

Les rejets liquides des automates de biologie médicale ont-ils un effet microbicide propre qui permettrait de s'affranchir de leur traitement pour risque infectieux ?

Do liquid wastes from automated instruments in medical laboratories have their proper microbicide effect?

Camille Kolenda^{1,2}

Alice Monteix^{1,2}

Linda Houhamdi³

Pascale Preynat-Boucher^{4,5}

Jean-Marc Giannoli⁴

Vanessa Escuret^{3,6}

Frédéric Laurent^{1,2,5}

Florence Morfin^{3,5,6}

¹ Laboratoire de bactériologie, Institut des agents infectieux, Groupement Hospitalier Nord des Hospices civils de Lyon, Lyon, France

² CIRI, Centre international de recherche en infectiologie, Équipe « Pathogénie des infections à Staphylocoque », Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France

³ Laboratoire de virologie, Institut des agents infectieux, Groupement Hospitalier Nord des Hospices civils de Lyon, Lyon, France

⁴ Labac, Réseau de laboratoires de biologie médicale accrédités, Villeurbanne, France

⁵ Institut des sciences biologiques et pharmaceutiques de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France

⁶ CIRI, Centre international de recherche en infectiologie, Équipe Virpath, Inserm, U1111, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, UMR5308, École normale supérieure de Lyon, Lyon, France

Résumé. Les rejets liquides des automates de biologie médicale sont écotoxiques par la présence de nombreux réactifs chimiques. Cette étude s'est intéressée à leur pouvoir microbicide intrinsèque envers une sélection d'agents infectieux classiquement retrouvés dans les prélèvements cliniques. L'objectif a été de déterminer si un traitement additionnel avant élimination est nécessaire. Nous avons ainsi évalué l'effet bactéricide de rejets de plusieurs automates vis-à-vis de quatre souches types appartenant à 4 espèces bactériennes représentatives des grands groupes de bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*) et virucide envers un virus nu résistant dans l'environnement (adénovirus). Les effets ont été quantifiés pour différentes durées d'exposition. Nos résultats ont montré que l'activité bactéricide était variable en fonction du couple automate/bactérie analysé (de l'absence totale d'activité à la stérilisation complète d'un fort inoculum bactérien). Les rejets étaient en revanche globalement inactifs sur l'adénovirus.

Mots clés : laboratoire de biologie médicale, automate, rejets liquides, effet bactéricide, effet virucide, Ministère de la transition écologique et solidaire

Abstract. Liquid wastes from clinical biology automated systems are currently evacuated in the urban network after chemical treatment to eliminate a possible risk of infection. Since these wastes are ecotoxic because of the presence of numerous chemical reagents, we studied their intrinsic microbicidal power towards a selection of infectious agents widely found in clinical specimens. The objective was to determine if an additional anti-infectious treatment before elimination is necessary. Thus, we evaluated the bactericidal effect of liquid wastes of several automated systems towards four bacterial species (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis*) and their virucidal activity against a non-enveloped virus, resistant in the environment (adenovirus). This effect was determined for different exposure times. Our results showed that the antibacterial activity was highly variable depending on the waste-bacteria pair considered (varying from no activity to complete sterilization of a strong bacterial inoculum). The liquid wastes were on the other hand globally inactive towards adenovirus.

Key words: medical laboratory, automated instrument, liquid wastes, bactericidal effect, virucidal effect, Ministry of ecological and solidarity transition

Article reçu le 10 octobre 2018,
accepté le 28 février 2019

Correspondance : F. Morfin
<Florence.morfin-sherpa@chu-lyon.fr>

Les examens de biologie médicale réalisés sur des échantillons sanguins ou urinaires sont pour la plupart effectués sur des plateaux techniques automatisés. Afin d'éliminer un risque infectieux potentiel, les rejets liquides de ces automates sont actuellement traités avec de l'hypochlorite de sodium (chlore actif à 0,5 %) selon les recommandations du Syndicat de l'industrie du diagnostic *in vitro* (SIDIV), avec un contact minimal de 15 minutes, avant d'être évacués directement dans le réseau d'assainissement urbain [1]. Ces automates utilisent de nombreux réactifs chimiques dont le risque d'écotoxicité a été précédemment démontré [2], risque qui est majoré par le mélange avec l'hypochlorite de sodium. De plus, la surcharge en hypochlorite de sodium perturbe le traitement en station d'épuration ce qui a conduit le Ministère de la transition écologique et solidaire et l'Agence de l'eau à fortement déconseiller son utilisation. Face à ce constat, il paraît légitime de s'interroger sur la nécessité d'un tel traitement par hypochlorite de sodium ou tout autre agent désinfectant (comme l'acide peracétique) également écotoxique.

L'objectif de la présente étude a donc été de déterminer si les rejets d'automates, contenant un grand nombre de réactifs chimiques, ne possédaient pas un effet microbicide (bactéricide et/ou virucide) intrinsèque suffisant pour permettre de se passer d'un traitement additionnel des rejets. Ce travail s'inscrit dans le cadre des missions du réseau de Laboratoires de biologie médicale accrédités (Labac), qui est une association de laboratoires de biologie médicale accrédités selon la norme ISO 15189. Labac compte actuellement 165 laboratoires adhérents, c'est un lieu d'échange d'expériences et se veut force de propositions vis-à-vis des évolutions technologiques et réglementaires auprès des instances HAS, Cofrac, syndicats, etc. En 2009, Labac a inscrit le développement durable comme nouveau projet pour son association et a souhaité s'engager dans une démarche de responsabilité sociétale basée sur la norme ISO 26 000, en commençant par deux questions centrales majeures : environnement et hygiène-santé, et sécurité au travail. Pour la partie environnementale, la priorité a été mise sur la gestion des rejets des automates de laboratoire.

Sur la base des normes définissant les conditions de détermination d'activités microbicides (norme EN 1040 pour l'activité bactéricide et EN 14476 pour l'activité virucide), nous avons développé des protocoles pour tenter de répondre au mieux à cette question.

Matériel et méthodes

Présentation du laboratoire pilote, des automates testés et des prélèvements effectués

Les prélèvements de rejets d'automates ont été réalisés au sein du laboratoire de biologie médicale Neolab (sites

d'Ecully et de Neuville-sur-Saône, tous deux situés dans la métropole du Grand Lyon).

L'objectif a été de sélectionner des automates de biologie médicale traitant différents types de prélèvements biologiques : sang, plasma et urines. Les rejets liquides des automates suivants ont ainsi été récoltés en juin 2016 : Sta R Max (Stago), automate d'hémostase ; XT-4000I (Sysmex), automate de cytologie sanguine ; I2000 (Abbott) et Unice!® DXI (Beckman), automates d'immuno-analyses ; AU (Beckman), automate de biochimie générale ; IRIS iQ® 200 ELITE (Beckman), automate de bactériologie sur prélèvements urinaires.

Afin de couvrir une part significative du marché des automates réalisant l'examen microbiologique des urines, des rejets de l'automate UF-500 (Sysmex) du laboratoire de bactériologie de l'Institut des agents infectieux (Hospices civils de Lyon) ont également été inclus dans la deuxième partie de cette étude.

Le nombre de prélèvements de rejets effectués a résulté d'un compromis entre le nombre de prélèvements dont les activités bactéricide et virucide pouvaient être testées et le niveau d'utilisation du panel d'automates sélectionnés.

Étude de l'activité bactéricide des rejets liquides

La méthode de détermination d'une activité bactéricide d'un produit antiseptique a été décrite dans une norme européenne adoptée en 2006 (NF EN 1040). D'après cette norme, le produit doit être testé sur au moins 2 souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) et doit avoir une activité suffisante pour permettre une réduction de l'inoculum de 5 log après un temps de contact de 5 min (avec des temps additionnels possibles de 1 et 60 min) à une température de 20 °C. Les souches utilisées dans cette étude pour réaliser l'évaluation de l'activité bactéricide des rejets ont été les suivantes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pour chacune de ces bactéries, à partir d'une culture en milieu liquide en bouillon cœur-cerveau (bouillon BCC, bioMérieux) pendant 18 heures à 36 °C, une suspension standardisée avec un inoculum de 10⁹ UFC/mL (DO = 1) a été préparée dans de l'eau stérile, puis diluée en cascade au 1/10^e pour obtenir des suspensions de 10⁸ à 10¹ UFC/mL.

La première partie de l'étude a concerné les différents rejets récoltés pour chaque automate (I2 000, n = 5 ; Unice!® DXI, n = 1 ; AU, n = 1 ; XT-4000I, n = 5 ; Sta R Max, n = 3 ; IRIS iQ® 200 ELITE, n = 4). Leur activité bactéricide pour chacune des quatre souches de référence a été testée indépendamment après filtration pour éliminer d'éventuelles bactéries résiduelles. Pour cela, la suspension bactérienne à 10⁶ UFC/mL a été diluée au 1/10^e dans

les différents rejets. Dans le but de tester l'effet bactéricide immédiat de ces rejets, 1 mL de cette dilution a été filtré (filtre millipore 0,22 µm). Après deux rinçages avec 50 mL d'eau stérile afin d'éliminer tout effet de rémanence sur le filtre des composés chimiques en solution dans le rejet, le filtre a été déposé sur gélose au sang Columbia (bioMérieux) et incubé pendant 18-24 heures pour permettre le dénombrement des bactéries viables. En parallèle, 1 mL de cette dilution a été incubé à température ambiante pendant 1 ou 24h et l'inoculum bactérien résiduel a été déterminé de la même façon pour évaluer l'effet bactéricide en fonction du temps d'exposition des bactéries. Après incubation, les inoculums ont été analysés en comparaison avec des conditions témoins obtenues à partir d'1 mL de suspensions bactériennes contenant 10^1 , 10^3 ou 10^5 UFC/mL.

Sur la base des premiers résultats, des expériences complémentaires ont été réalisées :

- en utilisant les 4 mêmes souches bactériennes mais en adaptant les inoculums à ceux pouvant être retrouvés dans les prélèvements urinaires ou sanguins (10^7 UFC/mL pour les rejets des automates d'analyse sur urine, mimant la charge bactérienne urinaire des patients atteints de cystite ou pyélonéphrite ou 10^3 UFC/mL pour les rejets des automates d'analyse sur sang mimant la charge bactérienne sanguine maximale des patients présentant un sepsis) ;
- en allongeant les temps d'exposition des bactéries aux rejets en fonction des volumes générés et stockables dans un laboratoire avant élimination (24, 48 et 72 heures pour les automates de bactériologie et 24 à 48 heures pour les automates d'hématologie/biochimie) ;
- en utilisant non plus des rejets prélevés séquentiellement pour chaque automate mais des pools des rejets de chacun des automates (mélange à part égale des différents prélèvements disponibles pour chaque automate en utilisant 10 mL de chaque prélèvement) afin de ne pas multiplier les tests et d'avoir un effet bactéricide moyen des rejets pouvant correspondre à une centralisation de ces déchets dans le laboratoire de biologie médicale.

Étude de l'activité virucide des rejets liquides

La détermination d'une activité virucide est décrite dans une norme adoptée en 1986 (norme Afnor T 72-180) et revue dans la norme européenne EN 14476. Elle décrit les conditions d'un test *in vitro* permettant de déterminer une réduction de titre infectieux. Les virus prototypes proposés sont l'adénovirus humain de type 5 (ADN, nu et résistant), le poliovirus de type 1 (ARN, nu et résistant) et l'orthopoxvirus de la vaccine (ADN, enveloppé mais résistant). L'activité virucide est définie par une réduction du titre infectieux viral de plus de 4 log, pour un temps de contact de 60 min à une température de 20 °C. Cette partie de l'étude a été réalisée avec les rejets poolés de Sta R

Max, XT-4000I, I2000, Unicel® DXI, AU et IRIS iQ® 200 ELITE.

Pour cette étude, le virus test choisi a été l'adénovirus de sérotype 5 (ATCC VR-1516), virus pouvant être retrouvé dans le sang et les urines. Un stock d'adénovirus de type 5 préparé sur cellules Hep-2 a été conservé à -80 °C. Après décongélation, la suspension virale a été diluée au 1/10^e dans les rejets d'automates. Après 24 ou 48 heures de contact à température ambiante, les suspensions virales, avec ou sans rejet, ont été titrées sur cellules Hep-2 en microplaque 96 puits incubées à 35 °C sous 5 % de CO₂. Une lecture des effets cytopathiques a été réalisée régulièrement jusqu'à 8 jours.

Les titres viraux ont été déterminés par la méthode de Reed et Muench et exprimés en log de dose infectieuse pour culture de tissus 50 % (DICT50) [3]. Des dilutions des rejets ont également été réalisées afin de déterminer leur cytotoxicité intrinsèque sur cellules Hep-2. Les essais n'ont pas été répétés. Un contrôle (témoin virus non traité par un rejet) a été inclus dans chaque essai. Dans les conditions expérimentales décrites, une variation de titre viral supérieure à +/- 0,5 log DICT50 est considérée comme significative. Les variations de titre du témoin virus non traité des différents essais réalisés sont toujours restées inférieures à cette limite.

Résultats

Étude de l'activité bactéricide des rejets liquides

L'analyse de prélèvements répétés de rejets liquides de 6 automates a montré que l'activité et la cinétique bactéricide était fortement dépendante des couples type de rejet/espèce bactérienne (figure 1).

Les rejets ayant l'effet antibactérien le plus important étaient ceux des automates XT-4000I et I2000 avec une activité dès 1h de contact avec les bactéries. En effet, la stérilité de l'échantillon a été obtenue dès 1h d'incubation d'un inoculum de 10^5 UFC/mL de la souche de *P. aeruginosa* en présence de ces deux types de rejets et après 24h pour les souches de *S. aureus* et *E. faecalis*. L'activité de ces deux rejets sur *E. coli* était plus faible, notamment pour celui de l'automate XT-4000I avec une absence d'effet bactéricide après 1h d'exposition et une réduction de moins de 2 log de l'inoculum après 24h d'exposition.

Les rejets des automates Unicel® DXI et Sta R Max n'étaient pas ou très peu actifs aussi bien après 1h qu'après 24h d'exposition pour les 4 espèces bactériennes testées.

Une activité variable a été observée pour les rejets des automates AU et IRIS iQ® 200 ELITE, plus importante sur les bactéries à Gram négatif que sur les bactéries à Gram positif. En effet, tous les échantillons surchargés avec *S. aureus*

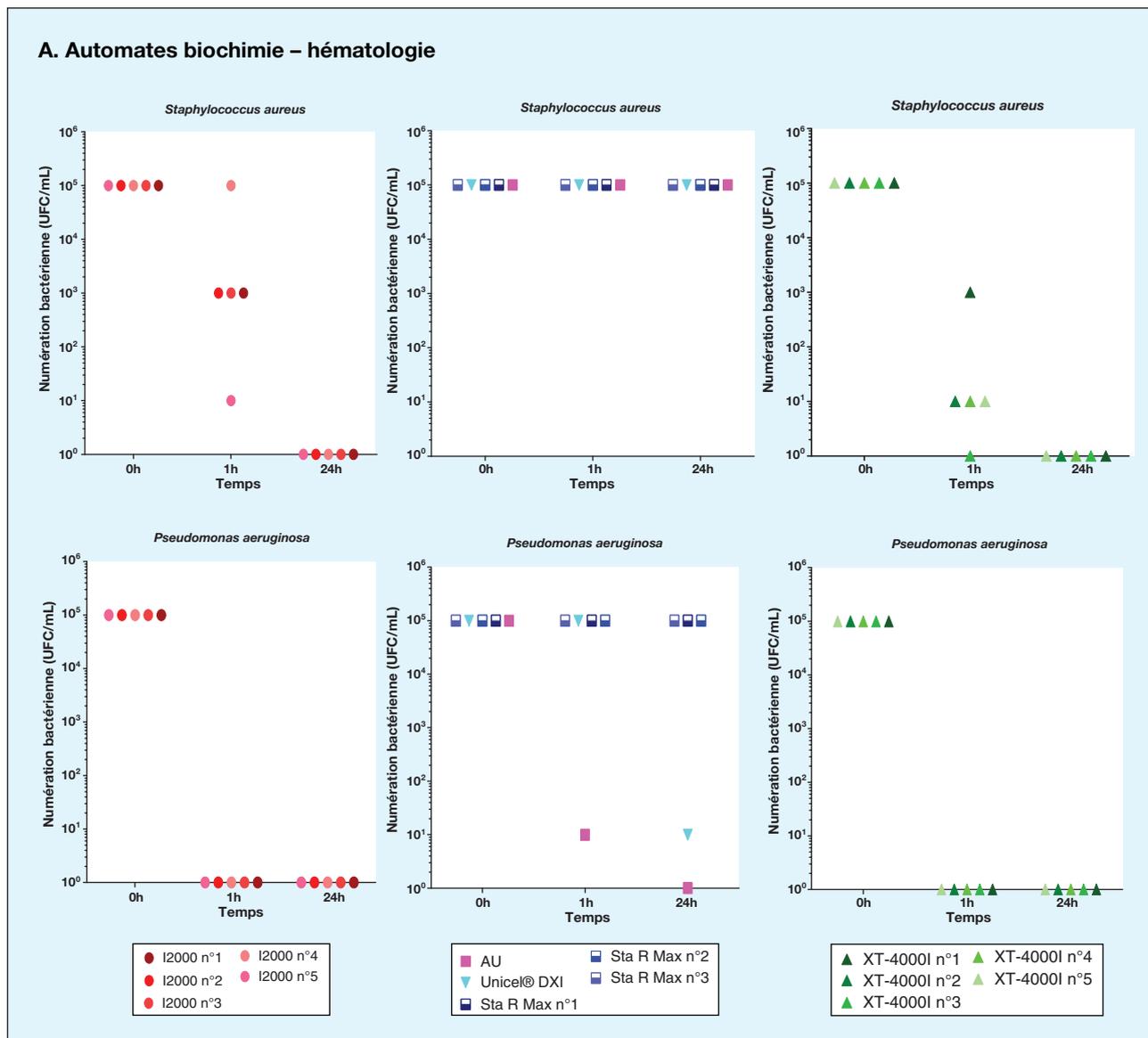


Figure 1. Activité bactéricide après 5 minutes, 1 heure et 24 heures d'exposition d'un inoculum de 10⁵ UFC/mL aux différents rejets des automates de biochimie – hématologie. (A) (I2000, Abbott, n = 5 ; Unicel® DXI, Beckman, n = 1 ; AU, Beckman, n = 1 ; XT-4000I, Sysmex, n = 5 ; Sta R Max, Stago, n = 3) et d'analyse d'urines. (B) (IRIS iQ® 200 ELITE, Beckman, n = 4). Chaque effluent prélevé a été testé indépendamment (n = 19) avec chacune des quatre souches de référence. Les résultats sont exprimés en UFC/mL (dénombrement semi-quantitatif par rapport à des inoculums contrôles) (10⁰ = 0 UFC = stérilité).

et *E. faecalis* contenaient encore 10³ à 10⁵ UFC/mL après 24h de contact, alors que ceux surchargés avec *E. coli* ou *P. aeruginosa* étaient majoritairement stériles après 24h.

Les résultats obtenus dans le second temps de l'étude (efficacité de pools de rejets congelés sur un inoculum bactérien adapté au type de prélèvement, urinaire ou sanguin) ont montré une augmentation de la bactéricidie des rejets en prolongeant le temps de contact avec les bactéries (24 à 72h) principalement pour les automates dédiés aux analyses

d'urines, notamment avec l'automate UF-500 (figure 2). En effet, pour cet automate, en présence d'un fort inoculum (10⁷ UFC/mL), l'incubation prolongée a permis la stérilisation des échantillons infectés par *S. aureus* et *E. coli* après 48h et la réduction de l'inoculum d'*E. faecalis* après 72h. La tendance était similaire pour l'efficacité des rejets de l'automate IRIS (forte réduction de l'inoculum dès 48h) sauf pour *E. faecalis* (aucune activité, même à 72h). Enfin, les rejets de ces deux automates étaient très actifs sur *P. aeruginosa* dès 24h.

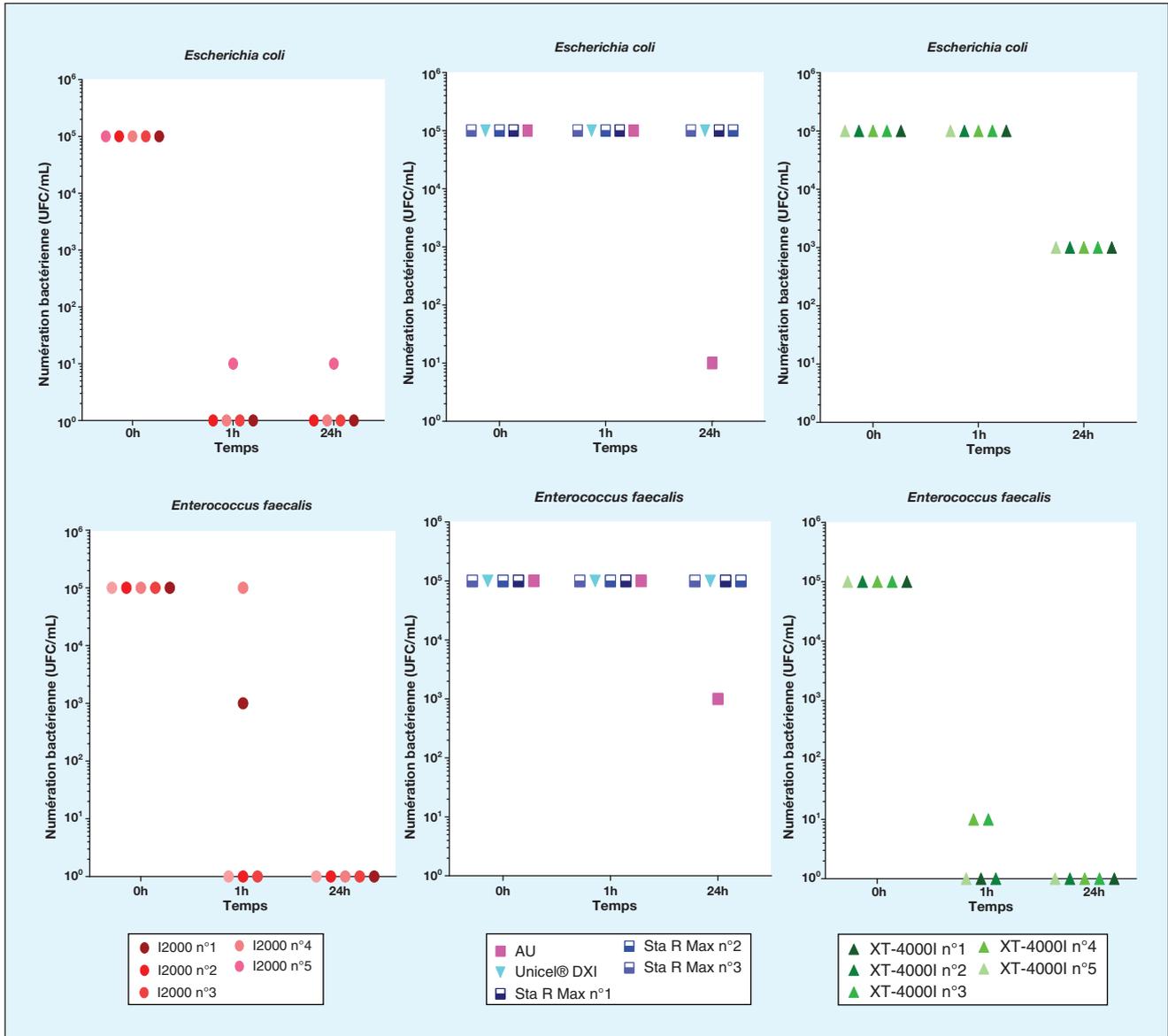


Figure 1. (Suite)

Nos résultats n'ont en revanche pas montré d'intérêt de conserver les rejets des automates réalisant des analyses sur des échantillons sanguins plus de 24h (figure 3). En effet, pour un plus faible inoculum (10^3 UFC/mL), la stérilité des échantillons (ou au moins une nette diminution de l'inoculum bactérien avec un inoculum résiduel de seulement 10 UFC/mL) a été obtenue dès 24h d'incubation pour les rejets les plus actifs (automates I2000 et Sysmex), et ce, pour les 4 souches bactériennes testées. Cependant, il faut noter que l'activité bactéricide des rejets de l'automate Unicel® DXI est restée nulle après 48h vis-à-vis des souches de *S. aureus*, *E. coli* et *E. faecalis*.

Étude de l'activité virucide des rejets liquides

Les réductions du titre viral en fonction du temps de contact avec les rejets liquides étudiés sont présentées dans la figure 4. L'effet toxique des rejets sur les cellules Hep-2 était très faible. Il n'a été détecté que pour la première dilution (10^{-1}). La cytotoxicité des rejets n'a jamais interféré avec la détection des effets cytopathiques liés au virus. Aucune réduction de titre viral significative, c'est-à-dire supérieure à 1 log, n'a été mise en évidence après exposition aux rejets des automates Sta R Max, XT-4000I, I2000 et Unicel® DXI. Une réduction de titre de 1,96 et 2 log a

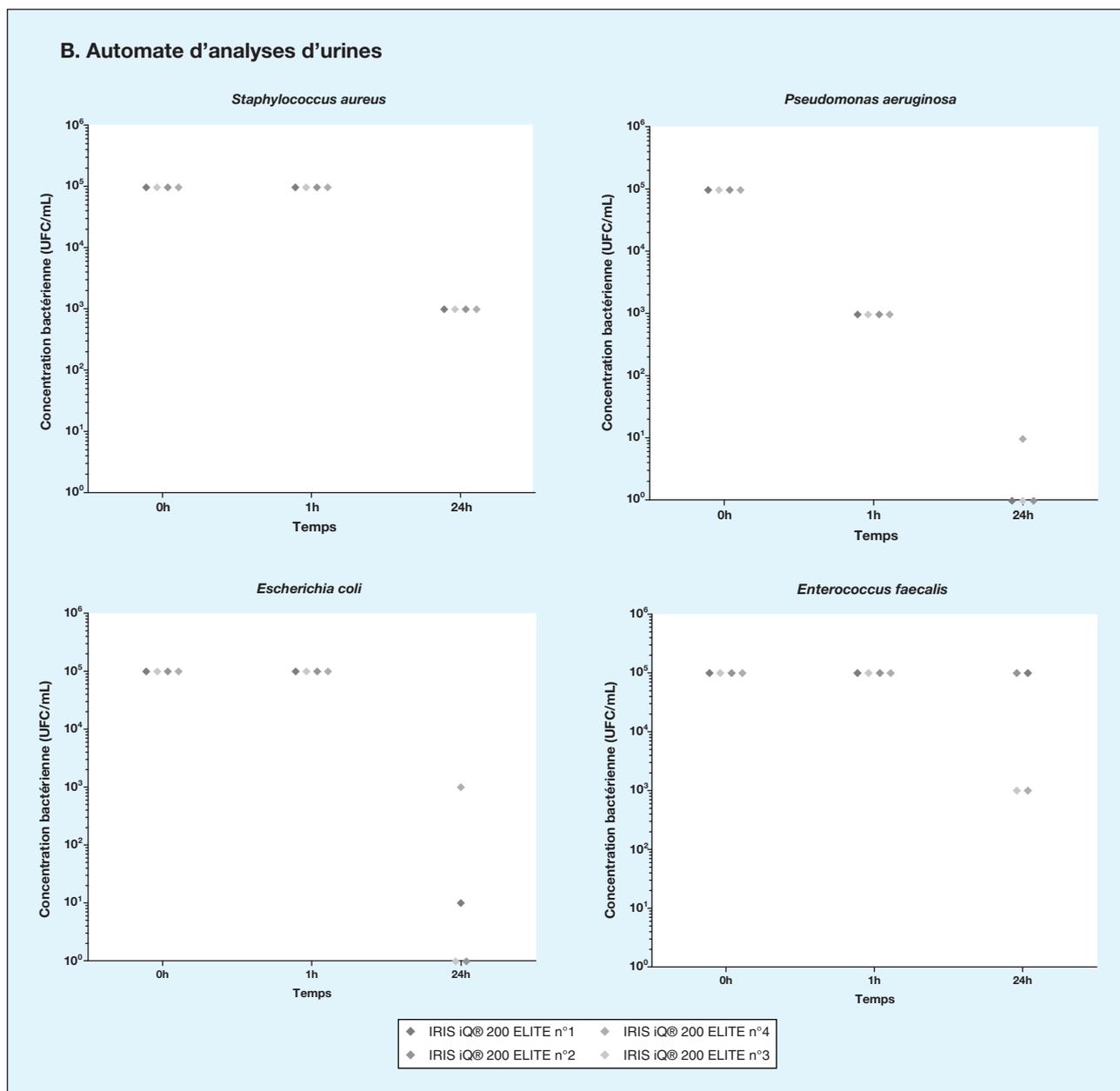


Figure 1. (Suite)

été observée pour les rejets des automates IRIS iQ® 200 ELITE et AU respectivement.

Discussion

En l'absence de données sur le sujet dans la littérature, cette étude originale s'est intéressée au pouvoir microbicide des rejets d'automates de biologie médicale dans le but d'évaluer l'intérêt du traitement chimique addition-

nel actuellement réalisé afin d'assurer la stérilité des rejets avant élimination dans le réseau sanitaire publique.

Pour l'évaluation de leur effet antibactérien, le choix des espèces bactériennes a été guidé par l'épidémiologie des infections urinaires [4, 5] et des sepsis [4, 6, 7] qui nous a conduits à tester une souche de référence représentative de chacune des 4 grandes familles bactériennes les plus prévalentes au cours de ces infections : entérobactéries (souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922), bactéries non fermentantes (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853),

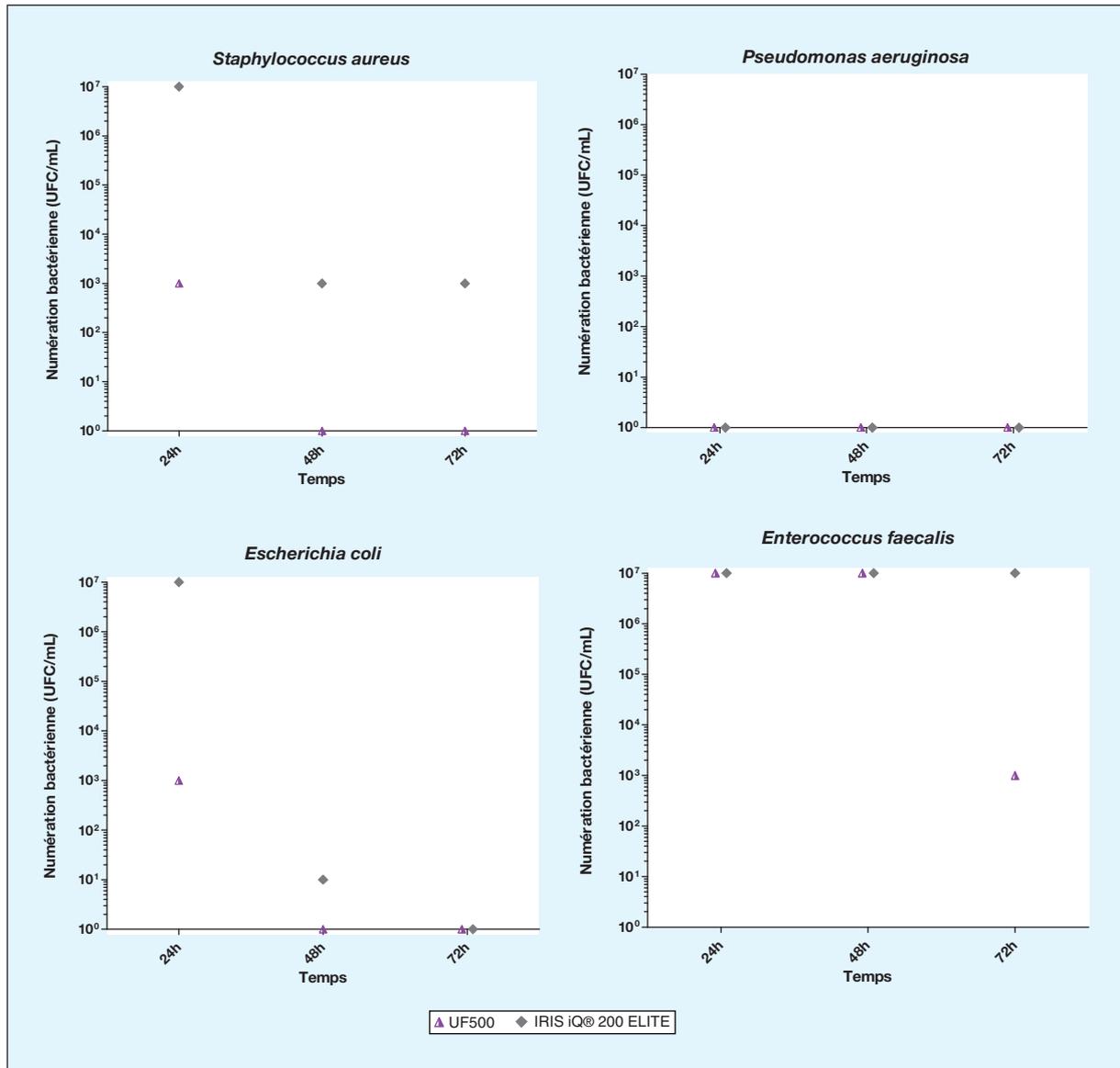


Figure 2. Activité bactéricide après 24, 48 et 72 heures d'exposition d'un inoculum de 10^7 UFC/mL aux différents rejets poolés de deux automates urinaires (IRIS iQ® 200 ELITE, Beckman et UF-500, Sysmex) pour chacune des quatre souches de référence ($10^0 = 0$ UFC = stérilité).

staphylocoques (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), streptocoques-entérocoques (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212). La sélection de ces 4 souches a permis d'étudier l'influence des différences de composition de la paroi bactérienne, de leur écologie et de leur capacité de résistance variable dans l'environnement.

Par ailleurs, nous avons tenté de tenir compte à la fois i) des inoculums bactériens potentiellement présents dans les prélèvements cliniques se retrouvant en bout de chaîne dans les rejets des automates inclus dans la présente étude et ii) des temps d'exposition des bactéries aux rejets testés,

directement lié aux volumes de rejets gérables et stockables par le laboratoire avant élimination.

Ainsi, dans une première étape, nous avons testé l'effet des rejets sur un inoculum bactérien moyen de 10^5 UFC/mL avec des temps d'exposition de 5 minutes (temps minimum de réalisation des étapes techniques), 1 heure et 24 heures montrant une activité antibactérienne très variable selon le type de rejet et d'espèces bactériennes testées. Ces expériences ont montré que les rejets avec l'activité globale bactéricide la plus importante étaient ceux des automates I2000 et XT-4000I. Les rejets de l'automate I2000 ont

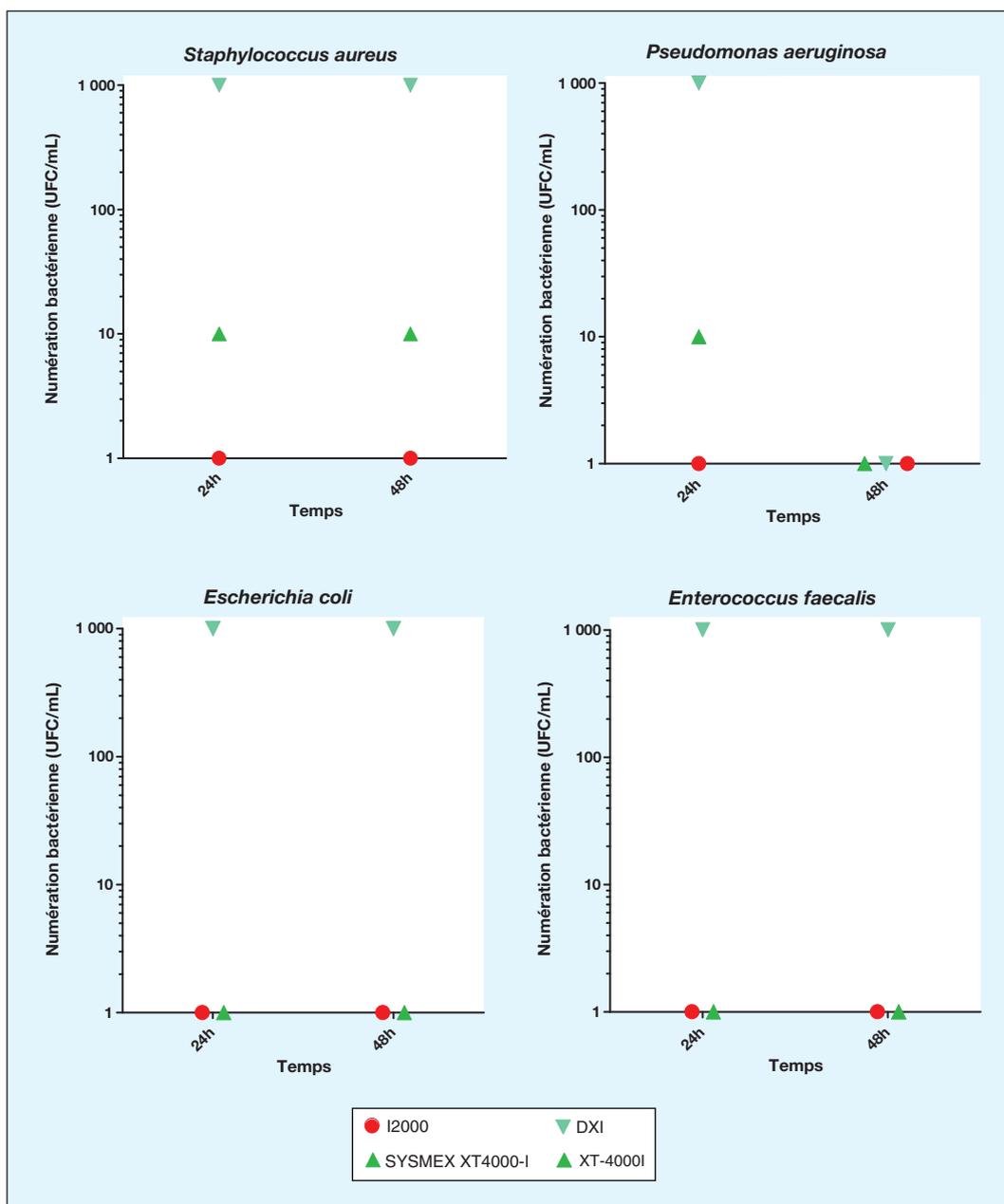


Figure 3. Activité bactéricide après 24 et 48 heures d'exposition d'un inoculum de 10^3 UFC/mL aux rejets poolés d'une sélection d'automates d'hématologie : I2000 (Abbott), DXI (Beckman), XT-4000I (Sysmex) pour chacune des quatre souches de référence ($10^0 = 0$ UFC = stérilité).

présenté une activité bactéricide plus rapide vis-à-vis des espèces à coloration de Gram négative avec une stérilité obtenue presque dans tous les cas dès une heure de contact, alors que les bactéries à coloration de Gram positive n'étaient plus détectées qu'après 24 heures. Pour les rejets de l'automate XT-4000I, on a pu obtenir une stérilisation des rejets sauf lors des tests avec *E. coli*. À l'inverse, pour les autres automates (Unicel® DXI, Sta RMax) une activité bactéricide faible ou nulle est observée même après

24 heures de contact. Ces résultats sont corrélés avec ceux d'une précédente étude ayant montré que les rejets des automates I2000 et XT-4000I étaient plus écotoxiques que d'autres rejets comme ceux de l'automate Sta R Max [2]. Cette différence d'activité est probablement liée à la présence dans ces rejets d'un mélange complexe de molécules, incluant par exemple des organohalogénés, ou des glycols. Sur la base de ces premiers résultats, dans une seconde étape nous avons utilisé des inoculum différents, 10^7 UFC/mL

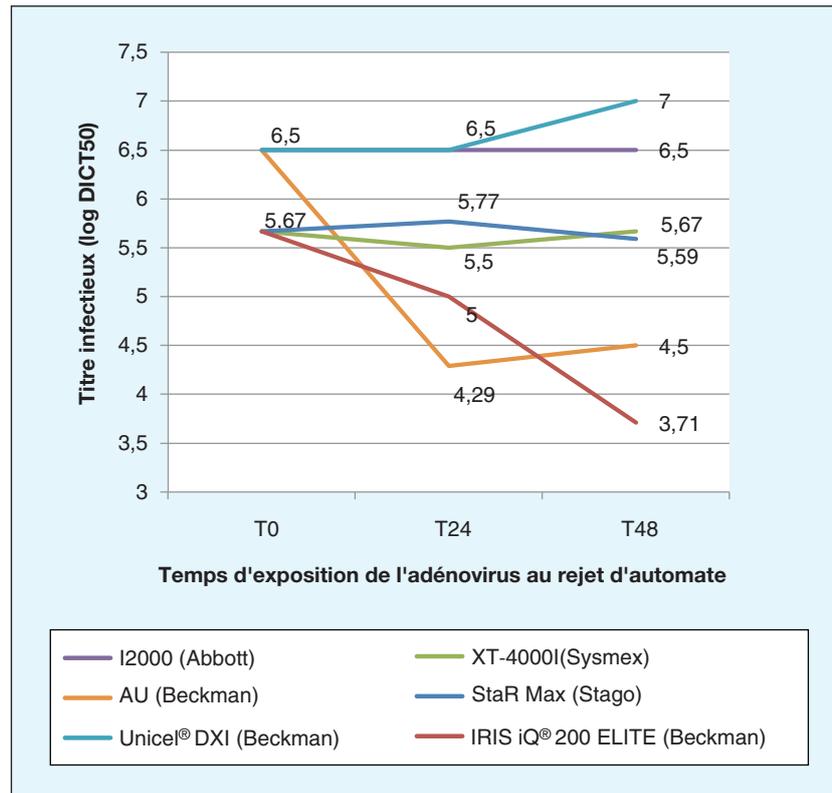


Figure 4. Influence de l'exposition pendant 24 à 48 heures d'une suspension d'adénovirus type 5 aux rejets poolés d'automates sur la réduction du titre infectieux sur cellules Hep-2 (titre déterminé par la méthode de Reed et Muench).

et 10^3 UFC/mL, pour les rejets des automates urinaires et sanguins respectivement. Ces inoculums ont été choisis sur la base de données de la littérature concernant les inoculums (10^7 UFC/mL) classiquement retrouvés dans les urines des patients présentant des cystites ou des pyélonéphrites [4] et les inoculums (10^3 UFC/mL) présents dans le sang des patients présentant un sepsis [6]. Nous avons également testé des temps d'exposition plus longs des bactéries aux rejets, jusqu'à 72h, afin de connaître la cinétique de bactéricidie des rejets collectés et de déterminer si une prolongation de l'exposition (avec stockage « poubelle » des rejets d'automates avant élimination dans le réseau sanitaire urbain) pourrait permettre une stérilisation des rejets contaminés.

Pour les automates d'analyse urinaire (inoculum 10^7 UFC/mL), la prolongation du stockage des rejets au-delà de 24h n'est pas nécessaire pour *P. aeruginosa* (stérilisation dès 24h) mais permet de réduire de façon significative l'inoculum dès 48h pour *S. aureus* et *E. coli*. En revanche l'inoculum de *E. faecalis* n'est pas ou peu diminué quel que soit le temps de contact. Une prolongation du stockage des rejets peut donc s'avérer utile jusqu'à 48h mais pas au-delà.

Pour les automates de biochimie-hématologie, la prolongation du temps de contact n'apparaît pas utile car (i) l'activité bactéricide des rejets de I2000 et XT-4000I était déjà complète dès 24h vis-à-vis des 4 germes testés et (ii) l'activité bactéricide des rejets de l'automate DXI reste nulle même après 48h de contact.

Nous nous sommes également intéressés à l'activité virucide des rejets liquides puisque les prélèvements biologiques pris en charge par les automates des laboratoires de biologie médicale peuvent, dans certains contextes pathologiques, contenir des virus (dans le sang : VIH, VHB, VHC, CMV, EBV, BK virus, HHV6, arbovirus, adénovirus ; dans les urines : CMV, BK virus, adénovirus, pour les principaux). Parmi ces virus d'intérêt, certains sont plus fréquents (Herpesviridae, BK virus) mais sont tous des virus enveloppés, fragiles en milieu extérieur. Ce sont donc des virus qui perdent rapidement leur pouvoir infectieux et le risque infectieux associé à leur présence dans des rejets d'automates de laboratoire peut ainsi apparaître négligeable. Les autres virus cités sont très peu fréquents et sont aussi des virus enveloppés donc fragiles, à l'exception de l'adénovirus et du virus de l'hépatite B (VHB). Ce der-

nier est peu fréquemment retrouvé dans les prélèvements de sang mais est résistant en milieu extérieur. Il aurait ainsi pu constituer un bon virus test mais il s'agit d'un virus difficilement cultivable sur système cellulaire donc plus difficile à inclure dans ce type d'étude.

Ces éléments ont ainsi orienté notre choix du virus modèle à tester vers l'adénovirus. Par ailleurs, ce virus fait partie des virus test proposés par la norme EN 14476. De plus, l'adénovirus de type 5 est un virus facilement cultivable qui n'impose pas de contraintes de confinement telles qu'exigées actuellement pour les poliovirus, y compris pour certaines souches vaccinales. Le sérotype 5 est le sérotype prototype le plus souvent utilisé pour représenter cette famille comportant plus de 70 séro/génotypes. C'est un des sérotypes le plus fréquemment retrouvé en pathologie humaine [8]. Il est le plus souvent retrouvé dans le cadre de gastroentérites ou d'infections respiratoires mais peut aussi être à l'origine d'infections systémiques gravissimes chez les patients immunodéprimés, ou de cystites hémorragiques. Il peut alors être retrouvé dans des prélèvements de sang et d'urines avec des charges virales parfois très élevées [4].

Nos résultats montrent un très faible effet cytotoxique des rejets sur les cellules en culture ainsi qu'un effet virucide sur l'adénovirus limité à 2 log, bien inférieur aux 4 log requis par la norme. De plus cette diminution n'était retrouvée que pour les rejets de deux automates (IRIS iQ® 200 ELITE et AU) sur les 6 testés.

Cette étude ne valide donc pas d'effet virucide tel que défini dans la norme EN 14476. Les réactifs des automates contiennent de nombreux produits chimiques présentant un potentiel microbicide certain, mais les processus impliquent aussi de nombreux diluants et tampons conduisant à une concentration en principe potentiellement virucide probablement très faible dans les rejets finaux, d'où l'absence ou le faible niveau d'activité virucide mis en évidence dans cette étude sur un virus résistant.

En complément de cette étude, il pourrait être intéressant d'objectiver le risque infectieux résiduel réel de ces rejets d'automates en conditions réelles d'utilisation, afin de valider ou non l'intérêt des procédés de désinfection actuellement utilisés. Pour cela, la mise en culture de ces rejets, notamment après passage sur les automates de prélèvements cliniques positifs pour les bactéries ou virus testés au milieu de prélèvements cliniques négatifs, pourrait permettre de quantifier la charge microbienne résiduelle.

Cependant, pour les virus sus-cités, la mise en œuvre de techniques de cultures virales est compliquée pour la majorité de ces virus qui ne se cultivent pas sur cellules ou ont des conditions de culture très exigeantes. La détection moléculaire de ces virus pourrait être envisagée. Plus simples à mettre en œuvre, ces techniques soulèvent

toujours la question du caractère infectieux des acides nucléiques détectés. Cependant, plusieurs études ont permis de démontrer des propriétés virucides sur des poliovirus de type 1 et sur du VHC en utilisant des techniques de biologie moléculaire [9]. Il faut cependant noter que la mise en évidence de ces activités virucides par des techniques de biologie moléculaire (absence de détection des acides nucléiques) nécessitait parfois des temps de contact beaucoup plus longs qu'avec les techniques de culture virale. Ces techniques pourraient permettre de définir si des agents viraux sont présents dans des rejets d'automates, en ciblant les virus les plus fréquents dans le sang et/ou les urines (VIH, VHB, CMV, ADV).

Conclusion

Les résultats de cette étude démontrent que l'effet microbicide des rejets des automates de biologie médicale est inconstant et varie de façon importante selon l'automate et l'agent infectieux considéré, probablement corrélé à la faible concentration en produits chimiques dans ces rejets du fait de la dilution dans des solutions tampons.

Une étude large incluant plus de laboratoires et de types d'automates visant à objectiver le risque infectieux réel des rejets pourrait permettre de conclure sur la nécessité d'un traitement stérilisant supplémentaire avant élimination dans le réseau sanitaire. Ainsi, le risque infectieux réel, même en l'absence d'effet bactéricide et virucide complet, reste à évaluer.

Au vu des faibles quantités de sang ou urines prélevées par les automates et de leur dilution lors du processus analytique, ce risque peut apparaître acceptable, en particulier par rapport au risque chimique engendré par les traitements additionnels actuellement réalisés et par rapport aux inoculums microbiens considérablement plus importants provenant des excréments des patients infectés (notamment urines et selles) qui sont éliminés sans traitement particulier dans le réseau sanitaire urbain.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. SIDIV. Recommandations pour le traitement du risque biologique des effluents des automates de DIV 12-06-2015. Brochure SIDIV. Mise à jour juin 2015 (<https://www.sidiv.fr/news.html>).
2. Philippot M, Bazin C, Preynat-Boucher P, Giannoli JM, Perrodin Y. Caractérisation de l'écotoxicité des rejets liquides des laboratoires de biologie médicale. *Revue des Sciences et de l'Eau* 2016;3: 179-314.

3. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent end points. *Am J Hyg* 1938 ; 27 : 493-7.
4. Remic. Référentiel de microbiologie. Société française de microbiologie, 2018.
5. Hooton TM. Clinical practice. Uncomplicated urinary tract infection. *N Engl J Med* 2012 ; 366 : 1028-37.
6. Laupland KB, Church DL. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. *Clin Microbiol Rev* 2014 ; 27 : 647-64.
7. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the art. *Front Microbiol* 2016 ; 7 : 697.
8. Lenaerts L, De Clercq E, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev Med Virol* 2008 ; 18 : 357-74.
9. Chanzy B, Duc-Bin DL, Rousset B, Morand P, Morel-Baccard C, Marchetti B, *et al.* Effectiveness of manual disinfection procedure in eliminating hepatitis C virus from experimentally contaminated endoscopes. *Gastrointest Endosc* 1999 ; 50 : 147-51.