 10. Le matériel rincé doit avoir une valeur A_0 de 600 et une température de 80 °C pendant 10 min pour que toutes les bactéries végétatives, champignons et virus thermolabiles soient détruits. Avec une valeur A_0 de 3000, il faut atteindre une température de 90 °C pendant 5 min pour détruire les virus thermostables du matériel rincé.

Le contrôle de l'efficacité thermique désinfectante a lieu au moyen de senseurs thermoélectriques et d'appareils destinés à indiquer la température, dont les exigences techniques (p. ex. le domaine de mesures doit inclure 0 °C à 100 °C) et les étapes exactes de contrôle sont également décrits dans la prEN ISO 15883-1. Il est important que les mesures de températures soient effectuées entre les matériaux rincés, afin de démontrer que toutes les surfaces extérieu-

Règle

température nécessaire durant l'étape de nettoyage en fonction du type de produit nettoyant

Type de produit nettoyant	Température
alcalin	60-70 °C
neutre sans enzymes	45-60 °C
neutre avec enzymes	45 °C

res et intérieures ont atteint la température exigée. Les données sont finalement comparées au contrôle in-process éventuellement à disposition, dont le point de mesure est en général au niveau de l'écoulement.

Le contrôle de température est nécessaire non seulement lors de la phase de désinfection, mais il joue aussi un rôle décisif dans les étapes de nettoyage. En effet, des types de produits nettoyants différents nécessitent une température différente pour atteindre des résultats de nettoyage optimaux.

Lors du contrôle du type et en cas de contrôle des performances, le cas échéant lors de modifications apportées aux appareils, des mesures intensives de température selon pr EN ISO 15883-1 sont exigées. Lors de contrôle de routine, il convient d'établir, dans le cadre d'un concept d'assurance de qualité, à quelle fréquence et sous quelle forme, etc. les appareils doivent faire l'objet de contrôles.

Structure des contrôles

Il est important qu'un appareil puisse fournir dès sa production les performances désirées, qui doivent également être documentées en matière de nettoyage et de désinfection dans les conditions spécifiques de l'établissement. Il est en outre nécessaire d'effectuer des contrôles ou des programmes de contrôle, ou de les faire exécuter à intervalles réguliers.

Contrôle de type

Le contrôle de type est défini comme une série de contrôles visant à établir les données de travail pour un type laveur-désinfecteur. Le contrôle de type ressort du domaine de responsabilité du fabricant. Les données récoltées lors du contrôle de type doivent être conservées à des fins de comparaison pour des contrôles ultérieurs, dans le but d'assurer la sécurité d'exploitation. Le contrôle de type comprend entre autres des contrôles relatifs à l'efficacité du nettoyage, contrôles de température, vérifications microbiologiques, vérifications techniques (portes et fermetures, canalisations, etc.),

vérifications chimiques (propriétés de l'eau, posologie des produits chimiques, etc.).

Validation

La validation est un procédé documenté visant à introduire, enregistrer et interpréter les résultats nécessaires afin de démontrer, qu'un procédé correspond en permanence aux spécifications définies.

La validation se compose de la préparation (contrôle du type ou contrôle d'atelier avec contrôle de livraison consécutif sous la responsabilité du fabricant) et du contrôle des performances (sous la responsabilité de l'exploitant). Afin de pouvoir procéder à un contrôle des performances, il convient de définir des souillures de contrôle représentatives. Le déroulement du programme, la posologie du produit nettoyant, etc. doivent être établis de manière à pouvoir être utilisés de la même manière dans l'exploitation ultérieure. Lors de la validation des appareils de nettoyage et de désinfection selon prEN ISO 15883-1, on contrôle aussi bien l'appareil que ses processus. Le contrôle de l'appareil se concentre sur les caractéristiques techniques et de construction. Dans le contrôle des processus, le contrôle de l'effet nettoyant, en particulier de l'aspersion, et celui de l'efficacité thermique désinfectante sont au premier plan.

Contrôles périodiques/ contrôles de routine

Lors des contrôles périodiques, les performances de l'appareil sont contrôlées selon un "service réduit" 1 à 2 fois par an, la responsabilité de leur exécution étant du ressort de l'exploitant. Parmi les contrôles périodiques, on effectue entre autres un contrôle de la désinfection par thermo-loggers avec comparaison au contrôle in-process existant le cas échéant, un contrôle p. ex. par vis à la bouillie de semoule ou par souillure-test selon Koller, contamination par *Enterococcus faecium*, un contrôle de nettoyage (aspersion) avec indicateurs de nettoyage ou souillure-test, etc. et un contrôle du produit fini pour la détection des protéi-

nes résiduelles - p. ex. par la méthode de Biuret.

Les contrôles de routine sont établis dans le cadre d'un concept d'assurance de qualité défini dans le cadre de l'exploitation. Lors du contrôle de routine, on vérifie à intervalles régulièrement définis l'appareil ou le produit fini concernant une éventuelle baisse de performances, afin de pouvoir procéder à temps aux réparations. Mais il faut pour cela que l'efficacité nettoyante et désinfectante irréprochable ait été démontrée lors du contrôle des performances (dans le cadre de la validation). Le contrôle de routine inclut un contrôle visuel soigneux, le cas échéant renforcé par une loupe lumineuse, mais aussi des contrôles supplémentaires par thermo-logger et indicateur du processus. Il est essentiel, pour le contrôle de routine, que l'intervalle de contrôle, les méthodes et attributions soient établis de manière claire et par écrit, et que les méthodes de contrôle soient définies dans le cadre d'un rapport coût-bénéfices tenant compte de bases légales et normatives.

(la suite dans l'édition suivante...)