



La désinfection des surfaces en laboratoire de biologie

L'Institut national de recherche et de sécurité (INRS)

Dans le domaine de la prévention des risques professionnels, l'INRS est un organisme scientifique et technique qui travaille, au plan institutionnel, avec la CNAMTS, les Carsat, la Cramif et les CGSS et plus ponctuellement pour les services de l'État ainsi que pour tout autre organisme s'occupant de prévention des risques professionnels.

Il développe un ensemble de savoir-faire pluridisciplinaires qu'il met à la disposition de tous ceux qui, en entreprise, sont chargés de la prévention : chef d'entreprise, médecin du travail, CHSCT, salariés. Face à la complexité des problèmes, l'Institut dispose de compétences scientifiques, techniques et médicales couvrant une très grande variété de disciplines, toutes au service de la maîtrise des risques professionnels.

Ainsi, l'INRS élabore et diffuse des documents intéressant l'hygiène et la sécurité du travail : publications (périodiques ou non), affiches, audiovisuels, multimédias, site Internet... Les publications de l'INRS sont distribuées par les Carsat. Pour les obtenir, adressez-vous au service Prévention de la caisse régionale ou de la caisse générale de votre circonscription, dont l'adresse est mentionnée en fin de brochure.

L'INRS est une association sans but lucratif (loi 1901) constituée sous l'égide de la CNAMTS et soumise au contrôle financier de l'État. Géré par un conseil d'administration constitué à parité d'un collège représentant les employeurs et d'un collège représentant les salariés, il est présidé alternativement par un représentant de chacun des deux collèges. Son financement est assuré en quasi-totalité par le Fonds national de prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles.

Les caisses d'assurance retraite et de la santé au travail (Carsat), la caisse régionale d'assurance maladie de l'Île-de-France (Cramif) et les caisses générales de sécurité sociale (CGSS)

Les Carsat, la Cramif et les CGSS disposent, pour participer à la diminution des risques professionnels dans leur région, d'un service Prévention composé d'ingénieurs-conseils et de contrôleurs de sécurité. Spécifiquement formés aux disciplines de la prévention des risques professionnels et s'appuyant sur l'expérience quotidienne de l'entreprise, ils sont en mesure de conseiller et, sous certaines conditions, de soutenir les acteurs de l'entreprise (direction, médecin du travail, CHSCT, etc.) dans la mise en œuvre des démarches et outils de prévention les mieux adaptés à chaque situation. Ils assurent la mise à disposition de tous les documents édités par l'INRS.

Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'INRS, de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite. Il en est de même pour la traduction, l'adaptation ou la transformation, l'arrangement ou la reproduction, par un art ou un procédé quelconque (article L. 122-4 du code de la propriété intellectuelle). La violation des droits d'auteur constitue une contrefaçon punie d'un emprisonnement de trois ans et d'une amende de 300 000 euros (article L. 335-2 et suivants du code de la propriété intellectuelle).

La désinfection des surfaces en laboratoire de biologie

Christine David,
Isabelle Balty

Nos remerciements à Michel Falcy, Annabelle Guilleux,
Michèle Guimon, Annabel Maison, Pascal Serre.

Sommaire

Introduction.....	4
-------------------	---

1 Contamination des surfaces et risques pour les personnels	5
--	----------

2 Usage de la désinfection	7
---	----------

2.1. Quand doit-on nettoyer ou désinfecter ?	8
--	---

2.2. Qui effectue les opérations de nettoyage ou désinfection ?	9
---	---

3 Les produits	10
-----------------------------	-----------

3.1. Les détergents	10
---------------------------	----

3.2. Les désinfectants	11
------------------------------	----

4 Les techniques de nettoyage/désinfection	18
---	-----------

4.1. Traitement par application manuelle	18
--	----

4.2. Désinfection des surfaces par voie aérienne (DSVA)	18
---	----

5 La protection du personnel	23
---	-----------

5.1. Les risques professionnels	23
---------------------------------------	----

5.2. Les mesures de prévention	24
--------------------------------------	----

Conclusion	27
------------------	----

Annexe I. La normalisation européenne des désinfectants de surface	28
--	----

Définitions	33
-------------------	----

Références	35
------------------	----

Introduction

Des micro-organismes ou des échantillons sont manipulés dans les laboratoires de recherche biologique, de biotechnologie, d'analyses médicales ou vétérinaires ainsi que dans les laboratoires d'anatomie et cytologie pathologiques et les salles d'autopsie. Ces micro-organismes peuvent contaminer les surfaces (paillasse, équipements, sols...) et les opérateurs. Il est donc nécessaire de mettre en place des procédures de nettoyage et de désinfection des surfaces.

Ce document présente les modes de colonisation des surfaces par les micro-organismes et les voies de contamination des opérateurs. Il précise les techniques et les produits utilisables pour nettoyer et désinfecter les surfaces (à l'exception les instruments), ainsi que les mesures de prévention des risques liés à ces pratiques. Les principes de nettoyage et de désinfection doivent être connus et respectés afin d'effectuer ces opérations de façon efficace, en toute sécurité pour les personnes.

1.

Contamination des surfaces et risques pour les personnels

En laboratoire de biologie, les salles techniques peuvent être contaminées par des micro-organismes provenant des échantillons (sang, selles, céréales, terre, eau...) ou des cultures (moisissures, bactéries...). En outre, certains agents biologiques peuvent être introduits involontairement dans les locaux par le biais d'objets (emballages, matériel de prélèvement...), ou encore de personnes (chaussures, vêtements...). Lorsque ces micro-organismes sont dispersés dans l'air (renversement accidentel d'un flacon, utilisation de vortex...), ils peuvent contaminer des surfaces même éloignées (meubles, sols, murs...). Ensuite, les micro-organismes prolifèrent lorsqu'ils trouvent des conditions favorables (voir encadré 1).

[Encadré 1] Conditions de multiplication des micro-organismes

Les micro-organismes se multiplient lorsqu'ils trouvent un milieu adéquat leur fournissant :

- suffisamment de nourriture (poussières, dépôts gras...);
- une humidité relative élevée (entre 70 et 100 %);
- une température optimale de croissance pouvant varier selon les micro-organismes (ceux retrouvés chez l'homme préfèrent des températures situées autour de 37°C).

En l'absence de nettoyage des surfaces, celles-ci sont colonisées par des populations très variées (bactéries, champignons, protozoaires...) cohabitant parfaitement sous forme de biofilm accroché aux micro-aspérités. Cette cohabitation se traduit de différentes façons :

- les populations microbiennes superficielles, ainsi qu'une substance gélatineuse sécrétée par les micro-organismes, protègent physiquement les populations sous-jacentes ;
- certaines bactéries peuvent trouver refuge dans les protozoaires, profitant ainsi de leur résistance aux biocides¹;
- des interactions s'instaurent entre populations : certaines libèrent des produits de dégradation dont se nourrissent les autres, certaines libérant des produits toxiques tuant les autres ;
- les bactéries peuvent également échanger des gènes de résistance aux biocides.

1. *Biocide* : produit pouvant tuer les organismes nuisibles, nocifs ou gênants tels que les micro-organismes.

Contamination des surfaces et risques pour les personnels

En laboratoire, le personnel peut se contaminer par différentes voies :

■ **Voie respiratoire :** les micro-organismes présents sur les surfaces ou les milieux de culture peuvent être inhalés lorsqu'ils sont mis en suspension dans l'air par des techniques de laboratoire (vortex, flambage des anses...) ou des mouvements d'air (ventilation, ouverture de porte...).

■ **Voie cutanéomuqueuse :** lors de contacts avec les surfaces contaminées, les micro-organismes sont capables de pénétrer par les petites lésions de la peau ou à travers les muqueuses lorsque la personne porte les mains aux yeux ou au nez.

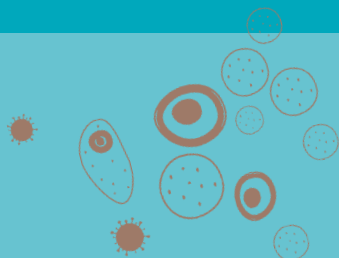
■ **Voie digestive :** les personnes sont susceptibles de se contaminer en portant à la bouche les mains contaminées au contact des surfaces.

Les salles techniques doivent être confinées en respectant les prescriptions de l'arrêté du 16 juillet 2007, afin de limiter la contamination des personnels et de l'environnement. Il convient notamment de respecter les bonnes pratiques de laboratoire, comme travailler sous un poste de sécurité microbiologique [1] pour éviter la dispersion des micro-organismes et la contamination de la salle technique. Il est également important de retirer les vêtements de travail potentiellement contaminés en sortant des salles techniques. Cet arrêté impose également la « mise en place de procédures écrites définissant des moyens et méthodes de nettoyage et de désinfection appropriés ».



2.

Usage de la désinfection



La désinfection d'une surface permet d'éliminer ou de tuer uniquement les micro-organismes présents au moment de l'opération. De plus, elle n'élimine pas tous les micro-organismes :

- certains contaminants, comme par exemple les spores et les mycobactéries ne sont pas éliminés par tous les produits désinfectants,
- un produit reconnu efficace sur un type de micro-organisme réduit d'un certain nombre de log sa population, ce qui n'élimine pas la totalité des micro-organismes,
- enfin, la désinfection n'empêche pas la recontamination ultérieure de la surface.

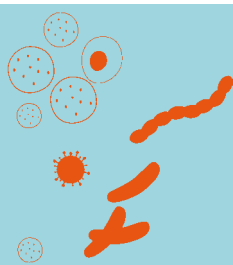
Pour obtenir une désinfection optimale, les surfaces doivent être correctement nettoyées au préalable au moyen d'un détergent (voir encadré 2). Toutefois, il existe des produits couplant les activités détergente et désinfectante. Ils peuvent être employés dans les laboratoires où les surfaces ne présentent pas un grand degré de salissure. Ces produits ne nécessitent pas de rinçage, mais peuvent, à la longue, laisser des dépôts. Pour les éliminer, il convient de procéder, une fois par semaine, à un nettoyage avec un détergent, suivi d'un rinçage et d'une application de désinfectant.

[Encadré 2] Le nettoyage

Le nettoyage consiste à dépoussiérer et à dégraisser les surfaces, supprimant ainsi les nutriments des micro-organismes et les substances interférentes avec le désinfectant. Le dépoussiérage doit limiter au maximum la formation d'aérosols inhalables. Pour cela il convient d'utiliser des aspirateurs munis de filtres HEPA* et des chiffonnettes humides. Le dégraissage se fait à l'aide de produits détergents, tensioactifs, disponibles dans le commerce.

Le nettoyage quotidien des locaux permet d'éviter l'accumulation de poussières et de dépôts gras qui sont des éléments nutritifs des micro-organismes et qui contribuent à leur dispersion.

** Filtres HEPA (High efficiency particulate air) : filtre à haute efficacité contre les particules. En laboratoire, la désinfection est nécessaire pour préserver la qualité des manipulations ou pour éliminer un micro-organisme pathogène ayant pu contaminer le local.*



Usage de

Il convient de mettre en place des stratégies de nettoyage/désinfection en fonction des activités, des locaux, des surfaces ou encore d'événements exceptionnels contaminants. Ces stratégies donnent lieu à des procédures écrites et validées qui détaillent les techniques, les produits utilisés et les mesures de prévention à suivre par la personne effectuant cette intervention. Certaines interventions lourdes de désinfection (désinfection par voie aérienne) doivent être planifiées en fonction du niveau de contamination et être effectuées en l'absence de personnel.

2.1. Quand doit-on nettoyer ou désinfecter ?

Le nettoyage et la désinfection des paillasse doivent s'effectuer au moins une fois par jour, avant de quitter le local, mais peuvent être également réalisés à la fin de chaque manipulation. Il est également recommandé de nettoyer ou nettoyer/désinfecter les sols à la fin de la journée de travail. La surface des appareils est traitée en fonction de la nature et du danger des micro-organismes manipulés.

En cas de contamination accidentelle d'une surface, des procédures écrites précisent les mesures à suivre. Un déversement de liquide contaminé doit être, en premier lieu, absorbé par du papier qui sera jeté parmi les déchets infectieux [3]. Des opérations de nettoyage/désinfection doivent ensuite être menées sur la zone contaminée de façon centripète du plus propre vers le plus sale. Les éventuels débris du contenant brisé ne doivent jamais être retirés à la main mais en s'aidant d'outils tels qu'une pince ou une pelle. Les débris contaminés sont mis dans les conteneurs spécifiques pour Dasri piquants/coupants et les outils réutilisables sont nettoyés puis désinfectés.

Le nettoyage/désinfection de toutes les surfaces (y compris appareils, murs et plafond) est entrepris lors d'une contamination accidentelle (renversement de culture...) et peut être envisagé annuellement en fonction des activités du laboratoire [2]. Cette intervention se fait en général au moyen d'une désinfection des surfaces par voie aérienne (DSVA).

la désinfection

2.2. Qui effectue les opérations de nettoyage ou désinfection ?

L'attribution des opérations de nettoyage ou désinfection est confiée à différents personnels selon le confinement du local (correspondant au danger représenté par les micro-organismes manipulés) [4].

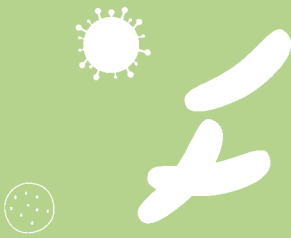
Dans les laboratoires de niveau de confinement 1 et 2, les paillasses sont généralement nettoyées ou désinfectées par le manipulateur alors que les autres surfaces et le sol sont traités par du personnel de ménage.

Pour les niveaux de confinement 3 ou 4, les surfaces de travail, les meubles, les appareils et les sols sont pris en charge par les manipulateurs.



3.

Les produits



Les produits sont choisis en fonction des objectifs (nettoyage, désinfection), de la nature et de la superficie des surfaces à traiter.

3.1. Les détergents

Les détergents utilisés pour le nettoyage détachent les salissures d'une surface et les dispersent ou les mettent en solution. Pour cela, le détergent comprend, outre des colorants et des parfums :

- un agent de surface (tensioactif) permettant à la solution de nettoyage d'entrer en contact avec la surface et d'en décoller les souillures (étape de mouillage),
- différents types d'additifs (agents anticorrosion, d'émulsion, de dispersion, de solubilisation) qui permettent de retenir les salissures au sein de la solution de détergence pour éviter qu'elles ne se redéposent sur la surface.

L'efficacité des détergents dépend de nombreux paramètres dont il faut tenir compte lors du choix des produits :

- le temps de contact,
- la température,
- le mode d'application (immersion, pulvérisation de liquide, pulvérisation de mousse, circulation dans des canalisations...),
- la qualité de l'eau (dure ou douce),
- la nature des souillures (graisses, protéines...),
- la nature des matériaux à nettoyer.

Les détergents peuvent avoir une action biocide en détruisant les protéines et les lipides enveloppant les micro-organismes. Par exemple, les savons peuvent détériorer l'enveloppe de certains virus, comme les virus grippaux, et les détruire.

3.2. Les désinfectants

Les désinfectants utilisés en laboratoire sont considérés comme des biocides appartenant au type de produit 2 (TP2²), au sens du règlement européen 528/2012 du 22 mai 2012, relatif à la mise sur le marché des produits biocides. Ces produits doivent contenir des substances actives qui ont été évaluées afin d'être inscrites sur une liste positive européenne. Les produits sont ensuite soumis à des autorisations de mise sur le marché nationales avec des exigences communes au niveau européen.

Ces substances actives présentent des spectres d'activité³ différents. En effet, certaines ont une action sur la majorité des micro-organismes, alors que d'autres sont actives seulement sur un type d'agent biologique (bactéries, ou champignons, ou virus...). Toutefois, l'efficacité d'une substance active dépend de nombreux paramètres, comme le degré de salissure de la surface, le temps de contact, la température, le pH, sa concentration...

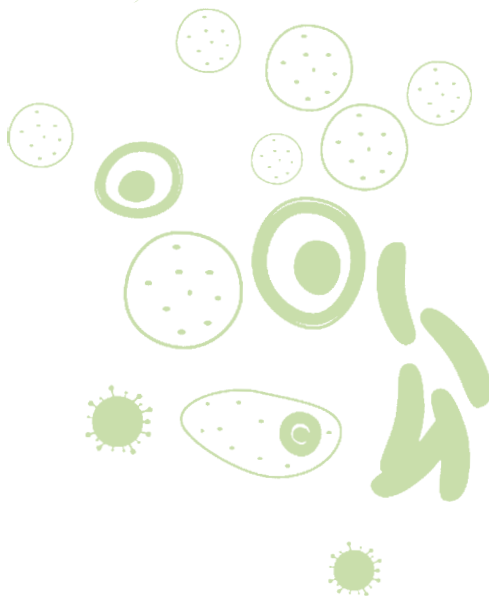
Une opération de nettoyage et désinfection effectuée sans respecter les concentrations indiquées par le fournisseur peut s'avérer inefficace. Par exemple, à une concentration donnée, une substance active peut avoir une action sur les bactéries et les spores bactériennes, mais une diminution de cette concentration peut supprimer l'effet sporicide.

L'emploi d'une concentration de désinfectant plus faible que conseillée peut également entraîner l'apparition de micro-organismes résistants. Il suffit qu'une seule bactérie ait survécu à un biocide trop faiblement concentré, pour qu'elle recolonise rapidement son milieu. Celui-ci est alors envahi par des bactéries ayant un niveau de résistance supérieur à la population de départ. Pour éliminer cette nouvelle population, il faudra utiliser une concentration de biocide supérieure à celle du premier traitement.

De même, il est important de changer régulièrement de substance active pour éliminer les souches ayant pu résister au produit précédent.

2. TP2: type de produits désinfectants utilisés dans le domaine privé et dans le domaine de la santé publique et autres produits biocides.

3. Spectre d'activité : variétés de micro-organismes sur lesquelles un produit agit.



Pour juger de façon homogène l'effet des produits sur chaque type de micro-organisme, il existe des tests normalisés. Ces normes spécifient aux fabricants :

- les souches devant être testées en fonction de l'activité recherchée : par exemple les souches bactériennes pour tester l'action bactéricide, les souches de moisissures et de levures pour tester l'action fongicide,
- les techniques devant être suivies pour évaluer l'action biocide sur les souches considérées,
- les domaines d'activité (médical, vétérinaire, agroalimentaire, collectivité...) ou les surfaces/objets devant être traités (mains, sols, instruments...).

Lorsque l'on recherche une action biocide précise, il est recommandé de prendre un produit répondant aux normes biocides recherchées (annexe 1). Cette information figure sur l'étiquette, au même titre que d'autres renseignements que doit fournir le fabricant (norme NF EN 14885⁴) :

- le type et/ou la destination du produit (lavage hygiénique des mains, désinfection chimique des surfaces...),
- le domaine (médical, collectivité...) et le champ d'application (traitement hygiénique des mains par frictions, surfaces dures...),
- le spectre d'activité et la référence de la norme européenne à laquelle le produit est déclaré conforme,
- la ou les méthodes d'application recommandées (concentration (s), diluant(s) du produit, volume à appliquer, mode opératoire d'application, temps de contact, température(s)),
- les conditions de salissure dans lesquelles le produit peut être efficace.

Selon les résultats obtenus lors des tests normalisés effectués avec les produits commerciaux, il est possible d'estimer l'étendue du spectre d'activité des substances actives (tableau 1). Globalement, l'acide peracétique et l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) ont un spectre d'action relativement complet, avec une très bonne activité bactéricide

4. Norme NF EN 14885 : « Antiseptiques et désinfectants chimiques. Application des normes européennes relatives aux antiseptiques et désinfectant chimiques », février 2007.

produits



(Gram + et Gram -) et une bonne activité sur les mycobactéries⁵, moisissures, levures, spores et virus. De plus, l'usage de l'hypochlorite de sodium fait partie des procédés assurant une inactivation totale des ATNC⁶, à une concentration de 2% de chlore actif pendant une heure à température ambiante⁷.

[Tableau 1] Estimation des activités biocides des principales substances actives [5, 6]

	Bactéries		Mycobactéries	Spores	Moisissures	Levures	Virus	ATNC
	Gram +	Gram -						
Acide peracétique								
Ammonium quaternaire								
Biguanide (PHMB)			NP		NP	NP		
Ethanol								
Glutaraldéhyde					(1)	(1)		
Hypochlorite de sodium (eau de Javel)								(2)
Peroxyde d'hydrogène								

très bonne activité bonne activité activité moyenne
 aucune activité fixe fortement l'infectiosité NP : non précisé

(1) : activité inconstante. (2) : à la concentration optimale de 2 % de chlore actif.

Pour choisir une substance active, il faut examiner son spectre d'activité, ses contre-indications, sa toxicité et les mesures de protection des utilisateurs. Les substances actives pures décrites ci-dessous sont en cours d'évaluation au titre de la réglementation biocide, mais sont actuellement autorisées en TP2.

5. Mycobactéries : bactéries particulièrement résistantes, responsables notamment de la tuberculose.

6. ATNC : agent transmissible non conventionnel appelé également prion. Cette protéine est à l'origine des maladies de Creutzfeldt Jakob.

7. Instruction n° DGS/R13/2011/449 du 1^{er} décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs.



Les

Acide peracétique

Il s'agit de solutions plus ou moins concentrées d'acide peracétique à l'équilibre avec du peroxyde d'hydrogène et de l'acide acétique. Ces solutions possèdent un large spectre d'activité.

L'acide peracétique pur est comburant et inflammable. Il doit donc être stocké dans des locaux frais et bien ventilés. De plus, la présence d'impuretés métalliques accélère sa décomposition. Les solutions aqueuses attaquent la plupart des métaux et réagissent violemment (risque d'explosion) avec les substances organiques et les sels de type chlorure. Il est donc important de diluer l'acide peracétique dans de l'eau distillée et non dans l'eau du réseau urbain pouvant contenir des impuretés.

L'acide peracétique présente une toxicité à court terme en cas d'exposition unique par voie respiratoire, cutanéomuqueuse et digestive [7].

Il faut éviter d'inhaler le produit en effectuant toutes les opérations qui s'y prêtent (trempage de matériel...) en système clos ou à défaut, sous système de captage des vapeurs enveloppant avec rejet de l'air à l'extérieur du bâtiment. Lors d'opérations exceptionnelles de courte durée (mise en place et arrêt de la DSVA...), prévoir des appareils de protection respiratoire (filtre ABENOP) pour le personnel exposé. Il faut également éviter tout contact de l'acide avec la peau, les cheveux et les yeux, en portant une combinaison avec capuche, des gants et des lunettes de protection.

Ammoniums quaternaires

Leur propriété biocide est très variable d'un composé à l'autre.

Les ammoniums quaternaires ont des pouvoirs mouillants, solubilisants et émulsionnants. Ils sont très stables aux variations de température et de pH (pH optimum entre 4 et 10), mais peuvent réagir de façon violente avec des substances oxydantes. Leur utilisation avec des savons ou des tensioactifs anioniques inhibe leur activité biocide. Les ammoniums quaternaires sont corrosifs pour la plupart des métaux.

Selon leur pureté ou leurs groupes substituants, les ammoniums quaternaires peuvent présenter des dangers différents. La présence de certains groupes peut accroître la pénétration des ammoniums quaternaires à travers la peau. Ces produits concentrés sont, de façon générale, corrosifs pour la peau et les muqueuses, très irritants pour l'œil et sensibilisants cutanés ou respiratoires [8].

produits

Il convient donc de les manipuler en évitant tout contact (port de vêtements, gants et lunettes de protection).

Biguanide (chlorhydrate de polyhexaméthylène biguanide – PHMB)

Le PHMB est essentiellement bactéricide et levuricide.

Ce produit est incompatible avec les oxydants puissants, les acides, les tensioactifs anioniques et les protéines (d'où l'importance du nettoyage préliminaire). Le PHMB n'est pas corrosif pour l'acier inoxydable, les alliages d'aluminium, l'acier étamé, le cuivre étamé, le laiton ou encore le nickel. Par contre, le cuivre est sensible aux solutions concentrées [5].

Le PHMB est suspecté d'être cancérogène. Il présente une toxicité aiguë par ingestion, peut entraîner des effets graves sur les voies respiratoires en cas d'expositions répétées et des lésions oculaires graves. Le PHMB est de plus un sensibilisant cutané.

Il convient donc de manipuler les produits concentrés en évitant l'inhalation d'aérosols (protection respiratoire de type ABEKP) et tout contact avec la peau et les yeux, en portant des vêtements, des gants et des lunettes de protection

Éthanol (alcool éthylique)

L'éthanol 70° est surtout utilisé pour son activité bactéricide.

Les alcools sont très inflammables et sont incompatibles avec les oxydants puissants mais ne présentent pas de risques particuliers vis-à-vis des principaux métaux [5].

La toxicité de ce produit est reconnue par inhalation, ingestion et contact cutané (valeur limite d'exposition indicative non réglementaire de 1000 ppm sur 8 h et 5 000 ppm sur 15 min). L'éthanol est irritant pour les yeux et peut affecter les fonctions reproductrices à forte dose [9].

Il convient de manipuler les produits concentrés en évitant l'inhalation d'aérosols (protection respiratoire de type AP) et tout contact (vêtements, gants et lunettes de protection).

Glutaraldéhyde

Le glutaraldéhyde possède un spectre d'activité étendu mais ne doit pas être utilisé pour inactiver les ATNC car il fixe ces protéines au lieu de les détruire.

Ce produit est instable à des températures supérieures à 50 °C et à des pH supérieurs à 8,5. De plus, il est incompatible avec les acides forts, les bases fortes et les oxydants puissants. Le glutaraldéhyde n'est pas agressif vis-à-vis des matériaux couramment utilisés (aciers inoxydables, matières plastiques...) [5].

Lors de projections, ce produit corrosif peut entraîner des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Il est toxique à court terme en cas d'exposition unique par inhalation et ingestion et entraîne des eczémas allergiques sur les mains, ainsi que des maux de tête et des manifestations respiratoires irritatives ou allergiques (valeur limite d'exposition indicative non réglementaire de 0,1 ppm sur 8 h et 0,2 ppm sur 15 min) [10].

Il faut donc éviter d'inhaler le produit en effectuant toutes les opérations qui s'y prêtent (trempage de matériel...) en système clos ou à défaut, sous système de captage des vapeurs enveloppant avec rejet de l'air à l'extérieur du bâtiment. Lors d'opérations exceptionnelles de courte durée (mise en place et arrêt de la DSVA...), il convient de prévoir une protection respiratoire de type AP. Il faut également éviter tout contact avec le produit en portant des vêtements, gants et lunettes de protection.

Hypochlorite de sodium (eau de Javel)

L'hypochlorite de sodium possède un spectre d'activité très large. Il est même classé dans les produits efficaces contre les ATNC à une concentration de 2 % de chlore actif pendant 1 heure à 20 °C.

Le chlore et ses dérivés sont fortement oxydants et corrosifs. De plus, l'eau de Javel ne doit pas être mélangée avec :

- des détergents ou détartrants acides, car cela entraîne des projections et un dégagement de chlore gazeux très toxique [11],
- des détergents alcalins, car cela entraîne une baisse de l'activité biocide.

L'activité de ce produit diminue également à la chaleur, à la lumière et en présence de matières organiques. C'est pour cela qu'il faut :

- conserver l'eau de Javel à l'abri de la lumière,

produits

- diluer l'eau de Javel pour qu'elle se conserve plus longtemps (perte d'activité des solutions concentrées 3 mois après leur fabrication),
- utiliser de l'eau froide pour préparer les dilutions,
- éliminer les matières organiques par un nettoyage, avant d'utiliser l'eau de Javel.

Les concentrations élevées ou les extraits sont très dangereux alors que les dilutions habituellement employées entraînent peu de risques. Les mélanges des eaux et extraits de Javel avec des produits acides entraînent un dégagement de chlore qui peut provoquer une forte irritation bronchique, voire un œdème aigu pulmonaire d'apparition parfois retardée. Il en va de même pour le mélange avec de l'ammoniaque qui dégage de la chloramine.

Le personnel doit éviter tout contact avec le produit en portant des vêtements et des gants de protection.

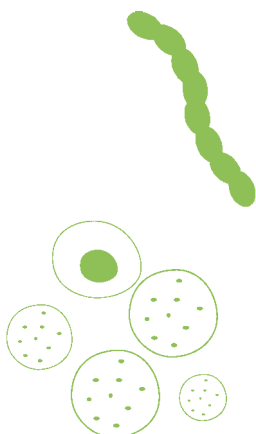
Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)

Ce produit agit particulièrement sur les bactéries et les spores.

Son action est augmentée à forte température (en passant de 20 à 45 °C, le temps d'action vis-à-vis des spores est divisé par 10) et son pH optimum d'efficacité est légèrement acide. Afin qu'il ne perde pas de son efficacité, ce produit doit être stocké dans des locaux frais et bien ventilés. Le peroxyde d'hydrogène est un comburant puissant et incompatible avec les alcalins et la plupart des métaux.

À forte concentration, ce produit est irritant pour la peau et les muqueuses oculaires [12]. Il est toxique à court terme après une exposition unique par ingestion et inhalation. L'inhalation de vapeur ou de brouillard de peroxyde d'hydrogène concentré peut provoquer des inflammations sévères de la gorge, du nez et des voies respiratoires, qui peuvent empirer si l'exposition persiste (valeur limite d'exposition indicative non réglementaire de 1 ppm sur 8 h).

Il faut donc éviter d'inhaler le produit en effectuant toutes les opérations qui s'y prêtent (trempage de matériel...) en système clos ou à défaut, sous système de captage des vapeurs enveloppant avec rejet de l'air à l'extérieur du bâtiment. Lors d'opérations exceptionnelles de courte durée (mise en place et arrêt de la DSVA...), il convient de prévoir une protection respiratoire de type BENOP. Il faut également éviter tout contact avec la peau, les cheveux et les yeux, en portant une combinaison avec capuche, des gants et des lunettes de protection.



4.

Les techniques de nettoyage/désinfection



L'efficacité des produits dépend du respect des consignes d'utilisation données par le fabricant. Ces consignes précisent notamment la concentration du produit, la qualité de l'eau de dilution, la température, le pH, le temps de contact et éventuellement l'appareil à utiliser. Elles s'accompagnent de mesures de protection de l'utilisateur.

Il existe des règles de base qui doivent être respectées pour toutes les opérations de nettoyage et de désinfection :

- aller de la zone la plus propre vers la zone la plus sale,
- éviter de repasser sur des zones déjà traitées,
- ne pas retremper une bande, une chiffonnette déjà utilisée dans le produit propre afin de ne pas le salir,
- décrire des « 8 » ou des bandes parallèles se chevauchant afin de n'oublier aucune surface.

Le nettoyage des murs se fait du haut vers le bas, le nettoyage du sol se fait du fond de la pièce vers la sortie, le nettoyage des surfaces horizontales se fait en partant de la zone la plus éloignée vers la zone la plus proche (pour éviter tout contact du corps sur une zone déjà nettoyée).

4.1. Traitement par application manuelle

Cette technique est utilisée pour nettoyer ou désinfecter les surfaces, à l'aide d'un support à usage unique imbibé du produit désiré. Ce support peut être une chiffonnette pour nettoyer les surfaces comme les mobiliers, les poignées, ou un balai équipé d'une bande humide pour nettoyer les sols.

Les équipements de laboratoire (centrifugeuse, étuve...) sont traités par essuyage à l'aide d'un support imprégné. Les parties d'accès plus difficile peuvent être traitées par voie aérienne.

4.2. Désinfection des surfaces par voie aérienne (DSVA)

La désinfection des surfaces par voie aérienne peut se faire par dispersat dirigé (une personne oriente le spray) ou par dispersat non dirigé qui se fait hors présence humaine. La DSVA n'est pas une méthode de désinfection de l'air.

Traitement par dispersat dirigé

Cette technique s'effectue en pulvérisant le produit au moyen d'un spray ou d'un pulvérisateur manuel à pression. Ces appareils projettent des gouttelettes d'un diamètre moyen de 100 μm . Le film déposé sur les surfaces doit être homogène et ne pas ruisseler. Ce traitement ne nécessite ni rinçage ni séchage.

Le pulvérisateur est maintenu verticalement à 10-20 cm de la surface et la pulvérisation s'effectue de haut en bas [13]. On commence par traiter les surfaces verticales, puis les objets de la pièce et enfin les surfaces horizontales.

Il convient de limiter cette technique au profit de l'essuyage manuel, afin de ne pas exposer les opérateurs à des projections ou inhalations de produits.

Traitement par dispersat non dirigé

Ce traitement se déroule hors présence humaine, à l'aide d'appareils automatiques particuliers. L'efficacité de cette technique dépend des appareils de diffusion, qui fonctionnent selon plusieurs principes [14] :

■ **Aérosolisation à chaud** : le liquide est centrifugé à travers des grilles de plus en plus fines, puis chauffé pour obtenir un brouillard de particules de 0,5 à 3 μm de diamètre. Cette technique n'est pas adaptée aux produits à base d'alcool ou de tensio-actifs.

■ **Brouillard «sec»** : des buses d'air comprimé pulvérisent le produit en générant des particules entre 7 et 12 μm . Ce type d'appareil n'est efficace qu'avec les peroxydes.

■ **Nébulisation à froid** : des buses d'air comprimé pulvérisent le produit en générant des particules de 10 à 30 μm sans calibrage précis. Les grosses particules tombent auprès du diffuseur avec un effet mouillant et les plus petites particules diffusent plus loin sans garantie d'obtenir la concentration efficace. Cette technique est valable pour tout type de produit.

Les produits sont plus ou moins efficaces selon les appareils. L'ANSM⁸ a constaté qu'une modification technique au niveau de l'appareillage, même si elle peut sembler mineure (changement du modèle de pompe par exemple), peut modifier l'efficacité du procédé. De plus,

8. ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

Les techniques de nettoyage/désinfection

les tests réalisés par l'agence ont mis en évidence que des essais d'efficacité réalisés sur le produit seul ne peuvent être considérés comme représentatifs de l'efficacité d'un procédé. C'est pourquoi les fabricants doivent valider un couple produit/appareil répondant aux spécifications de la norme homologuée NF T 72-281⁹. Cette norme permet de tester, en se rapprochant des conditions d'utilisation, l'activité bactéricide, fongicide, levuricide et sporicide du couple produit/appareil [15]. Cette norme est en cours de révision afin d'intégrer l'activité virucide, les procédés physiques (vapeur d'eau (voir tableau 2, annexe 1) et UV) et d'autres paramètres inhérents aux essais (voir encadré 3).

[Encadré 3] Efficacité et limite des nettoyeurs à vapeur

Les nettoyeurs/désinfecteurs à vapeur d'eau produisent de la vapeur à haute température (120 °C à 160 °C) et à haute pression (4 à 6 bars). Ils peuvent être munis d'un système d'aspiration de l'eau sale.

Pour le nettoyage, le procédé exploite les propriétés dégraissantes de l'eau chaude combinées à l'effet mécanique de la pression d'éjection de la vapeur. Il présente l'avantage de n'avoir aucune toxicité et de ne laisser aucun résidu.

L'efficacité de la désinfection dépend du temps de contact de la vapeur d'eau sur les surfaces à traiter. Ce paramètre ne fait l'objet d'aucune norme. Il dépend de la vitesse d'application du nettoyeur sur la surface à traiter.

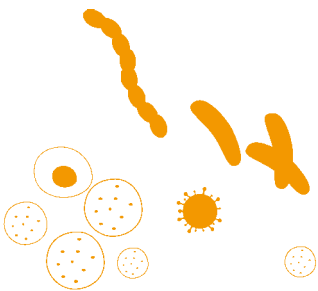
En 2004, un groupe de travail de la SF2H* a conclu à l'activité bactéricide et levuricide de la méthode vapeur pour la désinfection des sols et surfaces (http://www.sf2h.net/publications-SF2H/SF2H_avis-vapeur-2004.pdf).

Dans le cas de surfaces importantes, la contrainte d'un temps de contact minimal peut s'avérer difficile à respecter par les personnels. En revanche, pour des surfaces réduites ou difficilement accessibles au nettoyage par lingette, ce procédé pourrait être retenu.

* SF2H : Société française d'hygiène hospitalière.

Il existe également des aérosols à diffusion continue. Ces bombes à usage unique projettent des particules entre 10 et 20 µm et ne s'utilisent que pour des petits volumes (par exemple, sas ou poste de sécurité microbiologique).

9. Norme NF T 72-281 (mai 2009) : Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne – Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide et sporicide.



La DSVA comporte plusieurs étapes qu'il est important de respecter :

- ranger la pièce, pour limiter l'encombrement et rendre toutes les surfaces accessibles au produit. Le matériel électronique (ordinateur) est nettoyé et désinfecté, puis sorti de la pièce avant la DSVA ;
- nettoyer au préalable les surfaces horizontales et verticales ;
- rendre parfaitement étanche les locaux (ruban adhésif), ce qui implique de couper les systèmes de ventilation ;
- respecter le temps de contact préconisé par le fabricant ;
- remettre la ventilation en marche pour évacuer le produit avant l'entrée du personnel dans le local. La personne chargée de cette tâche doit porter des vêtements de travail, des gants, des lunettes de protection et un appareil de protection respiratoire adapté aux produits utilisés.

De plus, certains paramètres doivent être pris en compte pour réaliser une DSVA efficace [14] :

- La température du local : une température inférieure à 10 °C maintient les aérosols en bas du volume à désinfecter et produit des condensats ; une température supérieure à 40 °C maintient le brouillard en haut du local.
- L'humidité relative de l'air : les produits utilisés en DSVA sont plus efficaces en présence d'eau (par exemple, l'efficacité optimale du peroxyde d'hydrogène se situe entre 70 et 90 % d'humidité relative).
- Les surfaces à traiter : l'estimation des surfaces développées détermine la dose du produit, le temps nécessaire à la dispersion sur toutes les surfaces et la position de l'appareil de diffusion.

La DSVA par dispersat non dirigé est employée pour désinfecter les salles techniques et les zones inaccessibles des équipements de laboratoire, tel le plenum des PSM (voir encadré 4). Cette technique a l'avantage de diffuser le produit dans les endroits difficiles d'accès, mais n'est employée que de façon exceptionnelle (en cas d'incident ou d'intervention sur du matériel) ou sur un rythme imposé par des bonnes pratiques liées à l'activité du laboratoire.

De façon exceptionnelle, la DSVA peut également s'envisager pour désinfecter les réseaux aérauliques des pièces techniques [16]. La mise en propreté de ces gaines passe par un dépoussiérage, suivi, uniquement si cela se justifie, d'une désinfection. Celle-ci peut être nécessaire par exemple à la suite d'une contamination accidentelle

Les techniques de nettoyage/désinfection

lors d'une manipulation dans la salle technique, ou lors d'une contamination de la salle technique par le biais de la ventilation, ou si elle est exigée par les bonnes pratiques liées à l'activité du laboratoire.

L'efficacité de la DSVA des réseaux aérauliques dépend de deux points :

- la connaissance du volume des conduits à traiter, afin de déterminer la quantité de produit nécessaire ;
- la taille des particules émises par l'appareil, qui doivent être le plus petites possible afin de mieux se diffuser dans les réseaux.

[Encadré 4] Le nettoyage et la désinfection des postes de sécurité microbiologique

Les surfaces accessibles des postes de sécurité microbiologiques (PSM) peuvent être nettoyées et désinfectées par application manuelle des produits. Par contre, le plenum du poste, accessible uniquement lors des opérations de maintenance, doit être au préalable nettoyé et désinfecté par d'autres moyens. Le traitement par dispersat non dirigé permet d'atteindre les surfaces du plenum. Le choix du produit (et donc de l'appareil de dispersion) doit se faire en fonction des micro-organismes manipulés dans le PSM, mais également en fonction des consignes du fabricant, de façon à ne pas altérer les matériaux.

À l'heure actuelle, il n'existe pas de technique de dispersion permettant d'inactiver des ATNC potentiellement présents dans le plenum. Dans ce cas, avant les interventions de maintenance, le personnel doit être informé du risque biologique et porter des équipements de protection adéquats lors de l'ouverture du plenum : tenue couvrante jetable avec capuche, gants, lunettes-masque, FFP2.

5.

La protection du personnel



5.1. Les risques professionnels

La désinfection peut générer des risques pour les opérateurs mais également pour les personnes présentes sur les lieux où s'effectue cette opération. Différents risques peuvent être identifiés :

- chutes de hauteur, glissades [17],
- TMS¹⁰, lors de manutentions manuelles ou mécaniques,
- électrisation, électrocution, brûlures lors de l'utilisation de matériel électrique,
- risques biologiques, variables selon le laboratoire où se déroule l'intervention. Le personnel peut être exposé à des micro-organismes pathogènes ou leurs toxines. Il peut se contaminer soit directement au contact des surfaces, soit en portant les mains à la bouche ou aux muqueuses, soit encore en inhalant les micro-organismes dispersés dans l'air lors de l'opération,
- risques chimiques, lors de l'utilisation des produits de nettoyage et de désinfection [18] qui peuvent être toxiques, irritants, corrosifs, inflammables, explosifs... et peuvent entraîner chez le personnel qui les emploie, notamment des dermatites de contact irritatives ou allergiques [19, 20].

Les solutions utilisées sont généralement diluées et présentent donc un potentiel d'effet aigu plus faible. Cependant, utilisées régulièrement et sur de longues périodes, elles peuvent induire un risque de dermatose d'usage. La survenue d'eczémas de contact allergiques n'est pas à négliger lors de la manipulation de la forme concentrée ou diluée du produit, surtout avec les aldéhydes ou les ammoniums quaternaires. Les voies respiratoires des opérateurs peuvent être exposées aux vapeurs dégagées par les produits comme le glutaraldéhyde, ou aux aérosols dégagés lors de l'utilisation de certains procédés. Des effets systémiques ne peuvent être exclus en cas d'inhalation de désinfectants mais sont peu probables en pratique.

Tous ces risques nécessitent d'être évalués au cas par cas, selon les activités. Les fiches de données de sécurité des produits de nettoyage et de désinfection sont une aide à l'évaluation des risques chimiques.

10. TMS : troubles musculosquelettiques.



La protection

5.2. Les mesures de prévention

La désinfection du matériel et des équipements de laboratoire susceptibles d'être contaminés (centrifugeuse, fermenteur, poste de sécurité microbiologique...) est obligatoire avant toute intervention de maintenance pouvant entraîner un risque biologique pour l'opérateur (arrêté du 16/07/2007 relatif au confinement des laboratoires de biologie). Cette obligation incombe au responsable du laboratoire qui doit communiquer aux intervenants de maintenance un document attestant de la désinfection.

Formation et information

Le personnel doit être formé et informé sur les risques encourus et les mesures de protection. Ces informations se retrouvent dans les procédures de nettoyage/désinfection qui indiquent :

- les personnes en charge de chaque opération,
- le rythme de chaque opération : journalier, hebdomadaire...,
- le choix du produit ou du couple produit/appareil,
- les conditions d'utilisation du produit (concentration, moyen d'application, temps de contact, temps d'aération post-désinfection...),
- les mesures de prévention.

Choix des procédés et organisation du travail

De nombreuses mesures peuvent être adoptées pour protéger les salariés contre les risques chimiques. Par exemple, avant toute inscription d'un produit dans une procédure de nettoyage/désinfection, il convient d'en évaluer les risques chimiques et d'essayer de le remplacer par un produit non dangereux ou moins dangereux.

Il convient également de diminuer le nombre de personnes potentiellement exposées aux produits et aux micro-organismes, ainsi que la durée d'exposition. Les opérations de nettoyage/désinfection de surfaces se feront donc en dehors de la présence des personnes effectuant une autre tâche. L'usage de techniques de désinfection automatisées (DSVA), se faisant hors présence humaine, permet de limiter l'exposition du personnel.

du personnel

La pulvérisation des produits chimiques est également à éviter, car elle génère des aérosols inhalables ou des gouttelettes pouvant atteindre les muqueuses du visage.

Ces produits de nettoyage/désinfection doivent être gérés comme tout produit chimique [22] :

- Conserver les détergents et désinfectants dans leurs emballages d'origine, dans des conditions de stockage adaptées (température, lumière). En cas de déconditionnement, il est important de choisir un emballage adapté (proscrire absolument les emballages de produit alimentaire) et de reporter l'étiquetage figurant sur l'emballage initial.
- Tenir à jour et à disposition des salariés les fiches de données de sécurité des produits.
- Éviter de mélanger des produits au risque de provoquer des réactions chimiques dangereuses (par exemple : eau de Javel + acide).

Protection individuelle

Toute personne en charge des opérations de nettoyage/désinfection porte des vêtements de travail couvrants (blouse) et des gants épais à longue manchette. Selon les tâches, cette tenue est complétée par des équipements de protection individuelle adaptés, par exemple :

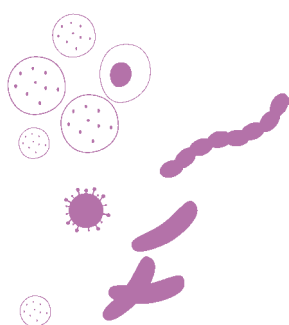
- un tablier étanche et des lunettes-masque ou un écran facial pour se protéger des projections lors du transvasement de produits concentrés,
- une combinaison de protection contre les produits chimiques avec capuche et un masque complet de protection respiratoire lors d'une DSVA.

Le choix de l'appareil de protection respiratoire (APR) se fait selon la nature du produit utilisé [23] :

- La protection contre les aérosols se fait au moyen d'APR munis de filtres anti-particules.
- La protection contre les vapeurs se fait à l'aide d'APR munis de filtres anti-gaz spécifiques.

Certains masques combinent des filtres anti-particules et anti-gaz.

La protection du personnel



Pour éviter tout contact cutané avec les produits chimiques ou biologiques, il convient de respecter certaines mesures comme :

- porter des gants épais à longues manchettes. Lors de port prolongé (supérieur à 10 minutes), les gants doublés coton offrent un meilleur confort ;
- choisir les gants en fonction des contraintes mécaniques et des produits chimiques employés. Éviter les gants en latex pouvant être responsables d'allergies ;
- après retrait des gants en toute sécurité [24], se laver les mains à l'eau tiède (en évitant l'eau chaude qui aggrave l'irritation cutanée) et au savon et bien se sécher les mains [25].

Le lavage des mains permet d'éviter la transmission par les voies cutané-muqueuse et orale. Il est recommandé de se laver les mains avant de boire, manger, porter des objets à la bouche et après avoir enlevé ses équipements et vêtements de protection.

En fin d'opération, les vêtements et EPI réutilisables sont nettoyés. Les moyens de protection à usage unique, utilisés pour la protection contre un risque chimique, sont éliminés dans la filière des déchets chimiques.

Prévention médicale

Dans le cadre de la surveillance par les services de santé au travail ou des examens préventifs de médecine du travail, il convient d'informer les travailleurs des risques potentiels pour la santé liés à l'emploi des produits de désinfection des surfaces, en attirant leur attention sur les points suivants, en particulier :

- symptômes précoces touchant la peau, les yeux ou les voies respiratoires,
- facteurs de risque individuels,
- antécédents d'allergie,
- règles de nettoyage, séchage et soin de la peau,
- risques liés au port prolongé de gants.

Des affections allergiques cutanées ou respiratoires liées à l'utilisation de certains désinfectants peuvent être prises en charge au titre des tableaux de maladies professionnelles 65 ou 66 du régime général.

Conclusion

Les opérations de désinfection ne sont pas effectuées de façon systématique, mais uniquement après avoir estimé qu'elles étaient nécessaires après une opération de nettoyage. Les opérations de nettoyage et de désinfection peuvent exposer le personnel à des risques liés aux agents biologiques manipulés dans le laboratoire et aux produits chimiques employés lors de ces opérations. Il est important d'évaluer ces risques et d'apporter aux personnes effectuant ces interventions les mesures de protection adaptées.

Annexe 1

La normalisation européenne des désinfectants de surface

Différentes normes s'appliquent selon le domaine d'activité où peut être employé un désinfectant (tableaux 1 à 4) :

■ Les normes du domaine de la médecine humaine concernent les secteurs et les situations où la désinfection est médicalement préconisée.

■ Les normes du domaine vétérinaire concernent la reproduction, l'élevage, la production ou le transport et l'abattage d'animaux. Elles ne concernent pas la chaîne alimentaire après la mort de l'animal ni son traitement par l'industrie de transformation.

■ Les normes des secteurs alimentaire, industriel, domestique et professionnel concernent le traitement, la distribution et la vente au détail de denrées alimentaires d'origine animale ou végétale. Ces normes sont également applicables dans les zones tous publics où la désinfection n'est pas médicalement prescrite ainsi que pour l'emballage, les biotechnologies, les industries pharmaceutique ou cosmétique, etc.

Les essais normalisés sont divisés en trois phases :

■ **Phase 1 :** essais de suspension quantitatifs permettant d'établir qu'un produit a une activité bactéricide, fongicide ou sporicide, quelles que soient les conditions spécifiques d'usage prévu.

■ **Phase 2 avec deux étapes :**

• **étape 1 :** essais de suspension quantitatifs, simulant des conditions pratiques correspondant à l'usage prévu, permettant d'établir qu'un produit a une activité bactéricide, fongicide, mycobactéricide, sporicide ou virucide ;

• **étape 2 :** autres essais quantitatifs simulant les conditions pratiques, par exemple des essais de surface, permettant d'établir qu'un produit a une activité bactéricide, fongicide, mycobactéricide, sporicide ou virucide.

■ **Phase 3 :** essais de terrain dans des conditions pratiques. Il n'existe pas actuellement de méthodologie validée pour ce type d'essais.

[Tableau 1] Normes permettant de revendiquer les effets biocides des produits désinfectants des surfaces (hors utilisation spécifique dans les domaines vétérinaires et de la médecine humaine).

Activité biocide	Norme	Usage du produit	Méthode du test	Souches testées	Résultats du test
Bactéricide	NF EN 1276/ T 72-173 (mars 2010)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau, utilisés dans les domaines alimentaire, industriel, domestiques et en collectivité.	Dilution-neutralisation, filtration sur membranes en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> Souches additionnelles possibles : <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	Sont bactéricides pour un usage général, les produits réduisant au moins 10 ⁵ fois le nombre de bactéries vivantes.
	NF EN 13697 /T 72-193 (novembre 2001)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau utilisés dans les domaines agroalimentaire, industriel, domestique et en collectivité.	Essai quantitatif sur surface non poreuse en présence de substances interférentes (phase 2, étape 2).	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> Souches additionnelles possibles : <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i>	Sont bactéricides les produits réduisant au moins 10 ⁴ fois le nombre de bactéries viables.
	NF EN 1040 /T 72-152 (avril 2006)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau, utilisés dans les domaines alimentaire, industriel, domestique, institutionnel, médical, vétérinaire.	Dilution-neutralisation, filtration sur membranes (phase 1).	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Sont bactéricides les produits réduisant au moins 10 ⁵ fois le nombre de bactéries vivantes.
Fongicide ou levuricide	NF EN 1650 /T 72-203 (octobre 2008)	Antiseptiques et désinfectants chimiques dans les domaines de l'agroalimentaire, l'industrie, domestique et en collectivité.	Dilution-neutralisation, filtration sur membranes en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> (spores) Souches additionnelles possibles : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i>	Sont fongicides les produits réduisant au moins 10 ⁴ fois le nombre de levures et de moisissures vivantes.

Activité biocide	Norme	Usage du produit	Méthode du test	Souches testées	Résultats du test
Fongicide ou levuricide (suite)	NF EN 13697 /T 72-193 (novembre 2001)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau utilisés dans les domaines agroalimentaire, industriel, domestique et en collectivité.	Essai quantitatif sur surface non-poreuse en présence de substances interférentes (phase 2, étape 2).	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> (spores) Souches additionnelles possibles : <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>diastaticus</i>	Sont fongicides les produits réduisant au moins 10^3 fois le nombre de champignons viables.
	NF EN 1275 /T 72-202 (avril 2006)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau, utilisés dans les secteurs médical, vétérinaire, agroalimentaire, industriel, domestique et en collectivité.	Dilution-neutralisation, filtration sur membranes (phase 1).	<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> (spores)	Sont fongicides les produits réduisant au moins 10^4 fois le nombre de levures et de moisissures vivantes.
Sporicide	NF EN 13704 /T 72-233 (avril 2002)	Désinfectants utilisés dans les domaines agroalimentaire, industriel, domestique et en collectivité.	Dilution-neutralisation, filtration sur membranes en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	Spores de <i>Bacillus subtilis</i> Spores additionnelles possibles : <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> 51	Sont sporicides les produits réduisant au moins 10^3 fois le nombre de spores.
	NF EN 14347 /T 72-232 (août 2005)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau, utilisés dans les secteurs médical, vétérinaire, agroalimentaire, industriel, domestique et en collectivité.	Dilution-neutralisation (phase 1).	Spores de : <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus cereus</i>	Sont sporicides les produits réduisant au moins de 10^4 le nombre de spores viables.
Virucide	NF EN 13610 /T 72-183 (juillet 2003)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau utilisés dans les domaines agroalimentaire et industriel.	Dilution-neutralisation, tamisage moléculaire en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	Bactériophage de <i>Lactococcus lactis</i> sous-espèce <i>lactis</i> P001, <i>Lactococcus lactis</i> sous-espèce <i>lactis</i> P008.	Sont virucides vis-à-vis des bactériophages les produits réduisant au moins 10^4 fois la viabilité.

[Tableau 2] Projet de révision de la norme NF T 72-281, soumis à enquête publique jusqu'au 10/09/2013 et susceptible d'évoluer avant publication. **Nouvel objectif: tester l'effet bactéricide, fongicide, levuricide, sporicide et virucide, des procédés chimiques et/ou physiques de désinfection des surfaces par voie aérienne (DSVA), dans les domaines vétérinaire, agroalimentaire, industriel et collectivité, ainsi que médecine humaine.**

	Bactéricide	Fongicide ou levuricide	Sporicide	Virucide
Souches testées	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Proteus vulgaris</i> Souches additionnelles possibles : <i>Mycobacterium terrae</i> (activité tuberculocide), <i>Mycobacterium avium</i> ...	Activité fongicide : <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus brasiliensis</i> Activité levuricide : <i>Candida albicans</i>	Spores de <i>Bacillus subtilis</i>	Enterovirus Bovin type 1, Norovirus murin souche S99, Adenovirus type 5, souche adénoïde
Résultats du test	Sont bactéricides, les procédés réduisant au moins 10^5 fois le nombre de bactéries vivantes.	Sont fongicides, les procédés réduisant au moins 10^4 fois le nombre de levures et de moisissures vivantes.	Sont sporicides, les procédés réduisant au moins 10^3 fois le nombre de spores.	Sont virucides, les procédés réduisant au moins 10^4 fois la viabilité des virus.

[Tableau 3] Autres normes bactéricide, fongicide, levuricide, sporicide et virucide relatives à la désinfection des surfaces dans les domaines vétérinaires et de la médecine humaine.

Activité biocide	Médecine humaine	Vétérinaire
Bactéricide	—	EN 1656 (phase 2, étape 1) : réduction de 10^5 du nombre de <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. hirae</i> . EN 14349 (phase 2, étape 2) : réduction de 10^4 du nombre de <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. hirae</i> .
Fongicide ou levuricide	—	EN 1657 (phase 2, étape 1) : réduction de 10^4 du nombre de <i>C. albicans</i> , <i>A. niger</i> .
Sporicide	—	—
Virucide	EN 14476 (phase 2, étape 1) : réduction de 10^4 du nombre de Parvovirus humain souche Haden.	EN 14675 (phase 2, étape 1) : réduction de 10^4 du nombre de Enterovirus bovin type 1.

[Tableau 4] Des produits revendiquant des activités biocides particulières pour les surfaces (mycobactéricide, tuberculicide) répondent à des normes appliquées dans le domaine vétérinaire ou de la médecine humaine.

Activité biocide	Norme	Usage du produit	Méthode du test	Souches testées	Résultats du test
Mycobactéricide	NF EN 14348 /T 72-245 (juin 2005)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau utilisés en médecine, y compris pour les dispositifs médicaux, dans les zones et les situations où la désinfection est médicalement préconisée.	Dilution-neutralisation en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	<i>Mycobacterium terrae</i> , <i>Mycobacterium avium</i>	Sont mycobactéricides les produits réduisant au moins 10^4 fois le nombre de mycobactéries vivantes.
	NF EN 14204 /T72-802 (février 2005)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau utilisés dans le domaine vétérinaire.	Dilution-neutralisation en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	<i>Mycobacterium avium</i>	Sont mycobactéricides les produits réduisant au moins 10^4 fois le nombre de mycobactéries vivantes.
Tuberculicide	NF EN 14348 /T 72-245 (juin 2005)	Antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau utilisés en médecine, y compris pour les dispositifs médicaux, dans les zones et les situations où la désinfection est médicalement préconisée.	Dilution-neutralisation en présence de substances interférentes (phase 2, étape 1).	<i>Mycobacterium terrae</i>	Sont tuberculicides les produits réduisant au moins 10^4 fois le nombre de mycobactéries vivantes.

Définitions

I Antisepsie : application d'un antiseptique sur des tissus vivants, entraînant une action sur la structure ou le métabolisme de micro-organismes à un niveau jugé approprié pour prévenir et/ou limiter et/ou traiter une infection de ces tissus (NF EN 14885, février 2007).

I Antiseptique : produit – à l'exclusion des antibiotiques – utilisé pour son effet d'antisepsie (NF EN 14885, février 2007).

I Bactéricide : produit qui tue les bactéries végétatives¹¹ dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Bactéricide (activité) : capacité d'un produit à réduire le nombre de cellules bactériennes viables appartenant à des micro-organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Bactériostatique (activité) : capacité d'un produit à inhiber le développement des bactéries dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Désinfectant chimique : produit capable d'opérer une désinfection chimique (NF EN 14885, février 2007).

I Désinfection chimique : réduction du nombre de micro-organismes dans ou sur une matrice inanimée, obtenue grâce à l'action irréversible d'un produit sur leur structure ou leur métabolisme, à un niveau jugé approprié en fonction d'un objectif donné. Le terme « décontamination » n'est pas synonyme de « désinfection » (NF EN 14885, février 2007).

I Désinfection des surfaces : désinfection chimique d'une surface pleine, à l'exclusion de celles de certains instruments médicaux et vétérinaires, par application d'un produit. L'application peut s'effectuer par circulation, trempage, immersion, pulvérisation ou essuyage (NF EN 14885, février 2007).

I Fongicide : produit qui tue les champignons (moisissures et levures), ainsi que leurs spores, dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Fongicide (activité) : capacité d'un produit à réduire le nombre de cellules végétatives viables de levures et de spores de moisissures appartenant à des micro-organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Fongistatique (activité) : capacité d'un produit à inhiber le développement des champignons (moisissures et/ou levures) dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

11. Bactéries végétatives : bactéries capables de se multiplier, contrairement aux bactéries sous forme sporulée qui cessent toute activité.

I Levuricide : produit qui tue les levures dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Levuricide (activité) : capacité d'un produit à réduire le nombre de cellules de levures viables appartenant à des micro-organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Mycobactéricide : produit qui tue les mycobactéries dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Mycobactéricide (activité) : capacité d'un produit à réduire le nombre de cellules mycobactériennes viables appartenant à des micro-organismes d'essai représentatifs dans les conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Mycobactériostatique (activité) : capacité d'un produit à inhiber le développement des mycobactéries dans des conditions définies (NF EN 14348, juin 2005).

I Sporicide : produit qui tue les spores bactériennes dormantes dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Sporicide (activité) : capacité d'un produit à réduire le nombre de spores bactériennes viables de micro-organismes d'essai représentatifs dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Sporistatique (activité) : capacité d'un produit à inhiber la germination des spores bactériennes dormantes dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Tuberculocide : produit qui tue *Mycobacterium tuberculosis* dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Tuberculocide (activité) : capacité d'un produit à tuer *Mycobacterium tuberculosis*, démontrée par la capacité à réduire le nombre de cellules viables du micro-organisme d'essai *Mycobacterium terrae*, dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Virucide : produit qui inactive les virus dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

I Virucide (activité) : capacité d'un produit à réduire le nombre de particules virales infectieuses dans des micro-organismes d'essai appropriés, dans des conditions définies (NF EN 14885, février 2007).

Références

- [1] Postes de sécurité microbiologique, postes de sécurité cytotoxique, choix et utilisation. Paris, INRS, ND 2201, 2003, 16 p.
- [2] Indication de la désinfection des locaux: place de la désinfection par voie aérienne. Note technique de la commission Désinfection de la Société française d'hygiène hospitalière (SF2H). *Revue Hygiènes*, 2012, vol. 20 n° 3, pp. 98-99.
- [3] Déchets infectieux, élimination des DASRI et assimilés, prévention et réglementation. Paris, INRS, ED 918, 2013, 52 p.
- [4] Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes. *JORF*, n° 179 du 4 août 2007.
- [5] J.-Y. Leveau et M. Bouix – Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bio-industries. Ed. Lavoisier, coll. Tec & Doc., 1999, 548 p.
- [6] Antiseptiques et désinfectants – les familles de principes actifs. *Hygiène en milieu hospitalier*. 2004, 69, pp 18-26.
- [7] Acide peracétique. Paris, INRS, coll. Fiche toxicologique, FT 239, 2001.
- [8] Chlorures d'alkylméthylbenzylammonium. Paris, INRS, coll. Fiche toxicologique, FT 253, 2005.
- [9] Éthanol. Paris, INRS, coll. Fiche toxicologique, FT 48, 2007.
- [10] Glutaraldéhyde. Paris, INRS, coll. Fiche toxicologique, FT 171, 2004.
- [11] Eaux et extraits de Javel. Hypochlorite de sodium en solution. Paris, INRS, coll. Fiche toxicologique, FT 157, 2006.
- [12] Peroxyde d'hydrogène et solutions aqueuses. Paris, INRS, coll. Fiche toxicologique, FT 123, 2007.
- [13] Cariou S. et al. – Décontamination, bionettoyage, désinfection, stérilisation. Paris, Masson, 4^e éd., 2000, 257 p.
- [14] Evanno J.-M. – La désinfection par voie aérienne dans l'industrie pharmaceutique. *Salles Propres*, n° 29, 2003, pp. 16-21.

- [15]** Recommandations de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé relatives aux critères de choix des procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne en milieu de soins. Afssaps, juin 2011, 35 p.
- [16]** Les réseaux aérauliques: conception et maintien en propreté. Salles propres et environnements maîtrisés. ASPEC, 2012, 96 p.
- [17]** Les activités de mise en propreté et services associés. Prévention des risques. Paris, INRS, ED 963, 2005, 80 p.
- [18]** Leleu J. – Risque chimique pendant les travaux de nettoyage. Paris, INRS, coll. Fiches pratiques de sécurité, ED 59, 2005, 4 p.
- [19]** Dermatoses professionnelles aux détergents. *Documents pour le médecin du travail*, coll. Fiches d'allergologie–dermatologie professionnelle TA 72, 2005, 10 p.
- [20]** Dermatoses professionnelles aux antiseptiques et désinfectants. *Documents pour le médecin du travail*, coll. Fiches d'allergologie–dermatologie professionnelle TA 62, 2001, 10 p.
- [21]** Intervention d'entreprises extérieures. Aide-mémoire pour la prévention des risques. Paris, INRS, ED 941, 2009, 84 p.
- [22]** Le stockage des produits chimiques au laboratoire. Paris, INRS, coll. Aide-mémoire technique, ED 6015, 2007, 12 p.
- [23]** Les appareils de protection respiratoire. Choix et utilisation. Paris, INRS, ED 6106, 2011, 64 p.
- [24]** Risques chimiques ou biologiques. Retirer ses gants en toute sécurité. Gants réutilisables. Paris, INRS, ED 6169, 2013, dépliant 2 volets.
- [25]** Lavez-vous les mains, pour vous protéger et protéger les autres. Paris, INRS, ED 6170, 2013, dépliant 4 volets.

Pour obtenir en prêt les audiovisuels et multimédias et pour commander les brochures et les affiches de l'INRS, adressez-vous au service Prévention de votre Carsat, Cram ou CGSS.

Services Prévention des Carsat et des Cram

Carsat ALSACE-MOSELLE

(67 Bas-Rhin)
14 rue Adolphe-Seyboth
CS 10392
67010 Strasbourg cedex
tél. 03 88 14 33 00
fax 03 88 23 54 13
prevention.documentation@carsat-am.fr
www.carsat-alsacemoselle.fr

(57 Moselle)
3 place du Roi-George
BP 31062
57036 Metz cedex 1
tél. 03 87 66 86 22
fax 03 87 55 98 65
www.carsat-alsacemoselle.fr

(68 Haut-Rhin)
11 avenue De-Lattre-de-Tassigny
BP 70488
68018 Colmar cedex
tél. 03 69 45 10 12
www.carsat-alsacemoselle.fr

Carsat AQUITAINE

(24 Dordogne, 33 Gironde,
40 Landes, 47 Lot-et-Garonne,
64 Pyrénées-Atlantiques)
80 avenue de la Jallère
33053 Bordeaux cedex
tél. 05 56 11 64 36
fax 05 57 57 70 04
documentation.prevention@carsat-aquitaine.fr
www.carsat.aquitaine.fr

Carsat AUVERGNE

(03 Allier, 15 Cantal,
43 Haute-Loire,
63 Puy-de-Dôme)
Espace Entreprises
Clermont République
63036 Clermont-Ferrand cedex 9
tél. 04 73 42 70 76
offredoc@carsat-auvergne.fr
www.carsat-auvergne.fr

Carsat BOURGOGNE et FRANCHE-COMTÉ

(21 Côte-d'Or, 25 Doubs,
39 Jura, 58 Nièvre,
70 Haute-Saône,
71 Saône-et-Loire, 89 Yonne,
90 Territoire de Belfort)
ZAE Cap-Nord, 38 rue de Cracovie
21044 Dijon cedex
tél. 03 80 70 51 32
fax 03 80 70 52 89
prevention@carsat-bfc.fr
www.carsat-bfc.fr

Carsat BRETAGNE

(22 Côtes-d'Armor, 29 Finistère,
35 Ille-et-Vilaine, 56 Morbihan)
236 rue de Châteaugiron
35030 Rennes cedex
tél. 02 99 26 74 63
fax 02 99 26 70 48
drpcdi@carsat-bretagne.fr
www.carsat-bretagne.fr

Carsat CENTRE

(18 Cher, 28 Eure-et-Loir, 36 Indre,
37 Indre-et-Loire, 41 Loir-et-Cher, 45 Loiret)
36 rue Xaintrailles
45033 Orléans cedex 1
tél. 02 38 81 50 00
fax 02 38 79 70 29
prev@carsat-centre.fr
www.carsat-centre.fr

Carsat CENTRE-OUEST

(16 Charente, 17 Charente-Maritime,
19 Corrèze, 23 Creuse, 79 Deux-Sèvres,
86 Vienne, 87 Haute-Vienne)
37 avenue du président René-Coty
87048 Limoges cedex
tél. 05 55 45 39 04
fax 05 55 45 71 45
cirp@carsat-centreouest.fr
www.carsat-centreouest.fr

Cram ÎLE-DE-FRANCE

(75 Paris, 77 Seine-et-Marne,
78 Yvelines, 91 Essonne,
92 Hauts-de-Seine, 93 Seine-Saint-Denis,
94 Val-de-Marne, 95 Val-d'Oise)
17-19 place de l'Argonne
75019 Paris
tél. 01 40 05 32 64
fax 01 40 05 38 84
prevention.atmp@cramif.cnamts.fr
www.cramif.fr

Carsat LANGUEDOC-ROUSSILLON

(11 Aude, 30 Gard, 34 Hérault,
48 Lozère, 66 Pyrénées-Orientales)
29 cours Gambetta
34068 Montpellier cedex 2
tél. 04 67 12 95 55
fax 04 67 12 95 56
prevdoc@carsat-lr.fr
www.carsat-lr.fr

Carsat MIDI-PYRÉNÉES

(09 Ariège, 12 Aveyron, 31 Haute-Garonne,
32 Gers, 46 Lot, 65 Hautes-Pyrénées,
81 Tarn, 82 Tarn-et-Garonne)
2 rue Georges-Vivent
31065 Toulouse cedex 9
tél. 0820 904 231 (0,118 €/min)
fax 05 62 14 88 24
doc.prev@carsat-mp.fr
www.carsat-mp.fr

Carsat NORD-EST

(08 Ardennes, 10 Aube, 51 Marne,
52 Haute-Marne, 54 Meurthe-et-Moselle,
55 Meuse, 88 Vosges)
81 à 85 rue de Metz
54073 Nancy cedex
tél. 03 83 34 49 02
fax 03 83 34 48 70
documentation.prevention@carsat-nordest.fr
www.carsat-nordest.fr

Carsat NORD-PICARDIE

(02 Aisne, 59 Nord, 60 Oise,
62 Pas-de-Calais, 80 Somme)
11 allée Vauban
59662 Villeneuve-d'Ascq cedex
tél. 03 20 05 60 28
fax 03 20 05 79 30
bedprevention@carsat-nordpicardie.fr
www.carsat-nordpicardie.fr

Carsat NORMANDIE

(14 Calvados, 27 Eure, 50 Manche,
61 Orne, 76 Seine-Maritime)
Avenue du Grand-Cours, 2022 X
76028 Rouen cedex
tél. 02 35 03 58 22
fax 02 35 03 60 76
prevention@carsat-normandie.fr
www.carsat-normandie.fr

Carsat PAYS DE LA LOIRE

(44 Loire-Atlantique, 49 Maine-et-Loire,
53 Mayenne, 72 Sarthe, 85 Vendée)
2 place de Bretagne
44932 Nantes cedex 9
tél. 02 51 72 84 08
fax 02 51 82 31 62
documentation.rp@carsat-pl.fr
www.carsat-pl.fr

Carsat RHÔNE-ALPES

(01 Ain, 07 Ardèche, 26 Drôme, 38 Isère,
42 Loire, 69 Rhône, 73 Savoie,
74 Haute-Savoie)
26 rue d'Aubigny
69436 Lyon cedex 3
tél. 04 72 91 96 96
fax 04 72 91 97 09
preventionrp@carsat-ra.fr
www.carsat-ra.fr

Carsat SUD-EST

(04 Alpes-de-Haute-Provence,
05 Hautes-Alpes, 06 Alpes-Maritimes,
13 Bouches-du-Rhône, 2A Corse-du-Sud,
2B Haute-Corse, 83 Var, 84 Vaucluse)
35 rue George
13386 Marseille cedex 5
tél. 04 91 85 85 36
fax 04 91 85 75 66
documentation.prevention@carsat-sudest.fr
www.carsat-sudest.fr

Services Prévention des CGSS

CGSS GUADELOUPE

Immeuble CGRR, Rue Paul-Lacavé, 97110 Pointe-à-Pitre
tél. 05 90 21 46 00 – fax 05 90 21 46 13
lina.palmont@cgss-guadeloupe.fr

CGSS GUYANE

Espace Turenne Radamonthe, Route de Raban,
BP 7015, 97307 Cayenne cedex
tél. 05 94 29 83 04 – fax 05 94 29 83 01

CGSS LA RÉUNION

4 boulevard Doret, 97704 Saint-Denis Messag cedex 9
tél. 02 62 90 47 00 – fax 02 62 90 47 01
prevention@cgss-reunion.fr

CGSS MARTINIQUE

Quartier Place-d'Armes, 97210 Le Lamentin cedex 2
tél. 05 96 66 51 31 et 05 96 66 51 32 – fax 05 96 51 81 54
prevention972@cgss-martinique.fr
www.cgss-martinique.fr

Des micro-organismes ou des échantillons contenant des micro-organismes sont manipulés dans les laboratoires de biologie et peuvent contaminer les surfaces (paillasses, équipements, sols...). Ce document décrit les techniques et les produits utilisables pour nettoyer et désinfecter les surfaces, ainsi que les mesures de prévention des risques liés à ces pratiques. Les principes de nettoyage et de désinfection doivent être connus et respectés afin d'effectuer ces opérations de façon efficace, en toute sécurité pour les personnes.



Institut national de recherche et de sécurité
pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
65, boulevard Richard-Lenoir 75011 Paris • Tél. 01 40 44 30 00
www.inrs.fr • info@inrs.fr

Édition INRS ED 6188

1^{re} édition • novembre 2014 • 5 000 ex. • ISBN 978-2-7389-2149-9