

LE DIRECTEUR GENERAL

Maisons-Alfort, le 2 décembre 2016

NOTE
d'appui scientifique et technique
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à l'évaluation de l'efficacité des produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection lors de dangers sanitaires

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 03 août 2015 par la Direction générale de l'Alimentation (DGAI) pour la réalisation d'un appui scientifique et technique relatif à l'évaluation de l'efficacité des produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection des sites d'élevage reconnus infectés d'un des dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie listés dans l'arrêté du 29 juillet 2013.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

L'arrêté du 29 juillet 2013 fixe les listes des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie auxquels sont exposés les animaux en s'appuyant sur les avis de l'Anses « Hiérarchisation de 103 maladies animales présentes dans les filières ruminants, équidés, porcs, volailles et lapins en France métropolitaine » du 12 juin 2012 et « Méthodologie de hiérarchisation des maladies animales ; application aux agents pathogènes exotiques pour la France métropolitaine » du 26 janvier 2012.

Les dangers sanitaires de première catégorie regroupent des dangers qui, du fait de leur importance, requièrent, dans un but d'intérêt général, des mesures de prévention, de surveillance ou de lutte rendues obligatoires par l'autorité administrative. Les dangers sanitaires de seconde catégorie regroupent les dangers sanitaires d'intérêt collectif réglementés ou devant faire l'objet d'un signalement à l'Organisation Mondiale de la Santé animale (OIE) ou à la Commission européenne, et les maladies faisant l'objet d'un programme collectif volontaire reconnu.

L'arrêté du 28 février 1957 (Annexe 2), relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux liste les substances actives qui peuvent être « utilisés contre les maladies contagieuses du bétail soumises à déclaration obligatoire ou contre celles qui font l'objet d'une prophylaxie collective organisée par l'Etat » et précise que tout autre produit doit être soumis à un agrément délivré par le Ministère en charge de l'agriculture. Pour bénéficier de cet agrément, les fabricants s'appuyaient dans un premier temps sur des normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) puis progressivement du Comité Européen de Normalisation (CEN) au fur et à mesure de leurs publications afin de tester l'efficacité de leurs produits, et la Direction Générale de l'Alimentation du Ministère en charge de l'agriculture (DGAI) délivrait l'agrément après un avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) sur chaque dossier. Ces normes ont aujourd'hui évolué, certaines ont été supprimées, d'autres remplacées et de nouvelles ont été créées.

Compte-tenu des évolutions des normes pour l'évaluation de l'efficacité des désinfectants, la DGAI a adressé à l'Anses les deux questions suivantes :

- *Question 1 : Considérant que ces normes européennes sont aujourd'hui reconnues au niveau international, indiquer si l'ensemble des dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie sont couverts dès lors que sont éliminés les micro-organismes mentionnés dans les normes. Sinon pourriez-vous indiquer, pour chaque norme, les micro-organismes d'essai additionnels qui permettraient de couvrir l'ensemble de ces dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie, et/ou des conditions opératoires supplémentaires qui permettraient d'éliminer ces microorganismes lors des opérations de désinfection dans un foyer. La question des prions pourra être traitée séparément.*

Note : Les termes « additionnels » et « supplémentaires » ont été compris comme complémentaires c'est-à-dire devant s'ajouter aux exigences présentes dans les normes.

- *Question 2 : Concernant les désinfectants déjà autorisés, pourriez-vous déterminer la validité des agréments délivrés au regard des nouvelles normes ? Vous trouverez l'inventaire des produits bénéficiant de l'agrément au titre de l'arrêté du 28 février 1957 mis en ligne sur l'intranet du ministère de l'agriculture. Cette liste précise : le nom du désinfectant, le numéro d'agrément, la date de sa délivrance, le numéro d'inventaire SIMMBAD, les coordonnées du fabricant en précisant un contact identifié en 2014, les normes utilisées dans le dossier fourni en vue de la délivrance de l'agrément et la mention « FA » précisant si le produit est actif vis-vis de la fièvre aphteuse.*

Une 3^{ème} question, relative à la désinfection des œufs à couvrir et indépendante des deux premières, a également été posée par la DGAI dans la même saisine. Elle fait l'objet d'un AST séparé.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

La réponse à cette demande d'appui scientifique et technique a été réalisée conjointement par la Direction de l'évaluation des produits réglementés (DEPR) et la Direction de l'évaluation des risques (DER) avec l'appui d'experts rapporteurs des CES « Santé et Bien-être des animaux » (SABA) et « Substances et Produits biocides ».

Pour la première question et après échange avec la DGAI, il a été convenu de traiter en un premier temps les dangers sanitaires relatifs aux virus et aux bactéries. Notons cependant que les dangers sanitaires de type levures, moisissures et protozoaires font aussi l'objet de traitements au moyen de biocides désinfectants (TP 1, 3, 4, 5) et seront traités à l'occasion d'une note d'AST à venir. Par ailleurs, le traitement des environnements contaminés par des insectes et acariens se fait au moyen de biocides relevant du TP 18 (insecticides, acaricides et produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes) et ne seront donc pas abordés dans cet appui scientifique et technique. La question sur les prions sera expertisée ultérieurement et fera l'objet d'une autre note d'AST en 2017.

Les travaux d'expertise relatifs à la première question ont été présentés et validés lors de la réunion plénière du CES SABA du 11 octobre 2016.

Les travaux d'expertise relatifs à la deuxième question ont été présentés et validés lors de la réunion plénière du CES « Substances et produits biocides » du 3 novembre 2016.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques via le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

Démarche appliquée pour la recherche bibliographique

Les recherches bibliographiques ont été menées sur les bases de données de Scopus (www.scopus.com) et Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). Le profil de recherche bibliographique a été élaboré avec les experts selon le modèle Anses (ANSES/PR1/9//06-01) afin de définir les mots-clés permettant de répondre à la question de la saisine (Annexe 3). Le nombre d'études triées et examinées en vue de leur éligibilité ainsi que le nombre d'articles exclus est présenté sous forme d'un diagramme de flux PRISMA¹ (Annexe 4).

¹ Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS RELATIVES A LA 1ERE QUESTION

3.1. Contexte réglementaire européen et national

3.1.1. Définitions réglementaires

3.1.1.1. Selon le Règlement (UE) 528/2012²

La mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides sont encadrées par le Règlement (UE) 528/2012 (dit Règlement biocide) concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides. Les produits biocides sont nécessaires pour lutter contre les organismes nuisibles pour la santé humaine ou animale et les organismes qui endommagent les matériaux naturels ou manufacturés. Aux fins du présent règlement (article 3), on entend par :

- « produit biocide » : toute substance ou tout mélange, sous la forme dans laquelle il est livré à l'utilisateur, constitué d'une ou plusieurs substances actives, en contenant ou en générant, qui est destiné à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique ;
- « substance active » : une substance ou un micro-organisme qui exerce une action sur ou contre les organismes nuisibles ;
- « organismes nuisibles » : un organisme, y compris les agents pathogènes, dont la présence n'est pas souhaitée ou qui produit un effet nocif pour l'homme, ses activités ou les produits qu'il utilise ou produit, pour les animaux ou l'environnement.

D'autre part, dans le cadre du Règlement (UE) n°528/2012, les produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection des sites d'élevage reconnus infectés d'un des dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie listés dans l'arrêté du 29 juillet 2013, appartiennent :

- Au type de produit 3 (TP3) relatif à l'hygiène vétérinaire (produits utilisés pour l'hygiène vétérinaire et pour désinfecter les matériaux et surfaces associés à l'hébergement ou au transport des animaux) ;
- Au type de produit 4 (TP4) relatif aux surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (produits utilisés pour désinfecter les matériels, les conteneurs, les ustensiles de consommation, les surfaces ou conduits utilisés pour la production, le transport, le stockage ou la consommation de denrées alimentaires ou d'aliments pour animaux (y compris l'eau potable destinée aux hommes et aux animaux) ;
- Au type de produit 5 (TP5) relatif à l'eau potable (produits utilisés pour désinfecter l'eau potable destinés aux hommes et aux animaux).

3.1.1.2. Selon la norme NF EN 14885 : 2015

Pour des besoins de compréhension terminologique, les termes employés dans ce présent rapport sont définis comme suit, d'après la norme NF EN 14885 :

- activité bactéricide : capacité d'un produit ou d'une substance active à réduire le nombre de cellules bactériennes viables appartenant à des organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies ;

² Règlement (UE) n°528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides.

- activité mycobactéricide : capacité d'un produit ou d'une substance active à réduire le nombre de cellules de mycobactéries viables appartenant à des organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies ;
- activité sporicide : capacité d'un produit ou d'une substance active à réduire le nombre d'endospores bactériennes viables appartenant à des organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies ;
- activité tuberculocide : capacité d'un produit ou d'une substance active à réduire le nombre de cellules viables de l'organisme d'essai *Mycobacterium terrae*, dans des conditions définies ;
- activité virucide : capacité d'un produit ou d'une substance active à réduire le nombre de particules virales infectieuses appartenant à des organismes d'essai représentatifs, dans des conditions définies ;
- organisme d'essai : souche d'un micro-organisme choisi pour évaluer des produits ou des substances actives dans le cadre d'essais normalisés ;
- conditions d'essai additionnelles : conditions d'essai facultatives et non obligatoires, pouvant être utilisées pour d'autres revendications concernant un produit. Elles peuvent être indiquées dans la même norme ou dans une autre norme ;
- conditions de saleté : conditions représentatives de surfaces qui présentent, ou sont susceptibles de présenter des résidus organiques et/ou inorganiques.

3.1.2. Procédures d'approbation des substances actives et d'autorisation de produits biocides

Le Règlement biocide prévoit deux grandes phases d'évaluation :

- l'évaluation des substances actives : les produits biocides doivent contenir des substances actives inscrites sur la liste de l'Union Européenne des substances actives approuvées. Le processus d'évaluation de ces substances actives pour aboutir à leur approbation (ou non approbation) est réalisée pour toutes les substances actives notifiées au programme d'examen biocide figurant dans le règlement délégué (UE) n°1062/2014³ (Annexe 5). Le statut en cours des substances actives (approuvées, non approuvées, en cours d'évaluation) est disponible sur le site de l'agence Européenne des produits chimiques (ECHA⁴) ;
- l'évaluation des produits biocides : une fois les substances actives approuvées, les produits biocides sont évalués conformément aux conditions requises à l'article 19 du présent règlement.

Aujourd'hui, la plupart des substances actives relevant des TP3, 4 et 5 sont encore en cours d'examen au niveau communautaire. Les produits ne sont donc pas encore soumis à autorisation de mise sur le marché (AMM) selon le règlement biocide (UE) n°528/2012.

³ Règlement délégué (UE) n°1062/2014 de la Commission du 4 août 2014 relatif au programme de travail pour l'examen systématique de toutes les substances actives existantes contenues dans des produits biocides visé dans le règlement (UE) n°528/2012 du Parlement européen et du Conseil.

⁴ European chemical Agency : <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals/biocidal-active-substances>

Dans l'attente de l'approbation de toutes les substances actives notifiées au programme d'examen biocide, des procédures nationales d'autorisation de produits biocides peuvent s'appliquer dans les Etats membres. En effet, l'article 89 (mesures transitoires) du Règlement biocide concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides, prévoit qu'un Etat membre peut continuer d'appliquer son système actuel ou ses procédures actuelles de mise à disposition sur le marché d'un produit biocide donné pendant deux ans à compter de la date d'approbation de la dernière des substances actives à avoir été approuvée, contenues dans ce produit biocide. Il ne peut autoriser, conformément à ses dispositions nationales, la mise à disposition sur le marché sur son territoire que d'un produit biocide contenant des substances actives existantes qui ont été ou sont évaluées en vertu du règlement (CE) n°1451/2007⁵ de la Commission du 4 décembre 2007 concernant la seconde phase du programme de travail visé à l'article 16, paragraphe 2, de la directive 98/8/CE, mis à jour par le règlement délégué (UE) n°1062/2014 mais qui n'ont pas encore été approuvées pour le type de produit en question. Lorsqu'il a été décidé d'approuver une substance active pour un produit donné, les Etats membres veillent à ce que les autorisations de mise sur le marché de produits biocides relevant de ce type de produits et contenant cette substance active soient accordées, modifiées ou annulées, suivant le cas, conformément au présent règlement, dans un délai de deux ans à compter de la date d'approbation.

3.1.3. La réglementation française durant la période transitoire

En France, la mise sur le marché et l'utilisation de certains produits biocides nécessitaient l'obtention d'une d'autorisation de mise sur le marché nationale en période transitoire (AMM « transitoire »). Il s'agissait notamment des produits désinfectants et insecticides utilisés en hygiène vétérinaire (TP3) et industries agroalimentaires (TP4). La loi n°2015-1567⁶ du 2 décembre 2015 a supprimé cette obligation, pour les produits qui étaient soumis à cette exigence. Néanmoins, des dispositions particulières restent en vigueur pour certains types de produits, notamment les produits biocides utilisés contre les maladies contagieuses du bétail soumises à déclaration obligatoire ou contre celles qui font l'objet d'une prophylaxie collective organisée par l'Etat. L'arrêté du 28 février 1957 (annexe 2), relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux précise que les désinfectants « *utilisés contre les maladies contagieuses du bétail soumises à déclaration obligatoire ou contre celles qui font l'objet d'une prophylaxie collective organisée par l'Etat* » sont soumis à un agrément délivré par le Ministère en charge de l'agriculture qui est est l'autorité compétente pendant la période transitoire. Cet arrêté, toujours en vigueur est obsolète sur de nombreux points, notamment parce qu'il liste à son article 1 des substances actives non notifiées dans le programme d'examen biocide (règlement (UE) n°1062/2014), ou qu'il décrit à son article 2 des commissions/services qui n'existent plus. Ainsi, les solutions d'hypochlorite de potassium, soude caustique (hydroxyde de sodium), phénol et crésylol sodique sont dorénavant des substances actives interdites en tant que biocides TP3/4/5.

⁵ Règlement (CE) n°1451/2007 remplacé par le règlement délégué (UE) n°1062/2014

⁶ Loi n°2015-1567 du 2 décembre 2015 portant diverses dispositions d'adaptation au droit de l'Union européenne dans le domaine de la prévention des risques.

3.1.4. Délivrance des agréments des produits de désinfection conformément à l'arrêté du 28 février 1957

Le document « Instructions ministérielles au laboratoire national des médicaments vétérinaires » de la DGAI daté du 08 avril 1987 (Annexe 6) fixe les modalités de dépôt et d'instruction des dossiers d'agrément des désinfectants utilisables en cas de maladies contagieuses et/ou dans le cadre des programmes de prophylaxie subventionnés. Ce dossier comprend une partie pharmacodynamique relative à l'efficacité du produit à savoir :

- pour l'activité bactéricide : il s'agit de réaliser des tests sur au moins 4 espèces bactériennes référencées parmi les 5 suivantes⁷ : *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Mycobacterium smegmatis*.
- pour l'activité virucide, le contrôle doit se faire sur au moins 3 virus référencés parmi les 4 suivants⁸ : virus de la fièvre aphteuse, virus de la myxomatose, virus de la peste porcine classique et virus de la maladie de Newcastle.

La délivrance de l'agrément est donc conditionnée à la preuve de l'efficacité du produit sur 4 bactéries et 3 virus.

Pour bénéficier de cet agrément, les fabricants s'appuient sur des normes européennes reconnues au niveau international relatives aux antiseptiques et désinfectants chimiques définies dans la norme NF EN 14885 : 2015 « Antiseptiques et désinfectants chimiques ». Cette norme regroupe un ensemble de normes auxquelles un produit doit satisfaire pour pouvoir revendiquer une activité microbicide (bactéricide, virucide, fongicide, sporicide et même mycobactéricide), que cela soit dans le domaine médical, dans le domaine vétérinaire ou dans les secteurs alimentaire, industriel, domestique et des collectivités. A défaut, cette norme précise qu'une autre norme d'un autre domaine peut être utilisée en reprenant les critères et exigences de performance du domaine ciblé. Sinon, sous réserve d'une reconnaissance par l'autorité compétente, une norme nationale pourra être employée.

Il importe de savoir cependant si les conditions d'essai obligatoires et les exigences liées aux méthodes normalisées, pour chaque activité, suffisent pour conclure à l'efficacité des produits désinfectants dans le cadre des dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie pour les espèces animales, et donc pour pouvoir être utilisées pour la délivrance de l'agrément au titre de l'arrêté du 28 février 1957.

Considérant que ces normes européennes sont aujourd'hui reconnues au niveau international, il est ainsi demandé à l'Anses d'évaluer si l'ensemble des dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie sont couverts dès lors que sont éliminés les micro-organismes mentionnés dans ces normes, et de déterminer la validité des agréments délivrés au regard des nouvelles normes.

⁷ dans des conditions définies, avec 10 g/L d'albumine bovine + 10 g/L d'extrait de levure avec une obligation de résultat d'une réduction de 10⁵ du nombre de germes infectieux / g en 5 minutes

⁸ dans des conditions bien définies avec 10 g/L d'albumine + 10 g/L d'extrait de levure avec une obligation de résultat d'une réduction d'au moins de 10⁴ du nombre de particules virales infectieuses / g en 30 minutes

3.2. Désinfection d'un foyer d'élevage dans le cadre d'un danger sanitaire de 1ère et de 2ème catégorie

La gestion d'un foyer de dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie pour les espèces animales repose sur une suite d'opérations, depuis la suspicion de la présence du danger jusqu'à l'assainissement du foyer. Ces opérations ont pour but de réduire et d'éliminer ces dangers afin de limiter le risque de leur diffusion et de leur résurgence.

La première étape, le nettoyage, est une étape primordiale. Elle vise à éliminer le maximum de matières organiques et minérales accumulées qui se retrouvent en quantité importante dans les locaux et sur le matériel d'élevage. La qualité de la réalisation de cette opération conditionne l'effet des produits biocides qui, d'une façon générale, voient leur efficacité diminuée en présence de souillures minérales et organiques. Dans les milieux aqueux ou en conditions très humides, ces souillures peuvent prendre la forme de biofilms plus ou moins épais et complexes, où les micro-organismes pathogènes peuvent se trouver protégés physiquement des biocides, et/ou dans un état physiologique les rendant moins sensibles à ceux-ci.

De plus, le choix du ou des désinfectants doit tenir compte de la variété des types d'élevages et de la multitude et diversité des zones à traiter au sein de ces élevages. Sans pouvoir être exhaustif, au vu de la diversité des filières de production et de leurs modes d'organisation, les produits biocides seront appliqués sur de multiples supports potentiellement contaminés par ces dangers sanitaires pouvant être regroupés dans différentes catégories en fonction des procédures spécifiques de nettoyage et désinfection mises en place.

Peuvent être cités :

- les supports inertes incluant les locaux (par exemple sols, murs, plafonds), les matériels d'élevage (par exemple matériels de traite, abreuvoirs, mangeoires) ainsi que les véhicules transportant des animaux et des cadavres ;
- l'environnement tels les abords immédiats des bâtiments, les aires de stationnement, les pâtures, les chemins, les routes ;
- les produits animaux (par exemple le lait) ou destinés aux animaux (ensilage, foin, paille, aliments en sac ou en silo) et leurs déjections (fumier, lisier, litière, purin) ;
- les consommables et diverses fournitures (équipements de protection individuelle, cartons, balais).

Cette liste révèle aussi la complexité des traitements inhérente notamment à la diversité de la nature des milieux à traiter (notamment surfaces métalliques, bois...), mais aussi à l'accessibilité et à la nettoyabilité de ces supports. En conséquence, les modes d'application des produits biocides choisis (trempage, pulvérisation, nébulisation par exemple) devront être adaptés à ces contraintes.

De plus, il ne faut pas oublier tous les facteurs inhérents à une mauvaise utilisation des biocides comme l'utilisation d'une eau de dilution présentant un pH et une dureté inadaptés ou une température trop froide, le non-respect de la dose d'emploi ou encore l'incompatibilité entre différentes préparations, qui peuvent entraîner une inefficacité de la désinfection.

Enfin, il convient aussi de s'assurer de la qualité de ces opérations avec des phases de validation, d'une part de l'étape de nettoyage et d'autre part de l'étape de désinfection, sur la base de procédures de contrôles pré-établies et adaptées aux dangers sanitaires et aux surfaces à traiter.

3.3. Dangers sanitaires de première et deuxième catégorie

3.3.1. Dangers sanitaires viraux

Les virus répertoriés comme dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie sont au nombre de 41. Ils regroupent 27 genres au sein de 19 familles virales (Tableau 1).

Ils sont listés dans le tableau suivant la taxonomie virale et le concept de Klein-Deforest. Ce concept définit 3 groupes selon leur taille et la présence ou non d'une enveloppe de nature lipidique :

- Groupe A : virus enveloppés ;
- Groupe B : virus non enveloppés de petite taille (20 à 30 nm) ;
- Groupe C : virus non enveloppés de taille > 30 nm.

Parmi les dangers sanitaires de 1^{ère} catégorie, outre les virus du groupe A (cf. tableau 1), seules deux familles virales sont représentées dans le groupe C (*Picornaviridae* et *Discistroviridae*) et deux dans le groupe B (*Reoviridae* et *Iridoviridae*). Les dangers sanitaires de 2^{ème} catégorie de nature virale sont présents exclusivement dans le groupe A qui renferme la plus grande diversité de familles virales (15 familles au total).

Tableau 1. Classification des virus, dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie (arrêté du 29 juillet 2013), selon la taxonomie virale et le concept de Klein-Deforest distinguant trois groupes de virus (selon le caractère enveloppé et la taille du virus ; voir paragraphe 3.). Dans les groupes B et C, seuls sont présents des dangers sanitaires de 1^{ère} catégorie. Les dangers sanitaires de 2^{ème} catégorie sont présents exclusivement dans le groupe A. Le classement des agents biologiques ainsi que la présence d'un risque pour la santé publique sont également présentés.

Groupe	Famille	Genre	Maladie	Espèces concernées	Catégorie du danger sanitaire	Classement des agents biologique ⁹	Micro-organisme hautement pathogène présentant un risque élevé pour la santé publique ¹⁰
B (Virus non enveloppés de petite taille)	Picornaviridae	Aphthovirus	Fièvre aphteuse	Ruminants et porcins	1	-	-
		Teschovirus	Polioencéphalomyélite porcine (porcine teschovirus type 1) ; Maladie de Teschen	Porcins	1	-	-
		Enterovirus	Maladie vésiculeuse des suidés	Porcins	1	-	-
	Dicistroviridae		Syndrome de Taura	Crevettes de différentes espèces	1	-	-
C (Virus non enveloppés de grande taille)	Reoviridae	Orbivirus	Fièvre catarrhale ovine	Ruminants et camélidés	1	-	-
			Maladie hémorragique épizootique	Ruminants	1	-	-
			Peste équine	Équidés	1	-	-
	Iridoviridae	Ranavirus	Nécrose hématopoïétique épizootique	Truite arc-en-ciel et perche	1	-	-

⁹ Dans le cadre de la protection des travailleurs (décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques transposition française de la directive 90/679/CEE du 26 novembre 1990), une liste d'agents biologiques classés en 4 classes suivant la gravité de l'infection a été définie par l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 Juin 1998.

¹⁰ sont retrouvés dans l'arrêté du 6 novembre 2014 modifiant l'arrêté du 30 avril 2012, les microorganismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique.

Groupe	Famille	Genre	Maladie	Espèces concernées	Catégorie du danger sanitaire	Classement des agents biologique ¹¹	Micro-organisme hautement pathogène présentant un risque élevé pour la santé publique ¹²
A (Virus enveloppés)	Retroviridae	Lentivirus	Anémie infectieuse des équidés	Equidés	1	-	-
			Visna-Maedi	Ovins	2	-	-
			Arthrite-encéphalite caprine	Caprins	2	-	-
	Retroviridae	Deltaretrovirus	Leucose bovine enzootique	Bovins	2	-	-
			Peste porcine classique	Suidés		-	-
			Maladie des muqueuses/diarrhée virale bovine	Bovins	2	-	-
	Flaviviridae	Pestivirus	Encéphalite japonaise	Equidés, porcins, volailles	1	3	-
			Fièvre du Nil occidental (West Nile Fever)	Equidés, oiseaux	1	3	-
		Flavivirus	Maladie d'Aujeszky	Toutes espèces de mammifères	1	-	-
	Herpesviridae	Varicellovirus	Rhinotrachéite infectieuse bovine	Bovins	2	-	-
			Herpès-virose de la carpe	Carpe	1	-	-
	Alloherpesviridae	Cyprinivirus	Fièvre de la Vallée du Rift	Ruminants et Camélidés	1	-	-
	Bunyaviridae	Phlebovirus	Rage	Toutes espèces de mammifères	1	3	oui
Rhabdoviridae	Lyssavirus,	Stomatite vésiculeuse	Bovins, suidés et équidés	1	-	-	
	Vesiculovirus	Nécrose hématopoïétique infectieuse	Saumons et Truite arc-en-ciel (différentes espèces)	1	-	-	
	Novirhabdovirus						

¹¹ Dans le cadre de la protection des travailleurs (décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques transposition française de la directive 90/679/CEE du 26 novembre 1990), une liste d'agents biologiques classés en 4 classes suivant la gravité de l'infection a été définie par l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 Juin 1998.

¹² sont retrouvés dans l'arrêté du 6 novembre 2014 modifiant l'arrêté du 30 avril 2012, les microorganismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique.

Groupe	Famille	Genre	Maladie	Espèces concernées	Catégorie du danger sanitaire	Classement des agents biologique ¹³	Micro-organisme hautement pathogène présentant un risque élevé pour la santé publique ¹⁴
A (Virus enveloppés)	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	Encéphalites virales de l'Est	Equidés	1	3	-
			Encéphalite virale de l'Ouest	Equidés	1	3	-
			Encéphalite virale vénézuélienne	Equidés	1	3	-
	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Influenzavirus A</i>	Influenza aviaire (FP H5, H7 ou HP)	Toutes espèces d'oiseaux	1	2/3 ¹⁵	oui
		<i>Isavirus</i>	Virus de l'anémie infectieuse du saumon	Saumon atlantique, Truite arc-en-ciel, truite Fario	1	-	-
	<i>Paramyxoviridae</i>	<i>Henipavirus</i>	Encéphalite à virus Nipah	Porcins, félins, canins	1	-	oui
		<i>Avulavirus</i>	Maladie de Newcastle	Toutes espèces d'oiseaux (volailles)	1	2	-
		<i>Morbillivirus</i>	Peste bovine	Ruminants et suidés	1	-	-
			Peste de petits ruminants	Ovins et caprins	1	-	-
	<i>Roniviridae</i>	<i>Okavirus</i>	Maladie de la tête jaune	Crevettes de différentes espèces	1	-	-
	<i>Arteriviridae</i>	<i>Arterivirus</i>	Artérite virale équine	Equidés	1	-	-
	<i>Nimaviridae</i>	<i>Whispovirus</i>	Maladie des points blancs	Crustacés décapodes	1	-	-
	<i>Coronaviridae</i>	<i>Alphacoronavirus</i>	Diarrhée épidémique porcine	Porcins	1	-	-
	<i>Poxviridae</i>	<i>Capripoxvirus</i>	Clavelée	Ovins	1	-	-
			Dermatose nodulaire contagieuse	Bovins	1	-	-
Variole caprine			Caprins	1	-	-	
<i>Asfarviridae</i>	<i>Asfivirus</i>	Peste porcine africaine	Suidés	1	-	-	

¹³ Dans le cadre de la protection des travailleurs (décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques transposition française de la directive 90/679/CEE du 26 novembre 1990), une liste d'agents biologiques classés en 4 classes suivant la gravité de l'infection a été définie par l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 Juin 1998.

¹⁴ sont retrouvés dans l'arrêté du 6 novembre 2014 modifiant l'arrêté du 30 avril 2012, les microorganismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique.

¹⁵ Virus grippal type A, B et C

3.3.2. Dangers sanitaires bactériens

Les bactéries répertoriées comme dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie se répartissent en 11 genres bactériens correspondant à 11 familles distinctes. Le tableau 2 ci-dessous dresse la liste des dangers sanitaires bactériens reconnus dans l'une ou l'autre de ces deux catégories. Parmi les dangers sanitaires de 1^{ère} catégorie figurent trois bactéries sous forme sporulée (*Bacillus anthracis*, *Paenibacillus larvae* (anciennement *Bacillus larvae*), *Clostridium botulinum*), des mycobactéries tuberculeuses (*Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae* et *Mycobacterium tuberculosis*), des bactéries à Gram négatif (*Brucella spp.* à l'exception de *Brucella ovis* et *Brucella suis* biovar 2), 6 sérovars¹⁶ de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ainsi que *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Parmi les dangers sanitaires de 2^{ème} catégorie figurent des bactéries à Gram négatif de genres variés : *Brucella suis* biovar 2, *Burkholderia mallei*, *Chlamydia psittaci*, *Francisella tularensis*, *Mycoplasma agalactiae*, *Salmonella Gallinarum-Pullorum* et *Taylorella equigenitalis*.

¹⁶ S.Enteritidis, S.Typhimurium, S.Hadar, S.Infantis, S.Virchow et S.Kentucky (classés danger sanitaire de 1^{ère} catégorie à titre temporaire pour trois ans maximum)

Tableau 2. Classification des bactéries, dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie (arrêté du 29 juillet 2013) selon la taxonomie bactérienne et certaines caractéristiques phénotypiques susceptibles d'intervenir dans leur degré de sensibilité aux biocides désinfectants. Le classement des agents biologiques ainsi que la présence d'un risque pour la santé publique sont également présentés.

Groupe bactérien	Bactérie		Maladie	Espèces visées	Catégorie du danger sanitaire	Classement des agents biologique ¹⁷	Micro-organisme hautement pathogène présentant un risque élevé pour la santé publique ¹⁸
	Genre	Espèce					
Bactéries sporulées	<i>Bacillus</i>	<i>B. anthracis</i>	Fièvre charbonneuse	Toutes espèces de mammifères	1	3	oui
	<i>Clostridium</i>	<i>C. botulinum</i>	Botulisme	Toutes espèces sensibles	1	2	oui
	<i>Paenibacillus</i>	<i>P. larvae</i>	Loque américaine	Abeilles domestiques (<i>Apis mellifera</i>)	1	-	-
Mycobactéries	<i>Mycobacterium</i>	<i>M. bovis</i> <i>M. caprae</i> <i>M. tuberculosis</i>	Tuberculose	Toutes espèces sensibles	1	3	oui
Gram négatifs	<i>Brucella</i>	- toutes espèces <u>sauf</u> <i>B. ovis</i> et <i>B. suis</i> biovar 2	Brucellose	Toutes espèces de mammifères	1	3	oui
		<i>B. suis</i> biovar 2		Porcins	2	3	-
	<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica enterica</i> sérotypes Enteritidis, Hadar, Infantis, Typhimurium, Kentucky, Virchow	Salmonellose	Oiseaux des espèces <i>Gallus gallus</i> et <i>Meleagris gallopavo</i>	1	2	-
		<i>S. enterica enterica</i> sérotype Gallinarum Pullorum	Pullorose-Typhose	Toutes espèces d'oiseaux d'élevage	2	2	-
	<i>Burkholderia</i>	<i>B. mallei</i>	Morve	Equidés	2	3	oui
	<i>Chlamydia</i> ¹⁹	<i>C. psittaci</i>	Ornithose-Psittacose	Volailles et oiseaux captifs	2	3	-
	<i>Francisella</i>	<i>F. tularensis</i>	Tularémie	Lièvre et autres espèces réceptives	2	3	oui
	<i>Mycoplasma</i>	<i>M. agalactiae</i>	Agalaxie contagieuse	Ovins et caprins	2	-	-
		<i>M. mycoides mycoides</i>	Péripleumonie contagieuse bovine	Bovins	1	-	-
<i>Taylorella</i>	<i>T. equigenitalis</i>	Métrite contagieuse	Equidés	2	-	-	
Gram positifs non sporulés	-	-	-	-	-	-	-

¹⁷ Dans le cadre de la protection des travailleurs (décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques transposition française de la directive 90/679/CEE du 26 novembre 1990), une liste d'agents biologiques classés en 4 classes suivant la gravité de l'infection a été définie par l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 Juin 1998.

¹⁸ sont retrouvés dans l'arrêté du 6 novembre 2014 modifiant l'arrêté du 30 avril 2012, les microorganismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique.

¹⁹ Les corps élémentaires des Chlamydiaceae sont limités par une membrane cytoplasmique et une paroi proche de celle des bacilles à Gram négatif, composée d'une membrane interne et externe contenant du LPS semblable à celui des bacilles à Gram négatif. Leur paroi est, en revanche, dépourvue de peptidoglycane.

3.4. Méthodes d'étude des actions des biocides

3.4.1. Préambule

Les méthodes d'évaluation des activités microbicides des antiseptiques et désinfectants chimiques ont fait l'objet, au niveau européen, d'une démarche de standardisation au sein du CEN TC 216²⁰ depuis le début des années 1990. Aujourd'hui, plus d'une trentaine de méthodes de laboratoire sont publiées ou en cours d'élaboration, et la liste de ces normes ainsi que les modalités de leur utilisation sont décrites dans la norme générale EN 14885. Outre les définitions nécessaires à la compréhension de ces documents, cette norme regroupe les méthodes utiles pour justifier des revendications biocides dans trois grands domaines : le domaine médical, le domaine vétérinaire et le domaine alimentaire, industriel, domestique et collectivité.

Ces essais sont classés en trois phases :

- les essais de phase 1, dit tests de base, sont des essais quantitatifs sur organismes en suspension permettant d'établir que des substances actives ou des produits en cours de développement ont une activité bactéricide, fongicide ou sporicide, indépendamment de tout domaine d'application spécifique. Les essais de phase 1 ne peuvent être utilisés pour justifier une quelconque revendication d'un produit ;
- les essais de phase 2, dits tests d'application, sont des tests de suspension ou de surface (essais de surface : mesure de l'activité vis-à-vis des micro-organismes présents sur des surfaces inertes) prenant en compte certains critères rencontrés sur le terrain, tels la nature des souches de microorganismes, le temps de contact, la température, la présence de matières organiques, la dureté de l'eau, la nature du support. L'application de ces essais permet la détermination de doses d'emploi qui apparaîtront sur l'étiquetage des produits proposés aux utilisateurs ;
- les essais de phase 3, dits tests de terrain, qui n'ont pas à ce jour fait l'objet de standardisation.

A côté de ces listes de normes européennes spécifiques à chacun des trois domaines, la norme NF EN 14885 spécifie également que, lorsqu'il n'existe aucune norme appropriée pour une application (exemple : domaine vétérinaire), l'utilisation d'une norme d'un autre domaine est recommandée (exemple : domaine médical ou industriel), en adaptant les conditions d'essais au domaine ciblé. Enfin, à défaut de norme européenne pour un usage ou une application spécifique, une norme nationale peut être disponible. Un exemple est donné dans ce rapport pour l'évaluation des activités microbicides des procédés de désinfection par voie aérienne (nébulisation ou fumigation) où la seule norme publiée est la norme française AFNOR NF T 72281.

3.4.2. Méthodes d'étude de l'activité virucide des désinfectants

L'activité virucide des désinfectants appliqués dans le domaine vétérinaire est évaluée actuellement au moyen de deux normes :

- la norme européenne EN 14675 qui est un test de suspension ;
- la norme française NF T 72281 applicable aux procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne (nébulisation et fumigation). Cette dernière est depuis peu proposée comme base de travail pour une future norme européenne.

²⁰ Technical committee 216 - « Antiseptiques et désinfectants chimiques » du Comité Européen de Normalisation (CEN)

Concernant les deux normes publiées, une seule souche virale a été retenue comme organisme d'essai : l'entérovirus bovin de type 1 (ATCC VR-248) communément appelé virus ECBO pour « Enteric Cytopathogenic Bovine Orphan ». Différentes raisons ont guidé ce choix (les 3 points suivants sont repris de la norme NF EN 14675) :

- 1- l'entérovirus bovin de type 1 est choisi comme virus « modèle » pour la famille des *Picornaviridae*. La famille des *Picornaviridae* comprend un grand nombre d'espèces virales cliniquement importantes en médecine humaine, par exemple les virus Coxsackie A et B, et le virus ECHO (« Enteric Cytopathogenic Human Orphan »). Certains de ces picornavirus sont de première importance et constituent un risque constant pour les animaux dans le domaine vétérinaire, par exemple le virus de la fièvre aphteuse, danger sanitaire de 1^{ère} catégorie. De surcroît, ils ont une résistance élevée aux produits chimiques, ils sont stables par rapport aux acides (à l'exception des picornavirus des genres *Rhinovirus* et *Aphthovirus*) et ils ne sont pas affectés par les solvants des lipides tels que l'éther et la plupart des détergents ou ammoniums quaternaires ;
- 2- le virus ECBO est le virus « modèle » pour toutes les applications, à savoir pour la désinfection des instruments et des surfaces ainsi que le traitement post-contamination des salles d'autopsie, des chenils et pour l'hébergement des animaux ;
- 3- en raison des grandes différences de résistance aux influences physiques et chimiques et au sein de groupes de virus différents, il est financièrement impossible de tester l'action d'un antiseptique ou désinfectant chimique particulier sur tous les virus. Par conséquent, dans la présente norme européenne EN 14675, les essais se réduisent à un seul, appelé « virus modèle », choisi en se basant sur les connaissances actuelles qui amènent à le considérer comme un exemple représentatif de la ténacité des virus et ayant une pertinence clinique importante dans le domaine vétérinaire.

Dans ces deux mêmes normes, hormis le temps de contact, les conditions opératoires obligatoires et les exigences sont identiques, à savoir : une température d'essai de 10°C, deux niveaux de saleté (faible niveau avec 3 g/L d'albumine bovine et niveau élevé avec le mélange 10 g/L d'albumine bovine et 10 g/L d'extrait de levure), et une réduction minimale de 4 (titre exprimé par le \log_{10} du titre viral infectieux). Le temps de contact obligatoire entre le désinfectant et le virus est fixé à 30 min pour le test de suspension et il est à définir au cas par cas pour chaque procédé de désinfection par voie aérienne. A côté de ces conditions obligatoires peuvent être retenues des conditions additionnelles (souches, températures, substances interférentes, temps de contact, supports) justifiées par des revendications spécifiques, permettant, dans des conditions de laboratoire, de s'approcher au mieux d'exigences propres au terrain.

Actuellement, deux tests de surface de virucidie sont en cours d'élaboration au sein du CEN TC 216 pour le domaine vétérinaire, l'un traitant de l'activité virucide sur surface non poreuse et le second de l'activité virucide sur surface poreuse.

3.4.3. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne des désinfectants

Deux normes de base, EN 1040 et EN 14347, décrivent la méthode d'essai (phase 1) et les prescriptions minimales permettant, respectivement, de déterminer si un désinfectant chimique présente ou non une activité de base bactéricide ou une activité sporicide.

Elles sont complétées par des normes de phase 2, étapes 1 et 2, décrites dans la norme européenne NF EN 14885, qui distingue, entre autre dans le domaine vétérinaire (à savoir la reproduction, l'élevage, la production, le transport et l'abattage de tous les animaux), l'activité bactéricide, mycobactéricide et sporicide et désigne, pour chacune d'entre elles, les références normatives s'y appliquant : les normes EN 1656 et EN 14204 décrivent, respectivement, les méthodes d'essai en suspension applicables pour la revendication d'une activité bactéricide et d'une activité mycobactéricide, et les normes EN 14349 et EN 16437 décrivent les méthodes d'essai en surface respectivement non poreuse et poreuse pour l'activité bactéricide. En revanche, aucune norme n'étant actuellement définie pour l'activité sporicide dans le domaine vétérinaire, il est possible de se référer à la norme EN 13704 qui s'applique aux secteurs alimentaire, industriel, domestique et collectivité. Une norme française (norme NF T 72281) est aussi applicable à la détermination des activités bactéricide, mycobactéricide et sporicide dans le cadre de la désinfection des surfaces par voie aérienne.

Dans tous les cas, et selon la norme NF EN 14885, le produit doit au moins se conformer aux normes relatives à l'activité bactéricide, hormis les produits revendiquant exclusivement une activité sporicide.

Un autre type de revendication faite pour certains désinfectants est celle d'une activité sur les biofilms bactériens. Cette revendication pourrait être justifiée, puisqu'il est maintenant reconnu que la sensibilité des bactéries à la désinfection peut être largement diminuée lorsqu'elles sont sous la forme de biofilms (Morente *et al.*, 2013). Cependant, aucune des normes existantes ne propose de méthode d'essai standardisée permettant de juger d'une activité sur ceux-ci.

➤ Activité bactéricide

a- Microorganismes d'essai

Les souches référencées comme microorganismes d'essai obligatoires pour la désinfection générale sont des coques à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) et *Enterococcus hirae* (ATCC 10541), et deux bacilles à Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) et *Proteus vulgaris* (ATCC 13315), (remplacé par *Escherichia coli* dans la norme française NF T 72281). Des microorganismes d'essai additionnels peuvent être également proposés, notamment pour des revendications spécifiques.

b- Méthodes d'essai

La norme EN 1656 décrit une méthode d'essai de suspension pour déterminer si un antiseptique ou un désinfectant chimique possède ou non une activité bactéricide. Les normes EN 14349 et EN 16437 s'appliquent aux produits utilisés dans le domaine vétérinaire, respectivement, sur des surfaces non poreuses et des surfaces poreuses, sans action mécanique.

Dans les trois cas, la recherche de l'activité bactéricide est réalisée au moyen d'une technique permettant d'apprécier une réduction du titre bactérien supérieure ou égale à $5 \log_{10}$ (essais en suspension) ou supérieure ou égale à $4 \log_{10}$ (essais sur surface poreuse ou non poreuse), en 30 min (ou 60 min en cas d'essai sur surface poreuse) à 10°C, et en présence de matière organique (3 g/L d'albumine bovine pour simuler des conditions de saleté de bas niveau ou le mélange 10 g/L

d'albumine bovine + 10 g/L d'extrait de levure pour simuler des conditions de saleté de niveau élevé). Des conditions d'essai additionnelles sont également prévues portant sur le temps de contact (1, 5 ou 60 min, ou, pour les essais sur surface poreuse, 1, 5, 15, 30 ou 120 min), et la température (4, 20 et 40°C) et le choix de la substance interférente (toute substance interférente pertinente).

Pour la désinfection des surfaces par voie aérienne, les supports de références sont des disques d'acier de 3 à 4 cm de diamètre, mais d'autres types de supports non poreux additionnels sont utilisables. Les tests sont pratiqués dans des salles de volume (30 à 150 m³) et d'humidité (40 à 80 % d'humidité relative) adaptés au procédé et à l'essai à mettre en œuvre, à une température de 20°C, avec une durée de contact établie selon les indications du fabricant, en visant une réduction bactérienne supérieure ou égale à 5 log₁₀. Les conditions de saleté requises sont celles de bas niveau précédemment évoquées ou, pour des conditions d'essai additionnelles, de niveau élevé.

➤ Activité mycobactéricide

La norme NF EN 14885 précise que tout produit utilisé dans le domaine vétérinaire revendiquant une activité mycobactéricide doit être soumis à essai et se révéler conforme à la norme européenne EN 14204 s'appliquant à la désinfection générale des surfaces et la désinfection du matériel par immersion, étant précisé que, « dans tous les cas, le produit doit au moins se conformer aux normes relatives à l'activité bactéricide ».

Notons que dans le domaine médical l'activité sur les mycobactéries est dissociée en activité tuberculocide et mycobactéricide. Dans ce contexte, un produit mycobactéricide est un « produit qui inactive de façon irréversible les mycobactéries dans des conditions définies », alors qu'un produit tuberculocide est un « produit qui inactive de façon irréversible *Mycobacterium tuberculosis* dans des conditions définies ».

a- Microorganismes d'essai

Le microorganisme d'essai désigné dans la norme EN 14204 pour la désinfection générale est *Mycobacterium avium* (ATCC 15769). Des microorganismes d'essai additionnels peuvent être également proposés²¹. Notons que dans le domaine médical (normes EN 14348 et EN 14563), les microorganismes d'essai sont *Mycobacterium terrae* (ATCC 15755) pour l'activité tuberculocide et *Mycobacterium terrae* (ATCC 15755) + *Mycobacterium avium* (ATCC 15769) pour l'activité mycobactéricide.

b- Méthodes d'essai

La norme EN 14204 décrit une méthode d'essai de suspension pour déterminer si un antiseptique ou un désinfectant chimique a ou n'a pas d'activité mycobactéricide. Aucune norme spécifique au domaine vétérinaire n'a été jusqu'ici publiée pour des essais sur des surfaces non poreuses ou poreuses. Pour des essais sur des surfaces non poreuses, il est possible, cependant, de se référer à la norme EN 14348 en vigueur dans le domaine médical²². En revanche, même dans le milieu médical, aucune norme n'est publiée pour des essais sur des surfaces poreuses.

La méthode d'essai de suspension dans la norme EN 14204 spécifie des conditions d'évaluation de l'activité mycobactéricide proches de celles de l'évaluation de l'activité bactéricide décrites dans la norme EN 1656.

²¹ La norme NF EN 14204 précise pour les microorganismes d'essai additionnels : « tout microorganisme pertinent »

²² Des essais de phase 2.2 sont prévus dans le domaine médical pour démontrer l'activité mycobactéricide et/ou tuberculocide des désinfectants de surface en se référant à la norme EN 14348.

L'évaluation de l'activité mycobactéricide dans la norme EN 14204 est réalisée au moyen d'une technique permettant d'apprécier une réduction bactérienne supérieure ou égale à $4 \log_{10}$, en 60 min à 10°C, et en présence de matière organique (3 g/L d'albumine bovine pour simuler des conditions de saleté de bas niveau ou le mélange 10 g/L d'albumine bovine + 10 g/L d'extrait de levure pour simuler des conditions de saleté de niveau élevé). Des conditions d'essai additionnelles sont également prévues portant sur le temps de contact (1, 5, 10, 15, 30 ou 120 min), la température (4, 20 et 40 °C) et le choix de la substance interférente pertinente au regard du type de milieu à traiter.

Les conditions d'essai pour la désinfection des surfaces par voie aérienne sont identiques à celles décrites pour la recherche de l'activité bactéricide, sauf la réduction bactérienne visée qui est ici supérieure ou égale à $4 \log_{10}$.

➤ **Activité sporicide**

Afin d'évaluer et comparer la capacité des biocides désinfectants à détruire ces bactéries sous forme sporulée, trois normes ont été développées (NF T 72230, NF T 72231, NF T 72190) qui sont respectivement deux tests dits de suspension et un test de surface. Dans ces normes, trois espèces bactériennes sont retenues : *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* var. *niger*, *Clostridium sporogenes*. Les activités sporicides sont évaluées après un temps de contact de 1 h à 20°C entre les souches et le produit, sur la base d'une chute de titre de 10^3 spores bactériennes. Dans le cas du test de surface, les spores bactériennes sont incluses dans du lait à 5 % de matière grasse, déposées et séchées sur les différents supports que sont le verre, l'acier, le plastique voire autres supports adaptés aux environnements ciblés.

Dans le cadre du CEN TC 216, les travaux sur les spores bactériennes sont peu avancés. Aucune norme spécifique au domaine vétérinaire n'a été publiée pour l'activité sporicide ; cependant la norme de base EN 14347 ainsi que la norme EN 13704 qui spécifie des méthodes d'essai normalisées (tests de suspension) sont utilisées pour revendiquer une activité sporicide des produits dans les secteurs alimentaire, industriel, domestique et collectivité.

a- Microorganismes d'essai

Le microorganisme d'essai désigné dans la norme EN 13704 correspond à des spores de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) avec comme possibilités de microorganismes additionnels, des spores de *Bacillus cereus* (ATCC 12826) et des spores de *Clostridium sporogenes* (CIP 7939).

b- Méthodes d'essai

La recherche de l'activité sporicide dans la norme EN 13704 est réalisée au moyen d'une technique en suspension permettant d'apprécier une réduction bactérienne supérieure ou égale à $3 \log_{10}$, en 60 min à 20°C, en présence de matière organique (3 g/L d'albumine bovine). Des conditions d'essai additionnelles sont également prévues portant sur le temps de contact (5, 15 ou 30 min) et la température (4, 10, 40 et 75 °C).

Les conditions d'essai pour la désinfection des surfaces par voie aérienne sont identiques à celles décrites pour la recherche de l'activité bactéricide, sauf la réduction bactérienne visée qui est ici supérieure ou égale à $3 \log_{10}$.

➤ Cas particulier des biofilms

La capacité des bactéries à se développer sous forme de biofilms en milieu aqueux ou en conditions humides détermine largement leur sensibilité à la désinfection (Morente *et al.*, 2013). En effet, sous cette forme sessile, les bactéries sont généralement plus tolérantes aux désinfectants que sous leur forme planctonique, mais aussi que sous la forme simplement fixée par séchage sur un support (Costerton, 1999).

Quoiqu'encore mal expliquée, la moindre sensibilité des biofilms aux désinfectants est multifactorielle. D'une part, elle est liée à la production par les bactéries de biofilm d'une matrice d'exopolysaccharides agissant comme une protection chimique et mécanique contre les stress environnementaux, notamment contre les désinfectants chimiques. D'autre part, elle s'explique par la présence dans les biofilms de sous-populations bactériennes qui, du fait d'un métabolisme très ralenti, sont particulièrement tolérantes aux agents antimicrobiens, qu'ils soient désinfectants ou antibiotiques. Ces bactéries en quasi-dormance présentant une tolérance multidrogue sont souvent qualifiées de « persisters » (Lewis, 2008).

La grande majorité des espèces bactériennes, incluant celles qui constituent des dangers sanitaires de 1ère et 2ème catégorie, sont capables de former des biofilms (Tremblay *et al.*, 2014). Particulièrement étudiés, les biofilms formés par les salmonelles peuvent se former dans des conditions très variées pouvant être rencontrées dans le domaine vétérinaire (Jain et Chen, 2007; Joseph *et al.*, 2001; Scher *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2009). Dans de nombreux articles, il est fait état d'une efficacité limitée sur les biofilms de salmonelles de certains désinfectants par ailleurs efficaces sur les formes planctoniques, comme ceux à base d'ammonium quaternaire (Møretø *et al.*, 2012). L'âge du biofilm (et donc son épaisseur), ainsi que la nature de la surface à laquelle il est attaché, et notamment son degré de porosité influent sur l'efficacité de la désinfection. En revanche, peu d'études caractérisent l'effet d'une présence additionnelle de matières organiques sur l'efficacité de la désinfection des biofilms.

Il apparaît donc que la présence de biofilms bactériens peut participer à rendre moins efficaces des désinfectants. Pourtant les biofilms n'ont pas été pris en compte jusqu'à présent dans les normes permettant de tester l'efficacité des biocides. La difficulté de développer des tests standards d'activité antibactérienne sur biofilm est liée aux différences importantes entre espèces bactériennes et entre souches d'une même espèce quant à leurs capacités à former des biofilms. Ces capacités varient par ailleurs largement en fonction des conditions environnementales.

Cependant, afin de tenir compte des formes réelles sous lesquelles se trouvent les bactéries représentant des dangers sanitaires dans les conditions de terrain du domaine vétérinaire, il est nécessaire de développer des méthodes normalisées permettant de tester l'activité des biocides sur des bactéries de biofilm. Comme les tests de surface classiques, ces tests sur biofilms devraient être réalisés en particulier sur des supports défavorables à la désinfection, par exemple le bois (utilisé dans certains types d'élevage), et en présence de substances interférentes.

3.5. Réponse à la question 1 de la saisine

La question 1 de la saisine a été divisée en deux parties :

A- « Les dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie sont-ils couverts dès lors que sont éliminés les micro-organismes mentionnés dans les normes? »

B- Indiquer, pour chaque norme, les micro-organismes d'essai additionnels qui permettraient de couvrir l'ensemble de ces dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie, et/ou des conditions opératoires supplémentaires qui permettraient d'éliminer ces microorganismes lors des opérations de désinfection dans un foyer. »

3.5.1. Réponse à la partie A « Les dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie sont-ils couverts dès lors que sont éliminés les micro-organismes mentionnés dans les normes ? »

➤ Appréciation d'une activité virucide

a- Introduction

L'objectif premier de cette saisine est, sur la base de l'application de la norme européenne EN 14675, de pouvoir comparer la résistance du virus ECBO à celle des virus décrits dans la liste des dangers sanitaires, ceci vis-à-vis d'un large éventail de substances actives ou produits biocides représentatifs du secteur de l'élevage.

Comme mentionné dans le paragraphe 2 « démarche appliquée pour la recherche bibliographique » de ce rapport, les experts ont été confrontés à un nombre limité de données exploitables provenant des publications scientifiques ainsi que des autres documents. Cette analyse a donc été complétée par une étude bibliographique de travaux traitant des comparaisons des résistances aux désinfectants et substances chimiques de virus qui, soit représentent effectivement des dangers sanitaires, soit sont retenus comme virus modèles de dangers sanitaires appartenant à la même famille ou au même genre viral. Les données des articles jugées pertinentes pour l'analyse sont disponibles dans l'annexe 7.

Dans cette analyse, il faut aussi être attentif à la fois à la pertinence du choix des modèles viraux retenus et aux limites à apporter à ces comparaisons, car les méthodologies d'évaluation de l'activité virucide sont souvent différentes entre publications scientifiques et peuvent s'écarter notablement des conditions de la norme EN 14675.

L'analyse de l'activité virucide a donc été réalisée en plusieurs étapes :

- une comparaison de la résistance entre virus enveloppés et virus non enveloppés ;
- une appréciation de la hiérarchie des virus en termes de résistance dans chaque groupe de virus (enveloppés et non enveloppés) ;
- une appréciation de la diversité des méthodes d'évaluation de l'activité virucide ;
- une appréciation de la résistance du virus ECBO par rapport aux dangers sanitaires viraux.

b- Activité virucide

Sur un plan général, en tenant compte de la grande diversité d'une part des substances actives et produits biocides, et d'autre part des virus, un constat se confirme régulièrement, que l'on appelle le concept de Klein-Deforest (Klein et al., 1963 ; Prince et al., 2001). En effet, Les virus sont classés en trois groupes selon leur sensibilité aux désinfectants (Sattar, 2007) (voir aussi tableau 1 où les dangers sanitaires viraux sont classés selon leur appartenance à l'un de ces groupes) :

- groupe A : virus enveloppés (exemples : *Orthomyxoviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae*) ; ces virus sont sensibles à la plupart des désinfectants et sont particulièrement sensibles aux dérivés phénoliques et aux ammoniums quaternaires qui sont lipophiles. Ils sont aussi sensibles à l'action des détergents (Eleraky *et al.*, 2002 ; Maris, 1990) ;
- groupe B : virus non enveloppés de petite taille (20 à 30 nm de diamètre) (*Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Circoviridae*, *Caliciviridae*, *Astroviridae*) : ces virus présentent la résistance la plus élevée envers les désinfectants ;
- groupe C : virus non enveloppés de taille supérieure à 30 nm de diamètre (*Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, *Reoviridae*) ; virus de taille moyenne avec des capsomères présentant des caractères de lipophilicité.

Ce concept est une approche globale, qui comporte des simplifications. Il ne permet cependant pas, au sein de chaque groupe, d'établir une hiérarchie des virus en termes de résistance, de même qu'il ne peut permettre d'analyser la variabilité biologique qui peut exister au sein de chaque espèce virale.

- Comparaison de la résistance et appréciation de la hiérarchie entre virus enveloppés et non enveloppés

Une analyse idéale devrait permettre de vérifier si une hiérarchie peut s'établir entre groupes viraux, entre familles virales, entre genres viraux et entre espèces virales au sein d'un même genre, mais aussi de pouvoir apprécier l'éventuelle variabilité du comportement des souches au sein d'une même espèce. Ce type d'étude est parfois mené pour certains virus : au sein de la famille *Picornaviridae* (groupe B), des variations importantes de sensibilité à certains pH acides peuvent être observées. A titre d'exemple, le virus de la maladie vésiculeuse du porc est plus résistant que le virus de la fièvre aphteuse (Blackwell *et al.*, 1975 ; Herniman *et al.*, 1973). La sensibilité au pH est démontrée pour le virus de la fièvre aphteuse, rapidement inactivé à des pH très acides ou très basiques, ce qui le distingue parmi les picornavirus (Sellers *et al.*, 1968). Cet exemple illustre la variabilité qui peut être présente entre espèces virales d'une même famille. Ce type d'analyse n'a cependant pas été conduit de manière systématique pour l'ensemble des dangers sanitaires viraux. Cette analyse devrait également prendre en compte l'éventail le plus large possible des biocides, dont l'utilisation est préconisée dans les élevages. Le déficit de données constaté par l'analyse bibliographique ne permet pas d'analyser en détail la hiérarchie de résistance à un autre niveau que celui des familles virales.

Les résultats d'études comparatives illustrent la différence de résistance entre virus enveloppés (groupe A) et virus non enveloppés, plus résistants (groupes B et C), dans des conditions expérimentales différentes et avec des virus représentant différentes familles (Al-Khleif *et al.*, 2009; Baljer *et al.*, 2008; Dvorakova *et al.*, 2008; Emmoth *et al.*, 2011; Eterpi *et al.*, 2009; Köhler *et al.*, 2009; Shirai *et al.*, 2000; Wood et Payne, 1998). La règle présentant les virus non enveloppés (groupes B et C) plus résistants que les virus enveloppés (groupe A) est le plus souvent respectée, sauf dans certaines conditions particulières : par exemple, dans un essai, le virus de la peste porcine classique (*Flaviviridae* ; groupe A) est plus résistant que le virus de la fièvre aphteuse (*Picornaviridae* ; groupe B) du fait de la grande sensibilité de ce dernier à l'acide citrique (Krug *et al.*, 2011; 2012).

Par ailleurs, des variations de sensibilité apparaissent à l'intérieur du groupe A (virus enveloppés) : un coronavirus est plus résistant aux virucides qu'un herpèsvirus et un rétrovirus (Eterpi *et al.*, 2009) ; un paramyxovirus et un poxvirus sont plus résistants qu'un herpèsvirus et un artérovirus

(Al-Khleif *et al.*, 2009). Une différence de sensibilité peut aussi être observée entre souches du même virus, par exemple entre virus influenza aviaires faiblement (IAFP) et hautement pathogènes (IAHP), où une souche de virus IAHP H7N1 s'est révélée plus résistante que la souche IALP H5N3, sans que le critère de pathogénicité puisse être invoqué pour expliquer cette différence (Emmoth *et al.*, 2011). Les *Poxviridae* représentent un cas particulier parmi les virus du groupe A. Leur structure complexe leur confère la résistance la plus élevée parmi les virus enveloppés (Al-Khleif *et al.*, 2009), particulièrement au séchage en présence de matières organiques et dans une large gamme de pH. Les poxvirus sont cependant sensibles à la plupart des désinfectants (Rheinbaben *et al.*, 2007).

La diversité des méthodologies expérimentales décrites dans les publications et notamment la variété de substances actives ou de produits biocides testés ne permettent cependant pas de proposer une hiérarchie au sein des virus du groupe A (virus enveloppés). Cependant une plus grande sensibilité des virus enveloppés est observée en comparaison aux virus non enveloppés, que ces derniers soient de petite ou de grande taille (groupe B ou C).

- Appréciation de la hiérarchie des virus en termes de résistance en fonction des biocides testés et des conditions d'essai

Quel que soit le groupe de virus considéré, la hiérarchie des virus en termes de résistance est très fortement dépendante de la nature de la substance désinfectante testée et des conditions de l'essai, par exemple :

- la présence de co-ingrédients avec la substance virucide peut modifier la sensibilité des virus envers la substance testée (Wood et Payne, 1998) ;
- la nature de la surface peut aussi modifier la hiérarchie de résistance, notamment le bois, considéré comme surface poreuse (Jang *et al.* 2014 ; Krug *et al.*, 2011 ; 2012) ;
- la nature du substrat dans lequel la virucidie est étudiée peut modifier la hiérarchie de résistance : un virus enveloppé peut être plus résistant qu'un virus non enveloppé (par exemple, le virus de la peste porcine classique dans du sang, (Heckert *et al.*, 1997), le plasma exerçant un effet protecteur sur le virus (Terpstra *et al.*, 2007) ;
- Les conditions de séchage et d'hydratation peuvent aussi influencer la sensibilité du virus au biocide (Terpstra *et al.*, 2007) ;
- les conditions de température peuvent affecter l'activité d'un biocide sur un virus, par exemple l'application de températures très basses (-20°C) qui peut réduire l'activité de certains virucides sur le virus de la fièvre aphteuse (Hong *et al.*, 2015) ;
- la nature des milieux biologiques et des milieux environnementaux par leur très grande diversité influencent considérablement la résistance apparente des microorganismes. De plus, l'activité des biocides peut être modifiée selon la nature physico-chimique du milieu. Il s'avère extrêmement difficile de connaître l'efficacité d'un biocide envers un danger sanitaire dans l'ensemble des situations rencontrées dans les conditions du terrain.

L'évaluation de la résistance d'un virus et son positionnement par rapport aux autres virus n'ont de sens que si une très large gamme de substances désinfectantes sont testées, et ceci en prenant en compte la gamme la plus large de pH.

- Appréciation de la diversité des méthodes d'évaluation de l'activité virucide

Une diversité de méthodes d'évaluation de l'activité virucide des désinfectants et substances chimiques est décrite dans ces articles, les unes correspondant à la norme européenne, d'autres à des normes nationales mais aussi à des méthodes propres à chaque laboratoire. Des méthodes dites de suspension et des méthodes dites de surface sont employées avec un schéma général assez proche. Cependant, si pour un article donné les comparaisons sont fiables, les comparaisons d'un article à l'autre, au niveau du détail des données, doivent être envisagées avec beaucoup de réserves et ne peuvent être exprimées que sous forme de tendances et de convergences. Dans la grande majorité des travaux cités dans le rapport, des critères tels que les souillures de haut niveau et les températures ambiantes ou basses ont été prises en compte, critères présentant une cohérence avec certains usages dans le domaine de l'élevage.

- Pertinence du virus d'essai ECBO

Le virus d'essai ECBO de la famille des *Picornaviridae* (groupe B) peut s'avérer plus sensible qu'un virus appartenant aux *Reoviridae* (groupe C), et même que d'autres picornavirus comme le virus humain ECHO, le poliovirus et le virus de l'hépatite A (Köhler *et al.*, 2009 ; Martin *et al.*, 2013). Une équivalence partielle dans la résistance peut être conclue entre le virus d'essai ECBO (groupe B) et les autres virus non enveloppés (groupes B et C). Le virus ECBO présente par ailleurs une certaine sensibilité aux pH acides (Al-Khleif *et al.*, 2009 ; Yilmaz *et al.*, 2003) en comparaison à d'autres picornavirus, comme le virus de Talfan, Teschovirus, très proche du virus de la maladie de Teschen (Maris, communication personnelle). Le virus de Talfan, par ses propriétés de résistance, a d'ailleurs été proposé comme virus modèle dans le cadre de travaux menés lors de la mise au point des normes françaises de virucidie (Maris, 1986a ; 1986b). Les rapporteurs n'ont pas identifié d'articles qui traitent de la comparaison du virus ECBO avec les dangers sanitaires viraux de la famille des *Picornaviridae* et des *Reoviridae*. En conséquence, les données analysées ne permettent pas d'affirmer que le virus ECBO, puisse couvrir, en termes de résistance, tous les dangers sanitaires viraux des groupes B et C, soit des virus appartenant plus largement aux familles des *Picornaviridae* et aux *Reoviridae*. En effet, le virus de la fièvre aphteuse, souvent pris comme modèle parmi les dangers sanitaires, apparaît plus sensible, notamment aux pH acides, que les virus de la maladie vésiculeuse du porc et de de Talfan très proche du virus de la maladie de Teschen (Blackwell *et al.*, 1975 ; Maris, communication personnelle).

Cependant, l'observation que les virus enveloppés sont en général plus sensibles que les virus non enveloppés est conservée pour le virus ECBO, non enveloppé (groupe B). Dans deux études, ce virus apparaît en effet plus résistant que plusieurs virus enveloppés (groupe A), soit le virus de l'artérite équine (*Arteriviridae*), l'herpèsvirus bovin 1 et l'herpèsvirus félin (*Herpesviridae*), le virus de la maladie de Newcastle (*Paramyxoviridae*), le virus de la diarrhée virale bovine (*Flaviviridae*) et le virus de la vaccine (*Poxviridae*) (Al-Khleif *et al.*, 2009 ; Köhler *et al.*, 2008).

Dans cette analyse, le constat majeur est le peu de données scientifiques exploitables permettant la comparaison des niveaux de résistance, d'un côté du virus d'essai (virus ECBO) de la norme européenne EN 14675 et de l'autre des dangers sanitaires viraux. En conséquence, les experts se sont orientés très majoritairement vers des comparaisons relatives de la résistance de virus appartenant à des familles représentatives des dangers sanitaires viraux en portant, aussi, une attention particulière sur le fait qu'une très grande diversité de méthodes d'évaluation de l'activité virucide sont appliquées, pouvant apporter un biais dans l'interprétation de ces données.

Par ailleurs, la complexité de cette analyse tient au fait que des différences dans les conditions expérimentales peuvent avoir des conséquences considérables en termes de positionnement d'un virus par rapport à un autre sur le plan de leur résistance. En effet, il faut distinguer :

- la résistance intrinsèque des virus exposés au plus large éventail possible de biocides et ceci dans des conditions limitant l'influence des substances interférentes mais, dans ce cas, les conditions d'essai sont très éloignées de celles du terrain, et
- l'étude de la résistance de ces mêmes virus testés dans des conditions de terrain ou simulant ces conditions. Dans ce cas la diversité de ces paramètres environnementaux prennent un poids considérable et les experts ne peuvent conclure qu'à une résistance apparente de ces virus.

Tenant compte de tous ces éléments, les experts ont pu cependant dégager les conclusions suivantes :

- une plus grande sensibilité des virus enveloppés par comparaison aux virus non enveloppés que ces derniers soient de petite ou de grande taille ;
- dans ce contexte, et d'une manière générale, le virus d'essai ECBO permet de couvrir les dangers sanitaires représentés par des virus enveloppés (groupe A) ;
- bien qu'aucune étude sur la résistance comparée du virus ECBO de la norme EN 14675 avec les 8 virus non enveloppés de la liste des dangers sanitaires n'ait été identifiée, les experts n'ont pas l'assurance que ce virus d'essai puisse couvrir l'ensemble des virus appartenant aux familles représentant ces dangers sanitaires (*Picornaviridae*, *Reoviridae*, *Dicistroviridae*, *Iridoviridae*).

➤ Appréciation d'une activité antibactérienne

Bien qu'il ne s'agisse pas d'une règle absolue, il est habituel de distinguer les bactéries en quatre groupes selon leur sensibilité aux désinfectants (McDonnell et Russell, 1999), soit, par ordre de sensibilité croissante : les bactéries sporulées, les mycobactéries, les bactéries non sporulées à Gram négatif et celles à Gram positif. Cette distinction est retrouvée dans la norme européenne EN 14885, laquelle distingue trois revendications de base pour caractériser les biocides dans le domaine vétérinaire : les activités sporicide, mycobactéricide et bactéricide, la dernière visant les bactéries non sporulées à Gram négatif et à Gram positif.

La réponse à la question posée implique de comparer, pour chaque type d'activité (sporicide, mycobactéricide et bactéricide), la résistance des bactéries d'essai spécifiées dans les normes européennes citées dans la norme cadre EN 14885, à celle des bactéries décrites dans la liste des dangers sanitaires, vis-à-vis d'un large éventail de substances actives ou produits biocides

représentatifs du secteur de l'élevage et susceptibles d'afficher une ou plusieurs de ces revendications.

a- Appréciation d'une activité bactéricide

L'activité bactéricide caractérise les biocides désinfectants actifs sur les bactéries à Gram négatif et positif autres que les bactéries sporulées et les mycobactéries. Comme déjà indiqué, Il est habituel de reconnaître les bactéries à Gram négatif, en raison notamment des propriétés de leur membrane externe, comme plus résistantes que les bactéries à Gram positif non sporulées (McDonnell et Russell, 1999; Morente *et al.*, 2013; Møretrø *et al.*, 2012). Il ne s'agit pas, toutefois, d'une règle systématique, du fait notamment des nombreuses variations inter- et intra-spécifiques de la résistance aux différents biocides observées chez les bactéries à Gram positif comme à Gram négatif (Bridier *et al.*, 2011 ; Sagripanti *et al.*, 1997).

Cela justifie la nécessité de tester l'activité bactéricide d'un biocide sur plusieurs bactéries à Gram négatif et positif. Les conditions d'essais générales définies dans les 3 normes de bactéricidie du domaine vétérinaire (EN 1656, EN 14349, EN 16437) désignent ainsi quatre organismes d'essai obligatoires : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) et *Enterococcus hirae* (ATCC 10541).

Toutes les bactéries désignées comme dangers sanitaires de 1^{ère} ou 2^{ème} catégorie autres que les bacilles sporulés et mycobactéries précédemment désignées sont des bactéries à Gram négatif. Elles appartiennent cependant à des groupes bactériens très différents, dont aucun, à l'exception des salmonelles qui ont en commun avec *Proteus vulgaris* d'appartenir à la famille des Enterobactériaceae, ne correspond à l'une ou l'autre des bactéries d'essai.

En terme de ressource bibliographique relative à l'activité des biocides, les dangers les plus étudiés sont les salmonelles, d'une part, et certaines bactéries, telles que *Francisella tularensis* (agent de la tularémie) ou *Burkholderia pseudomallei* (agent de la pseudomorve, ou mélioïdose, proche de *B. mallei*, danger sanitaire de 2^{ème} catégorie responsable de la morve) parce que désignées comme agents potentiels de bioterrorisme, d'autre part. Très peu d'études publiées concernent, en revanche, les autres dangers sanitaires bactériens. Il apparaît, en outre, que quasiment aucune des publications disponibles ne permet une comparaison directe entre les différents dangers (y compris les salmonelles) et les souches d'essai des normes CEN.

- Dangers bactériens du genre *Salmonella* :

Quelques études analysent simultanément l'activité de divers biocides sur des sérotypes variés de salmonelles et d'autres entérobactéries, notamment *Proteus vulgaris* ou *Escherichia coli*, d'autres bactéries à Gram négatif, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, et des bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* ou *Enterococcus faecalis* (que l'on peut considérer proche de la bactérie d'essai *Enterococcus hirae*). Ces études montrent une variabilité de la résistance aux désinfectants, dépendante à la fois de l'espèce bactérienne et du biocide considéré. Ainsi, si les entérobactéries, dont les salmonelles, se révèlent le plus souvent moins sensibles que *S. aureus* et que les autres bactéries à Gram positif, c'est *P. aeruginosa*, en dépit de sa sensibilité forte à bon nombre d'acides organiques (Martin *et al.*, 2005), qui ressort comme l'espèce la plus résistante à la plupart des biocides testés (Russel et Gould, 1988). Mais *S. enterica* peut aussi s'avérer moins sensible que *P. aeruginosa*, par exemple vis-à-vis du chlorure de benzalkonium (Bridier *et al.*, 2011). Concernant l'ortho-phthalaldéhyde, c'est en revanche *E. faecalis* qui s'avère, nettement plus résistant que *Salmonella* Saint-Paul, *S. aureus* ou *P. aeruginosa* (Bridier *et al.*, 2011). *P. vulgaris*

peut aussi s'avérer plus résistant que *S. enterica* à certains biocides, comme la chlorhexidine (Russel et Gould, 1988).

Comparant l'activité de solutions désinfectantes (formaldéhyde ; glutaraldéhyde / chlorure de benzalkonium ou un peroxyde) sur des isolats de salmonelles (*S. Enteritidis* et *S. Senftenberg*) et d'*E. faecalis* issus d'un élevage de volailles, Gradel *et al.* (2004) concluent que l'isolat d'*E. faecalis* est plus difficile à éradiquer que les deux salmonelles. A noter enfin, indépendamment de la variabilité intraspécifique de la sensibilité de ces bactéries, que très peu de résistances aux désinfectants ont été mises en évidence jusqu'à présent chez les salmonelles isolées du terrain (Møretrø *et al.*, 2012) et que la réduction de sensibilité parfois observée pour certains biocides reste néanmoins inférieure aux concentrations utilisées sur le terrain (Aarestrup et Hasman, 2004 ; Copitch *et al.*, 2010 ; Gantzhorn *et al.*, 2014). En résumé, bien qu'aucune étude disponible actuellement ne permette de l'assurer formellement, il est probable que la combinaison des profils des 4 bactéries d'essai obligatoires des normes de bactéricidie pour le domaine vétérinaire permette une couverture correcte du risque lié aux salmonelles. On peut néanmoins s'interroger sur l'opportunité, afin d'augmenter spécifiquement la probabilité de couverture vis-à-vis des salmonelles classées danger sanitaire, d'intégrer aux bactéries d'essai dans le domaine vétérinaire une souche de l'espèce *S. enterica*, comme par exemple *S. Typhimurium* ATCC 133311, déjà référencée comme souche modèle additionnelle dans les normes concernant le secteur alimentaire, industriel, domestique et collectivité.

- Dangers bactériens du genre *Francisella* et *Burkholderia* :

Comme précédemment indiqué, le peu d'études disponibles sur l'activité des désinfectants vis-à-vis de *F. tularensis* et *B. pseudomallei* (en considérant que les données obtenues avec *B. pseudomallei* sont transposables pour *B. mallei*) concerne essentiellement ces bactéries en tant qu'agents potentiels de bioterrorisme et porte principalement sur la désinfection des eaux (O'Connel *et al.*, 2009 ; Rose et Rice, 2014 ; Shams *et al.*, 2011), ce qui limite la nature des biocides testés. Bien que disposant dans ces études, de très peu de données comparatives de la sensibilité de ces bactéries aux désinfectants par rapport aux organismes d'essais préconisés dans la norme EN 14885, on retiendra que les résultats relatifs aux bactéries Gram négatif les plus résistantes, en particulier *P. aeruginosa* (Sagripantil *et al.*, 1997), peuvent être transposables à *F. tularensis* comme à *B. mallei*.

- Autres dangers bactériens :

Très peu de données publiées traitent de la sensibilité des autres dangers bactériens aux biocides, et aucune ne permet de comparer leur niveau de sensibilité à celui des bactéries d'essais sus-désignés.

- *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, agent de la péripneumonie contagieuse bovine et *M. agalactiae*, agent de l'agalactie contagieuse ont, en tant que mycoplasmes, la particularité d'être dépourvus de paroi cellulaire, et, à ce titre, sont généralement considérés plus fragiles que les autres bactéries dans l'environnement et plus sensibles ou de sensibilité comparable aux désinfectants (Eterpi *et al.*, 2010).
- *Taylorella equigenitalis*, agent de la métrite contagieuse équine, très fragile dans le milieu extérieur, est aussi considéré sensible aux désinfectants usuels.
- Les *Brucella* sont des bactéries à Gram négatif qui se différencient notamment d'autres bactéries Gram négatif par la richesse de leur membrane externe en composants

lipidiques leur conférant un certain degré d'hydrophobie. Pour autant, ces bactéries sont considérées être sensibles à de nombreux désinfectants (Wang *et al.*, 2015).

- *Chlamydia* (ou *Chlamydophila*) *psittaci*, agent de la chlamydie aviaire, ou ornithose et psittacose, appartenant à la famille des *Chlamydiaceae* se différencie des bactéries précédentes en tant que bactérie intracellulaire obligatoire (se cultivant en œuf de poule embryonné ou en cellules *in vitro*), se multipliant après phagocytose par division binaire dans le cytoplasme des cellules hôtes en formant des inclusions. Son développement passe par un cycle particulier faisant intervenir notamment les corps élémentaires (CE), lesquels constituent les éléments de dissémination et de résistance, les seuls infectants pour la cellule. La désinfection s'adresse donc, dans les locaux d'élevages contaminés, aux CE. Notons que les CE sont limités par une paroi composée d'une membrane interne et d'une membrane externe contenant du LPS semblable à celui des bacilles à Gram négatif ; cette paroi, cependant, ne contient pas de peptidoglycane. Aucune publication disponible ne concerne des essais d'activités de biocides désinfectants dans le domaine vétérinaire. Les données issues du domaine médical (portant notamment sur *C. trachomatis* ou *C. pneumoniae*) ou parfois du domaine vétérinaire (Schautteet et Vanrompay, 2011) sont néanmoins en faveur du fait que les essais réalisés sur les organismes d'essai tels que désignés dans la norme NF EN 14885 couvrent ces bactéries.

b- Appréciation d'une activité mycobactéricide

Trois mycobactéries tuberculeuses figurent parmi les dangers sanitaires de 1^{ère} catégorie : *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium caprae* et *Mycobacterium bovis*, cette dernière étant majoritairement incriminée comme responsable de la tuberculose chez les animaux d'élevage.

Le micro-organisme d'essai désigné dans la norme EN 14204 est une souche de *M. avium* subsp. *avium* (ATCC 15769). Rappelons que, dans le domaine médical (norme EN 14348), les essais portent obligatoirement sur *M. avium* (ATCC 15769) et *M. terrae* (ATCC 15755), cette dernière étant désignée pour valider l'activité tuberculocide.

Une revue des publications relatives à l'activité mycobactéricide/tuberculocide des désinfectants révèle des études essentiellement consacrées à la désinfection en milieu médical, consistant notamment à vérifier l'activité des biocides (produits ou substances) préconisés pour décontaminer certains matériels (endoscopes en particulier) vis-à-vis de *M. tuberculosis*. En raison des difficultés (liées en particulier au pouvoir pathogène et à la lenteur de la croissance) rencontrées pour tester directement l'activité des biocides sur ce pathogène, d'autres mycobactéries sont choisies comme organismes d'essai. Certaines études ont porté sur *M. bovis* (Bacille de Calmette et Guérin - BCG), mais la plupart ont été réalisées avec des espèces à croissance plus rapide : *M. chelonae*, *M. smegmatis*, *M. avium* et surtout *M. terrae*, retenu comme organisme d'essai pour définir l'activité tuberculocide dans le domaine médical.

Peu d'études incluent des souches de *M. bovis* (aucune pour *M. caprae*) dans leur protocole d'essai, néanmoins on peut admettre, même si des différences sont observées avec certains désinfectants (Best *et al.*, 1990, Rutala *et al.*, 1991), que la sensibilité de *M. bovis* (études réalisées avec *M. bovis* (BCG - ATCC 35743) est globalement comparable à celle de *M. tuberculosis* (Rutala *et al.*, 1991), ces bactéries étant par ailleurs génétiquement très proches. En conséquence, il est possible d'étendre à *M. bovis* les résultats des études réalisées sur *M. tuberculosis*, montrant notamment que *M. terrae* (dont la résistance aux désinfectants égale ou excède celle de

M. tuberculosis) s'avère un substitut pertinent utilisable comme organisme d'essai pour juger de l'activité tuberculocide (Gregory *et al.*, 1999 ; Griffiths *et al.*, 1998 ; Robison *et al.*, 1999 ; Sattar *et al.*, 1995).

La multiplication chez l'Homme d'infections par des mycobactéries non tuberculeuses (*M. avium intracellulare*, *M. chelonae abscessus*...) et l'émergence de souches résistantes à certains désinfectants (souches de *M. chelonae abscessus* résistantes au glutaraldéhyde, par exemple) sont à l'origine de travaux destinés à tester leur sensibilité à certains biocides préconisés pour la désinfection du matériel en milieu médical. Cette situation explique, dans la norme EN 14348, l'addition comme bactérie d'essai de *M. avium* comme bactérie d'essai considérée plus résistante aux biocides (Griffiths *et al.*, 1998) à *M. terrae*. En fait, peu d'études disponibles comparent la sensibilité des mycobactéries tuberculeuses avec celle de *M. avium* ATCC 15769 désignée dans les normes sus-citées. Citons celle de Bocian *et al.* (2014) testant conjointement, selon la norme EN 14348, l'activité de 19 produits sur *M. avium* et *M. terrae*. Mais si, dans cette étude, la majorité des produits testés dans les conditions requises dans la norme montrent une forte activité mycobactéricide, l'analyse des résultats révèlent pour quelques biocides une activité plus faible vis-à-vis de *M. terrae*. Nonobstant des conditions d'essais plus défavorables dans la norme vétérinaire EN 14204, cette variabilité interspécifique souligne l'intérêt de tester les deux espèces bactériennes, sachant que les dangers sanitaires visés sont, dans le domaine vétérinaire qui nous intéresse, des bactéries tuberculeuses.

c- Appréciation d'une activité sporicide

Trois dangers bactériens de 1^{ère} catégorie sont sous forme sporulée : *Bacillus anthracis* (agent de la fièvre charbonneuse), *Paenibacillus larvae* (antérieurement *Bacillus larvae*, agent de la loque américaine), que l'on peut considérer comme proche des bactéries du genre *Bacillus* et *Clostridium botulinum* (agent du botulisme).

Les spores des bactéries des genres *Bacillus* et *Clostridium* sont invariablement (par rapport aux bactéries à Gram positif ou négatif non sporulées) les plus résistantes aux désinfectants (McDonnell et Russell, 1999). Cette résistance contraste avec celle des formes végétatives de ces bactéries, sensibles à de nombreux désinfectants. Les mêmes substances biocides peuvent être actives sur les spores, mais à des concentrations plus fortes et des temps d'exposition plus longs. Durant le processus de sporulation, les cellules végétatives passent par 7 étapes de transformation dont les plus importantes en terme d'acquisition de la résistance aux désinfectants sont celles accompagnant le développement du cortex jusqu'à la forme mature (McDonnell et Russell, 1999). A cet égard un point à souligner est le rôle que peuvent jouer les conditions de production des spores bactériennes, notamment *B. anthracis*, sur la sensibilité aux désinfectants (Nikol'skaia *et al.*, 2007).

A ce jour, aucun projet de norme européenne sur la sporicidie dans le domaine vétérinaire ne figure au programme du CEN TC 216. La présente analyse portera donc sur trois micro-organismes d'essais déjà désignés dans les normes nationales et européennes en vigueur, à savoir les spores de *Bacillus subtilis*, de *Bacillus cereus* et de *Clostridium sporogenes*. Elle visera à vérifier, sur la base des travaux scientifiques publiés, si les résultats obtenus avec ces spores sont transposables ou non aux dangers considérés, soit *Bacillus anthracis*, *Paenibacillus larvae* et *Clostridium botulinum*.

- Bacillus anthracis :

La plupart des publications scientifiques récentes disponibles portent sur les spores de *B. anthracis*, l'intérêt de l'activité des biocides désinfectants sur cette bactérie découlant de son actualité en rapport avec son utilisation éventuelle en tant qu'agent de bioterrorisme (Dewan *et al.*, 2001 ; Inglesby *et al.*, 2002). Peu d'articles concernent en revanche, la désinfection en élevage (Guan *et al.*, 2013). Si quelques travaux ont directement porté sur des spores de *B. anthracis* (virulentes, comme la souche Ames, isolée en 1981 au Texas sur le cadavre d'une vache, ou atténuées, comme la souche vaccinale Sterne), la plupart utilisent des spores d'autres espèces du genre *Bacillus*, comme *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. thurigiensis*, *B. megaterium* ou *Geobacillus stearothermophilus* (Armon *et al.*, 2004 ; Black *et al.*, 2008 ; Hilgren *et al.*, 2009 ; Kenar *et al.* 2007 ; Majcher *et al.*, 2008 ; Lensing *et al.*, 1985 ; Morrow *et al.*, 2008 ; Rice *et al.*, 2005 ; Rogers *et al.*, 2007 ; Sagripanti *et al.*, 2006 ; Wood *et al.*, 2011). Malgré quelques variations inter- et intraspécifiques, il ressort de ces études que *B. subtilis*, du fait de la résistance de ses spores, le plus souvent similaire ou plus élevée que celles de *B. anthracis* ou *B. cereus* est un substitut satisfaisant pour tester l'efficacité des biocides sur les spores de *B. anthracis*. Il apparaît aussi que *B. cereus*, parfois choisi pour sa plus grande proximité phylogénétique comme substitut à *B. anthracis* (il s'en distingue en particulier au sein du groupe *Bacillus cereus*, du moins si l'on tient pas compte des souches «*anthracis* - like », par l'absence des plasmides porteurs des gènes de virulence) présente globalement une sensibilité équivalente à *B. anthracis*.

- Paenibacillus larvae :

Rares sont les publications, traitant de *Paenibacillus larvae*, l'agent de la loque américaine chez les abeilles. Quelques résultats disponibles (Okayama *et al.* ; 1997) permettent cependant d'estimer que les données obtenues avec d'autres *Bacillus*, notamment *B. subtilis*, peuvent servir de référence pour *P. larvae*.

- Clostridium botulinum :

L'actualité relative à l'activité des biocides sur des bactéries du genre *Clostridium* concerne en particulier le domaine médical et porte essentiellement sur *C. difficile*, en raison notamment de l'impact de cette bactérie en pathologie humaine. Peu de publications, en revanche, traitent des biocides actifs sur les spores de *C. botulinum*. En fait, la plupart des publications pertinentes sont celles qui comparent l'activité de divers biocides sur des spores de différentes espèces du genre *Clostridium* (*C. difficile*, *C. sporogenes*, *C. bifermentans*, *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. tertium*, rarement *C. botulinum*), en incluant parfois des spores de *B. cereus* ou de *Geobacillus stearothermophilus* (Foegeding *et al.*, 1986 ; Johnston *et al.*, 2005 ; Oie *et al.*, 2011 ; Rickloff *et al.*, 1987 ; Stockinger *et al.*, 1989). Il ressort globalement de ces études que *C. sporogenes*, du fait de sa résistance généralement plus élevée est un substitut satisfaisant pour tester l'efficacité des biocides sur les spores de *Clostridium*, dont celles de *C. botulinum*. Par rapport aux spores de *B. subtilis*, les spores de *C. sporogenes* peuvent, selon l'étude et le biocide testé, s'avérer plus sensibles (March *et al.*, 2015) ou plus résistantes (Stockinger *et al.*, 1989).

Concernant l'appréciation de l'activité antibactérienne des biocides, le constat est similaire à celui fait pour les virus : très peu de données scientifiques exploitables permettent de comparer, d'une part les niveaux de résistance des bactéries d'essai obligatoires préconisées dans les normes, et d'autre part les niveaux de résistance des divers dangers sanitaires bactériens. En effet, les bactéries utilisées et les conditions expérimentales mises en œuvre dans les diverses études ne sont quasiment jamais celles spécifiées dans les normes. Les bactéries testées sont par ailleurs très variables d'une étude à l'autre, à la fois en termes d'espèces bactériennes et de souches les représentant. Or, comme le montrent d'ailleurs souvent ces travaux, la sensibilité aux désinfectants peut être très différente entre espèces bactériennes d'un même genre (variabilité inter-spécifique) et entre souches d'une même espèce (variabilité intra-spécifique). De plus, pour une souche bactérienne donnée, l'activité antibactérienne d'un biocide est étroitement dépendante des conditions d'essai utilisées. Il est ainsi fréquent que des résultats, apparemment contradictoires, soient rapportés entre différentes études, et qui ne reflètent en réalité que des différences de sensibilité entre souches d'une même espèce bactérienne, ou des variations des conditions opératoires utilisées pour les tester.

La conséquence de cette disparité des études est la grande difficulté d'en tirer des conclusions solides quant aux sensibilités relatives aux biocides des bactéries d'essai des normes et des dangers sanitaires bactériens. Par ailleurs il faut noter que les tests d'activité antibactérienne, menés en contexte expérimental (selon les normes en vigueur ou pas), s'ils permettent de simuler certains niveaux de saleté « standard », ne peuvent pas prétendre reproduire la diversité des conditions de terrain du domaine vétérinaire.

Au final, les experts n'ont donc pas l'assurance que les souches bactériennes d'essai d'une part, et les conditions opératoires des normes d'autre part, puissent couvrir les risques liés à l'ensemble des dangers sanitaires bactériens.

3.5.2. Réponse à la partie B : « Indiquer, pour chaque norme, les micro-organismes d'essai additionnels qui permettraient de couvrir l'ensemble de ces dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie, et/ou des conditions opératoires supplémentaires qui permettraient d'éliminer ces microorganismes lors des opérations de désinfection dans un foyer ».

➤ Organismes d'essais complémentaires

a- Virus

En l'absence de données permettant de comparer le virus ECBO aux dangers sanitaires viraux, notamment les 8 virus non enveloppés listés parmi les dangers sanitaires de 1^{ère} catégorie, une incertitude existe quant à sa pertinence comme microorganisme d'essai. Cet élément s'ajoutant au fait qu'aucune donnée, à la connaissance des experts, n'existe sur le rôle que peut avoir la variabilité biologique au sein de chacune de ces espèces virales sur la résistance aux biocides désinfectants, il est donc recommandé de s'orienter vers le choix d'une espèce virale complémentaire, appartenant à la famille des *Parvoviridae* (groupe B), avec l'objectif de couvrir l'ensemble des dangers sanitaires de 1^{ère} et de 2^{ème} catégorie. Les parvovirus sont en effet considérés parmi les virus animaux les plus résistants aux agents chimiques (Nims et Zhou, 2016 ; Scott, 1980).

Le parvovirus porcin a été choisi comme « modèle » dans une étude comparant la sensibilité de virus appartenant à 4 familles différentes (groupe A : *Poxviridae* ; groupe B : *Parvoviridae* et *Picornaviridae* ; groupe C : *Adenoviridae*) envers 7 substances actives non formulées (hypochlorite de sodium, ammonium quaternaire, éthanol, glutaraldéhyde, peroxyde d'hydrogène, ortho-phthalaldéhyde, acide peracétique). Les critères de la norme européenne du domaine médical EN 14476 (souillures faites d'érythrocytes et d'albumine bovine) ont été suivis en développant un test de surface utilisant des supports en acier inoxydable. Le parvovirus porcin s'est révélé le plus résistant et, en particulier, les substances comme l'éthanol et l'ammonium quaternaire n'ont aucune activité sur ce virus (Eterpi *et al.*, 2009).

Le parvovirus murin souche Crawford (ATCC VR-1346) a aussi été choisi comme virus d'essai dans la norme EN 14476 pour la désinfection des instruments et des textiles dans le domaine médical.

Le comportement des parvovirus dans les tests d'efficacité biocide peut se présenter de manière homogène ou hétérogène selon le type de biocide étudié (Nims et Zhou, 2016). Dans un test de surface utilisant des disques d'acier et sans ajout de matières organiques, à 20°C et pour un temps de contact de 5 min, 4 parvovirus d'origine animale (bovine, murine, porcine et canine) ont présenté une résistance similaire vis-à-vis de 2 alcools ; cependant, le parvovirus murin paraît plus sensible au glutaraldéhyde tandis que le parvovirus porcin l'est vis-à-vis de l'acide peracétique, même si ces différences ne sont pas très importantes (Rabeneau *et al.*, 2014). Il conviendra donc de proposer l'espèce de parvovirus la plus pertinente pour représenter cette famille comme virus d'essai dans les études de virucidie.

b- Bactéries

Les bactéries d'essai désignées dans la norme européenne varient selon l'activité revendiquée, bactéricide, mycobactéricide ou sporicide.

Activité bactéricide :

Le choix des quatre bactéries retenues dans la norme européenne pour tester l'activité bactéricide d'un biocide pouvant être préconisé pour la désinfection dans le domaine vétérinaire, à savoir *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Proteus vulgaris* (ATCC 13315), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Enterococcus hirae* (ATCC 10541), apparaît aux experts comme un compromis satisfaisant permettant de sélectionner, en dépit de leur diversité (entérobactéries, chlamydie, mycoplasmes...), les produits biocides les plus actifs (du moins dans les conditions des essais) vis-à-vis des dangers bactériens (autres que mycobactériens ou sporulés) visés par la réglementation.

Les experts soulignent toutefois le manque (voire l'absence) de données relatives au spectre de sensibilité de chaque danger bactérien réglementé (variations interspécifiques), ses variations intraspécifiques et son évolution éventuelle, permettant notamment une comparaison avec celui de chaque microorganisme d'essai. Ils préconisent donc, notamment pour les bactéries les moins étudiées (comme *Brucella* spp. ou *Chlamydia psittaci*), ou des bactéries comme *Burkholderia mallei* ou *Francisella tularensis*, pour lesquelles une majorité des données portent sur la désinfection des eaux contaminées et non celle de locaux d'élevage, la mise en place d'études permettant de répondre à ces questions. Cela permettrait, au besoin, de faire évoluer le choix des organismes d'essais pour une meilleure adéquation avec les besoins du terrain. Par ailleurs, une revendication spécifique d'activité vis-à-vis d'un danger particulier devrait justifier la démonstration d'activité additionnelle obligatoire avec des souches bactériennes de l'espèce ou du groupe d'espèces correspondants.

Une mention particulière concerne les salmonelles, en raison de la fréquence et l'importance des opérations de désinfection relatives à la salmonellose dans les élevages avicoles. Face aux incertitudes sur la variabilité du comportement des souches au sein de ce genre, les experts recommandent d'ores et déjà d'inclure une souche de salmonelle (par exemple *Salmonella Typhimurium* (ATCC 13311), déjà désignée comme souche additionnelle pour les tests de surface EN 13697 dans le secteur alimentaire) comme souche complémentaire.

Activité mycobactéricide :

Pour une revendication d'activité mycobactéricide, il faut tester obligatoirement les deux espèces *M. avium* (ATCC 15769) et *M. terrae* (ATCC 15755) pour le domaine médical, alors que pour le domaine vétérinaire, seul *M. avium* (ATCC 15769) doit être testé. Sinon, la revendication d'une activité tuberculocide, basée sur un test employant *M. terrae* (ATCC 15755), n'est identifiée que pour le domaine médical. En conséquence, pour le domaine vétérinaire, le complexe *M. tuberculosis*, incluant *M. bovis*, n'est pas représenté. Cette situation est paradoxale dans la mesure où les mycobactéries tuberculeuses, principalement *M. bovis*, sont la principale cible mycobactérienne visée dans le cadre réglementaire.

En conclusion, les experts estiment donc nécessaire, d'une part de compléter *M. avium* (ATCC 15769) par *M. terrae* (ATCC 15755) en tant qu'organisme d'essai complémentaire dans le domaine vétérinaire.

Activité sporicide :

Aucune méthode d'essai normalisée à utiliser pour une revendication d'activité sporicide n'est encore définie dans le domaine vétérinaire, ni d'ailleurs dans le domaine médical. La seule norme européenne publiée (EN 13704), concerne l'évaluation de l'activité sporicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité. Cette dernière désigne des spores de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) comme microorganisme d'essai avec comme possibilité de microorganismes additionnels, des spores de *Bacillus cereus* (ATCC 12826) ou des spores de *Clostridium sporogenes* (51 CIP 7939). Rappelons que dans les normes françaises (NF T 72230, NF T 72231 et NF T 72190), toujours en vigueur, des souches de trois espèces sont obligatoires : *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Clostridium sporogenes*.

En conclusion, compte tenu des espèces bactériennes visées en tant que dangers de 1^{ère} ou 2^{ème} catégorie, les experts recommandent de retenir à l'instar des normes françaises, *Bacillus cereus* (ATCC 12826), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) et *Clostridium sporogenes* (51 CIP 7939) comme organismes d'essai obligatoires. En effet, même si, au regard des résultats convergents issus des nombreux travaux publiés sur *B. anthracis*, les spores de *B. subtilis* apparaissent comme un substitut satisfaisant pour juger de l'activité des biocides sur les spores de *B. anthracis*, l'adjonction de *B. cereus* se justifie par sa proximité phylogénétique avec *B. anthracis* et permet de se soustraire des variations interspécifiques de la sensibilité aux biocides au sein du genre *Bacillus*. L'adjonction de *C. sporogenes* permet en outre de valider l'activité des biocides testés vis-à-vis des bactéries sporulées anaérobies du genre *Clostridium*, et notamment *C. botulinum*.

➤ Conditions d'essai complémentaires

La nature physico-chimique des milieux biologiques et des milieux environnementaux par leur très grande diversité, influencent considérablement la résistance apparente des microorganismes. Il s'avère extrêmement difficile de connaître l'efficacité d'un biocide envers un danger sanitaire dans l'ensemble des situations rencontrées dans les conditions du terrain.

Concernant le choix des méthodes proprement dite, aujourd'hui une norme européenne EN 14675 (test de suspension) et une norme française NF T 72281 sont actuellement à disposition. Dans ces normes, les critères de dureté de l'eau de dilution du désinfectant, de niveaux de souillures organiques (notamment le niveau de souillure élevé avec un mélange de 10 g/L d'albumine bovine + 10 g/L d'extrait de levure), de temps de contact de 30 min et de température de 10°C sont autant de critères qui apportent une garantie pour la détermination d'une activité virucide et antibactérienne potentielle d'un désinfectant dans le domaine de l'élevage, dès lors que les procédures de nettoyage préalable ont été correctement réalisées. Cependant, en complément de ces normes, un test de surface s'avère absolument indispensable afin d'intégrer des supports représentatifs des réalités du terrain (ex : le bois) qui sont plus difficiles à désinfecter. Sur ce point, un programme de travail pour les virus est en cours au sein du CEN TC 216. Pour les bactéries, ces normes existent, en revanche, elles sont absentes pour les mycobactéries et les spores.

➤ Incertitudes

L'incertitude mise en évidence dans cette évaluation repose sur le déficit d'articles scientifiques permettant de comparer spécifiquement, selon les exigences liées aux normes européennes (voire la norme française NF T 72281), la résistance des micro-organismes d'essai des normes avec celle de l'ensemble des dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie. Par ailleurs, une diversité de méthodes d'évaluation des activités virucide et bactéricide des désinfectants et substances chimiques est décrite dans ces articles, les unes correspondant aux normes européennes, d'autres à des normes nationales mais aussi à des méthodes développées spécifiquement pour l'article de recherche. Des méthodes dites de suspension et de surface sont employées avec un schéma général assez proche. Cependant, si pour un article donné, les comparaisons sont fiables et souvent analysées de manière statistique, les comparaisons d'un article à l'autre, au niveau du détail des données, doivent être envisagées avec beaucoup de réserves et ne peuvent être exprimées que sous forme de tendances et de convergences.

3.6. Conclusions et recommandations

Il n'est pas possible d'affirmer de façon certaine que les divers micro-organismes d'essais et les conditions opératoires spécifiées dans les normes actuelles permettent de « couvrir » totalement les risques liés aux dangers sanitaires de première et deuxième catégorie dans le domaine vétérinaire. Il serait d'ailleurs illusoire de penser qu'une quelconque combinaison de micro-organismes d'essai et de conditions opératoires de laboratoire permettrait d'atteindre cet objectif, puisque les dangers sanitaires présents sur le terrain et les conditions précises dans lesquelles ils se trouvent, sont par nature d'une grande diversité, inatteignable expérimentalement.

3.6.1. Micro-organismes d'essais complémentaires

➤ Virus

Considérant que la norme européenne EN 14675, reconnue sur le plan international, traite de l'évaluation de l'activité virucide des désinfectants pour le domaine vétérinaire, il est fait le constat que le virus d'essai ECBO, en termes de résistance aux biocides désinfectants, ne peut couvrir l'ensemble des virus de la famille des *Picornaviridae*, considérés comme les dangers sanitaires viraux les plus résistants. En conséquence, en l'absence de données permettant de comparer le virus ECBO aux dangers sanitaires viraux, notamment les 8 virus non enveloppés (groupes B et C), une incertitude existe quant à sa pertinence comme micro-organisme d'essai dans le cadre de l'appréciation de l'activité virucide envers les dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégorie.

Dans le domaine normatif au niveau vétérinaire, il n'existe pas de virus d'essai pour les virus enveloppés (groupe A). L'analyse menée n'a pas permis de rechercher un virus modèle représentatif des virus enveloppés. Cependant, même si le virus ECBO, seul virus d'essai de la norme, n'est pas intrinsèquement un modèle de virus enveloppé, ce virus couvrirait les dangers sanitaires représentés par les virus enveloppés (groupe A, voir Tableau 1). Ce point est conforté par le fait que les virus enveloppés montrent en général une plus grande sensibilité envers les biocides que les virus non enveloppés.

De plus, aucune donnée, à la connaissance des experts, n'existe sur le rôle que peut jouer la variabilité biologique au sein de chacune de ces espèces ou genres viraux sur la résistance aux biocides désinfectants.

Les experts recommandent de s'orienter vers un modèle viral qui présente le plus haut niveau de résistance : les virus de la famille des *Parvoviridae* (virus non enveloppés, groupe B) sont reconnus à ce jour comme les virus les plus résistants et pourraient constituer ce modèle viral. Cette recommandation est guidée par les incertitudes énoncées et par le besoin de couvrir l'ensemble des risques liés aux dangers sanitaires de première et deuxième catégorie. Des modèles de parvovirus d'origine animale (bovine, murine, porcine, canine) existent et sont décrits dans la littérature. Il est aussi important de noter que le parvovirus murin, souche Crawford (ATCC VR-1346) a été retenu comme un des virus modèle dans la norme EN 14476 visant le domaine médical.

➤ Bactéries

Les experts, en considérant des données de sensibilité obtenues sur des micro-organismes d'essai plus ou moins proches phylogénétiquement des dangers sanitaires, ont pu formuler, concernant les micro-organismes d'essai, les conclusions et recommandations suivantes :

- concernant l'activité bactéricide, les experts considèrent que la combinaison des profils de sensibilité des 4 bactéries d'essai obligatoires des 3 normes de bactéricidie du domaine vétérinaire constitue un compromis satisfaisant pour juger de l'activité des biocides. Cependant, ils recommandent la mise en place d'étude spécifiques visant à combler le déficit de données de sensibilité concernant certains dangers sanitaires bactériens spécifiques, comme *Brucella spp.*, *Chlamydia psittaci*, *Burkholderia mallei* ou *Francisella tularensis*. Par ailleurs, compte-tenu de l'importance du danger *Salmonella* en élevage avicole, les experts recommandent d'inclure la souche *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311) comme souche complémentaire ;
- concernant l'activité mycobactéricide, les experts recommandent d'utiliser, de façon obligatoire, non seulement la souche *Mycobacterium avium* (ATCC 15769), mais aussi la souche *Mycobacterium terrae* (ATCC 15755) comme microorganisme d'essai complémentaire (déjà obligatoire dans le domaine médical, dans la norme EN 14348), afin de mieux juger de l'activité tuberculocide des biocides, ce qui paraît pertinent vis-à-vis des dangers sanitaires «tuberculeux» du domaine vétérinaire, notamment *Mycobacterium bovis*.
- concernant l'activité sporicide, les experts recommandent les spores de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) (déjà souche d'essai obligatoire dans la norme EN 13704) pour juger de l'efficacité des biocides sur les spores des dangers sanitaires *Bacillus anthracis*, et *Paenibacillus larvae*. La souche *Clostridium sporogenes* (51 CIP 7939) est également recommandée comme organisme obligatoire pour les essais des sporicidie, afin d'augmenter la couverture vis-à-vis du danger sanitaire *Clostridium botulinum*. La souche *Bacillus cereus* (ATCC 12826) est recommandée

comme souche complémentaire compte-tenu de sa grande proximité phylogénétique avec *Bacillus anthracis*.

3.6.2. Conditions d'essais complémentaires

➤ Virus

Les experts soulignent que les conditions opératoires citées dans les deux normes (norme européenne EN 14675 et la norme française NF T 72281) apportent une garantie pour la détermination d'une activité virucide potentielle d'un désinfectant dans le domaine de l'élevage. Cependant, en complément de ces normes, un test de surface s'avère absolument indispensable afin d'intégrer des supports représentatifs des substrats du terrain (ex : le bois) plus difficiles à désinfecter.

➤ Bactéries

De la même façon que pour les essais de virucidie, les experts soulignent la nécessité d'intégrer aux normes existantes des tests de surface mimant de façon plus réaliste les conditions du terrain en milieu vétérinaire, par exemple sur des surfaces poreuses comme le bois. Les experts jugent également nécessaire d'intégrer aux essais de mycobactéricidie des tests sur surface non poreuse (en se référant à la norme médicale EN 14348) et d'adapter, pour une meilleure adéquation aux situations du terrain, des tests sur surface poreuse déjà préconisés pour l'activité bactéricide

Par ailleurs, une spécificité des bactéries par rapport aux virus est leur capacité à se développer sous forme de biofilms au sein desquels elles sont plus récalcitrantes à la désinfection. Cet aspect a été largement négligé jusqu'à présent dans les études sur les biocides et notamment dans la définition des normes permettant de tester leur efficacité antibactérienne. Pourtant, dans la mesure où les dangers sanitaires bactériens sont capables de former des biofilms et où les biofilms sont probablement fréquents dans les conditions de terrain caractéristiques du domaine vétérinaire, les experts estiment nécessaire de tester l'activité des biocides sur des bactéries de biofilm. En premier lieu, des tests pourraient être développés sur les microorganismes d'essai déjà recommandés dans les normes, ou ceux préconisés ici. Sur un plus long terme, il serait également intéressant de rechercher une souche bactérienne pouvant servir de modèle car formant des biofilms particulièrement résistants à la désinfection. De plus, afin de mimer une sorte de « scénario du pire cas », ces tests devraient être réalisés, comme pour les tests de surface où les bactéries sont fixées par simple séchage, sur des supports défavorables à la désinfection, comme le bois, et en présence de substances interférentes.

4. ANALYSE ET CONCLUSIONS RELATIVES A LA 2EME QUESTION

La deuxième question relative à la validité des agréments délivrés au regard des nouvelles normes a été précisé lors d'échanges par emails avec la DGAI. Il s'agit ainsi de déterminer d'une part si les données d'efficacité des produits biocides disposant actuellement d'un agrément vétérinaire sur le marché français doivent être mises à jour vis-à-vis des exigences européennes pour la démonstration de l'efficacité (exigences issues du guide de l'Efficacité des désinfectants TP1 à 5 de l'ECHA²³ qui est basé sur la norme EN 14885), et d'autre part de déterminer la validité des agréments délivrés, du fait de l'obsolescence des normes utilisées dans la démonstration de l'efficacité et de l'analyse de l'Anses sur les exigences d'efficacité lié spécifiquement aux dangers sanitaires de première et seconde catégorie (section précédente).

A ce titre, un inventaire des produits bénéficiant de l'agrément au titre de l'arrêté du 28 février 1957 a été communiqué par la DGAI et reproduit en annexe 9. Cet inventaire précise pour chaque produit : le nom du désinfectant, le numéro d'agrément, la date de sa délivrance, le numéro d'inventaire Simmbad, le numéro d'AMM transitoire (délivré par la DGAL ou le MEDDE), les coordonnées du fabricant, les normes utilisées dans les dossiers fourni en vue de la délivrance de l'agrément et la mention « FA » précisant si le produit est actif vis-à-vis de la fièvre aphteuse.

Il est à noter que le niveau d'informations mentionnées dans la colonne « normes utilisées » est très variable d'un produit à l'autre et que ces informations sont issues de réponses à des questionnaires adressés aux pétitionnaires (source : Mémoire relatif aux biocides utilisés pour la désinfection après un épisode de danger sanitaire – 2014).

Il sera ainsi évalué dans ce chapitre d'une part la nécessité de mettre à jour les dossiers au regard des exigences d'efficacité dans le cadre du Règlement (UE) n°528/2012 et, d'autre part la nécessité de mettre à jour spécifiquement les données relatives à l'Agrément, tenant compte de l'analyse présentée pour la première question.

4.1. Mise à jour des données d'efficacité (obsolescences des normes utilisées en lien avec les revendications biocides)

Comme déjà rappelé ci-dessus, jusqu'à récemment, la mise sur le marché et l'utilisation en France de certains produits biocides nécessitait, durant la période transitoire l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché nationale (« AMM transitoire »). Il s'agissait notamment des produits désinfectants et insecticides utilisés en hygiène vétérinaire (TP3) et industries agroalimentaires (TP4). La loi n°2015-1657 du 2 décembre 2015 a supprimé cette obligation, pour les produits qui étaient soumis à cette exigence.

Pour la grande majorité des produits de l'inventaire, les autorisations de mise sur le marché ont été délivrées par la DGAL entre 1975 et 2008. Un petit nombre d'entre eux (7 dossiers répertoriés) a fait l'objet d'une évaluation de l'Anses, suivi d'une décision du MEDDE (entre 2008 et 2015) dans le cadre d'un renouvellement d'autorisation, d'une demande d'extension d'usages ou d'un transfert d'autorisation.

²³ Transitional Guidance on the Biocidal Products Regulation – transitional guidance on Efficacy Assessment for product Types 1-5, Disinfectants – May 2016 :
<https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-biocides-legislation/transitional-guidance>

Dans le cadre de la délivrance de l'Agrément sur la base de l'arrêté du 28 février 1957, une autorisation pour le domaine de l'élevage pour les activités bactéricide et virucide était un préalable obligatoire, pour les produits demandant un agrément. De la même manière, il apparaîtrait donc nécessaire de mettre à jour les dossiers en fonction des revendications d'activités dans le domaine de l'élevage, selon les dernières normes européennes en vigueur et selon le guide de l'Efficacité des désinfectants TP1 à 5 de l'ECHA, comme un pré-requis.

Les rapports des normes citées dans l'annexe 9 n'ont pas fait l'objet d'une expertise de l'Anses (hormis les produits bénéficiant d'une AMM transitoire du MEDDE, néanmoins sous réserve depuis leur évaluation de la parution d'une version révisée des normes utilisées). Ces informations sont issues de réponses à des questionnaires adressés aux pétitionnaires et il conviendra de s'assurer du contenu exact des dossiers en fonction des revendications.

Sur la base des informations présentées dans l'inventaire en annexe 9, une grande majorité de dossiers nécessitent une mise à jour des données d'efficacité dans le cadre d'usages de désinfection dans le domaine vétérinaire vis-à-vis des exigences du guide de l'Efficacité des désinfectants TP1 à 5 de l'ECHA, pour plusieurs raisons :

- les essais d'efficacité ont été validés avec des normes françaises désormais annulées et remplacées par des normes européennes : NFT 72170 et NFT 72171 annulées en septembre 2015, NFT 72180 annulée en juillet 2006, NFT 72181 annulée en décembre 2006, NFT 72300 et NFT 72301 annulées en août 2009 ;
- les essais d'efficacité ont été validés avec la norme française NFT 72190, toujours en vigueur, mais des normes européennes de phase 2 étape 2 existent désormais pour les activités bactéricide et fongicide (EN 16437 et EN 16438, 2014);
- les essais d'efficacité ont été validés avec des normes européennes, qui ont fait l'objet d'une version révisée depuis 2008 ;
- les essais d'efficacité ont uniquement été validés avec des normes de phase 2 étape 1 (tests en suspension) alors que des normes de phase 2 étape 2 (permettant une meilleure représentativité au regard des conditions d'emploi dans des conditions pratiques simulées par exemple avec essais sur des surfaces) ont été développées depuis l'obtention de l'autorisation.
- ...

Ainsi il conviendra (sous réserve de la confirmation du réel contenu de ces dossiers), dans le cadre de la mise à jour de la démonstration de l'efficacité en fonction des revendications biocides, que les pétitionnaires soumettent de nouveaux essais d'efficacité en cohérence avec les exigences définies dans le guide ECHA, reprenant celles décrites dans la norme EN 14885.

Par ailleurs, si certains dossiers semblent à jour en termes de méthodologies utilisées, il conviendra de vérifier la version des normes utilisées et les revendications précises de chaque produit au regard des exigences du guide de l'Efficacité des désinfectants TP 1 à 5 de l'ECHA, notamment en fonction des types de produit (3 ou 4), modes d'application et conditions d'emploi revendiqués, afin de confirmer ou pas la nécessité d'une mise à jour des essais.

4.2. Mise à jour de l'agrément au titre de l'arrêté du 28 février 1957

S'il apparaît essentiel que les produits faisant l'objet d'une demande d'agrément vétérinaire aient démontré au préalable une efficacité microbicide en accord avec les exigences européennes du Règlement (UE) n°528/2012, ce constat est renforcé par les conclusions et recommandations qui ont découlé de la réponse à la première question.

En effet sur la base de ces conclusions et recommandations, pour les différentes activités analysées (virucide, bactéricide, sporicide et mycobactéricide), les normes européennes afférentes sont fondamentales pour répondre aux exigences d'efficacité sur le terrain.

Néanmoins, il est souligné qu'il n'est pas possible d'affirmer de façon certaine que les divers micro-organismes d'essais et les conditions opératoires spécifiées dans les normes actuelles permettent de « couvrir » totalement les risques liés aux dangers sanitaires de première et deuxième catégorie dans le domaine vétérinaire.

Ainsi, pour les micro-organismes d'essais, l'expertise de l'Anses permet d'aboutir aux recommandations suivantes :

- Pour les dangers sanitaires appartenant au genre *Mycobacterium*, il est recommandé d'utiliser obligatoirement à la fois les souches *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium terrae*, vis-à-vis des « dangers tuberculeux » du domaine vétérinaire.
- Pour les dangers sanitaires du groupe des bactéries sporulées, il est recommandé la réalisation de tests sur les spores de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) et *Bacillus cereus* (ATCC 12826) pour juger de l'efficacité des biocides sur les spores des dangers sanitaires *Bacillus anthracis* et *Paenibacillus larvae*. La souche *Clostridium sporogenes* (51 CIP 7939) est également recommandée comme organisme obligatoire pour les essais de sporicidie, afin d'augmenter la couverture vis-à-vis du danger sanitaire *Clostridium botulinum*.
- Par ailleurs, compte-tenu de l'importance des dangers sanitaires du genre *Salmonella* en élevage avicole, il est recommandé d'inclure la souche *Salmonella* Thyphimurium (ATCC 13311) dans les tests d'efficacité en tant que souche complémentaire.
- Il est aussi à noter que même si le virus ECBO, seul virus d'essai de la norme virucide du domaine vétérinaire, n'est pas, par nature, un modèle pour les virus enveloppés, son niveau de résistance permet, avec une assurance forte, de le retenir pour couvrir l'ensemble des virus enveloppés.

Pour les dangers sanitaires viraux, en l'absence de données permettant de comparer le virus ECBO (micro-organisme d'essai de la norme EN 14675) aux dangers sanitaires viraux, notamment les 8 virus non enveloppés (groupes B et C), une incertitude existe quant à sa pertinence comme micro-organisme d'essai dans le cadre de l'appréciation de l'activité virucide envers la totalité des dangers sanitaires de 1^{ère} et 2^{ème} catégories. Ainsi il est recommandé de s'orienter vers un modèle viral qui présente le plus haut niveau de résistance comme les virus de la famille des *Parvoviridae*. Des modèles de parvovirus d'origine animale (bovine, murine, porcine, canine) existent et sont décrits dans la littérature. Il est aussi important de noter que le parvovirus murin, souche Crawford (ATCC VR-1346), a été retenu comme un des virus modèle dans la norme EN 14476 visant le domaine médical. Il conviendra donc d'identifier le modèle viral pertinent afin de garantir l'efficacité sur ces dangers viraux.

Enfin concernant les autres dangers sanitaires bactériens, compte-tenu des incertitudes évoquées dans la réponse à la première question, il serait nécessaire, via des études spécifiques visant à combler le déficit de données de sensibilité, d'identifier les micro-organismes d'essais pertinents

afin de garantir l'efficacité sur ces dangers bactériens. En effet, pour certains dangers sanitaires bactériens spécifiques (*Brucella spp.*, *Chlamydia psittaci*, *Burkholderia mallei* ou *Francisella tularensis*), la combinaison des profils de sensibilité des 4 bactéries d'essai obligatoires (*P.aeruginosa*, *P.vulgaris*, *S.aureus*, *E.hirae*) des 3 normes de bactéricidie du domaine vétérinaire (EN 1656, EN 14349, EN 16437) ne peut constituer, au regard des données scientifiques dont nous disposons, un compromis satisfaisant pour juger de l'activité des produits biocides.

➤ Et pour les conditions complémentaires :

Dès lors que les procédures de nettoyage préalable ont été correctement réalisées, il est estimé que les conditions d'essais des normes du domaine vétérinaire (phase 2, étapes 1 et 2), c'est-à-dire les critères de dureté de l'eau de dilution du désinfectant, les niveaux de souillures organiques (et notamment le niveau de souillure élevée avec un mélange de 10 g/L d'albumine bovine + 10 g/L d'extrait de levures), de temps de contact de 30 minutes et de température de 10 °C sont autant de critères qui apportent une garantie pour la détermination des activités bactéricide, sporicide, mycobactéricide et virucide potentielle d'un désinfectant dans le domaine de l'élevage.

Par contre si des normes de suspension (phase 2 étape 1), existent pour toutes les activités, des tests de surface (phase 2 étape 2) s'avèrent absolument nécessaires afin de mimer de manière la plus réaliste possible les conditions de terrain dans le domaine vétérinaire, en intégrant des supports représentatifs des substrats rencontrés sur le terrain (comme par exemple le bois) :

- des normes de surface pour les surfaces poreuses et non poreuses existent pour l'activité bactéricide et elles sont en cours d'élaboration pour l'activité virucide ;
- pour l'activité mycobactéricide, il est possible d'utiliser la norme de phase 2 étape 2 du domaine médical sur surface non poreuse, et la norme de phase 2 étape 2 de bactéricidie du domaine vétérinaire sur surface poreuse ;
- enfin aucun essai de surface (phase 2 étape 2) n'est actuellement disponible pour l'activité sporicide ;

Il conviendra donc de proposer des adaptations de méthodologies existantes pour les activités pour lesquelles des lacunes normatives sont constatées. En effet selon la norme EN 14885 (paragraphe 4.2.6), s'il n'existe aucune norme concernant une activité spécifique dans un domaine, une norme d'un autre domaine peut être utilisée et les conditions d'essai modifiées pour correspondre au domaine d'application spécifique.

5. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

Dans le cadre des réponses à la première et seconde question de la saisine, l'ANSES émet les conclusions et recommandations suivantes :

➤ Conclusions

Les normes européennes du domaine vétérinaire ne couvrent pas en totalité les dangers sanitaires de première et seconde catégorie, les micro-organismes modèles et les conditions d'emploi testées n'étant pas toujours suffisants ou représentatifs. Notamment, pour la démonstration de certaines activités bactéricide et des activités virucide, il conviendra de mettre en place des études spécifiques visant à identifier des micro-organismes modèles.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime par ailleurs que sur la base des informations communiquées par les pétitionnaires, une très grande majorité des produits agréés au titre de l'arrêté du 28 février 1957, listés à l'annexe 2 de la saisine doivent a priori faire l'objet d'une mise à jour en conformité avec les exigences du guide de l'Efficacité des désinfectants TP 1 à 5 de l'ECHA, notamment parce que des normes françaises obsolètes ont été utilisées à l'appui de la démonstration de l'efficacité. Certains dossiers pour lesquels il est établi que des normes européennes ont été utilisés, devront faire l'objet d'une vérification des essais soumis (version des normes, adéquation des essais de phase 2, étapes 1 et 2 vis-à-vis des revendications) afin de confirmer ou pas la nécessité d'une mise à jour. La mise à jour des dossiers en conformité avec les exigences d'efficacité du Règlement (UE) n°528/2012 est un préalable à toute évaluation d'efficacité dans le cadre de l'Agrément vétérinaire.

➤ Recommandations

L'arrêté de du 28 février 1957 propose actuellement deux niveaux d'agrèments :

- une liste positive de substances actives qu'il conviendra de mettre à jour vis-à-vis du Règlement biocide (UE) n°528/2012. En effet, parmi ces substances actives, l'hypochlorite de potassium, la soude caustique (hydroxyde de sodium), le phénol et le crésylole sodique sont dorénavant des substances actives interdites en tant que biocides TP3/4/5. Il conviendra aussi de vérifier que les conditions d'utilisation, notamment les concentrations d'emploi des autres substances actives listées et soutenues dans le cadre du Règlement biocide (UE) n°528/2012 (par exemple la chaux) soient en conformité avec les nouvelles exigences liées à la désinfection en cas de dangers sanitaires, qui auront été définies.
- une liste de produits disposant d'un agrément qu'il conviendrait de mettre à jour.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail recommande que les dispositions du nouvel arrêté prennent en compte le Règlement (UE) n°528/2012 (UE) et notamment sa conformité avec l'article 89 (mesures transitoires).

Le cas échéant, l'Anses recommande que le nouvel arrêté mentionne la nécessité pour les pétitionnaires de soumettre des dossiers de produits en conformité avec les exigences du guide de l'Efficacité des désinfectants TP1 à 5 de l'ECHA.

Par ailleurs, s'agissant de la désinfection des sites d'élevage reconnus infectés d'un des dangers sanitaires de 1^{ère} ou de 2^{ème} catégorie, il n'y a pas actuellement de lignes directrices spécifiques développées dans le guide de l'Efficacité des désinfectants TP 1 à 5 de l'ECHA. Considérant l'important travail bibliographique réalisé dans le cadre de cette saisine, il pourrait être opportun de proposer dans le cadre des travaux du groupe de travail de l'efficacité de l'ECHA, des lignes directrices communes à tous les Etats membres pour l'évaluation de l'efficacité de produits biocides destinés à être utilisés pour la désinfection des sites d'élevage reconnus infectés d'un des dangers sanitaires de 1^{ère} ou de 2^{ème} catégorie listés dans l'arrêté du 29 juillet 2013.

Roger GENET

MOTS-CLES

Activité virucide, activité bactéricide, activité mycobactéricide, activité sporicide, agrément vétérinaire, norme NF EN 14885, biocides, désinfection, élevage, dangers sanitaires, Règlement biocide (UE) n°528/2012.

KEYWORDS

Virucidal activity, bactericidal activity, mycobactericidal activity, sporicidal activity, EN 14885 norm, biocides, disinfection, notifiable diseases, Biocides Regulation (EU) 528/2012.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIE

➤ Publications

- Aarestrup, FM et H Hasman. 2004. "Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection." *Veterinary microbiology* 100 (1):83-89.
- Al-Khleif, A, G Baljer et W Herbst. 2008. "[Examination of biocides for their effectiveness against animal viruses according to European Union Standards with emphasis on the selection of a suitable test virus]." *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift* 122 (1-2):58-62.
- Armon, R, G Weltch-Cohen et P Bettane. 2004. "Disinfection of Bacillus spp. spores in drinking water by TiO₂ photocatalysis as a model for Bacillus anthracis." *Water Science and Technology: Water Supply* 4 (2):7-14.
- Best, M, SA Sattar, VS Springthorpe et ME Kennedy. 1990. "Efficacies of selected disinfectants against Mycobacterium tuberculosis." *Journal of Clinical Microbiology* 28 (10):2234-2239.
- Beuchat, LR, CA Pettigrew, ME Tremblay, BJ Roselle et AJ Scouten. 2005. "Lethality of chlorine, chlorine dioxide, and a commercial fruit and vegetable sanitizer to vegetative cells and spores of Bacillus cereus and spores of Bacillus thuringiensis." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 32 (7):301-308.
- Black, DG, TM Taylor, HJ Kerr, S Padhi, TJ Montville et PM Davidson. 2008. "Decontamination of fluid milk containing Bacillus spores using commercial household products." *Journal of Food Protection* 71 (3):473-478.
- Blackwell, JH, JH Graves et PD McKercher. 1975. "Chemical inactivation of swine vesicular disease virus." *Br Vet J* 131 (3):317-23.
- Bocian, E, W Grzybowska et S Tyski. 2014. "Evaluation of mycobactericidal activity of selected chemical disinfectants and antiseptics according to European standards." *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research* 20:666.
- Bridier, A, R Briandet, V Thomas et F Dubois-Brissonnet. 2011. "Comparative biocidal activity of peracetic acid, benzalkonium chloride and ortho-phthalaldehyde on 77 bacterial strains." *Journal of Hospital Infection* 78 (3):208-213.
- Copitch, JL, RN Whitehead et MA Webber. 2010. "Prevalence of decreased susceptibility to triclosan in Salmonella enterica isolates from animals and humans and association with multiple drug resistance." *International journal of antimicrobial agents* 36 (3):247-251.
- Costerton, JW. 1999. "Introduction to biofilm." *International journal of antimicrobial agents* 11 (3):217-221.
- Dewan, PK, AM Fry, K Laserson, BC Tierney, CP Quinn, JA Hayslett, LN Broyles, A Shane, KL Winthrop et I Walks. 2002. "Inhalational anthrax outbreak among postal workers, Washington, DC, 2001." *Emerging infectious diseases* 8 (10):1066-72.
- Dvorakova, H, J Prodelalova et M Reichelova. 2008. "Comparative inactivation of Aujeszky's disease virus, Porcine teschovirus and Vesicular stomatitis virus by chemical disinfectants." *VETERINARNI MEDICINA-PRAHA*- 53 (5):236.
- Emmoth, E, J Ottoson, A Albihn, S Belák et B Vinnerås. 2011. "Ammonia disinfection of hatchery waste for elimination of single-stranded RNA viruses." *Applied and environmental microbiology* 77 (12):3960-3966.
- Eterpi, M, G McDonnell et V Thomas. 2009. "Disinfection efficacy against parvoviruses compared with reference viruses." *Journal of Hospital Infection* 73 (1):64-70.
- Eterpi, M, G McDonnell et V Thomas. 2010. "Virucidal activity of disinfectants against parvoviruses and reference viruses." *Applied Biosafety* 15 (4):165-171.
- Foegeding, PM, V Hemstapat et FG Giesbrecht. 1986. "Chlorine dioxide inactivation of Bacillus and Clostridium spores." *Journal of Food Science* 51 (1):197-201.
- Gantzhorn, MR, K Pedersen, JE Olsen et LE Thomsen. 2014. "Biocide and antibiotic susceptibility of Salmonella isolates obtained before and after cleaning at six Danish pig slaughterhouses." *International journal of food microbiology* 181:53-59.

- Gedda, M. 2015. "Traduction française des lignes directrices PRISMA pour l'écriture et la lecture des revues systématiques et des méta-analyses." *Kinésithérapie, la Revue* 15 (157):39-44. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.kine.2014.11.004>.
- Gradel, KO, AR Sayers et RH Davies. 2004. "Surface disinfection tests with Salmonella and a putative indicator bacterium, mimicking worst-case scenarios in poultry houses." *Poultry science* 83 (10):1636-1643.
- Gregory, AW, GB Schaalje, JD Smart et RA Robison. 1999. "The mycobactericidal efficacy of ortho-phthalaldehyde and the comparative resistances of Mycobacterium bovis, Mycobacterium terrae, and Mycobacterium chelonae." *Infection Control & Hospital Epidemiology* 20 (05):324-330.
- Griffiths, PA, JR Babb et AP Fraise. 1998. "Mycobacterium terrae: a potential surrogate for Mycobacterium tuberculosis in a standard disinfectant test." *Journal of Hospital Infection* 38 (3):183-192.
- Guan, J, M Chan, BW Brooks et L Rohonczy. 2013. "Influence of temperature and organic load on chemical disinfection of Geobacillus stearothermophilus spores, a surrogate for Bacillus anthracis." *Canadian Journal of Veterinary Research* 77 (2):100-104.
- Heckert, RA, M Best, LT Jordan, GC Dulac, DL Eddington et WG Sterritt. 1997. "Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses." *Applied and environmental microbiology* 63 (10):3916-3918.
- Herniman, KA, PM Medhurst, JN Wilson et RF Sellers. 1973. "The action of heat, chemicals and disinfectants on swine vesicular disease virus." *Veterinary record* 93 (24):620-624.
- Hilgren, J, KMJ Swanson, F Diez-Gonzalez et B Cords. 2009. "Susceptibilities of Bacillus subtilis, Bacillus cereus, and avirulent Bacillus anthracis spores to liquid biocides." *Journal of Food Protection* 72 (2):360-364.
- Hong, JK, KN Lee, SH You, SM Kim, D Tark, HS Lee, YJ Ko, MG Seo, JH Park et B Kim. 2015. "Inactivation of foot-and-mouth disease virus by citric acid and sodium carbonate with deicers." *Applied and environmental microbiology* 81 (21):7610-7614.
- Inglesby, TV, T O'Toole, DA Henderson, JG Bartlett, MS Ascher, E Eitzen, AM Friedlander, J Gerberding, J Hauer et J Hughes. 2002. "Anthrax as a biological weapon, 2002: updated recommendations for management." *Jama* 287 (17):2236-2252.
- Jain, S et J Chen. 2007. "Attachment and biofilm formation by various serotypes of Salmonella as influenced by cellulose production and thin aggregative fimbriae biosynthesis." *Journal of Food Protection* 70 (11):2473-2479.
- Jang, Y, J Lee, B So, K Lee, S Yun, M Lee et N Choe. 2014. "Evaluation of changes induced by temperature, contact time, and surface in the efficacies of disinfectants against avian influenza virus." *Poultry science* 93 (1):70-76.
- Johnston, MD, S Lawson et JA Otter. 2005. "Evaluation of hydrogen peroxide vapour as a method for the decontamination of surfaces contaminated with Clostridium botulinum spores." *Journal of Microbiological Methods* 60 (3):403-411.
- Joseph, B, SK Ota, I Karunasagar et I Karunasagar. 2001. "Biofilm formation by Salmonella spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers." *International journal of food microbiology* 64 (3):367-372.
- Kenar, L, M Ortatli, H Yaren, T Karayilanoglu et H Aydogan. 2007. "Comparative sporicidal effects of disinfectants after release of a biological agent." *Military medicine* 172 (6):616-621.
- Klein, M et A Deforest. 1963. "The chemical inactivation of viruses." *Presented at: Chemical Speciality Manufacturing Association Chicago*: 116-118.
- Köhler, C, J Manteufel, I Roeder, U Roesler et U Truyen. 2009. "Comparative investigations on tenacity of different model viruses for testing chemical disinfectants." *Hygiene Medizin* 34 (6):224-232.
- Krug, PW, CR Larson, AC Eslami et LL Rodriguez. 2012. "Disinfection of foot-and-mouth disease and African swine fever viruses with citric acid and sodium hypochlorite on birch wood carriers." *Veterinary microbiology* 156 (1):96-101.

- Krug, PW, LJ Lee, AC Eslami, CR Larson et L Rodriguez. 2011. "Chemical disinfection of high-consequence transboundary animal disease viruses on nonporous surfaces." *Biologicals* 39 (4):231-235.
- Lensing, HH et HL Oei. 1985. "Investigations on the sporicidal and fungicidal activity of disinfectants. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. 1. Abt. Originale B, Hygiene* 181 (6):487-495.
- Lewis, K. 2008. "Multidrug tolerance of biofilms and persister cells." In *Bacterial Biofilms*, 107-131. Springer.
- Majcher, MR, KA Bernard et SA Sattar. 2008. "Identification by quantitative carrier test of surrogate spore-forming bacteria to assess sporicidal chemicals for use against *Bacillus anthracis*." *Applied and environmental microbiology* 74 (3):676-681.
- Maris, P. 1986. "Étude de l'activité virucide in vitro des désinfectants au moyen de deux méthodes." *Ann Rech Vét* 17:115-122.
- Maris, P et R Fresnel. 1986. "Activité de divers désinfectants sur sept virus non enveloppés." *Ann. Rech. Vet* 17:433-439.
- Martin, H, P Maris, G Jehannin, A Rault et R Fresnel. 2005. "An assessment of the bactericidal and fungicidal efficacy of seventeen mineral and organic acids on bacterial and fungal food industry contaminants." *Sciences des aliments* 25 (2):105-127.
- Martin, H, C Soumet, R Fresnel, T Morin, S Lamaudière, AL Sauvage, K Deleurme et P Maris. 2013. "Comparison of the virucidal efficiency of peracetic acid, potassium monopersulfate and sodium hypochlorite on hepatitis A and enteric cytopathogenic bovine orphan virus." *Journal of applied microbiology* 115 (4):955-968.
- McDonnell, G et AD Russell. 1999. "Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance." *Clinical microbiology reviews* 12 (1):147-179.
- Morente, EO, MA Fernández-Fuentes, MJG Burgos, H Abriouel, RP Pulido et A Gálvez. 2013. "Biocide tolerance in bacteria." *International journal of food microbiology* 162 (1):13-25.
- Møretrø, T, E Heir, LL Nesse, LK Vestby et S Langsrud. 2012. "Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection." *Food Research International* 45 (2):532-544.
- Morrow, JB, JL Almeida, LA Fitzgerald et KD Cole. 2008. "Association and decontamination of *Bacillus* spores in a simulated drinking water system." *Water research* 42 (20):5011-5021.
- Nikol'skaia, VP, OB Pudova, OA Zharkova, IA Chmyr, VV Buianov et AM Semenov. 2006. "[The relationship between the conditions of cultivation and sporification of various *Bacillus* strains and the results of the evaluation of the sporicidal activity of chemical disinfectants]." *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk/Rossiiskaia akademiia meditsinskikh nauk* (12):31-34.
- Nims, RW et SS Zhou. 2016. "Intra-family differences in efficacy of inactivation of small, non-enveloped viruses." *Biologicals* 44 (5):456-462.
- O'Connell, HA, LJ Rose, A Shams, M Bradley, MJ Arduino et EW Rice. 2009. "Variability of *Burkholderia pseudomallei* strain sensitivities to chlorine disinfection." *Applied and environmental microbiology* 75 (16):5405-5409.
- Oie, S, A Obayashi, H Yamasaki, H Furukawa, T Kenri, M Takahashi, K Kawamoto et S Makino. 2011. "Disinfection methods for spores of *Bacillus atrophaeus*, *B. anthracis*, *Clostridium tetani*, *C. botulinum* and *C. difficile*." *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 34 (8):1325-1329.
- Okayama, A, T Sakogawa, C Nakajima et T Hayam. 1997. "Sporicidal activities of disinfectants on *Paenibacillus* larvae." *Journal of Veterinary Medical Science* 59 (10):953-954.
- Prince, HN, DL Prince et RN Prince. 1991. "Principles of viral control and transmission." *Disinfection, sterilization, and preservation, 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger* 41:1-44.
- Rabenau, HF, J Steinmann, I Rapp, I Schwebke et M Eggers. 2014. "Evaluation of a virucidal quantitative carrier test for surface disinfectants." *PloS one* 9 (1):e86128.
- Rheinbaben, FV, J Gebel, M Exner et A Schmidt. 2007. "Environmental resistance, disinfection, and sterilization of poxviruses." In *Poxviruses*, 397-405. Springer.

- Rice, EW, NJ Adcock, M Sivaganesan et LJ Rose. 2005. "Inactivation of spores of *Bacillus anthracis* Sterne, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* by chlorination." *Applied and environmental microbiology* 71 (9):5587-5589.
- Rickloff, JR. 1987. "An evaluation of the sporicidal activity of ozone." *Applied and environmental microbiology* 53 (4):683-686.
- Robison, RA, AW Gregory, GB Schaalje et JD Smart. 1999. "The Mycobactericidal Efficacy of Orthophthalaldehyde and the Comparative Resistances of *Mycobacterium Bovis*, *Mycobacterium Terrae*, and *Mycobacterium Chelonae*."
- Rogers, JV, YW Choi, WR Richter, DC Rudnicki, DW Joseph, CLK Sabourin, ML Taylor et JCS Chang. 2007. "Formaldehyde gas inactivation of *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, and *Geobacillus stearothermophilus* spores on indoor surface materials." *Journal of applied microbiology* 103 (4):1104-1112.
- Rose, LJ et EW Rice. 2014. "Inactivation of bacterial biothreat agents in water, a review." *Journal of water and health* 12 (4):618-633.
- Russell, AD et GW Gould. 1988. "Resistance of Enterobacteriaceae to preservatives and disinfectants." *Journal of Applied Bacteriology* 65 (s17).
- Rutala, WA, EC Cole, NS Wannamaker et DJ Weber. 1991. "Inactivation of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* by 14 hospital disinfectants." *The American journal of medicine* 91 (3):S267-S271.
- Sagripanti, JL, CA Eklund, PA Trost, KC Jinneman, C Abeyta, CA Kaysner et WE Hill. 1997. "Comparative sensitivity of 13 species of pathogenic bacteria to seven chemical germicides." *American journal of infection control* 25 (4):335-339.
- Sattar, SA. 2007. "Hierarchy of susceptibility of viruses to environmental surface disinfectants: a predictor of activity against new and emerging viral pathogens." *Journal of AOAC International* 90 (6):1655-1658.
- Sattar, SA, M Best, VS Springthorpe et G Sanani. 1995. "Mycobactericidal testing of disinfectants: an update." *Journal of Hospital Infection* 30:372-382.
- Schautteet, K et D Vanrompay. 2011. "Chlamydiaceae infections in pig." *Veterinary research* 42 (1):1.
- Scher, K, U Romling et S Yaron. 2005. "Effect of heat, acidification, and chlorination on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium cells in a biofilm formed at the air-liquid interface." *Applied and environmental microbiology* 71 (3):1163-1168.
- Scott, FW. 1980. "Virucidal disinfectants and feline viruses." *American journal of veterinary research* 41 (3):410-414.
- Sellers, RF. 1968. "The inactivation of foot-and mouth disease virus by chemicals and disinfectants." *Veterinary record* 83 (20):504-506.
- Shams, AM, H O'Connell, MJ Arduino et LJ Rose. 2011. "Chlorine dioxide inactivation of bacterial threat agents." *Letters in applied microbiology* 53 (2):225-230.
- Shirai, J, T Kanno, Y Tsuchiya, S Mitsubayashi et R Seki. 2000. "Effects of chlorine, iodine, and quaternary ammonium compound disinfectants on several exotic disease viruses." *Journal of Veterinary Medical Science* 62 (1):85-92.
- Stockinger, H, R Boehm et D Strauch. 1989. "Comparative testing of two different disinfectants with regard to their sporocidal effects in a model experiment using spores of pathogenic and apathogenic clostridia as well as of *Bacillus cereus*." *Zentralblatt fuer Hygiene (Germany, FR)*.
- Terpstra, FG, AE Van Den Blink, LM Bos, AGC Boots, FHM Brinkhuis, E Gijzen, Y Van Remmerden, H Schuitemaker et AB Van't Wout. 2007. "Resistance of surface-dried virus to common disinfection procedures." *Journal of Hospital Infection* 66 (4):332-338.
- Tremblay, YDN, S Hathroubi et Jacques. 2014. "Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique." *Canadian Journal of Veterinary Research* 78 (2):110-116.
- Wang, Z, PF Bie, J Cheng, QM Wu et L Lu. 2015. "In vitro evaluation of six chemical agents on smooth *Brucella melitensis* strain." *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 14 (1):1.

- Wong, HS, KM Townsend, SG Fenwick, RD Trengove et RM O'Handley. 2010. "Comparative susceptibility of planktonic and 3-day-old Salmonella Typhimurium biofilms to disinfectants." *Journal of applied microbiology* 108 (6):2222-2228.
- Wood, A et D Payne. 1998. "The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses." *Journal of Hospital Infection* 38 (4):283-295.
- Wood, JP, YW Choi, JV Rogers, TJ Kelly, KB Riggs et ZJ Willenberg. 2011. "Efficacy of liquid spray decontaminants for inactivation of Bacillus anthracis spores on building and outdoor materials." *Journal of applied microbiology* 110 (5):1262-1273.
- Yilmaz, A et EF Kaleta. 2003. "Evaluation of virucidal activity of three commercial disinfectants and formic acid using bovine enterovirus type 1 (ECBO virus), mammalian orthoreovirus type 1 and bovine adenovirus type 1." *The Veterinary Journal* 166 (1):67-78.

➤ Normes

- NF X 50-110 (2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).
- NF EN 1040 (2006) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques - Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).
- NF EN 1656 (2010) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire - Méthodes d'essai et prescriptions (phase 2, étape 1).
- NF EN 14204 (2012) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire - Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2, étape 1).
- NF EN 14347 (2005) Désinfectants et antiseptiques chimiques - Activité sporicide de base - Méthode d'essai et exigences (phase 1).
- NF EN 14348 (2005) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide des désinfectants chimiques utilisés en médecine, y compris les désinfectants pour instruments - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 1).
- NF EN 14563 (2009) Désinfectants et antiseptiques chimiques - Essai quantitatif de porte germe pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide ou tuberculocide des désinfectants chimiques utilisés pour instruments en médecine humaine - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2).
- NF EN 14675 (2015) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire - Méthodes d'essai et prescriptions - (Phase 2, étape 1).
- NF EN 14885 (2015) Norme antiseptiques et désinfectants chimiques – applications des normes européennes relatives aux antiseptiques et désinfectants chimiques.
- NF EN 16437 (2014) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de surface pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire sur des surfaces poreuses sans action mécanique - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2).
- NF T 72281 (2014) Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne - Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide sporicide et virucide incluant les bactériophages.
- NF EN 14349 (2012) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de surface pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le

domaine vétérinaire sur des surfaces non poreuses sans action mécanique - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2).

NF T 72180 (1988) Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau – détermination de l'activité virucide vis-à-vis des virus de vertébrés. Association Française de Normalisation. *Annulé en juillet 2006.*

NF EN 13704 (2002) Désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 1).

NF EN 14476 (2015) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 1).

NF EN 13704 (2002) Désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 1).

NF EN 14349 (2012) Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de surface pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine vétérinaire sur des surfaces non poreuses sans action mécanique - Méthode d'essai et prescriptions (phase 2, étape 2).

NF T 72230 (1988) : antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables – détermination de l'activité sporicide – méthode par dilution-neutralisation.

NF T 72231 (1988) : antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau – détermination de l'activité sporicide – méthode par filtration sur membranes.

NF T 72190 (1988): Désinfectants de contact utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau – Méthode des porte-germes – Détermination de l'activité bactéricide, fongicide et sporicide.

➤ Textes réglementaires

Règlement (UE) n°528/2012 du parlement européen et du conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides.

<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:167:0001:0123:fr:PDF>

Règlement délégué (UE) n°1062/2014 de la Commission du 4 août 2014 relatif au programme de travail pour l'examen systématique de toutes les substances actives existantes contenues dans des produits biocides visé dans le règlement (UE) n°528/2012 du Parlement européen et du Conseil.

Règlement (CE) n°1451/2007 de la commission du 4 décembre 2007 concernant la seconde phase du programme de travail de dix ans visé à l'article 16, paragraphe 2, de la directive 98/8/CE du parlement européen et du conseil concernant la mise sur le marché des produits biocides. Ce Règlement a été remplacé par le règlement délégué (UE) n°1062/2014.

Loi n°2015-1567 du 2 décembre 2015 portant diverses dispositions d'adaptation au droit de l'Union européenne dans le domaine de la prévention des risques.

Arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de première et deuxième catégorie pour les espèces animales.

https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027831750&categorieLien=j_d

Arrêté du 18 juillet 1994 modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 juin 1998 fixant la liste des agents biologiques pathogènes - J.O. du 30 juillet 1994 p. 11078-11081.

Arrêté du 30 avril 2012 fixant la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L. 5139-1 du code de la santé publique. JORF n°0109 du 10 mai 2012 page 8788,

<https://www.legifrance.gouv.fr/eli/arrete/2012/4/30/ETSP1222410A/jo>.

ANNEXE 1

Présentation des intervenants

PREAMBULE : Les experts, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, en fonction de leur domaine de compétence, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

GROUPE DE RAPPORTEURS

Membres

M. Jean-Pierre GANIÈRE - ONIRIS Nantes - Compétences en maladies contagieuses, réglementation, zoonoses.

M. Etienne GIRAUD - INRA Toulouse - Compétences en antibiorésistance, environnement, approche globale de la santé animale.

M. Jacques GODFROID - Compétences en évaluation des risques, zoonose, épidémiologie, tuberculose, bactériologie, faune sauvage marine.

M. Pierre MARIS - Anses Fougères - Compétences en produits biocides – virologie – bactériologie.

Mme Nathalie RUVOEN - ONIRIS Nantes - Compétences en maladies contagieuses, zoonoses, réglementation.

M. Etienne THIRY - Université de Liège - Compétences en virologie, immunologie.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE « SABA »

Les travaux relatifs à la 1^{ère} question, ont été suivis et adoptés par le CES SABA du 11 Octobre 2016

Président

M. Etienne THIRY – Faculté de médecine vétérinaire de Liège (BE) – Compétences en virologie, immunologie.

Membres

Mme Suzanne BASTIAN – ONIRIS Nantes – Compétences en épidémiologie, bactériologie, parasitologie.

Mme Catherine BELLOC - ONIRIS Nantes – Compétences en Médecine des animaux d'élevage, monogastriques.

M. Alain BOISSY – INRA – Compétences en éthologie, bien-être animal, ruminants, zootechnie.

M. Jordi CASAL - Universitat Autònoma de Barcelona (ES) – Compétences en zoonose, épidémiologie quantitative, maladies animales exotiques, analyse quantitative des risques.

M. Christophe CHARTIER – ONIRIS Nantes – Compétences en parasitologie, pathologie des petits ruminants, technique d'élevage, épidémiologie.

M. Eric COLLIN – Vétérinaire praticien – Compétences en pathologie des ruminants.

M. Frédéric DELBAC – CNRS – Compétences en abeilles, épidémiologie, parasitologie, microbiologie.

Mme Barbara DUFOUR – ENV Alfort – Compétences en épidémiologie, maladies infectieuses, pathologie des ruminants.

- M. Guillaume FOURNIÉ - Royal Veterinary College (UK) – Compétences en évaluation des risques quantitative et qualitative, modélisation, épidémiologie.
- M. Jean-Pierre GANIÈRE – ONIRIS Nantes – Compétences en maladies contagieuses, réglementation, zoonoses.
- M. Dominique GAUTHIER - Laboratoire départemental 05 – Compétences en faune sauvage, lagomorphes, méthodes de diagnostic.
- M. Etienne GIRAUD – INRA – Compétences en antibiorésistance, environnement, approche globale de la santé animale.
- M. Jacques GODFROID - Université Arctique de Norvège (NO) – Compétences en évaluation des risques, zoonose, épidémiologie, tuberculose, bactériologie, faune sauvage marine.
- M. Jean-Luc GUÉRIN – ENVT – Compétences en pathologie des volailles et lagomorphes, immunologie, virologie, zoonose et santé publique.
- M. Jean GUILLOTIN – Laboratoire départemental 59 – Généraliste, compétences en méthodes de diagnostic, porcs, faune sauvage.
- Mme Nadia HADDAD – Anses UMR BIPAR, ENV Alfort – Compétences en microbiologie, épidémiologie, maladies contagieuses.
- M. Jean HARS – Office national de la chasse et de la faune sauvage – Compétences en pathologie de la faune sauvage libre, épidémiologie.
- Mme Véronique JESTIN – Compétences en virologie aviaire, parasitologie aviaire, franchissement de la barrière d'espèce.
- Mme Elsa JOURDAIN – INRA – Compétences en zoonoses, épidémiologie quantitative, faune sauvage.
- Mme Claire LAUGIER – Anses Dozulé – Compétences en pathologie équine, diagnostic de laboratoire.
- Mme Monique L'HOSTIS – Oniris – Généraliste, compétences en parasitologie, abeilles, faune sauvage.
- Mme Coralie LUPO – IFREMER – Compétences en épidémiologie, pathologies aviaire et aquacole.
- M. Gilles MEYER – ENV Toulouse – Compétences en pathologie des ruminants, virologie.
- M. Pierre MORMÈDE – INRA Toulouse – Compétences en génétique du stress, endocrinologie, bien-être animal.
- Mme Carine PARAUD – Anses – Compétences en statistiques, pathologie des petits ruminants, parasitologie de terrain.
- Mme Claire PONSART – Anses – Compétences en épidémiologie, bactériologie, statistiques, virologie, pathologie de la reproduction.
- Mme Nathalie RUVOEN – ONIRIS Nantes – Compétences en maladies contagieuses, zoonoses, réglementation
- M. Claude SAEGERMAN – Faculté de médecine vétérinaire de Liège – Compétences en épidémiologie, maladies contagieuses, maladies émergentes.
- M. Stéphan ZIENTARA – Anses Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort – Compétences en virologie.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE « SUBSTANCES ET PRODUITS BIOCIDES »

Les travaux relatifs à la 2ème question, ont été suivis et adoptés par le CES Substances et produits Biocides du 3 novembre 2016

Président

M. Georges DE SOUSA – INRA – Compétences en Toxicologie - Méthodologie in vitro - Perturbateurs endocriniens - Cinétique

Membres

M. Olivier ADAM - Hydrobio-Conseils – Compétences en Ecotoxicologie - Produits biocides TP8

M. Alain AYMARD – Compétences en Chimie - Physico-chimie analytique - Réglementation - Classification / étiquetage - Prévention risque chimique

M. Jean-Marc BERJEAUD - Université de Poitiers – Compétences en Microbiologie – Biofilm

M. Romain BONAFOS - Montpellier SupAgro – Compétences en Entomologie agricole - Pesticides – Efficacité

M. Jean-Christophe CAHUZAC - Service Commun des Laboratoires - Compétences en Physico-chimie - Méthodes d'analyse - Formulation – Réglementation

M. Emmanuel COMOY - Commissariat à l'Energie Atomique (CEA) - Compétences en Microbiologie - Toxicologie - Evaluation des risques

M. James DEVILLERS – CTIS – Compétences en Ecotoxicologie - QSAR - Entomologie - LAV

M. Philippe HARTEMANN - Faculté de Médecine de Nancy - Compétences en Microbiologie - Désinfectants - Hygiène - Evaluation des risques - Prévention / gestion des risques

Mme Claire HELLIO - Université de Bretagne Occidentale – Compétences en Ecologie chimique - Biotechnologie marine - Biochimie marine

M. Pierre MARIS - Anses Fougères – Compétences en Microbiologie - Biofilm - Réglementation biocides - Hygiène – Désinfectants

M. Vincent RICHARD - DIRECCTE Haute Normandie – Compétences en Chimie - Risque chimique - Sécurité au travail - Réglementation chimique

Mme Annick VENANT – Compétences en Physico-chimie - Réglementation - Produits phytopharmaceutiques - Physico-chimie - Méthodes d'analyse - Spécifications

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Florence ÉTORÉ - Adjointe Chef d'unité UERSABA - Anses

Mme Elissa KHAMISSE - Coordinatrice scientifique unité UERSABA - Anses

Equipe projet

Mme Isabelle ATTIG – Chef d'unité U2EB - Anses

Mme Catherine BILLAULT- Evaluatrice scientifique unité U2EB - Anses

ANNEXE 2 - ARRETE DU 28 FEVRIER 1957

2350

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE FRANÇAISE

1^{er} Mars 1957

Art. 2. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 25 février 1957.

Le secrétaire d'Etat à l'Agriculture,
Pour le secrétaire d'Etat et par délégation:
Le chef de cabinet,
JEAN BRACHELAIN.

Le secrétaire d'Etat au budget,
Pour le secrétaire d'Etat et par délégation:

Le directeur du budget,
GILBERT BEVAUX.

Le secrétaire d'Etat à la présidence du conseil,
chargé de la fonction publique,

Pour le secrétaire d'Etat et par délégation:
Le sous-directeur de la fonction publique,
ROBERT LESTROU.

Désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux.

Le secrétaire d'Etat à l'Agriculture et le secrétaire d'Etat aux Travaux publics, aux transports et au tourisme,

Vu le décret du 16 avril 1955 portant codification, sous le nom de code rural, des textes législatifs relatifs à l'Agriculture, et notamment les articles 213, 217, 228 et 215;

Vu le décret du 6 octobre 1904 et le décret du 29 septembre 1935 portant règlement d'administration publique pour l'application des articles susmentionnés;

Vu l'arrêté du 1^{er} avril 1898 relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux;

Vu l'arrêté du 26 mai 1903 relatif à la désinfection du matériel employé au transport des animaux;

Vu l'avis du comité consultatif des épizooties;
Sur la proposition du chef des services vétérinaires,

Arrêtent:

Art. 1^{er}. — L'article 3 de l'arrêté du 1^{er} avril 1898 relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux, l'article 3 de l'arrêté du 26 mai 1903 relatif à la désinfection du matériel employé à l'embarquement, au transport et au déchargement des animaux et les arrêtés subséquents sont abrogés et remplacés par les dispositions ci-après:

Les mesures de désinfection dont l'application est obligatoire ou prescrite pour l'exécution des programmes de prophylaxie subventionnés en vertu des articles du code rural susvisés peuvent être assurées au moyen d'un des désinfectants suivants:

1^o Les solutions d'hypochlorites de sodium, de potassium et de calcium titrant 1 degré chlorométrique;

2^o Le lait de chaux préparé au moment de l'emploi avec de la chaux vive dans la proportion de 10 p. 100;

3^o La solution de soude caustique (hydroxyde de sodium) titrant 6 grammes de soude caustique par litre additionnée ou non de chaux dans la proportion de 5 p. 100;

4^o La solution de phénol et la solution de crésylol sodique titrant 50 grammes par litre;

5^o La solution de formol commercial titrant 3 grammes d'aldéhyde formique par litre;

6^o Tous autres produits répondant à des normes qui seront précisées par circulaire ministérielle et ayant fait l'objet, après contrôle, d'une acceptation provisoire par une commission constituée à cet effet. L'agrément de ces produits ne pourra devenir définitif qu'après un délai de deux ans si les conditions d'emploi continuent l'avis favorable émis par la commission.

Le nettoyage et la désinfection comprennent les opérations ci-après:

a) Retirer des locaux, des véhicules ou des quais la litière et les déjections abondamment arrosées au préalable avec le désinfectant;

b) Détacher du sol ou du plancher et des parois à l'aide d'un racloir ou d'un crochet appropriés les matières adhérent à leur surface ou remplissant les joints et balayer ces immondices;

c) Enlever toutes les longes, cordes, etc., ayant servi à attacher les animaux;

d) Après ce nettoyage, procéder avec de l'eau en pression au lavage et au brossage de toutes les surfaces et accessoires souillés par les déjections ou la litière des animaux de manière à ne laisser subsister aucune trace de déjection ou de litière. L'extérieur des véhicules doit être également lavé;

e) Lorsque le local, ou le véhicule, ou le quai sont suffisamment nettoyés, soumettre à l'action du désinfectant ou badigeonner au lait de chaux toutes les surfaces qui peuvent avoir été en contact des animaux ou contaminées par leur litière ou leurs déjections: sol ou plancher, parois, portes, volet, et leur entourage, barreaux de claire-voie, boucles de fer, etc.;

f) Pour les wagons-écuries, le lavage doit porter non seulement sur les parois de ces wagons mais aussi sur les râteliers, matelas des stalles et tous accessoires tels que: poitrails, licols, longes, sangles, etc.

Art. 2. — La commission visée à l'article précédent comprendra:

Le directeur du laboratoire central de recherches vétérinaires;
Un inspecteur général des services vétérinaires;
Un professeur de bactériologie des écoles vétérinaires;
Un professeur de chimie des écoles vétérinaires;
Un professeur de parasitologie des écoles vétérinaires;
Un professeur de physiologie et thérapeutique des écoles vétérinaires;
Un directeur des services vétérinaires;
Un représentant du secrétariat d'Etat aux travaux publics, aux transports et au tourisme.

Elle pourra faire appel à toute personne et à tout laboratoire qu'elle jugera utile pour procéder à l'étude des produits soumis à son agrément.

Art. 3. — Les entreprises publiques ou privées se livrant à la désinfection dans les exploitations agricoles ou d'élevage où une prophylaxie sanitaire à caractère collectif est mise en œuvre, et dans celles infectées par une maladie réputée contagieuse, devront être pourvues d'une autorisation, délivrée sur proposition du directeur des services vétérinaires, par les préfets des départements intéressés et devront se conformer aux prescriptions du présent arrêté.

Art. 4. — Toutes prescriptions des arrêtés du 1^{er} avril 1898, du 26 mai 1903 et des textes subséquents qui ne sont pas contraires aux présentes dispositions demeurent en vigueur.

Art. 5. — Le chef des services vétérinaires est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 28 février 1957.

Le secrétaire d'Etat à l'Agriculture,
ANDRÉ MULLIN.

Le secrétaire d'Etat aux Travaux publics,
aux transports et au tourisme,
AUGUSTE FANTON.

ANNEXE 3 - PROFIL DE RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

CODE REQUETE	THEMATIQUE	MOTS-CLES
#1	Dangers sanitaires de catégorie 1 et 2 pour les virus	Aphtovirus OR Enterovirus OR Herpesvirus OR Flavivirus OR Influenza virus A OR Teschovirus OR Orbivirus OR Ranavirus OR Lentivirus OR Deltaretrovirus OR Pestivirus OR Flavivirus OR Varicellovirus OR Cyprinivirus OR Phlebovirus or Lyssavirus OR Vesiculovirus OR Novirhabdovirus OR Alphavirus OR Isavirus OR Henipavirus OR Avulavirus OR Morbillivirus OR Okavirus OR Arterivirus OR Whispovirus OR Alphacoronavirus OR Capripoxvirus OR Asfvirus
#2	Maladies virales de catégorie 1 et 2	Foot and mouth disease OR swine vesicular disease OR classical swine fever OR Teschen disease OR Newcastle disease OR influenza virus OR aujeszky disease OR west nile disease OR rift valley fever OR bluetongue disease OR yellowhead disease OR african swine fever OR taura syndrome OR bovine leukosis virus
#3	Souche test virale	ECBO OR enteric cytopathogenic bovine orphan virus
#4	Propriétés des virus	Small virus OR large virus OR enveloped virus OR non-enveloped virus
#5	Dangers sanitaires de catégorie 1 et 2 pour bactéries/mycobactéries/spores	<i>Salmonella</i> OR <i>Clostridium botulinum</i> OR <i>Brucella</i> OR <i>Bacillus anthracis</i> OR <i>Mycobacterium tuberculosis</i> OR <i>Mycobacterium bovis</i> OR <i>Mycobacterium caprae</i> OR <i>Paenibacillus larvae</i> OR <i>Mycoplasma mycoides</i> OR <i>Burkholderia mallei</i> OR <i>Chlamydia psittaci</i> OR <i>Francisella tularensis</i> OR <i>Brucella suis</i> biovar 2 OR <i>Mycoplasma agalactiae</i> OR <i>Taylorella equigenitalis</i>
#6	Souches tests pour les bactéries/mycobactéries/spores	<i>Escherichia coli</i> OR <i>Streptococcus faecalis</i> OR <i>Staphylococcus aureus</i> OR <i>Pseudomonas aeruginosa</i> OR <i>Bacillus subtilis</i> OR <i>Bacillus cereus</i> OR <i>Mycobacterium avium</i>
#7	Normes/standardisation	Virucidal testing OR bacterial testing OR disinfection testing OR European norms OR Veterinary field OR European standard OR International standards OR NF EN 14885 OR test organisms OR testing disinfectants OR in vitro testing OR contact time OR temperature OR materials OR carriers
#8	Désinfection/biocidie	Disinfectant OR disinfection OR chemical surface disinfectants OR disinfection procedures OR antiseptics OR biocides OR tenacity OR resistance OR virucidal activity OR bacterial activity OR survival OR infectivity OR inactivation

Termes d'exclusion	Non concerné		Périodicité	Non concerné
Périmètre (Zone géographique)	Non concerné	Bases de données	Scopus : www.scopus.com Pubmed : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed	
Organismes référents sur le sujet	AFNOR, CEN			
Publications déjà identifiées (en amont de la saisine ou en PJ)	Rapports identifiés		Projets identifiés (ANR, APRs Anses, ERA-NET etc.)	
Non concerné	<p>Rapport de stage « biocides utilisés pour la désinfection après un épisode de danger sanitaire », Amal Boutaleb, 2013-2014</p> <p>Thèse vétérinaire : « principes généraux et réglementation de la désinfection dans la lutte contre les maladies réputées contagieuses. applications pratiques à la fièvre aphteuse et aux Orbiviroses » - Céline Schmidt, 2003</p> <p>Thèse de doctorat : « Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides - Mise au point d'une technique pour déterminer in situ l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens » - Audrey Allion, 2004</p>		Non concerné	

Requêtes menées :

#1 AND #3 AND #7

(((TITLE-ABS-KEY (Aphthovirus) OR TITLE-ABS-KEY (Enterovirus) OR TITLE-ABS-KEY (herpesvirus) OR TITLE-ABS-KEY (flavivirus) OR TITLE-ABS-KEY (influenza virus) OR TITLE-ABS-KEY (teschovirus) OR TITLE-ABS-KEY (orbivirus) OR TITLE-ABS-KEY (ranavirus) OR TITLE-ABS-KEY (lentivirus) OR TITLE-ABS-KEY (Deltaretrovirus) OR TITLE-ABS-KEY (pestivirus) OR TITLE-ABS-KEY (flavivirus) OR TITLE-ABS-KEY (varicellovirus) OR TITLE-ABS-KEY (cyprinivirus) OR TITLE-ABS-KEY (phlebovirus) OR TITLE-ABS-KEY (Lyssavirus) OR TITLE-ABS-KEY (vesiculovirus) OR TITLE-ABS-KEY (Novirhabdovirus) OR TITLE-ABS-KEY (Alphavirus) OR TITLE-ABS-KEY (Isavirus)

OR TITLE-ABS-KEY (Henipavirus) OR TITLE-ABS-KEY (Avulavirus) OR TITLE-ABS-KEY (Morbillivirus) OR TITLE-ABS-KEY (okavirus) OR TITLE-ABS-KEY (arterivirus) OR TITLE-ABS-KEY (whispovirus) OR TITLE-ABS-KEY (alphacoronavirus) OR TITLE-ABS-KEY (capripoxvirus) OR TITLE-ABS-KEY (Asfivirus)) AND ((TITLE-ABS-KEY (ECBO) OR enteric cytopathogenic bovine orphan virus)) AND ((TITLE-ABS-KEY (disinfection testing) OR TITLE-ABS-KEY (european norms) OR TITLE-ABS-KEY (veterinary field) OR TITLE-ABS-KEY (test organisms) OR TITLE-ABS-KEY (european standard) OR TITLE-ABS-KEY (soiling) OR TITLE-ABS-KEY (testing disinfectants) OR TITLE-ABS-KEY (in vitro testing) OR TITLE-ABS-KEY (international standards))))

#2 AND #3 AND #7

(((TITLE-ABS-KEY (Foot and mouth disease) OR TITLE-ABS-KEY (swine vesicular disease) OR TITLE-ABS-KEY (classical swine fever) OR TITLE-ABS-KEY (Teschén disease) OR TITLE-ABS-KEY (Newcastle disease) OR TITLE-ABS-KEY () OR TITLE-ABS-KEY (avian influenza) OR TITLE-ABS-KEY (ajeszky disease) OR TITLE-ABS-KEY (west nile disease) OR TITLE-ABS-KEY (rift valley fever) OR TITLE-ABS-KEY (bluetongue disease virus) OR TITLE-ABS-KEY (yellowhead disease) OR TITLE-ABS-KEY (classical swine fever) OR TITLE-ABS-KEY (african swine fever) OR TITLE-ABS-KEY (taura syndrome) OR TITLE-ABS-KEY (bovine leukosis virus)) AND ((TITLE-ABS-KEY (ECBO) OR enteric cytopathogenic bovine orphan virus)) AND ((TITLE-ABS-KEY (disinfection testing) OR TITLE-ABS-KEY (european norms) OR TITLE-ABS-KEY (veterinary field) OR TITLE-ABS-KEY (test organisms) OR TITLE-ABS-KEY (european standard) OR TITLE-ABS-KEY (soiling) OR TITLE-ABS-KEY (testing disinfectants) OR TITLE-ABS-KEY (in vitro testing) OR TITLE-ABS-KEY (international standards))))

#2 AND #3 AND #8

(((TITLE-ABS-KEY (Foot and mouth disease) OR TITLE-ABS-KEY (swine vesicular disease) OR TITLE-ABS-KEY (classical swine fever) OR TITLE-ABS-KEY (Teschén disease) OR TITLE-ABS-KEY (Newcastle disease) OR TITLE-ABS-KEY () OR TITLE-ABS-KEY (avian influenza) OR TITLE-ABS-KEY (ajeszky disease) OR TITLE-ABS-KEY (west nile disease) OR TITLE-ABS-KEY (rift valley fever) OR TITLE-ABS-KEY (bluetongue disease virus) OR TITLE-ABS-KEY (yellowhead disease) OR TITLE-ABS-KEY (classical swine fever) OR TITLE-ABS-KEY (african swine fever) OR TITLE-ABS-KEY (taura syndrome) OR TITLE-ABS-KEY (bovine leukosis virus)) AND ((TITLE-ABS-KEY (ECBO) OR enteric cytopathogenic bovine orphan virus)) AND ((TITLE-ABS-KEY (disinfectant) OR TITLE-ABS-KEY (disinfection) OR TITLE-ABS-KEY (chemical) OR TITLE-ABS-KEY (surface disinfectant) OR TITLE-ABS-KEY (disinfection procedures) OR TITLE-ABS-KEY (antiseptics) OR TITLE-ABS-KEY (biocides))))

#5 AND #6 AND #7

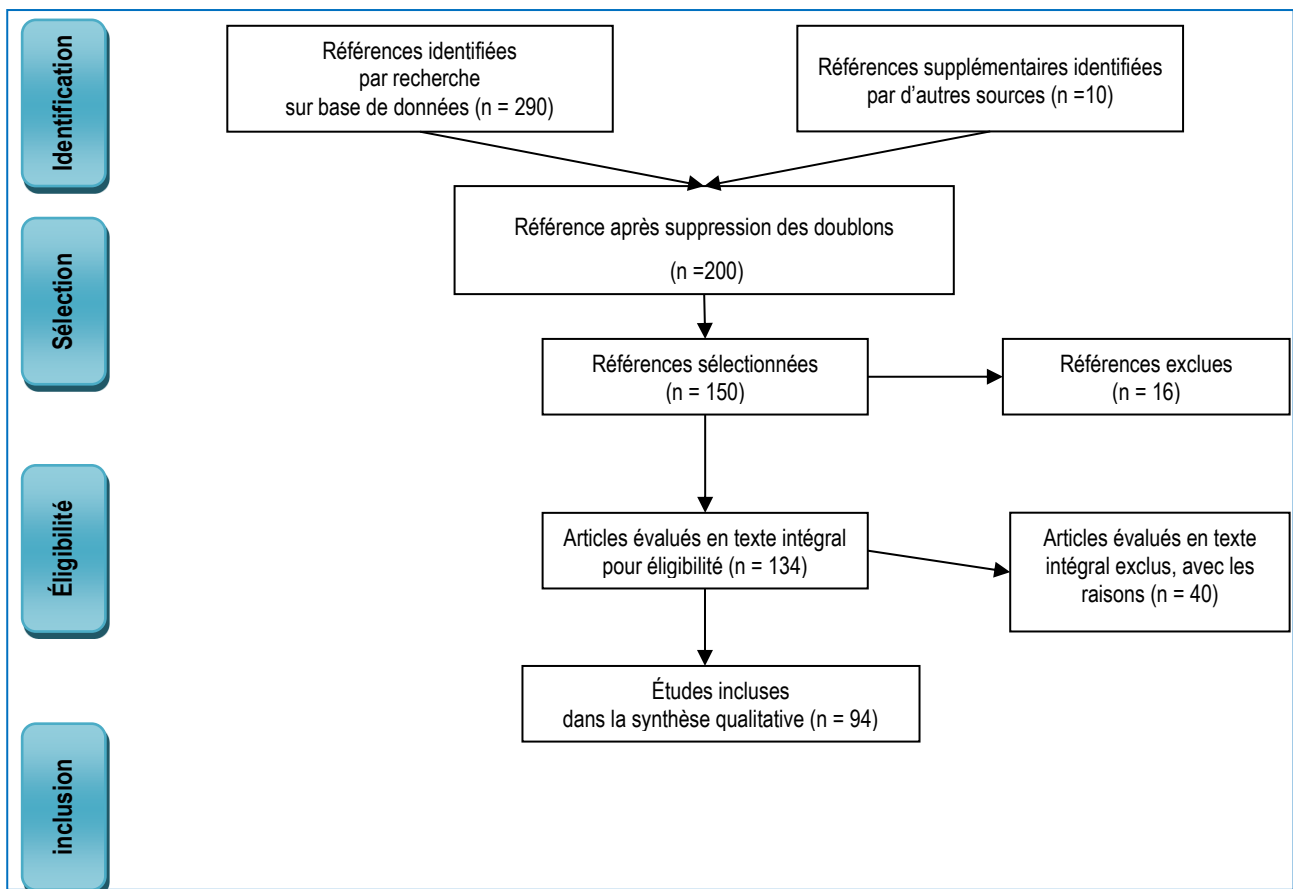
(((TITLE-ABS-KEY (*Salmonella*) OR TITLE-ABS-KEY (*Clostridium botulinum*) OR TITLE-ABS-KEY (*Brucella*) OR TITLE-ABS-KEY (*Bacillus anthracis*) OR (TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium tuberculosis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium bovis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycoplasma mycoides*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium caprae*)) AND ((TITLE-ABS-KEY (*Escherichia coli*) OR TITLE-ABS-KEY (*Streptococcus faecalis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Staphylococcus aureus*) OR TITLE-ABS-KEY (*Pseudomonas aeruginosa*) OR (TITLE-ABS-KEY (*Bacillus subtilis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Bacillus cereus*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium avium*)) AND ((TITLE-ABS-KEY (disinfection testing) OR TITLE-ABS-KEY (european norms) OR TITLE-ABS-KEY (veterinary field) OR TITLE-ABS-KEY (test organisms) OR TITLE-ABS-KEY (european standard) OR TITLE-ABS-

KEY (soiling) OR TITLE-ABS-KEY (testing disinfectants) OR TITLE-ABS-KEY (in vitro testing) OR TITLE-ABS-KEY (international standards))

#5 AND #6 AND #8

((TITLE-ABS-KEY (*Salmonella*) OR TITLE-ABS-KEY (*Clostridium botulinum*) OR TITLE-ABS-KEY (*Brucella*) OR TITLE-ABS-KEY (*Bacillus anthracis*) OR (TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium tuberculosis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium bovis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycoplasma mycoides*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium caprae*) AND ((TITLE-ABS-KEY (*Escherichia coli*) OR TITLE-ABS-KEY (*Streptococcus faecalis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Staphylococcus aureus*) OR TITLE-ABS-KEY (*Pseudomonas aeruginosa*) OR (TITLE-ABS-KEY (*Bacillus subtilis*) OR TITLE-ABS-KEY (*Bacillus cereus*) OR TITLE-ABS-KEY (*Mycobacterium avium*) AND ((TITLE-ABS-KEY (disinfection testing) OR TITLE-ABS-KEY (european norms) OR TITLE-ABS-KEY (veterinary field) OR TITLE-ABS-KEY (test organisms) OR TITLE-ABS-KEY (european standard) OR TITLE-ABS-KEY (soiling) OR TITLE-ABS-KEY (testing disinfectants) OR TITLE-ABS-KEY (in vitro testing) OR TITLE-ABS-KEY (international standards)))

ANNEXE 4 - SCHEMA PRISMA



Source : Gedda 2015

Au vu de cette analyse, les experts ont constaté le peu de données exploitables pour répondre à la question de la saisine provenant des publications scientifiques et des autres documents consultés :

En ce qui concerne l'activité virucide : 62 articles ont été identifiés comme pouvant répondre à la question de la saisine, 26 articles ont été retenus comme pertinents pour cette analyse et parmi ceux-ci, un nombre très limité d'articles permet de comparer directement la résistance du virus ECBO et celle de dangers sanitaires viraux. L'ensemble de ces articles couvre des études sur 12 dangers sanitaires viraux dont 3 virus non enveloppés et 9 virus enveloppés, mais aussi sur d'autres virus appartenant aux mêmes familles virales que celles de dangers sanitaires viraux (voir tableau 1). En conséquence, les travaux traitant des comparaisons des résistances aux désinfectants et substances chimiques des virus qui, soit représentent effectivement des dangers sanitaires, soit sont retenus comme virus « modèles » de dangers sanitaires appartenant à la même famille ou au même genre viral ont été utilisés pour répondre à la question de la saisine..

Les données issues des articles jugées pertinentes pour l'analyse bibliographique sont disponibles à l'annexe 7.

En ce qui concerne l'activité bactéricide : 72 articles ont été identifiés comme pouvant répondre à la question de la saisine. 27 articles ont été retenus comme pertinents pour Cette analyse. En effet :

- la plupart des articles scientifiques répertoriés visent à contrôler l'activité de divers biocides sur quelques bactéries, sans qu'il soit aisé (ou même possible) de comparer la sensibilité des organismes d'essai choisis avec les bactéries pathogènes étudiées ;
- il s'agit, dans leur majorité, d'études consacrées à la désinfection en milieu hospitalier, et non au domaine vétérinaire ;
- peu d'études se réfèrent aux normes européennes dont il est question dans la saisine. Or de faibles différences de méthodologie peuvent faire varier les résultats obtenus, rendant délicates les comparaisons (Sagripanti *et al.*, 1997).

Les données issues des articles jugées pertinentes pour l'analyse bibliographique sont disponibles à l'annexe 8.

ANNEXE 5 - EXTRAIT DU REGLEMENT DELEGUE (UE) 1062/2014 POUR LES TP3/4/5

Dénomination de la substance	État membre rapporteur	Numéro CE	Numéro CAS	TP3	TP4	TP5
Formaldéhyde	DE	200-001-8	50-00-0	x		
Chlorocrésol	FR	200-431-6	59-50-7	x		
Ethanol	EL	200-578-6	64-17-5		x	
Acide formique	BE	200-579-1	64-18-6	x	x	x
Propane-2-ol	DE	200-661-7	67-63-0		x	
Acide salicylique	NL	200-712-3	69-72-7	x	x	
Propane-1-ol	DE	200-746-9	71-23-8		x	
Acide glycolique	LT	201-180-5	79-14-1	x	x	
Acide péricétique	FI	201-186-8	79-21-0	x	x	x
Acide L-(+)-lactique	DE	201-196-2	79-33-4	x	x	
Symclosène	UK	201-782-8	87-90-1	x	x	x
Biphényle-2-ol	ES	201-993-5	90-43-7	x	x	
Glyoxal	FR	203-474-9	107-22-2	x	x	
Glutaral (glutaraldéhyde)	FI	203-856-5	111-30-8	x	x	
Clorofène (chlorofène)	N	204-385-8	120-32-1	x		
2-phénoxyéthanol	UK	204-589-7	122-99-6		x	
Tosylchloramide sodique (tosylchloramide sodique — chloramine T)	ES	204-854-7	127-65-1	x	x	x
2-biphénylate de sodium	ES	205-055-6	132-27-4	x	x	
Cyanamide	DE	206-992-3	420-04-2	x		
Dihydroxyde de calcium/hydroxyde de calcium/chaux vive/chaux hydratées/chaux éteinte	UK	215-137-3	1305-62-0	x		
Oxyde de calcium/chaux/chaux vive/chaux calcinée	UK	215-138-9	1305-78-8	x		
N-(3-aminopropyl)-N-dodécylpropane-1,3-diamine (diamine)	PT	219-145-8	2372-82-9	x	x	
Dihydrate de dichloroisocyanurate de sodium	UK	220-767-7	51580-86-0	x	x	x
Trocosène sodique	UK	220-767-7	2893-78-9	x	x	x
1-oxyde de pyridine-2-thiol, sel de sodium (pyrithione de sodium)	SE	223-296-5	3811-73-2	x		
Chlorure de didécyldiméthylammonium (DDAC)	IT	230-525-2	7173-51-5	x	x	
Argent	SE	231-131-3	7440-22-4		x	x
Dioxyde de soufre	DE	231-195-2	05/09/7446		x	
Hypochlorite de sodium	IT	231-668-3	7681-52-9	x	x	x
Peroxyde d'hydrogène	FI	231-765-0	7722-84-1	x	x	x
Peroxodisulfate de disodium/persulfate de sodium	PT	231-892-1	7775-27-1		x	
Hypochlorite de calcium	IT	231-908-7	7778-54-3	x	x	x
Chlore	IT	231-959-5	7782-50-5			x
Dioxyde de chlore	PT	233-162-8	10049-04-4	x	x	x
2,2-dibromo-2-cyanoacétamide (DBNPA)	DK	233-539-7	10222-01-2		x	
p-chloro-m-crésolate de sodium	FR	239-825-8	15733-22-9	x		
Acide D-gluconique, composé avec N,N"-bis(4-chlorophényl)-3,12-diimino-2,4,11,13-tétraazatétradécane-diamidine (2:1) (CHDG)	PT	242-354-0	18472-51-0	x		
1-[2-(allyloxy)-2-(2,4-dichlorophényl)éthyl]-1H-imidazole (imazalil)	DE	252-615-0	35554-44-0	x		
Oxyde de calcium et de magnésium/chaux dolomitique	UK	253-425-0	37247-91-9	x		
Tétrahydroxyde de calcium et de magnésium/hydroxyde de calcium et de magnésium/chaux dolomitique hydratée	UK	254-454-1	39445-23-3	x		
Chlorure d'alkyl(C ₁₂ -C ₁₈)diméthylbenzylammonium [ADBAC (C ₁₂ -C ₁₈)]	IT	269-919-4	68391-01-5	x	x	
Chlorure d'alkyl(C ₁₂ -C ₁₆)diméthylbenzylammonium [ADBAC/BKC (C ₁₂ -C ₁₆)]	IT	270-325-2	68424-85-1	x	x	
Chlorure de didécyldiméthylammonium [DDAC (C ₈ -C ₁₀)]	IT	270-331-5	68424-95-3	x	x	
Composés de l'ion ammonium quaternaire, benzylalkyl en C ₁₂₋₁₈ diméthyles, sels avec le dioxyde-1,1 de benzisothiazol-1,2 one-3(2H) (1:1) (ADBAS)	MT	273-545-7	68989-01-5		x	
Amines, alkyl en C ₁₀₋₁₈ diméthyles, N-oxydes	PT	274-687-2	70592-80-2		x	
Bis(peroxymonosulfate)bis(sulfate) de pentapotassium	SI	274-778-7	70693-62-8	x	x	x
Chlorure d'alkyl(C ₁₂ -C ₁₄)diméthylbenzylammonium [ADBAC (C ₁₂ -C ₁₄)]	IT	287-089-1	85409-22-9	x	x	
Chlorure d'alkyl(C ₁₂ -C ₁₄)éthylbenzylammonium [ADEBAC (C ₁₂ -C ₁₄)]	IT	287-090-7	85409-23-0	x	x	
Produits de la réaction entre l'acide glutamique et la N-(C ₁₂₋₁₄ -alkyl) propylène-diamine (glucoprotamine)	DE	403-950-8	164907-72-6		x	
Acide 6-(phtalimido)peroxyhexanoïque (PAP)	IT	410-850-8	128275-31-0	x	x	
Complexe de tétrachlorodécaoxyde (TCDO)	DE	420-970-2	92047-76-2		x	
Phosphate d'argent, de sodium, d'hydrogène, de zirconium	SE	422-570-3	265647-11-8		x	
5-chloro-2-(4chlorphénoxy)phénol (DCPP)	AT	429-290-0	3380-30-1		x	
<i>Bacillus subtilis</i>	DE	Micro-organisme	Sans objet	x		
Mélange de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazole-3-one (EINECS 247-500-7) et de 2-méthyl-2H-isothiazole-3-one (EINECS 220-239-6) (mélange de CMIT/MIT)	FR	Mélange	55965-84-9		x	
Chlore actif produit <i>in situ</i> par mélange d'acide hypochloreux et d'hypochlorite de sodium	SK	Mélange	Sans objet	x	x	x
Acide peroxyoctanoïque	FR	Sans objet	33734-57-5	x	x	
Zéolite argentée	SE	Sans objet	Sans objet		x	x
Produits de la réaction entre l'acide chloroacétique et les N-C ₁₂₋₁₄ (nombre pair)-alkyltriméthylènediamines (ampholyte 20)	IE	Sans objet	139734-65-9	x	x	
Zéolite d'argent et de zinc	SE	Non disponible	130328-20-0		x	x
Zéolite d'argent et de cuivre	SE	Non disponible	130328-19-7		x	x
Monochlorhydrate de polymère de N,N"-1,6-hexanediybis[N'-cyanoguanidine] (EINECS 240-032-4) et d'hexaméthylènediamine (EINECS 204-679-6)/polyhexaméthylène biguanide [monomère: monochlorhydrate de 1,5-bis(triméthyl)-guanylguanidinium] (PHMB)	FR	Polymère	27083-27-8/32289-58-0	x	x	x
Polyhexaméthylène biguanide	FR	Polymère	91403-50-8	x	x	
Poly(oxy-1,2-éthanediyl), α-[2-(didécyldiméthylammonio)éthyl]-omega-hydroxy-, propanoate (sel) (Bardap 26)	IT	Polymère	94667-33-1		x	

ANNEXE 6 - INSTRUCTIONS MINISTERIELLES CONCERNANT L'AGREMENT

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE
DIRECTION GÉNÉRALE DE L'ALIMENTATION

Contenu du dossier
agrément MRC

INSTRUCTIONS MINISTERIELLES
AU
LABORATOIRE NATIONAL DES
MÉDICAMENTS VÉTÉRINAIRES

- 8 AVR. 1987

Objet : Agrément des désinfectants utilisables en cas de maladies légalement contagieuses et dans le cadre des programmes de prophylaxie subventionnés.

"En application de l'arrêté du 28 février 1957 relatif à la désinfection dans le cas de maladies contagieuses des animaux, l'agrément des produits prévu à l'article 1er, 6^e dudit arrêté est subordonné au dépôt d'une demande adressée en trois exemplaires au Ministère de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation, ~~175 rue du Chevaleret - 75646 PARIS CEDEX 13^e~~ 251 rue de Vaugirard (Bureau Pharmacie vétérinaire) 75732 Paris Cedex 15

Toute demande d'agrément doit comporter les éléments suivants :

- 1 - Objet de la demande,
- 2 - Nom ou raison sociale, adresse, numéro d'inscription au registre du Commerce du demandeur,
- 3 - Nom ou raison sociale, adresse du fabricant du produit,
- 4 - Engagement de régler les frais d'enquête et de contrôle,
- 5 - Le numéro et la date d'homologation.

A chaque exemplaire de la demande doit être joint un dossier par lequel le demandeur justifie :

- qu'il a obtenu une homologation dans le domaine de l'élevage pour les traitements bactéricide et virucide, L 253-1 du CR
- qu'il a fait procéder à la vérification de l'innocuité et de l'efficacité de son produit dans les conditions normales d'emploi indiquées,
- qu'il dispose effectivement d'une méthode de fabrication et de procédés de contrôle de nature à garantir la qualité du produit au stade de fabrication en série.

Ce dossier comprend :

- une partie analytique,
- une partie toxicologique,
- une partie pharmacodynamique.

Le dépôt de chaque demande doit être accompagné de l'envoi au Laboratoire National des Médicaments Vétérinaires, la Haute-Marche, Javené - 35133 FOUGERES, d'échantillons du produit et des matières actives qu'il contient en quantité suffisante. La date de fabrication de cet échantillon doit être indiquée.

I - PARTIE ANALYTIQUE

Elle doit comprendre :

- la composition intégrale, qualitative et quantitative, de la spécialité,
- la description de chaque principe actif avec mention des éventuelles impuretés et des limites extrêmes d'acceptation,
- la description de chaque excipient, quelle que soit sa nature, sa teneur ou sa fonction,

Note

La désignation des composants d'une spécialité doit être faite à l'aide d'une dénomination commune internationale ou de la dénomination scientifique exacte.

Lorsqu'un produit ne peut être désigné de cette manière, une description détaillée de son mode d'obtention s'impose.

- les indications sur la nature du récipient,
- les méthodes d'identification et de dosage de chaque principe actif contenu dans la spécialité. Ces protocoles devront être suffisamment détaillés pour être mis en œuvre dans un laboratoire de contrôle.
- une étude de stabilité destinée à justifier le délai de conservation de la spécialité dans les conditions normales de stockage.

II - PARTIE TOXICOLOGIQUE

L'innocuité d'une spécialité doit être démontrée à l'aide des essais suivants :

- Toxicité par administration unique

Cette épreuve, réalisée sur au moins deux espèces de mammifères et par la voie orale, a pour effet de décrire les phénomènes toxiques observés et de fournir les bases d'un classement de la spécialité selon les normes communautaires.

- Toxicité par administration répétée

Cette épreuve doit être effectuée sur deux espèces de mammifères auxquelles on administre le produit par voie orale pendant une durée de 90 jours.

- Étude des effets tératogènes

Des expérimentations, de nature à révéler des effets tératogènes, sont indispensables :

. pour des substances qui présentent une analogie chimique étroite avec des produits reconnus tératogènes,

. pour les molécules nouvelles présentant une structure chimique sans analogie avec des produits aux effets connus.

L'étude des effets tératogènes doit être effectuée sur au moins deux espèces de mammifères dont le lapin.

- Etudes des effets cancérigènes

Des expérimentations de nature à révéler des effets cancérigènes sont nécessaires :

- . pour des substances qui présentent une analogie chimique avec des composés reconnus cancérigènes,
- . pour les substances qui, lors de l'étude de toxicité par administration répétée, ont provoqué des lésions suspectes,
- . lorsqu'il apparaît au vu des résultats de l'étude des effets mutagènes qu'un effet cancérigène est à craindre.
- . l'étude des effets mutagènes effectuée au moyen d'un test approprié (par exemple : Ames test) est nécessaire.

- Etude du pouvoir allergisant

Une étude du pouvoir allergisant est nécessaire si un risque est à craindre à ce sujet.

- Biodégradabilité

Des tests doivent être entrepris pour préciser la biodégradabilité du produit.

- Rémanence

Le temps de rémanence du produit dans les endroits traités doit être précisé ainsi que le délai à attendre après la fin de l'application avant la réintroduction d'animaux dans les locaux traités.

- Tolérance locale

Des essais de détermination de l'irritation oculaire et cutanée doivent être réalisés.

III - PARTIE PHARMACODYNAMIQUE

Elle doit comporter au minimum les résultats de contrôle de l'activité selon les critères suivants :

- Etude de l'action bactéricide

Au moins 4 bactéries (gram +, gram -, mycobactéries) représentant les grands groupes bactériens sont utilisées pour ces épreuves :

- . Escherichia coli
- . Streptococcus faecalis
- . Staphylococcus aureus
- . Pseudomonas aeruginosa
- . Mycobacterium smegmatis

ANNEXE 7 - DONNEES DES ARTICLES JUGES PERTINENTES POUR L'ANALYSE DE L'ACTIVITE VIRUCIDE

Al-Khleif *et al.* (2009) comparent l'activité virucide de 4 substances désinfectantes (formaldéhyde, acide formique, hypochlorite de sodium, acide peracétique) vis-à-vis de 4 virus non enveloppés (groupe B : virus ECBO, parvovirus bovin, calicivirus félin ; groupe C : réovirus type 1) et 4 virus enveloppés (groupe A : virus de l'artérite équine, herpèsvirus bovin 1, virus de la maladie de Newcastle, virus de la vaccine). La méthode employée est la norme EN 14675, alors à l'état de projet, en retenant une température de 20°C et non 10°C, en l'absence ou en présence d'un haut niveau de souillures (1 % d'extrait de levure et 1 % d'albumine bovine). Dans le groupe des virus non enveloppés, le parvovirus et le réovirus apparaissent les plus résistants, alors que le choix de substances acides positionne le virus ECBO en 3^e ou 4^e rang, au niveau du calicivirus. Là encore le virus ECBO présente une sensibilité particulière aux acides. Un comportement hétérogène est également observé dans le groupe des virus enveloppés : Le virus de la famille des *Arteriviridae* apparaît le plus résistant vis-à-vis du formaldéhyde et de l'acide formique, et le plus sensible vis-à-vis de l'acide peracétique et de l'hypochlorite de sodium. Par contre, le virus de la maladie de Newcastle (*Paramyxoviridae*) et le virus de la vaccine (*Poxviridae*) sont les plus résistants à l'acide peracétique et l'hypochlorite de sodium.

Le laboratoire de Fougères (Maris - communication personnelle) a mené des études sur le virus de Talfan (*Teschovirus* apparenté au virus de la maladie de Teschen – origine : souche D 15 E/ Station de Pathologie Porcine Ploufragan). Deux produits (acide citrique et hydroxyde de sodium) ont été expérimentés sur la base de la méthodologie d'évaluation de l'activité virucide NF T 72180, en l'absence et en présence de matières organiques (1% albumine bovine + 1% extrait de levure), pour un temps de contact de 30 min et des températures de 10° et 20°C. Avec l'acide citrique, aux concentrations de 2%, 4% et 6%, aucune réduction de titre n'est obtenue quelque soit les conditions. Avec l'hydroxyde de sodium, à partir de la concentration de 0,8%, des chutes de titres très significatives sont obtenues à 20°C et faibles à moyennes à 10°C.

Blackwell *et al.* (1975) et Herniman *et al.* (1973) ont démontré que le virus de la maladie vésiculeuse du porc est plus résistant que le virus de la fièvre aphteuse. Les travaux de Blackwell *et al.* (1975) ont fortement inspiré les normes futures françaises et européennes. L'efficacité de 13 produits désinfectants a été évaluée sur le virus de la maladie vésiculeuse du porc (souche Hong Kong) pour des temps de contact allant de 2 à 30 min, à la température de 25°C, en présence d'une forte charge organique (5% de sérum de veau foetal) après avoir éliminé la cytotoxicité au moyen d'une technique de filtration sur gel. Considérant les seules substances actives, ils concluent à une activité forte de l'hydroxyde de sodium à 2% (réduction de titre de 6,4) alors que le carbonate de sodium à 5% et les acides organiques comme l'acide citrique à 2% sont totalement inactifs. Ces deux dernières substances sont souvent recommandées, à ces concentrations, pour inactiver le virus de la fièvre aphteuse. De leur côté, Herniman *et al.* (1973) utilisent une souche du terrain du virus de la maladie vésiculeuse du porc venant de Grande Bretagne et un large éventail de substances actives (9 acides minéraux ou organiques, 3 alcalins, 3 oxydants, 2 aldéhydes, 2 détergents) représentant également toute la gamme des pH. Une comparaison des chutes de titres est faite en présence d'eau dure ou de faeces, ceci pour un temps de contact de 30 min et une température de 4°C. Il ressort de ces études, alors que le protocole d'essais est sensiblement différent, un comportement de ce virus identique aux travaux précédents notamment une forte efficacité de l'hydroxyde de sodium, une absence totale d'activité virucide de l'acide citrique et du carbonate de sodium. Par ailleurs l'hypochlorite de sodium, l'acide peracétique et l'acide formique

possèdent une forte efficacité. Ce qu'il faut noter également c'est, dans le cas des substances acides, l'absence de lien systématique entre un pH bas et une meilleure efficacité. Un exemple est celui de l'acide citrique (pH 1,9) et de l'acide formique (pH 1,8) donnant respectivement des réductions de titres de 0 et supérieure à 5 log.

Dvorakova *et al.* (2008) comparent les activités virucides de 5 désinfectants vis-à-vis d'un virus non enveloppé (2 souches de teschovirus porcins) et de deux virus enveloppés (2 souches du virus de la maladie d'Aujeszky et 2 souches du virus de la stomatite vésiculeuse). La norme EN 14675 est employée et complétée par un test de surface non normalisé. Ces essais sont réalisés en présence d'un haut niveau de souillures (mélange de 1 % d'albumine bovine avec 1 % d'extrait de levure), à la température de 20°C et avec un temps de contact de 30 min. Ces résultats confirment le haut niveau de résistance du virus non enveloppé du genre *Teschovirus* (groupe B ; *Picornaviridae*) et la forte sensibilité des deux autres virus enveloppés (groupe A ; *Herpesviridae* et *Rhabdoviridae*).

Emmoth *et al.* (2011) étudient les effets de la désinfection employant différentes concentrations d'ammoniaque allant de 0,25 % à 0,75 % sur des déchets de couvoirs faits de coquilles d'œufs et d'œufs non éclos. Une série de virus sont inoculés dans ces déchets : les virus influenza aviaire H7N1 et H5N3 (*Orthomyxoviridae*, groupe A), et les trois modèles viraux que sont le virus parainfluenza bovin type 3 (*Paramyxoviridae*, groupe A), le coronavirus félin (*Coronaviridae*, groupe A) et le calicivirus félin (*Caliciviridae*, groupe B), utilisés comme représentatifs respectivement du virus de la maladie de Newcastle, du virus de la bronchite infectieuse et du virus de l'hépatite E aviaire. Le bactériophage MS2, en tant qu'indicateur biologique, est ajouté puisque connu pour son haut niveau de résistance aux désinfectants. De cette comparaison, faite sur la base des valeurs de *D*, il est constaté que le virus MS2 présente le plus haut niveau de résistance. Parmi les virus enveloppés, le virus influenza aviaire hautement pathogène H7N1 apparaît le plus résistant suivi du virus influenza aviaire faiblement pathogène H5N3 alors que le virus parainfluenza et le coronavirus ont un comportement similaire. Enfin, le virus non enveloppé (calicivirus félin) se place entre les virus MS2 et virus influenza aviaire hautement pathogène en termes de sensibilité.

Eterpi *et al.* (2009) évaluent la sensibilité de 5 espèces virales appartenant à 4 familles différentes (*Parvoviridae* et *Picornaviridae* (groupe B) ; *Adenoviridae* (groupe C) ; *Poxviridae* (groupe A)) vis-à-vis de 7 substances actives non formulées (hypochlorite de sodium, ammonium quaternaire, éthanol, glutaraldéhyde, peroxyde d'hydrogène, ortho-phthalaldéhyde, acide peracétique). Ils reprennent les critères de la norme européenne du domaine médical EN 14476 (souillures faites d'érythrocytes et d'albumine bovine) en développant un test de surface utilisant des supports en acier inoxydable. Le virus de la vaccine de la famille des *Poxviridae* est globalement le plus sensible. À l'opposé le parvovirus porcin choisi comme modèle est le plus résistant et les substances telles l'éthanol et l'ammonium quaternaire n'ont aucune activité sur lui.

Heckert *et al.* (1997) comparent l'activité virucide du peroxyde d'hydrogène sous forme vapeur après un contact de 30 min. vis-à-vis de 3 virus non enveloppés (groupe B : *Picornaviridae*, *Caliciviridae* ; groupe C : *Reoviridae*) et, 5 virus enveloppés (groupe A : *Orthomyxoviridae*, *Flaviviridae*, *Paramyxoviridae*, *Herpesviridae*, *Rhabdoviridae*). Les suspensions virales sont au préalable séchées sur supports (acier et verre). Tous ces virus sont totalement inactivés sauf un virus enveloppé, le virus de la peste porcine classique (*Flaviviridae*). Notons cependant que c'est le seul virus inclus dans du sang alors que les autres sont soit dans du milieu de culture supplémenté avec 5% de sérum de veau, soit dans du liquide allantoïque d'embryons de poulets.

À côté de cet effet interférent et protecteur des constituants du sang, la présence de peroxydase ou de catalase pourrait jouer aussi un rôle dans cette inactivation du peroxyde d'hydrogène.

Hong *et al.* 2015 étudient l'effet de températures basses (-20°C), simulant des températures hivernales, est étudié sur l'activité virucide de désinfectants classiques, l'acide citrique et le carbonate de sodium, contre le virus de la fièvre aphteuse (groupe B ; *Picornaviridae*, *Aphthovirus*). Ces conditions nécessitent l'ajout d'agents dégivants dans les désinfectants (comme l'éthylène glycol ou le propylène glycol) et les essais ont été réalisés en présence de souillures organiques à hauteur de 5 % de sérum bovin. L'activité virucide (baisse du titre viral infectieux de 4 log) de l'acide citrique à la concentration de 0,2 % est maintenue, par contre le carbonate de sodium à 4% ne présente qu'une faible activité virucide.

Jang *et al.* (2014). A partir d'une autre souche d'influenza aviaire (H9N2) incluse dans 5% de sérum de veau, Jang *et al.* (2014) évaluent les effets de 4 températures (25°C, 4°C, 0°C, -10°C) sur l'efficacité d'une série de substances désinfectantes par un test de surface utilisant le bois ou l'acier. Il est constaté, sur un temps de contact court de 5 minutes, un fort effet inhibiteur de l'activité de l'acide citrique et du mélange acide citrique plus ammonium quaternaire, alors que les produits oxydants comme le dichloroisocyanurate de sodium et le monopersulfate de sodium y sont quasiment insensibles. Dans le même temps, il est conclu que le bois est plus difficile à désinfecter.

Köhler *et al.* (2009) comparent l'activité virucide de 5 désinfectants vis-vis de 8 virus enveloppés et non enveloppés, dont le virus ECBO. Le test de suspension décrit dans les lignes directrices de la société allemande vétérinaire est utilisé à 4°C et 10°C. Ils retiennent comme potentiels modèles viraux, les virus non enveloppés du groupe B : virus ECHO (*Picornaviridae*), le calicivirus félin (*Caliciviridae*) et le virus de la panleucopénie féline (*Parvoviridae*) et les virus enveloppés du groupe A : le virus de la maladie de Newcastle (*Paramyxoviridae*), le virus de la diarrhée virale bovine (*Flaviviridae*) et l'herpèsvirus félin (*Herpesviridae*). Deux conclusions majeures : le virus ECHO est le plus résistant, notamment vis-à-vis du virus ECBO et du virus de la panleucopénie féline, et le virus de la diarrhée virale bovine est considéré comme un bon substitut du virus de la maladie de Newcastle.

Krug *et al.* (2011 ; 2012) présentent deux études de comparaison de l'activité virucide de l'hypochlorite de sodium (500 à 2000 ppm), de l'acide citrique (1 et 2%) et du carbonate de sodium (4%) vis-à-vis du virus non enveloppé de la fièvre aphteuse (groupe B ; *Picornaviridae*), et de deux virus enveloppés : virus de la peste porcine africaine (groupe A ; *Asfarviridae*) et du virus de la peste porcine classique (groupe A ; *Flaviviridae*). Un protocole standardisé nord-américain ASTM E1053 modifié est appliqué. Les virus de la fièvre aphteuse et de la peste porcine africaine sont sensibles à l'hypochlorite de sodium, aux concentrations respectives de 500 ppm et 1000 ppm, et à l'acide citrique à 1%. De son côté, le carbonate de sodium à 4% réduit le titre infectieux du virus aphteux de 4 log contre 3 log pour le virus de la peste porcine africaine. Par contre, avec une concentration en acide citrique à 2% le virus de la peste porcine classique n'est pas totalement détruit. Avec un support bois, les virus de la fièvre aphteuse et de la peste porcine africaine sont totalement détruits par l'acide citrique à 2%. Cependant, sur ce même support, l'action de l'hypochlorite de sodium à 2000 ppm ne permet pas d'atteindre une réduction de titre de virus infectieux de 4 log pour le virus de la fièvre aphteuse. Ces résultats montrent que, dans certaines conditions et avec certains biocides, un virus enveloppé peut présenter une résistance supérieure à celle d'un virus non enveloppé.

Maris et Fresnel, 1986 a comparé l'activité virucide de 15 produits désinfectants vis-à-vis de 2 virus non enveloppés du groupe B : Poliovirus Sabin Type 1 (*Picornaviridae*, *Enterovirus*), virus de Talfan (*Picornaviridae*, *Teschovirus*) et de 3 virus non enveloppés du groupe C : virus de l'hépatite canine contagieuse (*Adenoviridae*), réovirus aviaire et rotavirus bovin (deux *Reoviridae*). L'ancienne norme française (NF T 72180) a été utilisée. La différence entre les deux picornavirus est révélée grâce à deux produits à base d'iode, la plus grande acidité de l'un deux accentuant cette différence. Cette étude a été complétée par la suivante.

Maris, 1986 a comparé l'activité virucide de 10 désinfectants vis-à-vis du virus de Talfan (groupe B ; *Picornaviridae*, *Teschovirus*) et du virus de l'hépatite infectieuse canine (groupe C ; *Adenoviridae*) dans le cadre d'une évaluation de performance de deux projets de normes AFNOR de virucidité. Le virus de Talfan est globalement plus résistant, et des produits à base d'hydroxyde de sodium ou d'hypochlorite de sodium démontrent une activité virucide très rapide sur les deux virus.

Martin *et al.* (2013) comparent l'activité virucide de trois produits à base d'hypochlorite de sodium, d'acide peracétique et de monopersulfate de sodium vis-à-vis du virus ECBO et du virus de l'hépatite A (*Picornaviridae*) au moyen de la norme EN 14675. Le comportement des deux virus est similaire envers l'hypochlorite de sodium alors que, vis-à-vis du monopersulfate de sodium et de l'acide peracétique, le virus de l'hépatite A est respectivement 3 fois et 72 fois plus résistant que le virus ECBO.

Rabeneau *et al.* (2014) ont étudié 4 souches de parvovirus d'origine animale (bovine, murine, porcine et canine) sont étudiées au moyen d'un test de surface utilisant des disques d'acier et sans ajout de matières organiques, vis-à-vis de 5 désinfectants, à la température de 20°C et pour un temps de contact de 5 min. Les 3 alcools testés sur ces 4 souches ont un comportement homogène puisqu'aucune chute de titre n'est observée. Par contre le parvovirus murin paraît plus sensible au glutaraldéhyde tandis que le parvovirus porcin l'ait vis-à-vis de l'acide peracétique, même si ces différences ne sont pas très importantes.

Sellers *et al.* (1968) étudient l'efficacité de différents biocides (acides, alcalins, hypochlorite de sodium) sur une souche du virus de la fièvre aphteuse type O (*Aphthovirus*, *Picornaviridae*), ceci à deux températures (4°C et 20°C), en présence de diverses matières organiques (sérum, lait, fèces, suspension de terre) et sur un temps de contact variable jusqu'à 30 min. Globalement, il est démontré des chutes de titres viraux très rapides (5 log en moins de 15 sec même à 4°C pour des pH très acides (<4) ou très basiques (>12). Le carbonate de sodium (pH 11) nécessite, pour un même taux de réduction, un temps de 3 min à 20°C et 30 min à 4°C.

Shirai *et al.* (2000) comparent l'activité virucide de trois désinfectants à base d'hypochlorite de sodium, d'iode ou d'ammonium quaternaire a été comparée vis-vis de 2 virus non enveloppés : le virus de la maladie vésiculeuse du porc (groupe B ; *Picornaviridae*, *Enterovirus*) et le virus de la peste équine (groupe C ; *Reoviridae*, *Orbivirus*) ainsi que de 4 virus enveloppés (groupe A) : le virus de la peste porcine africaine (*Asfarviridae*), le virus du syndrome dysgénésique et respiratoire porcin et le virus de l'artérite virale équine (tous deux *Arteriviridae*), le virus de la stomatite vésiculeuse (*Rhabdoviridae*). Les suspensions virales sont produites avec un minimum de matières interférentes : une part sans sérum bovin et une autre part avec 2% de sérum bovin. Le picornavirus, produit sans sérum, est systématiquement plus résistant. L'hypochlorite de sodium et l'iode sont actifs sur tous les virus et l'ammonium quaternaire n'est efficace que sur les virus enveloppés.

Terpstra *et al.* (2007) comparent l'activité virucide de l'hydroxyde de sodium à 0,4% et de l'hypochlorite de sodium à 0,1% sur un certain nombre de modèles viraux dont le virus de la diarrhée virale bovine (groupe C ; *Flaviviridae*) et 2 virus du groupe B : le virus de l'hépatite A (*Picornaviridae*, *Hepatovirus*) et le parvovirus canin (*Parvoviridae*). Dans cette étude, avant séchage sur support acier, les virus sont inclus soit dans un milieu de culture avec 5 ou 10 % de sérum, soit dans du plasma. Le plasma a un effet protecteur plus important que le milieu de culture, mais les conditions de séchage et de réhydratation peuvent jouer un rôle au niveau de la plus ou moins grande sensibilité du virus au biocide.

Wood et Payne (1998) comparent les activités virucides de 5 produits commerciaux désinfectants ou antiseptiques, représentant différentes familles comme les ammoniums quaternaires, l'iode, les phénols et la chlorhexidine vis-à-vis de trois virus non enveloppés (virus coxsackie, *Picornaviridae* (groupe B) ; poliovirus type 1 souche Sabin, *Picornaviridae* (groupe B) ; adénovirus type 25, *Adenoviridae* (groupe C)) et trois virus enveloppés (herpès simplex virus (*Herpesviridae*), coronavirus OC43 (*Coronaviridae*), virus de l'immunodéficience humaine RF (*Retroviridae*) (groupe A)). Le test se réfère au test de suspension du CEN TC 216. Ces essais sont réalisés en présence d'un fort niveau de souillures (mélange d'albumine bovine et d'extrait de levure). Parmi les virus enveloppés (groupe A), le coronavirus apparaît le plus résistant. Le virus coxsackie (groupe B, *Picornaviridae*) est inactivé par un produit à base d'ammonium quaternaire mais, comme ce sont des produits qui sont testés, il est probable que les co-ingrédients jouent un rôle, sachant qu'assez souvent ce type de molécules est formulé en milieu alcalin.

Yilmaz *et al.* (2003) comparent l'activité virucide de 3 spécialités désinfectantes à base de mélanges d'aldéhydes ou d'acide peracétique et d'une substance active, l'acide formique vis-à-vis du virus ECBO et de deux virus non enveloppés du groupe C, le mammalian orthoreovirus (*Reoviridae*) et adénovirus bovin de type 1 (*Adenoviridae*). Les méthodes employées sont soit le test de suspension normalisée (norme EN14675) ou un test de surface (bois de peuplier) en présence d'un niveau élevé de souillures (mélange d'albumine bovine et d'extrait de levure) et pour un temps de contact de 60 min, aux températures de 20°C et 10°C. Si l'acide formique à 2% s'est révélé actif sur le virus ECBO à 10°C, son activité est insuffisante vis-à-vis des deux autres virus. Par contre, le produit à base d'acide peracétique s'est montré actif sur tous les virus quel que soit la température et la charge organique. Pour le virus ECBO, souche obligatoire de la norme européenne EN 14675, cela va dans le sens d'une relative sensibilité aux pH acides.

ANNEXE 8 - DONNEES DES ARTICLES JUGEES PERTINENTES POUR L'ANALYSE DE L'ACTIVITE ANTI BACTERIENNE

Beuchat *et al.* (2005) observent une différence de comportement entre les formes végétatives et sporulées du genre *Bacillus* sont plus sensibles que les formes sporulées, néanmoins, cette différence doit être mise en relation avec la nature des substances désinfectantes et leurs concentrations. Ainsi, l'utilisation d'une substance désinfectante très puissante comme le dioxyde de chlore en pH alcalin, à la dose de 200 mg/l, détruit, en 5 min, avec des taux de réduction similaires (5 à 6 log₁₀) des mélanges de cellules végétatives de 5 souches de *Bacillus cereus* et des mélanges de spores de 5 souches de *Bacillus cereus*. Par contre, en utilisant 200 mg/l de chlore libre ces réductions de population sont respectivement de 4,5 et 1,8.

Nikol'skaia *et al.* (2007) étudient le rôle que peuvent jouer les conditions de production des spores bactériennes, notamment *Bacillus anthracis*, sur la sensibilité aux désinfectants.

Majcher *et al.* (2008) sélectionnent 6 souches de *Bacillus anthracis*, dont 4 virulentes et 2 avirulentes, afin de les comparer à 4 autres types de spores au moyen d'un test de surface (ASTM E 2197-02) et vis-à-vis de 4 désinfectants (hypochlorite de sodium à 5000 ppm de chlore actif, 70000 ppm de peroxyde d'hydrogène, de 1000 ppm de dioxyde de chlore et 3000 ppm d'acide peracétique). Globalement, les spores de *Bacillus licheniformis* (ATCC 14580) et *Bacillus subtilis* (ATCC 6051) se sont révélées plus résistantes que les spores des 6 espèces de *Bacillus anthracis*, l'ensemble de ces spores étant incluses dans un milieu organique composé d'un mélange d'albumine bovine, de mucine et de peptone.

Lensing *et al.* (1985) étudient, au moyen d'un test de suspension et après 30 min de contact, l'activité sporicide du glutaraldéhyde (4%), du dichloroisocyanurate de sodium (2400 ppm de chlore actif) et d'acide peracétique (0,25%). En présence de 4% de sérum de cheval, les souches retenues de *Bacillus anthracis* (souche vaccinale Sterne) et *Bacillus cereus* (ATCC 9139) présentent une résistance comparable, alors que *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) s'avère plus résistant.

Armon *et al.* (2004) étudient la capacité de destruction de deux *Bacillus* par le dioxyde de titane soumis à des rayons UV. Les deux espèces retenues comme substituts de *Bacillus anthracis* sont *Bacillus subtilis* pour sa grande résistance à la désinfection et *Bacillus cereus* pour sa plus grande proximité phylogénétique. Sur une période de temps de 300 min *Bacillus subtilis* présente une moindre réduction du nombre de spores versus *Bacillus cereus*.

Foegeding *et al.* (1986) étudient la sensibilité au dioxyde de chlore des spores de deux espèces de *Bacillus* (*Bacillus cereus* et *Bacillus stéarothermophilus*) et d'une espèce de *Clostridium* (*Clostridium perfringens*). Ils soulignent l'importance des milieux de culture dans le niveau de sensibilité à cette substance notamment pour les espèces *Bacillus*. Ces deux *Bacillus* sont de sensibilité comparable mais toutefois plus sensible que *Clostridium perfringens*.

Rickloff (1987) évalue l'activité sporicide de l'ozone en comparant des spores de *Bacillus subtilis* et *Clostridium sporogenes*. Sur supports, les spores séchées de *Clostridium sporogenes* apparaissent plus résistantes que celles de *Bacillus subtilis*. Ce comportement est expliqué par le fait d'une accumulation de matière organique sur le support et d'une faible pénétration de l'ozone.

Oie *et al.* (2011) évaluent l'efficacité de l'hypochlorite de sodium sur 5 espèces de spores et concluent que *Bacillus atrophaeus* est le plus résistant suivi de *Bacillus anthracis*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium tetani*, et enfin *Clostridium difficile*. Ces travaux démontrent également l'importance considérable du support fait de contre-plaqué en comparaison du support fait de ciment, le premier protégeant pendant une période de 6 h de l'effet de l'hypochlorite contre 5 min pour le second.

Stockinger *et al.* (1989) comparent les activités du formaldéhyde et de l'acide peracétique sur des spores de 6 espèces du genre *Clostridium* (*C. septicum*, *C. difficile*, *C. tertium*, *C. bifermentans*, *C. perfringens*, *C. sporogenes*) plus *Bacillus cereus*. La souche qui se révèle la plus sensible est *Clostridium septicum* et la plus résistante *Clostridium sporogenes*.

Johnston *et al.* (2005) démontrent aussi la complexité de telles études comparatives comme cette comparaison entre 5 souches de *Clostridium botulinum* (1 souches toxigène et protéolytique, 1 souche toxigène et non protéolytique, et 3 souches non toxigène et non protéolytique) et les spores de *Géobacillus stearothermophilus* classiquement employé comme indicateur biologique. En évaluant l'efficacité du peroxyde d'hydrogène sous forme vapeur, le constat est fait que cet indicateur biologique n'est pas représentatif, en termes de résistance, de la série des souches de *Clostridium botulinum*, en contradiction avec de nombreux travaux antérieurs.

Okayama *et al.* (1997) contrôlent l'action de plusieurs biocides (glutaraldéhyde à 25%, hypochlorite de sodium produisant 5% de chlore libre, povidone iodine à 10%, gluconate de chlorhexidine à 5%, Chlorure de didécyl diméthylammonium à 10% et gaz à 20% d'oxyde d'éthylène) sur des spores de *P. larvae* (tests en suspension et sur support de porcelaine), montrant l'activité du glutaraldéhyde et de l'hypochlorite de sodium sur les spores desséchées.

Best *et al.* (1990) évaluent l'activité de plusieurs biocides (ammoniums quaternaires, chlorhexidine gluconate, iodophore, alcool à 70%, hypochlorite de sodium, Povidone-iodine, glutaraldéhyde-phenate, sodium dichloroisocyanurate, Phenol à 5%) sur *M. tuberculosis* (H37Rv) et *M. smegmatis* (TMC 1515) à l'aide d'un test en suspension et en surface sur disques d'acier, en présence ou non de crachats. Ammonium quaternaires, chlorhexidine gluconate, et iodophore sont inefficaces dans les conditions d'essai sur *M. tuberculosis*. Les auteurs suggèrent d'interpréter avec précautions les données des tests de détermination de l'activité tuberculocide sur la base d'essais avec des mycobactéries servant de substitut.

Rutala *et al.* (1991) étudient 14 désinfectants (correspondant à ou contenant : glutaraldéhyde, peroxyde d'hydrogène, chlore, dioxyde de chlore, iodophore, phénol, ammoniums quaternaires, ou alcool éthylique à 70%) utilisés en milieu hospitalier sur *M. bovis* BCG (ATCC 35743) et *M. tuberculosis* (isolats cliniques) à l'aide d'un test de surface sur porcelaine. Avec le protocole d'essai utilisé, certains composés s'avèrent inefficaces contre les deux mycobactéries. Des différences de sensibilité (vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène et de l'alcool) sont aussi observées entre *M. bovis* et *M. tuberculosis*.

Sattar *et al.* (1995) passent en revue les difficultés rencontrées pour tester les biocides sur *M. tuberculosis* et soulignent la nécessité de standardiser les protocoles destinés à déterminer l'activité tuberculocide. Ils soulignent, entre autre, l'hétérogénéité de la résistance des mycobactéries aux biocides, et le fait que les mycobactéries à croissance rapide (comme *M.*

smegmatis), qui ne sont pas aussi résistantes que *M. tuberculosis*, ne peuvent pas être de bons substituts pour ces études. Ils mettent l'accent, pour la détermination de l'activité des biocides, sur l'importance du choix de la mycobactérie (par exemple *M. terrae*) utilisée en tant que substitut et des paramètres d'essai retenus.

Griffiths *et al.* (1998) comparent la sensibilité de *M. terrae* avec celles de *M. tuberculosis* et *M. avium-intracellulare* dans un test en suspension vis-à-vis de plusieurs biocides (dichloroisocyanurate de sodium, dioxyde de chlore, acide peracétique, glutaraldéhyde alcalin, mélange formaldéhyde-succine dialdéhyde). Les résultats montrent *M. avium-intracellulare* comme le plus résistant, suivi de *M. terrae*.

Gregory *et al.* (1999) comparent l'efficacité mycobactéricide de l'orthophthalaldehyde (OPA) sur *M. bovis* BCG (croissance lente), *M. terrae* (croissance intermédiaire) et *M. chelonae* (croissance rapide) avec un test en suspension conforme au protocole de l'Environmental Protection Agency (EPA). Dans cette étude *M. terrae* est significativement plus résistant que les autres mycobactéries lorsque le biocide est utilisé à 0,05%. L'étude confirme la pertinence de *M. terrae* comme substitut.

Robison *et al.* (1999) évaluent l'activité mycobactéricide de l'orthophthalaldehyde (OPA) et du glutaraldéhyde en solution alcaline sur *Mycobacterium Bovis*, *M. Terrae* et *M. Chelonae*, avec un test en suspension effectué selon une procédure approuvée par l'EPA (Environmental Protection Agency). Ces travaux confirment l'efficacité de l'OPA en tant que biocide tuberculocide, et montrent *M. terrae* (contrairement à que *M. chelonae*, une mycobactérie à croissance rapide) est un substitut satisfaisant pour l'étude de l'activité des biocides vis-à-vis de *M. tuberculosis*.

Bocian *et al.* (2014) évaluent l'activité mycobactéricide de 19 produits biocides (incluant des substances actives appartenant à divers groupes chimiques : aldéhydes, alcools, amines, ammoniums quaternaire, phénols, guanidine et oxydants) en utilisant les conditions d'essai des normes EN 14348 and EN 14563. Dans cette étude, les produits testés montrent pour la plupart une activité mycobactéricide élevée et les résultats dans la plupart des cas le bien fondé des prescriptions de ces normes européennes.

Russel et Gould (1988) analysent les sensibilités à divers antiseptiques, désinfectants et agents de préservation de plusieurs entérobactéries, dont *Salmonella* et *Proteus*, ainsi que de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus*. La méthode utilisée dans les travaux recensés est une mesure des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), ce qui ne renseigne donc pas en termes d'efficacité bactéricide (mesurée elle par des chutes de titre bactérien). Par ailleurs, les souches bactériennes utilisées ne sont pas précisées. Si les entérobactéries, dont les salmonelles, se révèlent le plus souvent moins sensibles que *S. aureus* et que les autres bactéries à Gram positif, c'est *P. aeruginosa* qui ressort comme l'espèce la plus résistante à tous les biocides testés. Dans la famille des entérobactéries, il est également rapporté une résistance élevée des bactéries du genre *Proteus* à plusieurs biocides. Par exemple, l'espèce *Proteus vulgaris* présente des CMI de chlorhexidine 5 à 10 fois plus élevées que celles mesurées vis-à-vis de souches de *Salmonella enterica*. Ces résultats tendent à indiquer que les bactéries d'essai *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 et *Proteus vulgaris* ATCC 13315 pourraient participer à « couvrir » correctement le risque salmonelle.

Bridier *et al.* (2011) montre que l'idée couramment admise d'une sensibilité moindre des bactéries à Gram négatif aux biocides admet des exceptions. Les auteurs testent l'efficacité de 3 biocides utilisés dans l'industrie ou en milieu médical (acide peracétique, chlorure de benzalkonium et ortho-phthalaldéhyde) contre 77 souches bactériennes d'origines variées et appartenant à 7 espèces (hors mycobactéries). Les tests sont réalisés selon la norme européenne de base (phase 1 – test en suspension) EN 1040. Des salmonelles de 9 sérotypes sont testées, ainsi que deux souches d'essai de la norme NF EN 14885 qui sont *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Les résultats indiquent une grande variabilité interspécifique de la résistance au chlorure de benzalkonium, les espèces à Gram négatif étant souvent plus sensibles que celles à Gram positif. Par exemple, le titre de la souche de *Salmonella* Saint-Paul S24 est réduit de 5 log₁₀ par 42 mg/ml de ce biocide, contre 52 mg/ml pour *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 et 70 mg/ml pour la souche test *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. En revanche, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 nécessite seulement 16 mg/ml pour une même réduction de titre, et ne semble donc pas couvrir, en tant que bactérie test, le risque salmonelle pour ce biocide. Concernant l'ortho-phthalaldéhyde, la souche de loin la plus résistante est *E. faecalis* ATCC 19433, 1490 mg/ml de ce désinfectant étant nécessaires pour assurer une réduction de 5 log₁₀, contre 175 mg/ml pour *Salmonella* Saint-Paul S24, 210mg/ml pour *S. ATCC 6538* et 205 mg/ml pour *P. aeruginosa* ATCC 15442. Cette étude montre aussi une variabilité intraspécifique de la résistance aux désinfectant, dépendante à la fois de l'espèce bactérienne et du biocide considérés. La variabilité observée parmi les salmonelles testées est plutôt faible, ce qui doit être relativisé compte-tenu du faible panel testé. Les niveaux de résistance sont par contre plus variables pour les souches de *P. aeruginosa* vis-à-vis du chlorure de benzalkonium et pour celles de *S. aureus* vis-à-vis du ortho-phthalaldehyde. Les auteurs remarquent ainsi que les deux souches d'essai *P. aeruginosa* ATCC 15442 et *S. aureus* ATCC 6538 ne sont pas les souches les plus résistantes à ces deux biocides parmi celles testées de la même espèce.