

Efficacité de divers processus de stérilisation

visant à inactiver les BEI prions infectieux, dans la perspective du document de consultation de l'Institut Robert Koch

par K. Roth¹; Z. Yan¹; P. Heeg⁴, S. Gaedt²; E. Pfaff³, L. Stitz³, H.P. Zenner²; P.S. Mauz²

¹SMP GmbH, Tübingen; ²Clinique universitaire Oto-rhino-laryngologie, Tübingen; ³Institut fédéral de recherche pour les maladies virales, Tübingen;

⁴Clinique universitaire Tübingen – Microbiologie et Hygiène hospitalière

Introduction

Suite à l'apparition de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jacob (vMCJ), divers pays ont édicté de nouvelles dispositions relatives au traitement des instruments chirurgicaux. Dans certains cas, une interdiction a même été faite de réutiliser certains instruments spécifiques (ex. ceux utilisés pour les amygdalotomies et les adénectomies, Grande-Bretagne, 2002). Ces mesures draconiennes se fondent sur des données empiriques. Les analyses n'ont en général été effectuées qu'avec des détergents alcalins et la stérilisation à la vapeur d'eau, car l'on partait du principe qu'un nettoyage non alcalin et les processus de stérilisation à basse température s'avéraient inefficaces. En outre, jusqu'à présent, aucune analyse n'a, techniquement, tenu compte de la matière ni du design des instruments.

Notre analyse avait pour objectif de contrôler l'efficacité de divers processus de stérilisation visant à inactiver les prions infectieux. Ce faisant, une attention particulière a été consacrée aux processus appropriés pour les instruments thermolabiles et sensibles, tels que les endoscopes. En raison de la faible sensibilité de la méthode du Westernblot et d'autres processus de vérification, c'est le modèle de vérification de l'essai biologique (ou bio-essai) qui a été retenu.

Méthodes et processus

Pour le matériel infectieux, un cerveau de hamster infecté par la souche de scrapie 263 K a été mis à notre disposition par

l'Institut Robert Koch (RKI), Berlin. 20 µl de solution contenant 10% d'homogénat cérébral ont été injectés intracérébralement à des hamsters sains. Après l'apparition de symptômes, les animaux ont été sacrifiés afin de leur prélever le cerveau à des fins d'analyse. Des échantillons de ces cerveaux ont en outre été analysés selon la méthode du Westernblot après digestion avec la protéase K, afin de déterminer la présence de la protéine du prion infectieux.

Préparation du support

Des fils en acier chirurgical (1.4301) de 0,2 mm de diamètre et de 5 mm de long, simulant des instruments chirurgicaux, ont servi de support au matériel prionique infectieux. Ils ont été contaminés par trempage (16 heures) dans une solution contenant 10% d'homogénat cérébral prionique dans du PBS à température ambiante. Les fils d'acier ont ensuite été séchés une heure à l'air libre, avant d'être traités selon les processus décrits ci-après. Lors de la stérilisation, les indications des fabricants (concentration, durée d'action et température d'utilisation de la substance chimique) ont toujours été soigneusement observées. Certains processus ont toutefois été modifiés, afin d'en accroître l'efficacité. Au terme de la stérilisation, les supports ont été rincés au PBS, puis rincés encore trois fois avec de l'eau distillée stérile.

Implantation du fil d'acier

Les fils d'acier préparés ont été implantés, sous anesthésie, dans le thalamus des hamsters. Afin de garantir une implantation

précise, un appareil de stéréotaxie a été utilisé (coordonnées mesurées à partir du bregma: caudale 2,0 mm; médiolatérale 2,0 mm; dorsoventrale 6,0 mm)

Evaluation des résultats du bio-essai

Le contrôle négatif (fil non contaminé) indique que le fil proprement dit n'a aucune incidence sur la vitalité des animaux.

Le temps de survie accru des animaux infectés par un fil stérilisé, comparé à celui des animaux infectés par un fil non traité (contrôle positif), permet de dégager des conclusions quant à l'efficacité du processus de traitement retenu.

Discussion

Cette étude a pu démontrer que les fils d'acier contaminés par des protéines prioniques pathologiques s'avèrent fortement infectieux après avoir été implantés à des hamsters. Un temps de contact de 5 minutes déjà suffisait à produire une infection. Ce modèle de vérification est également décrit par l'Institut Robert Koch et utilisé par d'autres groupes.

Nous avons analysé des détergents et des désinfectants, en partie dans le cadre de processus de stérilisation, pour en déterminer l'efficacité à inactiver la protéine prionique pathologique (PrP^{sc}). Dans ce premier rapport, pour lequel nous avons utilisé le modèle de vérification exposé, l'évaluation s'est fondée exclusivement sur le temps de survie des sujets d'expérience. A ce titre, il a été possible de dégager une concordance entre le temps de survie et l'efficacité du processus.

Le document de consultation de l'Institut Robert Koch qualifie un processus d'effectif lorsque celui-ci permet de doubler le temps de survie. Au 01.10.2003, ce doublement – de 80 à 160 jours – était avéré pour tous les groupes.

Synthèse

Les résultats enregistrés jusqu'à ce jour indiquent que:

- la durée d'implantation du fil d'acier n'a pas d'incidence notable sur le temps de survie;
- le peroxyde d'hydrogène fortement dosé (59%) exerce un effet inactivant marqué sur la PrPsc;
- la stérilisation à la vapeur d'eau à 134°C pendant 18 minutes, combinée avec un nettoyage enzymatique, n'exerce pas l'effet escompté sur la PrPsc;
- le nettoyage avec les détergents alcalins (pH 11) testés ici donne de bons résultats dans le cadre du modèle de test retenu;
- le nettoyage alcalin avec les détergents testés, suivi d'une stérilisation avec l'appareil STERRAD, constitue un processus efficace pour inactiver la contamination prionique.

La possibilité d'appliquer les résultats obtenus pour un détergent à un autre détergent est toutefois limitée. Ainsi, d'autres groupes ont enregistré de bien meilleurs résultats pour les détergents enzymatiques; ces résultats ne sont cependant pas encore suffisants pour être classés selon le document de consultation du RKI. L'efficacité des processus de traitement doit donc être prouvée au cas par cas.

Remerciements

Les travaux ont bénéficié du soutien d'Advanced Sterilization Products et certaines parties ont été financées par des ressources tirées du «TSE-Programm Baden-Württemberg/Deutschland».

Références

1. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-44.
2. Prusiner SB. Prion diseases and the BSE crisis. *Science* 1997; 278: 245-51.
3. Aguzzi A, Weissmann C. Prion research: the next frontiers. *Nature* 1997; 389: 795-8.
4. Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, et al. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001; 358: 171-80.
5. Hilton DA, Ghani AC, Conyers L, et al. Accumulation of prion protein in tonsil and appendix: review of tissue samples. *BMJ* 2002; 325: 633-4.
6. Taylor DM, Fraser H, McConnell I, et al. Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. *Arch Virol* 1994; 139: 313-26.
7. Taylor DM. Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review. *Vet J* 2000; 159: 10-7.
8. Laurenson IF, Whyte AS, Fox C. Iatrogenic prion infection. *N Engl J Med* 2001; 345: 840-1
9. Zobeley E, Flechsig E, Cozzio A, Enari M, Weissmann C. Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface. *Mol Med* 1999; 5: 240-3.
10. Flechsig E, Hegyi I, Enari M, Schwarz P, Collinge J, Weissmann C. Transmission

Société Suisse de Stérilisation Hospitalière

http://www.sssh.ch/

Société Suisse de Stérilisation Hospitalière
SGSV Schweizerische Gesellschaft für Sterilgutversorgung

ACCUEIL
ACTUALITES
COMITE DIRECTEUR
INFO COMITE
AGENDA
FORUM
LITTÉRATURE
ARCHIVES
LIENS
DEUTSCHE VERSION
COMUNICAZIONI IN ITALIANO

Venez visiter notre site internet
www.sssh.ch

of scrapie by steel-surface-bound prions. *Mol Med* 2001; 7: 679-84.

11. Bruce ME, McConnell I, Will RG, Inrongside JW; Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 2001; 358: 208-9.
12. Bertram J., Mielke M., Beekes M. Lemmer K., Baier M. and Pauli G. (2004) Inaktivierung und Entfernung von Prionen bei der Aufbereitung von Medizinprodukten – Ein Beitrag zur Prüfung und Deklaration geeigneter Verfahren. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 47: 36-40.
13. Yan Z, Stitz L, Heeg P, Pfaff E, Roth K; Infectivity of prion protein bound to stainless steel wires: a model for testing decontamination procedures for transmissible spongiform encephalopathies. *ICHE* 2004; 4: 280-284.
14. Schulster LM; Editorial: Prion inactivation and medical instruments reprocessing: challenges facing healthcare facilities. *ICHE* 2004; 4: 276-279. ■

Effet de l'appareil à stériliser STERRAD et de différents autres processus de stérilisation, étudiés par rapport à la souche de scrapie 263K fournie par un hamster.	Taux de transm. (%)	Période d'incub. (jours)	Délai d'incub. (jours)	Calc. logRF
Contrôle négatif (fils d'acier contaminés avec 10% d'homogénat cérébral normal)	0%	606 ± 118	–	–
Contrôle positif (fils d'acier contaminés avec 10% d'homogénat cérébral malade)	100%	81 ± 1	–	–
10% d'homogénat cérébral 263K malade	100%	78 ± 2	–	–
134°C 18 min	0%	428 ± 103a	352	> 5-6
Trempage NaOH 1h à température ambiante; 18 min. à 134°C	17%	554 ± 197	474	> 5-6
Cycle standard de stérilisation STERRAD (2 injections)	100%	96 ± 4	15	1.3
100% détergent enzymatique, 30 min à 37°C	100%	94 ± 2	14	1.1
100% détergent enzymatique, 30 min à 37°C; cycle de stérilisation STERRAD (4 injections)	75%	229 ± 122	130	> 5-6
Trempage de 10 min. dans H ₂ O ₂ ; à 59%, température ambiante (%H ₂ O ₂ dans le liquide de stérilisation du système STERRAD)	40%	443 ± 160	350	> 5-6
Détergent alcalin A à 1%, à 55°C pendant 10 min.	25%	401 ± 158	320	> 5-6
Détergent alcalin A à 1%, à 55°C pendant 10 min; Cycle de stérilisation STERRAD (2 injections)	0%	511 ± 71	431	> 5-6
Détergent alcalin A à 1%, à 55°C pendant 10 min; Cycle de stérilisation STERRAD (4 injections)	0%	540 ± 30	459	> 5-6
Détergent alcalin B à 1%, à 55°C pendant 10 min; Cycle de stérilisation STERRAD (2 injections)	25%	399 ± 97	318	> 5-6
Détergent alcalin B à 1%, à 55°C pendant 10 min; Cycle de stérilisation STERRAD (4 injections)	0%	552 ± 0b	552	> 5-6

^a 4 Hamsters ont été endormis après 507 jours (sans symptômes).

^b Tous les hamsters ont été endormis après 552 jours (sans symptômes).

3^{es} Journées Nationales Suisses sur la stérilisation



« Au cœur
du métier...
l'être humain !? »

5 et 6 juin 2007 à l'Hôtel Mövenpick
Regensdorf à Zurich