

Evaluation du temps de recontamination microbiologique des instruments chirurgicaux après nettoyage en laveur-désinfecteur (LD)

M. Dubuisson¹, C. Andonian², C. Fayard³, C. Lambert*¹

I Summary:

Assessment of microbiological recontamination time's of surgical instruments after cleaning in washer-disinfector

After cleaning in a washer-disinfector, surgical instruments should be packed as early as possible to prevent recontamination. Depending on the organization and workload of a sterilization unit, packaging is sometimes carried out at a distance from the cleaning. The objective of this study is to evaluate the impact of exposure to ambient air in the conditioning zone for several hours (H0, H12, H24, H48) on a series of instruments and to define an acceptable time limit. 30 dissecting forceps, not used surgically, are cleaned in a WD and then exposed to air at different times before being placed in a liquid culture medium to reveal the presence of microorganisms. The results of this study show that a maximum delay of 48 hours must be observed between the washing and the packaging in order to guarantee an acceptable level of contamination of the instruments before packaging. Beyond this period, a new cleaning of the instruments that have stayed in the conditioning zone is necessary.

Keywords: recontamination, cleaning, washer-disinfector, packaging, surgical instruments

I Résumé :

Après nettoyage en laveur-désinfecteur, les instruments chirurgicaux doivent être emballés le plus précocement possible pour éviter toute recontamination. Selon l'organisation et la charge de travail d'une unité de stérilisation, le conditionnement est parfois réalisé à distance du nettoyage. L'objectif de cette étude est d'évaluer sur une série d'instruments, l'impact d'une exposition à l'air ambiant en zone de conditionnement pendant plu-

sieurs heures (H0, H12, H24, H48) et de définir une durée limite acceptable. 30 pinces à disséquer, non utilisées chirurgicalement, sont nettoyées en LD puis exposées à l'air selon différentes durées avant d'être placées dans un milieu de culture liquide permettant de révéler la présence de microorganismes. Les résultats de cette étude montrent qu'un délai maximum de 48h doit être respecté entre le lavage et le conditionnement pour garantir le maintien d'un niveau de contamination acceptable des instruments avant emballage. Au-delà de ce délai, un nouveau nettoyage des instruments ayant séjourné en zone de conditionnement s'avère nécessaire.

I Introduction :

Le nettoyage est une étape fondamentale du processus de retraitement des Dispositifs Médicaux Réutilisables (DMR). Ses objectifs sont l'élimination des souillures (sang, mucus, graisses...) ainsi que des microorganismes. La réduction, voire l'élimination de ces microorganismes lors du nettoyage repose sur des effets mécaniques et thermiques (thermodésinfection).

D'après les Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière (BPPH) françaises [4] «Le conditionnement est effectué le plus précocement possible après le nettoyage» afin d'éviter toute recontamination. En effet, l'emballage constitue une barrière aux microorganismes et protège les dispositifs des recontaminations possibles avant la stérilisation. A ce jour aucun texte ne définit le délai acceptable entre la sortie du laveur-désinfecteur (LD) et le conditionnement des dispositifs médicaux. Les BPPH indiquent simplement que «la nécessité d'un nouveau nettoyage avant conditionnement est à évaluer au cas par cas».

MOTS CLÉS

- recontamination
- nettoyage
- laveur-désinfecteur
- emballage
- instruments chirurgicaux

I Objectif :

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'impact du temps sur la recontamination des instruments chirurgicaux après nettoyage en laveur-désinfecteur (LD). L'objectif secondaire est de déterminer une durée d'immobilisation provisoire acceptable en zone de conditionnement.

I Matériel et Méthode :

30 pinces à disséquer en acier inoxydable de longueur 10 cm sont lavées en LD (Miele G7828) avec un cycle instrument disposant d'une phase de thermo-désinfection ($A_0 > 3000$ sec). Les instruments sont ensuite exposés à l'air en zone de conditionnement (classe 8, ISO 146644-1 [5]) durant différents temps d'exposition qui corres-

* Dr. Christophe Lambert, Unité Centralisée de Stérilisation, Centre Hospitalier Métropole Savoie – Site Chambéry

1 Unité Centralisée de Stérilisation, Centre Hospitalier Métropole Savoie – Site Chambéry

2 Laboratoire Bactériologie/Hygiène Centre Hospitalier Métropole Savoie

3 Pharmacie à Usage intérieur Centre Hospitalier Métropole Savoie

pondent aux situations habituellement rencontrées en stérilisation : H0, H12, H24 et H48. Après transport sous gaines scellées vers le laboratoire de microbiologie, les pinces sontensemencés dans un milieu TSA liquide (Thermo Scientific Oxoid) sous hotte à flux laminaire.

Pour chaque série s'ajoute un témoin négatif directement emballé sous gaine papier-plastique à la sortie du LD et un témoin positif lavé manuellement et exposé en zone de conditionnement comme les 30 autres pinces test.

Les tubes TSA sont ensuite incubés à 36 °C pendant 48h pour permettre le développement des bactéries avec lecture à J0 et J2 puis à 22 °C pendant 12 jours pour la recherche des moisissures avec lecture à J5, J10 et J14. Pour chaque culture TSA positive, les germes sont identifiés.

Les résultats obtenus sont ensuite comparés à la série H0 à l'aide d'un test statistique du Khi2.

En parallèle une analyse d'aérobiocontamination en zone de conditionnement (bactériologique et mycologique) a été réalisée lors de chaque série à l'aide d'un bio collecteur (Airideal 3P, biomerieux) sur gélose TSA pour la détection bactérienne et sur gélose sabouraud pour détecter les éventuelles moisissures. Les 2 géloses sont ensuite incubées à 30 °C pendant 48h pour la gélose TSA et 5 jours pour la gélose sabouraud. Les colonies sont identifiées et dénombrées en UFC.

Des prélèvements de surface ont également été réalisés sur les faces internes des emballages utilisés pour emballer les deux témoins et le panier contenant les instruments lors du transport vers le laboratoire de microbiologie. Les prélèvements de surface ont été effectués avant transport du panier à l'extérieur de la zone de conditionnement sur les deux faces internes de l'emballage à l'aide de géloses Count-tact® incubés 5 jours à 30 °C avec lecture à 48h puis à J5.

■ Résultats :

Les résultats du tableau I montrent qu'après leur nettoyage en LD, le nombre d'instruments contaminés augmente de façon proportionnelle en fonction de la durée d'exposition à l'air en zone de conditionnement. On observe que dès la sortie du laveur, 17% des instruments sont déjà contaminés par des microorganismes.

D'après le test du Khi 2 ($\alpha = 5\%$) comparant chaque série à la série H0, les taux de contaminations des séries H12 et H24 (respectivement 20% et 30%) ne sont pas statistiquement différents. Seule la série exposée 48h. en zone de conditionnement présente un nombre d'instruments recontaminés significativement plus élevé qu'à H0.

Les germes rencontrés sur les pinces de la série H0 sont des staphylocoques à coagulase négative (SCN), des bacilles et des *Micrococcus* sp.

Pour la série H12 on retrouve *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus megaterium* et *Moraxella* sp.

Les différentes espèces de SCN présentes sur les instruments de la série H24 sont : *S. capitis*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus* et *S. lugdunensis*. *Bacillus* sp et *Moraxella* sp sont aussi isolés pour cette série et d'autres germes sont identifiés tel que *Streptococcus agalactiae* et *Corynebacterium* sp.

Enfin, deux espèces de bacilles sont isolées sur les échantillons de la série H48 (*B. cereus* et *B. megaterium*) ainsi que *Staphylococcus epidermidis*, *Aerococcus viridans* et *Pseudomonas alkaligenes*.

Pour chaque prélèvement d'aérobiocontamination, les résultats sont inférieurs au seuil recommandé par les BPPH [4]: <200 UFC/m³ en activité,

Les germes rencontrés sur les emballages lors du conditionnement sont présentés dans le tableau II

■ Discussion :

Différentes études ont étudié le niveau de contamination des instruments chirurgicaux après utilisation [1][2][3]. Celui-ci varie de 1 à 10³ UFC/instrument selon les auteurs. Dans notre étude, la méthode de culture en milieu liquide (TSA) ne permet pas d'apprécier le niveau de contamination pour chaque instrument. Seul un comptage sur gélose solide permet de

Tableau I : Contamination microbienne des échantillons après 48h et 14 jours d'incubation et aérobiocontamination de la zone de conditionnement

Temps d'exposition après lavage (h)	Témoin Positif	Témoin Négatif	Contamination microbienne des échantillons (N=30)		Aérobiocontamination (PNC/m ³)	
			Nombre d'échantillons positifs après 48h de culture	Nombre d'échantillons positifs après 14 jours de culture	Contaminants totaux	Levures et Moisissures
H0	+	-	3 (10%)	5 (17%)	50 PNC/m ³	<1 PNC/m ³
H12	+	+	4 (13%)	6 (20%)	6 PNC/m ³	<1 PNC/m ³
H24	+	-	6 (20%)	9 (30%)	30 PNC/m ³	<1 PNC/m ³
H48	+	-	17 (57%)	17 (57%)	26 PNC/m ³	1 PNC/m ³

Tableau II : Résultats des prélèvements de surface des emballages utilisés

Emballage	Face prélevée	Résultats	Identification
Sachet Papier-Plastique	Papier	<1 UFC/gélose	-
	Plastique	5 UFC/gélose	- <i>Staphylococcus</i> coagulase negative - <i>Alternaria</i> sp
Gaine polypropylène grande taille	Polypropylène	<1 UFC/gélose	-
	Plastique	<1 UFC/gélose	-
Gaine polypropylène petite taille	Polypropylène	2 UFC/gélose	Germes non identifiés
	Plastique	<1 UFC/gélose	-

définir avec précision le nombre d'UFC/instrument. Cependant, une idée de la charge microbienne présente sur chaque instrument peut être corrélée à la rapidité d'apparition d'un trouble dans le milieu de culture liquide. Ainsi, plus l'échantillon est contaminé et plus le trouble du milieu de culture apparaît précocement. L'augmentation du nombre d'échantillons positifs observés à J14 comparativement à la lecture à J2 semble montrer que ce niveau de contamination est relativement peu important jusqu'à H24.

Ce niveau de contamination relativement faible pourrait être rapproché du fait que les instruments n'ont pas été préalablement utilisés au décours d'une intervention chirurgicale. Par conséquent leur biocharge initiale avant nettoyage en LD était faible ; ce qui était l'un des objectifs permettant de s'affranchir d'une insuffisance ou d'une défaillance de la procédure de nettoyage. Ainsi, il est peu probable que le niveau de contamination obtenue après exposition soit supérieur au 10^3 UFC/instrument retrouvés après une utilisation chirurgicale.

Cependant, 17% des échantillons sont contaminés dès la sortie du LD et en absence d'exposition à l'air. Cela s'apparente aux observations de Chu et al [1] qui montrent que les instruments peuvent se contaminer au cours de la procédure de nettoyage en LD et que les germes identifiés en fin de lavage sont différents de ceux présents avant le début de la procédure. Cette contamination pendant le nettoyage pourrait justifier la présence de *B. megaterium* identifié sur le témoin négatif de la série H12.

Les résultats obtenus dans cette étude concernent des instruments exposés dans une zone de conditionnement à ambiance maîtrisée (ISO 8) [5]. L'augmentation du nombre d'instruments contaminés en fonction de la durée d'exposition et la prédominance de germes environnementaux ou témoins d'une présence humaine confirment la contamination par l'air des échantillons. En l'absence de maîtrise de l'air, la vitesse et le niveau de recontamination seraient vraisemblablement plus élevés.

Concernant les emballages, les germes retrouvés à leurs surfaces sont des germes identiques à ceux présent sur certaines pinces (SCN) à l'exception d'*Alternaria* sp. Ce nouveau champignon témoigne du rôle possible des emballages comme vecteur de microorganismes.

Eviter la contamination des instruments chirurgicaux entre le nettoyage et le conditionnement est une pratique recommandée qui fait référence à l'adage «on ne stérilise bien que ce qui est propre». Celui-ci n'a de sens que si l'on se réfère au rôle barrière d'éventuels biofilms ou matières organiques qui limiteraient ou empêcheraient l'action de l'agent stérilisant. Pour un dispositif médical propre et exempt de ces souillures, les paramètres de surdestruction employés en France lors de la stérilisation vapeur d'eau (134 °C – 18 min.) ne laissent substituer aucun doute sur la potentielle survie d'un microorganisme après stérilisation. Néanmoins, certains auteurs [6] montrent que lors de conditions de stérilisation particulières, et plus particulièrement en présence de condensats, la stérilité de dispositifs chargés de

10^8 spores de *G. stearothermophilus* n'est pas toujours garantie. Par conséquent, la maîtrise de la biocharge des dispositifs médicaux avant conditionnement doit être recherchée pour garantir la sécurité du produit final. Ceci est d'autant plus important que selon les paramètres retenus (125 °C–30 min par exemple) ou les méthodes de stérilisations employées, basse température notamment, l'atteinte du Niveau d'Assurance Stérilité va largement dépendre de la biocharge initiale.

Conclusion :

D'après les Bonnes Pratiques de pharmacie Hospitalière, le conditionnement d'un dispositif médical doit être effectué le plus précocement possible après nettoyage et «la nécessité d'un nouveau nettoyage avant conditionnement est évaluée au cas par cas». Cette recommandation de bons sens est dorénavant vérifiée. D'après notre étude, il apparaît qu'un délai maximum de 48h doit être respecté entre le lavage et le conditionnement pour garantir le maintien d'un niveau de contamination acceptable des DMR avant emballage. Au-delà de ce délai, un nouveau nettoyage des instruments ayant séjourné en zone de conditionnement semble s'avérer nécessaire. ■

Références :

- 1 Chu Nancy S., Chan-Myers H., Ghazanfari N., Antonoplos. Levels of naturally occurring microorganisms on surgical instruments after clinical use and after washing. Am J Infect control 1999;27 (4):315–19.
- 2 Rutala WA, Gergen MF., Jones JF., Weber DJ. Levels of microbial contamination on surgical instruments. Am J Infect control 1998;26(2):143–45.
- 3 Saito Y., Kobayashi H., Uterera Y., Yasuhara H., Kajiura T., Okubo T., Microbial contamination of surgical instruments used for laparotomy. Am J Infect control 2014;42:43–47.
- 4 Arrêté du 22 juin 2001 relatif aux Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière. JO n°152 du 03 juillet 2001. Légifrance public information service.
- 5 Iso 14644-1 : 2015. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 1: Classification de la propreté particulière de l'air
- 6 Percin D., Kozin P., Renders W. The impact of excessive condensate on the sterility assurance level. Central Service 1/2015 : 40–43.