

Contrôle du marché des désinfectants à base d'acide peracétique pour la désinfection manuelle des dispositifs médicaux thermosensibles

Rapport de l'étude sur la stabilité des produits en conditions d'utilisation

PREAMBULE : PRESENTATION GENERALE DU CONTROLE DE MARCHE

En accompagnement de la circulaire n° DGS/5C/DHOS/E2/2001/138 l'Afssaps a initié un contrôle de marché des désinfectants à base d'acide peracétique pour la désinfection manuelle des dispositifs médicaux thermosensibles.

En 2004, **un premier rapport** a exposé les résultats de l'évaluation (efficacité, stabilité, compatibilité, protection des utilisateurs) de ces produits à partir des dossiers et études complémentaires. **Un deuxième rapport** dont fait l'objet cette communication, donne les résultats de l'étude de stabilité de ces désinfectants en conditions d'utilisation :

- la stabilité des produits au cours de leur utilisation
- la performance des bandelettes commercialisées conjointement
- l'influence des facteurs « apport d'eau et de protéines » et « ventilation localisée ».

Les essais effectués à la Direction des Laboratoires et des Contrôles (DLC) de l'Afssaps se sont appuyés sur **un protocole standardisé** (annexe A) mis au point sur la base de celui utilisé pour le contrôle de marché de 2004. Ce protocole a servi de base à la rédaction d'un projet de norme française ayant pour but de standardiser à la fois les méthodes de mesure et les conditions d'utilisation simulées des désinfectants à base d'acide peracétique.

Les produits concernés sont :

- ceux du premier rapport de 2004 : Anioxyde®1000 (Laboratoires Anios), Bioxal® M (Seppic), Dynacide® PA (Laboratoire Rivadis) et Nu Cidex® (Johnson & Johnson Medical).
- ceux dont la mise sur le marché est intervenu en phase de rédaction du premier rapport : Anioxy Twin® (Laboratoires Anios), et Sekusept® Aktiv (Laboratoire Paragerm/Ecolab).

Il est à noter que les produit Endocide® (Laboratoire Prodene Klint) et Péralkan® (laboratoires Alkapharm) ne sont plus commercialisés.

- ceux mis sur le marché depuis : Hydraseptic® concentré (Laboratoire Hydrex), Peralex 8 Hecto® (Société Franklab), Re Lyon® Perasafe® (Société DUPONT) et Sekusept® Easy (Laboratoire Paragerm/Ecolab).

Le produit Hydraseptic concentré® (laboratoire Hydrex) n'est plus commercialisé
Les produits dont l'évaluation est terminée et les résultats conformes figurent dans **le tableau récapitulatif**

Contrôle du marché des désinfectants à base d'acide peracétique pour la désinfection manuelle des dispositifs médicaux thermosensibles

Rapport de l'étude sur la stabilité des produits en conditions d'utilisation

PRESENTATION GENERALE DU CONTROLE DE MARCHÉ

En accompagnement de la circulaire n° DGS/5C/DHOS/E2/2001/138 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels, l'Afssaps a initié un contrôle de marché des désinfectants à base d'acide peracétique pour la désinfection manuelle des dispositifs médicaux thermosensibles.

En 2004, un premier rapport a exposé les résultats de l'évaluation (efficacité, stabilité, compatibilité, protection des utilisateurs) de ces produits à partir des dossiers et de contrôles en laboratoire.

Le présent rapport décrit les résultats de l'étude de stabilité de ces désinfectants en conditions d'utilisation. Les essais effectués à la Direction des Laboratoires et des Contrôles de l'Afssaps (DLC) se sont appuyés sur un protocole standardisé mis au point pour le contrôle de marché en l'absence de référentiel.

Les produits concernés sont :

- Anioxyde®1000, Anioxy Twin® (Laboratoires Anios), Bioxal® M (Seppic), Dynacide® PA (Laboratoire Rivadis), Nu Cidex® (Johnson & Johnson Medical), Sekusept® Aktiv, Sekusept® Easy (Laboratoire Paragerm/Ecolab), Hydraseptic® concentré (Laboratoire Hydrex), et Relyon® Perasafe (Laboratoires Phagogène)

Les produits : Endocide® (Laboratoire Prodene Klint), Hydraseptic® (Laboratoire Hydrex), PERALKAN® (Laboratoires Alkapharm) et Peralex 8 Hecto® (Société Franklab) ne sont plus commercialisés.

L'étude de stabilité en conditions d'utilisation a permis d'évaluer :

- la stabilité des produits
- la performance des bandelettes commercialisées conjointement
- l'influence des facteurs « apport d'eau et de protéines » et « ventilation localisée ».

Ces résultats renforcent les recommandations faites par l'Afssaps lors du premier rapport (accessibles à l'adresse <http://afssaps.sante.fr/htm/alertes/filalert/dm040409.htm>), et font le bilan des caractéristiques des produits étudiés.

INTRODUCTION

En accompagnement de la circulaire n° 138 du 14 mars 2001 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels, un contrôle du marché des désinfectants à base d'acide peracétique (APA) pour la désinfection manuelle des dispositifs médicaux thermosensibles, a été mené par l'Afssaps (Direction de l'Evaluation des Dispositifs médicaux (DEDIM) et Direction des Laboratoires et des Contrôles (DLC)).

Dans le cadre de ce contrôle de marché, un travail d'évaluation a été mené avec les experts du groupe chargés de l'évaluation des dispositifs médicaux vis à vis du risque de transmission des agents transmissibles non conventionnels (ATNC).

Une première évaluation sur dossiers, dont le rapport a été publié en mai 2004, a permis de vérifier la conformité d'une première série de produits aux exigences essentielles réglementaires du marquage CE pour la mise sur le marché et de revoir pour certains les conditions d'utilisation en fonction des données indiquées par les fabricants.

En même temps, un protocole standardisé a été mis au point (cf. Annexe A) permettant l'étude de stabilité des produits en condition d'utilisation. En effet, plusieurs facteurs sont susceptibles soit de favoriser la décomposition de l'APA en solution soit de favoriser l'évaporation des composants volatils. L'instabilité chimique amène dans la plupart des cas les fabricants à proposer aux utilisateurs des bandelettes de contrôle de la concentration en acide peracétique.

Parmi ces facteurs, l'influence de l'apport d'eau et de protéines par le trempage successifs des endoscopes ainsi que la perturbation due aux dispositifs de ventilation nécessaires à la protection des utilisateurs ont été étudiés.

Ce rapport expose l'ensemble des résultats du contrôle de marché.

OBJECTIFS

Les objectifs de l'étude ont été d'évaluer :

- la stabilité des produits en condition d'utilisation,
- les conditions d'utilisation et les performances des bandelettes commercialisées conjointement,
- l'influence du facteur « apport d'eau et de protéines » ainsi que celle du facteur « ventilation localisée »,

METHODOLOGIE

Les essais réalisés sont de deux natures :

1- Essais physico-chimiques : Dosage de l'APA, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et mesure du pH.à différents temps pendant la durée d'utilisation.

En l'absence de technique de référence, le dosage de l'acide peracétique dans les solutions a dû faire l'objet d'une mise au point (cf. Annexe A). Deux techniques ont été utilisées : la titrimétrie ou la chromatographie liquide haute performance (HPLC). En pratique, c'est la technique la plus adaptée à chacune des formulations de désinfectant étudié qui a été retenue.

Pour le dosage du peroxyde d'hydrogène, la titrimétrie a été employée pour tous les produits où le peroxyde d'hydrogène était présent, le protocole utilisé étant dérivé de celui référencé à la Pharmacopée Européenne.

En ce qui concerne la mesure du pH, il est également déterminé selon la Monographie de la Pharmacopée Européenne.

2- Essais microbiologiques :

Les tests microbiologiques sont adaptés de la bactéricidie, activité de base des produits et de la tuberculocidie, la démonstration de performance de cette activité étant plus difficile à obtenir.

Les essais mis en place, ont suivi la normalisation européenne :

- la bactéricidie a été réalisée à l'aide d'une norme de phase 1 : NF EN 1040* sur les souches *S. aureus* et *P. aeruginosa*, révisée depuis.

- la tuberculocidie a été réalisée sur la base d'un projet de norme de phase 2/1 : pr EN 14348** sur *M. terre*, publiée depuis.

*NF EN 1040 – avril 1997: « Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques ».

**pr EN 14348 devenue NF EN 14348 – juin 2005: « Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide des désinfectants chimiques utilisés en médecine humaine, y compris les désinfectants pour instruments ».

- Les conditions opératoires sont :

- Durée de l'essai : durée d'utilisation définie par le fabricant, sauf dans le cas où elle a été modifiée par l'Afssaps, et augmentée d'une marge de sécurité tenant compte de la variation des facteurs en conditions réelles
- Addition d'eau et de protéines et ventilation des bacs pour simuler les conditions d'utilisation
- Prélèvements physico-chimiques : en début d'étude (avant addition de protéines et/ou ventilation), à des temps intermédiaires, en fin de durée d'utilisation et après le temps correspondant à la marge de sécurité
- Prélèvements microbiologiques : en début d'étude (avant addition des protéines et/ou ventilation) et après le temps correspondant à la marge de sécurité
- Les résultats obtenus par les bandelettes sont comparés aux résultats des essais physico-chimiques et microbiologiques.

RESULTATS (cf. Annexe B)

1. Stabilité des produits :

D'un point de vue physico-chimique, deux catégories de produits ont été mises en évidence :

- ceux dont la concentration en APA reste stable au cours du temps d'utilisation préconisé par le fabricant
- ceux dont la concentration en acide peracétique diminue au cours du temps d'utilisation :

Pour cette deuxième catégorie de produits, la diminution observée reste toujours compatible avec une utilisation pour la durée revendiquée. Cette caractéristique renforce le principe de la nécessité de bandelettes pour garantir à tout moment l'efficacité des bains en particulier pour les produits revendiquant une durée d'utilisation supérieure à 24h. En l'absence de bandelettes, le respect strict de la durée d'utilisation maximum et du nombre maximum d'endoscopes continue à s'imposer par conséquent à tout utilisateur.

D'une manière générale et indifféremment de ces deux catégories, l'utilisation de ces produits, dans les limites d'utilisations prévues par les fabricants permet d'obtenir le niveau de performance annoncé.

2. Les conditions d'utilisation et les performance des bandelettes

Pour les produits dont la durée d'utilisation prévue est supérieure à 24h, les bandelettes utilisées pendant les essais ont réagi conformément à ce qui était attendu par rapport aux analyses physico-chimiques et microbiologiques.

3. Influence des facteurs étudiés :

Les essais ont été mis en œuvre en simulant les conditions normales d'utilisation (moyenne de 10 endoscopes/j). Les résultats montrent que l'utilisation des bains est compatible dans l'indication donnée par le fabricant, c'est-à-dire le trempage des endoscopes sous réserve d'un nettoyage et d'une purge correctement réalisés auparavant.

Les systèmes de ventilation utilisés pour les essais sont de type hotte chimique. L'étude a montré une absence d'influence sur les bains en utilisation normale, à la condition de maintenir les bacs fermés par un couvercle entre deux opérations de désinfection . A cette condition, il n'y a pas de contre indication à l'utilisation de systèmes de ventilation destinés à la protection des utilisateurs.

CONCLUSION

Les résultats de cette études prolongent les observations et les conclusions figurant dans le rapport du premier contrôle de marché. Ils montrent également que les recommandations prises en marge de ce premier travail restent valables.

En effet, même si des diminutions de concentration en acide peracétique sont observées pour certains produits, l'activité antimicrobienne à la fin de la durée d'utilisation préconisée serait conservée en raison de la concordance observée lors des essais entre les résultats physico-chimique et microbiologique.

L'utilisation régulière de bandelettes (pour les produits d'utilisation > 24h) reste néanmoins nécessaire pour parer à l'influence d'éventuels autres facteurs que ceux étudiés.

PROTOCOLE D'ANALYSE 2005/T/KX/21257/M/C

PROTOCOLE STANDARDISE POUR L'EVALUATION DE LA STABILITE DES DESINFECTANTS A BASE D'ACIDE PERACETIQUE POUR ENDOSCOPE

I. INTRODUCTION

Dans le cadre de la prévention du risque de transmission des agents transmissibles non conventionnels (ATNC) par le matériel réutilisable entrant dans des actes à risque, la circulaire n° 138 du 14 mars 2001 recommande, pour la désinfection des dispositifs médicaux thermosensibles, la substitution du glutaraldéhyde par des désinfectants ne fixant pas l'infectiosité. D'après la liste des molécules figurant dans la circulaire, peuvent être utilisés des dérivés chlorés ou des produits à base d'acide peracétique (APA).

Pour les produits à base d'APA, la stabilité, en conditions d'utilisation, peut être un paramètre critique étant donné l'instabilité de l'acide peracétique en solution. Certains fabricants recommandent d'ailleurs l'utilisation de bandelettes pour contrôler la concentration en APA au cours de l'utilisation des bains.

Il n'existe pas actuellement de référentiel normatif pour évaluer la "stabilité" de ces produits en simulation de condition d'utilisation. C'est dans cette optique que ce protocole standardisé élaboré en collaboration avec des experts pourrait servir de référentiel pour évaluer l'efficacité dans le temps de ces produits désinfectants contre les agents infectieux.

II. PRINCIPE DE L'ETUDE

Ce protocole a pour objectif de tester la stabilité dans le temps d'un bain désinfectant pour endoscope en simulant les conditions d'utilisation.

Les analyses prévues dans ce protocole comportent à la fois des dosages physico-chimiques des principes actifs, teneurs en APA et H₂O₂, et des essais microbiologiques d'efficacité.

Les facteurs pris en compte dans ce protocole pour simuler les conditions d'utilisation sont l'apport de protéines, représentant les souillures potentielles des endoscopes, et la ventilation (protection des manipulateurs).

Le protocole prévoit aussi de tester les bandelettes de contrôle de la teneur en APA lorsque ces dernières sont commercialisées par les fabricants.

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

III. RÉFÉRENTIELS D'ANALYSE

III.1. Analyses physico-chimiques

- Détermination du pH selon la Monographie « *Détermination du pH* » de la Pharmacopée Européenne
- Détermination de la teneur en H₂O₂ par titrimétrie
- Détermination de l'APA par la technique la plus adaptée au produit : soit par méthode titrimétrique, soit par chromatographie liquide haute performance (HPLC) selon les désinfectants

Il n'existe pas de référentiel pour le dosage de l'APA en dehors d'ouvrages généraux. Deux méthodes, titrimétriques et HPLC, sont décrites dans les Annexes 3 et 4.

Concernant le dosage de l'H₂O₂, une méthode de dosage titrimétrique est décrite en Annexe 2 et correspond à une légère adaptation de la méthode décrite dans la monographie de contrôle « Hydrogène (peroxyde d') solution à 3 pour cent » de la Pharmacopée Européenne.

Les méthodes de dosage décrites en annexe pourront être utilisées après vérification de leur spécificité vis à vis des produits à analyser.

D'autres méthodes analytiques validées pourront également être mises en oeuvre.

III.2. Analyses microbiologiques

Les tests microbiologiques s'appuient sur la normalisation européenne :

- la norme NF EN 1040 de base de phase 1 de bactéricidie sur les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442
- la norme NF EN 14348 de phase 2/1 de mycobactéricidie sur *Mycobacterium terrae* ATCC 5755 (tuberculocidie).

IV. CHAMP D'APPLICATION

Le protocole peut être mis en œuvre pour des produits à base d'APA, destinés à la désinfection manuelle des dispositifs médicaux. Les produits testés peuvent être de préparation extemporanée, tels que des poudres à diluer ou des solutions à reconstituer, ou prêts à l'emploi.

Le protocole permet l'évaluation des produits d'utilisation inférieure ou égale à 24h, ou supérieure à 24h en prévoyant des temps de prélèvement adaptés à chaque type de produit.

V. MODE OPERATOIRE

V.1. Essais préliminaires

Avant la mise en œuvre du protocole, il est prévu de vérifier préalablement pour chaque désinfectant que les paramètres mesurés (pH et concentrations en principes actifs) sont conformes aux valeurs des spécifications annoncées par les fabricants. Cette phase préliminaire permet aussi de définir, le cas échéant, les conditions d'analyse des principes actifs.

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

V.2. Conditions opératoires

Le protocole prévoit pour chaque produit 2 essais indépendants en bacs fermés pour réaliser les analyses physico-chimiques (un seul bac servira à la réalisation des analyses microbiologiques). Les bacs sont placés sous une même hotte en fonctionnement, pendant la durée de l'étude de stabilité.

Afin d'évaluer l'influence conjointe des protéines et de la ventilation, il est prévu d'ajouter 100 ml de solution d'albumine à 20 µg/ml (2 mg au total) dans le bac de désinfectant, puis de procéder à une ouverture de ce bac pendant 1 heure, une fois par jour. Pour les produits dont la durée d'utilisation est inférieure à 6 heures, il est proposé de diviser par deux la quantité de protéine ajoutée ainsi que la durée d'ouverture du bac.

Matériel et produits nécessaires :

- 2 bacs de 30 litres avec couvercle
- albumine bovine (Réf : fraction 2 COHN V)
- thermomètre pour la mesure de la température du bain et de la pièce
- hotte chimique (dont le volume, le débit et le taux de renouvellement sont connus, par exemple : 0,84 m³, 790 m³/h, renouvellement 940 vol/h),
- anémomètre.

Chronologie des opérations

- ① Préparer une solution d'albumine à 20 µg/ml dans l'eau du réseau,
- ② Préparer 15 litres de désinfectant dans chacun des deux bacs selon les indications des fabricants*
- ③ Homogénéiser la solution
- ④ Fermer les bacs
- ⑤ Attendre 30 minutes
- ⑥ Homogénéiser la solution et effectuer les prélèvements pour les essais à T0
- ⑦ Effectuer un contrôle par les bandelettes**
- ⑧ Introduire 100 (ou 50***) ml d'une solution d'albumine et homogénéiser
- ⑨ Fermer les bacs pendant 30 minutes
- ⑩ Ouvrir les 2 bacs pendant 1 heure (ou ½ h***) puis laisser les bacs fermés pendant la journée.
- Mener les opération de ⑤ à ⑩ quotidiennement pendant toute la durée de l'étude (hors week-end).

* Utiliser de l'eau du réseau pour dissoudre les produits, sauf spécification contraire

** lorsque celles-ci sont commercialisées

*** pour les produits d'utilisation < 6 h

Remarques :

- Entre les différents essais les bacs doivent être nettoyés au moyen d'un agent tensio-actif neutre, par exemple : Neutracon société DECON
- La dureté de l'eau utilisée pour la reconstitution des solutions et la préparation de la solution d'albumine doit être connue.
- La température du bain de désinfectant et celle de la pièce sont chacune mesurées au minimum une fois par jour

V. 3 Prélèvements

Les échantillons nécessaires à la réalisation des essais sont prélevés, après agitation, dans les bacs à des temps différents en fonction du type de produit (tableau de synthèse en annexe 1).

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

Remarques :

- quel que soit le type de produit, le premier prélèvement est réalisé avant tout ajout de protéines (T0).
- si un prélèvement doit être réalisé après l'ajout de protéines ou après le cycle d'ouverture/fermeture du bac, il faut attendre un délai d'au moins 30 minutes avant de faire le prélèvement.

Des prélèvements sont réalisés dans chaque bain avec un minimum de trois temps de prélèvement pour les produits d'utilisation ≤ 24 h et de quatre pour les autres.

*** conditions pour les produits d'utilisation ≤ 24 h**

Des prélèvements sont prévus à T0, en fin de durée d'utilisation préconisée par le fabricant (T1) et après prise en compte d'une marge de sécurité (T2). Les analyses microbiologiques sont mises en œuvre au premier et dernier temps de prélèvement et celles de physico-chimie aux trois temps. La marge de sécurité est de l'ordre de 1 heure et jusqu'à 4 heures pour les produits utilisables sur 24 h.

*** conditions pour les produits d'utilisation > 24 h**

Des prélèvements sont prévus à T0, un temps intermédiaire (3^{ème} ou 4^{ème} jour, T1), en fin de durée d'utilisation préconisée par le fabricant (T2) et un dernier après prise en compte d'une marge de sécurité (T3). La marge de sécurité pour ces produits est de un jour. Les analyses microbiologiques sont mises en œuvre au premier et dernier temps de prélèvement et celles de physico-chimie aux quatre temps..

Pour les analyses physico-chimiques, au moins deux prises d'essais sont réalisées par bac à chaque temps et étant donné l'instabilité des solutions, les contrôles du pH et les dosages de l'APA et de l'H₂O₂ sont immédiatement effectués.

Un contrôle de l'APA à l'aide de bandelettes est prévu chaque jour, après homogénéisation et avant ajout de protéines pour les produits d'utilisation > 24 h, et à chaque temps d'analyse pour les produits d'utilisation ≤ 24 h. Le contenu de chaque bac est contrôlé au moyen de 3 bandelettes.

Pour le temps de trempage, le délai avant lecture et l'interprétation de la coloration, il est nécessaire de se reporter aux indications données par le fabricant de désinfectant.

Les conditions expérimentales pour les essais microbiologiques sont les suivantes :

	NF EN 1040 (bactéricidie)	NF EN 14348 (tuberculocidie)
Souches	<i>S. aureus</i> et <i>P. aeruginosa</i>	<i>M. terrae</i>
Technique retenue	Dilution/neutralisation	
Temps de contact	5 minutes	Temps de désinfection de niveau intermédiaire de chaque produit
Substances interférentes	-	Sans substances interférentes
Température de l'essai	20°C	20°C
Dilutions des bains à tester	gamme de concentrations à adapter au cas par cas*	80, 40 et 20%

* Concernant la bactéricidie, les concentrations utilisées permettront de déterminer la concentration active de façon à mettre en évidence une éventuelle perte d'activité du produit dans l'étude de stabilité.

La recherche de cette concentration active en bactéricidie permettra de compléter l'essai de tuberculocidie dans le cas où ce dernier ne serait pas assez discriminant.

VI. EXPRESSION DES RESULTATS

Les résultats physico-chimiques sont présentés sous forme de rapports d'essais faisant apparaître l'évolution du pH et des teneurs en APA et H₂O₂ en fonction du temps.

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

-
- Le pH sera exprimé en unités pH
 - L'APA en mg/l
 - L'H₂O₂ en %

Les résultats microbiologiques sont présentés selon les modèles types de rapports d'essais décrits dans les normes :

- Les validations sous formes de tableaux
- Les activités sont exprimées en réductions logarithmiques

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

Protocole standardisé pour l'évaluation de la stabilité des désinfectants à base d'acide peracétique pour endoscopes

ANNEXE 1: Tableau synthétique

Produits d'utilisation ≤ 24 h			Produits d'utilisation > 24h			
<p><u>Essais préliminaires</u> (sur solutions prêtes à l'emploi ou reconstituées)</p> <ul style="list-style-type: none"> • présentation, examen des caractères organoleptiques, détermination du pH • dosages des constituants actifs (APA, H₂O₂...) <p>Lancement du protocole de stabilité uniquement si les résultats préliminaires sont conformes aux revendications du fabricant</p>						
<p><u>Protocole</u> : 2 bacs essai sous hotte chimique (en fonctionnement) 1 fois par jour : ajout de 100 ml (50 ml pour produits < 6 heures) d'une solution d'albumine à 20µg/ml dans l'eau du réseau. 1 fois par jour : ouverture des bac pendant 1 heure (30 min pour produits < 6 heures) sous hotte ventilée.</p> <p><u>Essais</u> : réalisés simultanément (essai 1 et essai 2)</p>						
<p>2 Essais indépendants (PC et B) 1 essai (M)</p>			<p>2 Essais indépendants (PC et B) 1 essai (M)</p>			
<p>Au minimum 3 temps</p>			<p>Au minimum 4 temps</p>			
<p>T0 PC / B</p>	<p>T1 PC / B</p>	<p>T2 PC / B</p>	<p>T0 PC / B</p>	<p>T1 PC / B</p>	<p>T2 PC / B</p>	<p>T3 PC / B</p>
<p>M</p>	<p>-</p>	<p>M</p>	<p>M</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	<p>M</p>

PC = physico-chimie (pH, dosages de APA et H₂O₂...) – B = bandelettes – M = microbiologie (bactéricidie et tuberculocidie)

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

Protocole standardisé pour l'évaluation de la stabilité des désinfectants à base d'acide peracétique pour endoscopes

Annexe 2

Dosage titimétrique du peroxyde d'hydrogène par le permanganate de potassium

- 1 ou 2 g de substance à analyser (en fonction de la concentration du produit à analyser)
- 200 ml d'eau ultra pure
- 5 ml d'acide sulfurique 25 %

Titrer par le permanganate de potassium 0.25 N jusqu'au virage de la solution au rose pâle et conserver cette solution pour le dosage de l'acide peracétique.

Formule de calcul :

$$\text{H}_2\text{O}_2 \% = (\text{N} \times \text{V} \times 1.7) / \text{PE}$$

N : normalité de la solution de permanganate de potassium

V : volume de permanganate nécessaire au dosage

PE : prise d'essai (mg) de substance à doser

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

**Protocole standardisé pour l'évaluation de la stabilité des
désinfectants à base d'acide peracétique pour endoscopes**

Annexe 3

Dosage titrimétrique de l'acide peracétique par le thiosulfate de sodium

Aussitôt après le dosage titrimétrique du peroxyde d'hydrogène par le permanganate de potassium, ajouter un excès d'iodure de potassium (environ 200 mg) à la solution obtenue. Le milieu se colore en jaune ou en marron. Titrer immédiatement par le thiosulfate de sodium 0.01 N. La solution devient jaune pâle. Rajouter juste avant le virage 2 ml d'une solution d'amidon à 1 % dans l'eau ultra pure. Le mélange est alors bleu foncé et vire brutalement à l'incolore à la fin du dosage.

Formule de calcul :

$$\text{APA (ppm)} = (\text{N} \times \text{V} \times 3.8 \times 10000) / \text{PE}$$

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium

V : volume de thiosulfate nécessaire au dosage

PE : prise d'essai (mg) de substance à doser

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

Protocole standardisé pour l'évaluation de la stabilité des désinfectants à base d'acide peracétique pour endoscopes

Annexe 4

Dosage HPLC de l'acide peracétique

1 Réactifs

Solution d'acide peracétique à $\approx 39\%$: FLUKA : Réf. 77240
 Solution de peroxyde d'hydrogène à 30 % : ALDRICH : Réf. 21.676-3
 Méthyl *p*-tolyl sulfide (MTS) : ALDRICH : Réf. 27.595-6
 Méthyl *p*-tolyl sulfoxyde (MTSO) : ALDRICH : Réf. 48.185-8
 Oxyde de manganèse (IV) (MnO₂) : ACROS : Réf. 213490010
 Méthanol : J. T. BAKER : Réf. 200-659-6
 Acétonitrile : CARLO ERBA REAGENTI : Réf. 412412

2 Conditions

Colonne : Nucléosil 5 μ m, C18, 150 x 4.6 mm, 100 Å
 Longueur d'onde : 235 nm
 Débit : 1 ml/min
 Volume injecté : 10 μ l
 Temps d'analyse : 18 min

Phase mobile : (gradient)

Temps (min)	% CH ₃ CN	% H ₂ O
0	30	70
5.5	30	70
6.5	95	5
12.5	95	5
13	30	70
18	30	70

Temps de rétention du MTSO : 3.9 min (temps relatif 3.28)

Temps de rétention du MTS : 12.8 min

3. Solutions étalon de MTSO

Solution mère 4000 ppm :

40 mg de MTSO dans 10 ml de méthanol

Solution fille 400 ppm :

2 ml de solution 4000 ppm dans 20 ml de méthanol

Gamme d'étalonnage :

Volume de solution à 400 ppm (ml)	Méthanol qsp (ml)	Concentration en MTSO (ppm)	Equivalent APA (ppm)
7.50	10	300	1479
5.00	10	200	986
2.50	10	100	493
1.25	10	50	247
0.50	10	20	99

Etalon de contrôle

Préparer à partir d'une pesée indépendante de MTSO un étalon à 200 ppm.

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

**Protocole standardisé pour l'évaluation de la stabilité des
désinfectants à base d'acide peracétique pour endoscopes**

4. Traitement des échantillons

- Dans un tube à centrifuger de 50 ml introduire 8.0 ml (ou 8.5 ml) de mélange méthanol/eau 30/70
- Ajouter 1 ml de MTS 40 mM dans le méthanol (152 mg de MTS dans 25 ml de méthanol)
- Homogénéiser au vortex
- Ajouter 1.0 ml (ou 0.5 ml) de solution à analyser
- Homogénéiser au vortex
- Attendre exactement 1 min
- Ajouter 500 mg de MnO₂
- Homogénéiser au vortex (dégagement gazeux)
- Attendre environ 5 min
- Homogénéiser au vortex
- Centrifuger 20 min à 2600 rpm et filtrer sur filtre papier

Préparer une solution de peroxyde d'hydrogène, à partir de la solution commerciale à environ 30 %, à la concentration déterminée par iodométrie du produit à analyser. Doser cette solution ainsi que les prises d'essai de désinfectant avec la méthode décrite au paragraphe 2.

5. Protocole d'injection

Injecter :

- Gamme étalon de MTSO de 50 à 400 ppm (équivalent 250 ppm à 2000 ppm d'APA)
- Etalon de contrôle de MTSO
- Les trois solutions essai de désinfectant

6. Expression des résultats

Calculer à partir de la courbe d'étalonnage la concentration en MTSO de chaque prise d'essai et la concentration en équivalents APA obtenue à partir de la solution d'H₂O₂.

Convertir la concentration de MTSO en APA à l'aide de la formule suivante :

$$C_{\text{APA}} = (C_{\text{MTSO}} \times 10 \times 76.06) / 154.23$$

Facteur 10 = volume en ml de dilution de la réaction entre APA et MTSO en présence de MnO₂

Facteur 76.06 = masse molaire en g de APA

Facteur 154.23 = masse molaire en g de MTSO

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous forme de fac similé photographique intégral

Annexe B : Caractéristiques revendiquées par les fabricants de produits commercialisés en France, indiqués dans la désinfection manuelle des dispositifs médicaux thermosensibles, ayant fait l'objet d'un contrôle du marché

Désinfectant	Fabricant	Présentations	Type de produit	Précurseur de l'APA	Concentration théorique initiale en APA	pH théorique	Modalités d'utilisation du bain et des bandelettes	Nombre d'endoscopes
Anioxyde® 1000	Laboratoires ANIOS	bidon 5 litres + flacon avec bandelettes	Solution à reconstituer	acétylacrolactam	1500 ppm (après reconstitution)	5 à 7	Utilisation du bain pendant 7 jours maximum Contrôle par des bandelettes toutes les 4h d'activité consécutive et à la reprise d'activité après interruption*	50 maximum par bain
Bioxal® M	SEPPIC	bidon 5 litres avec bandelettes	Solution prête à l'emploi	Acide acétique	1100 ppm	3.6		
Dynacide® PA	Laboratoire RIVADIS	Sachet unidose ou seau 2 kg (1 dose pour 5 litres)	Poudre à dissoudre	Tétra acétyl éthylène diamine	2000 ppm (après dilution)	7	Utilisation du bain pendant 4h ⁽¹⁾ maximum sans bandelette	10 maximum par bain
Nu Cidex®	JOHNSON& JOHNSON MEDICAL	Bidon + flacon qsp 5 litres	Solution à reconstituer	Acide acétique	3500 ppm (après reconstitution)	4	Utilisation du bain pendant 8h ⁽¹⁾ maximum sans bandelette	20 maximum par bain
Anioxy twin®	Laboratoires ANIOS	2 flacons qsp 5 litres avec bandelettes	Solution à reconstituer et à diluer	Acide peracétique	1200 ppm (après reconstitution)	4 à 5	Utilisation du bain pendant 24h maximum Contrôle par des bandelettes toutes les 4h d'activité consécutive et à la reprise d'activité après interruption	20 maximum par bain
Sekusept Aktiv®	Laboratoires ECOLAB	Seau 6 kg ou sachets unidose	Poudre à dissoudre	Tétra acétylène diamine	2500 ppm (après dilution)	7.5 à 8.5	Utilisation pendant 16h ⁽²⁾ maximum	20 maximum
Sekusept Easy	Laboratoires ECOLAB - PARAGERM	1 flacon de 450 ml + 1 flacon d'activation de 420 ml	Liquide à diluer et à reconstituer	Acide Acétique	2300 ppm	5.5 - 6.6	Utilisation pendant 24h maximum	10 à 20
HYDRASEPTIC CONCENTRE	HYDREX	flacon dose de 250 ou 500 ml	Liquide à diluer	Acide Acétique	2500 ppm	2 - 3	Utilisation pendant 24h maximum	50
Rely*On™ Perasafe™	DUPONT	1 flacon de 81g et 162g - sachet de 16.2g	Poudre à dissoudre	Tétra Acétyl Ethylène Diamine	2500 ppm	7.8	Utilisation du bain pendant 10h ⁽²⁾ maximum sans nécessité de contrôle par bandelette	20 maximum

Remarques :

- (1) les périodes d'utilisation de ces produits ont été restreintes à la demande de l'Afssaps lors de la première évaluation (sur dossiers),
- (2) les périodes d'utilisation de ces produits ont été restreintes à la demande de l'Afssaps lors de la deuxième évaluation (après étude de stabilité) *dans un délai de 7 jours maximum conformément à la circulaire n°138 du mars 2001.