

Evaluation du procédé de bionettoyage par la vapeur (SaniVap 2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) pour la désinfection des surfaces contaminées par des spores de *Clostridium difficile*

Rédacteur :

**Dr Frédéric Barbut, Praticien hospitalier**

UHLIN,

Laboratoire « *Clostridium difficile* » associé au CNR des anaérobies

Hôpital Saint-Antoine

### Contexte

*C. difficile* est une bactérie à Gram positif anaérobie sporulée qui est impliquée dans 10 à 25% des diarrhées post-antibiotiques et dans plus de 95% des cas de colites pseudomembraneuses {Bartlett, 2006 #4791}. Cette bactérie est le principal entéropathogène responsable de diarrhée nosocomiale chez l'adulte {Barbut, 1995 #1762}. Les infections à *C. difficile* surviennent fréquemment sur le mode épidémique. Depuis 2003, l'incidence et la sévérité des infections à *C. difficile* ont augmenté {McDonald, 2006 #4570; Pepin, 2005 #4018; Pepin, 2004 #22}. Cette évolution semble liée à l'émergence puis la dissémination d'un clone particulier, hypervirulent, appelé « 027 » en référence à son profil par PCR ribotypage {Loo, 2005 #4249; McDonald, 2005 #4248}. Ce clone est largement prédominant en Amérique du Nord et a déjà disséminé dans plusieurs pays européens (Grande Bretagne, Belgique, Pays Bas et France) {Coignard, 2006 #4769; Delmee, 2006 #4771; Kuijper, 2006 #4825}. La contamination est oro-fécale et la transmission se fait soit à partir des mains contaminées du personnel soignant, soit à partir de l'environnement. *C. difficile* est isolé dans **20 à 50% des prélèvements de l'environnement** d'un patient ayant une diarrhée à ce germe {McFarland, 1989 #2575}. Les spores de *C. difficile* peuvent persister pendant plusieurs semaines voire des mois sur des surfaces inertes {Barbut, 2003 #4489}. Les produits nettoyants-désinfectants habituellement utilisés en milieu hospitalier sont peu ou pas efficaces sur les spores de *C. difficile*, à l'exception de l'eau de Javel qui est actuellement recommandée pour la désinfection des chambres des patients infectés {Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales, 2006 #4692}.

Le procédé Sanivap® est une technologie qui permet le nettoyage et la désinfection de l'environnement hospitalier. Son principe repose sur l'effet biocide de la vapeur (>97°C en sortie des accessoires) qui assure à la fois une détergence (dissolution des salissures complexes) et une désinfection efficaces (action sur les bactéries, levures et moisissures validées par des essais *in vitro* et *in situ*). Ce procédé est non toxique, non corrosif, et il respecte l'environnement. Il s'utilise en présence humaine.

Pour améliorer les propriétés sporicides de ce procédé de nettoyage-désinfection, du peroxyde d'hydrogène (< 5%) en faible concentration a été ajouté à la vapeur. Les propriétés oxydantes du peroxyde d'hydrogène sont améliorées par l'augmentation de la température et par sa production sous forme de gaz.

## Objectifs

Evaluer l'activité *in vitro* du SaniVap 2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (vapeur d'eau enrichie en peroxyde d'hydrogène à une concentration finale de 3-4%) pour la désinfection des surfaces expérimentalement contaminées par des spores de *Clostridium difficile* (méthode des porte-germes) et la comparer à celle de l'eau de Javel (méthode de référence). Cette évaluation reposera sur 2 essais :

- une mesure de l'activité du SaniVap2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> après deux passages (durée d'application de la vapeur d'environ 3 secondes) et un temps de contact de 15 minutes
- une mesure de l'activité de l'eau de javel 0.5% de chlore actif préparé extemporanément (après immersion de 5 secondes et 10 minutes de temps de contact) (méthode de référence)

## Méthode

Nous avons utilisé la méthode des porte-germes {Majcher, 2008 #5031}.

Trois souches de *C. difficile* ont été étudiées :

- la souche 1067 (souche épidémique PCR ribotype 027, toxinotype III)
- la souche VPI 10463 (toxinotype 0)
- la souche CD196 (souche ATCC 43 596, PCR ribotype 027 non épidémique)

Deux matériaux ont été utilisés pour l'évaluation de l'eau de Javel : résine vinylique (pièces de 2 cm x 2 cm) et plaque de stratifiée (pièces de 2 cm x 2 cm). Ces matériaux ont été nettoyés et stérilisés avant usage.

Des lames de verre dépoliées (1 cm x 4 cm) ont été utilisées pour l'évaluation du SaniVap2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Celles-ci ont été déposées sur un support métallique permettant de les maintenir en place durant la procédure de désinfection.

Les différents matériaux ont été expérimentalement contaminés par 0,1 ml d'une suspension de spores de *C. difficile* (soit 5.5 log<sub>10</sub>/porte germe) préparée selon la technique de Wullt *et al.* {Wullt, 2003 #181}. Ces supports ont été soumis soit à l'action du procédé SaniVap 2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> soit à la désinfection par l'eau de Javel 0.5%.

Après avoir neutralisé les résidus de désinfectants (thisosulfate 0.5% pour l'eau de Javel, DNP [AES] pour le peroxyde d'hydrogène), la quantité de bactéries présentes sur chaque matériau a été numérée (essai, N1) et comparée à la quantité de bactéries présentes sur le même type de matériau non exposé au produit désinfectant (témoin, N0).

La numération des spores présentes sur les pièces « témoins » a été réalisée en immergeant et en sonicant les pièces dans 3 ml de neutralisant. L'absence d'effet inhibiteur du neutralisant a été préalablement vérifiée. Chaque suspension (0.1 ml de suspension pure et diluée jusqu'à 10<sup>-4</sup>) a été ensuiteensemencée sur milieu TCCA (taurocholate cyclosérine, cefoxitine agar) et incubée 48 heures en anaérobiose.

Pour les pièces « essais » (c'est-à-dire soumise au procédé de désinfection), 1 ml de la suspension a été ensemencée sur 2 géloses TCCA afin d'avoir un seuil de sensibilité de la méthode de 3 spores /pièce.

La quantité de spores a été exprimée en log<sub>10</sub> d'UFC/porte germe

Pour chaque essai, le facteur de réduction (FR) a été calculé en faisant la différence entre le nombre de spores présentes sur la pièce témoin et sur la pièce soumise au procédé de

désinfection. Les FR obtenus pour chaque technique de désinfection ont été comparés par le test ANOVA à l'aide du logiciel GraphPrism (San Diego, CA, USA).

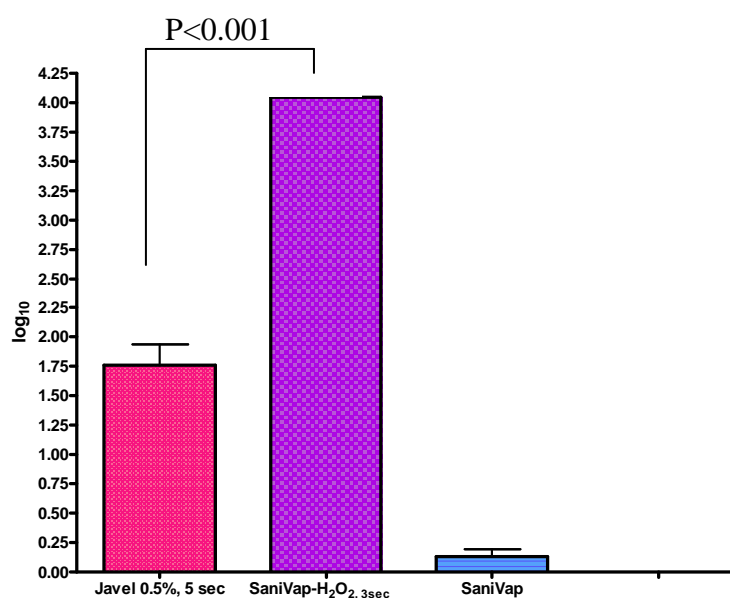
## Résultats

La contamination initiale des porte-germes ne variait pas significativement entre les différents essais ( $p > 0.5$ ) (**tableau 1**).

	Javel 0.5%	SaniVap 2000®-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SaniVap2000®
No d'essais	30	39	6
Contamination initiale (log <sub>10</sub> UFC/porte germe)	5.51±0.76	5.46±0.47	5.23±0.42
Moyenne ± ET (médiane)	5.56	5.46	5.44

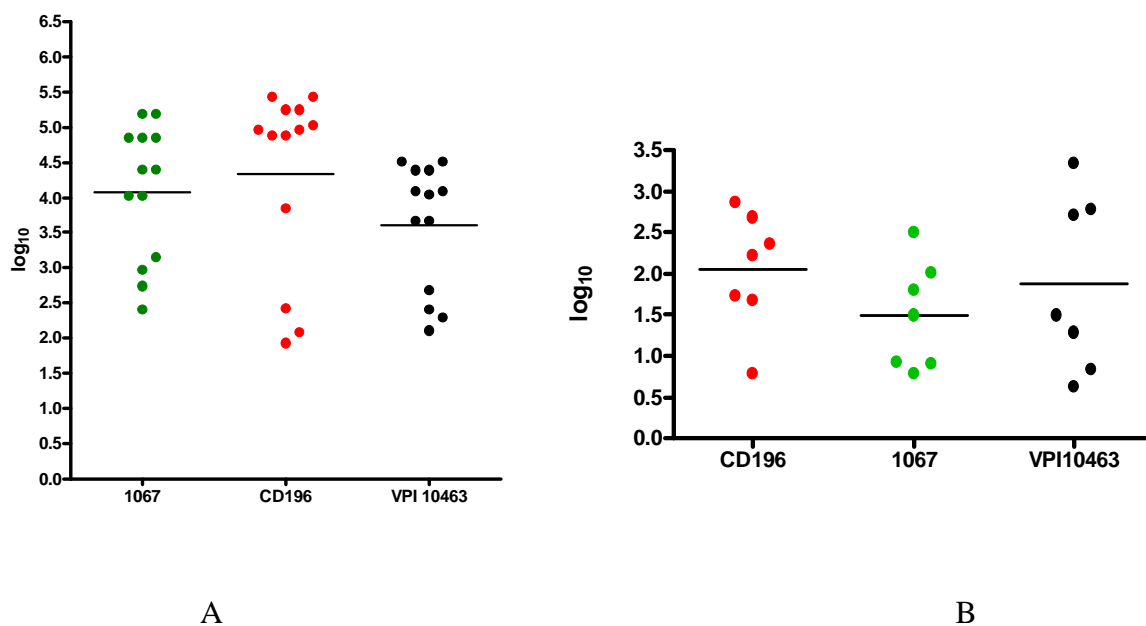
**Tableau 1** : Niveau de contamination initiale

La moyenne des facteurs de réduction (FR) obtenus avec le SaniVap2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est significativement supérieure à celle obtenue avec l'eau de Javel 0,5% ( $4,05 \pm 0,17$  vs  $1,76 \pm 0,17$ ,  $p < 0.001$ ). La SaniVap 2000 seul (c'est-à-dire sans peroxyde d'hydrogene) ne présente qu'une activité sporicide très faible sur *C. difficile* (FR =  $0,12 \pm 0,06$ )(**figure 1**).



**Figure 1** : Facteur de réduction (FR) de la contamination initiale.

Les FR obtenus avec le SaniVap2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'eau de Javel 0.5% ne diffèrent pas significativement en fonction des souches (figures 2A et 2B).



**Figure 2 :** Facteurs de réduction obtenus avec le SaniVap2000®-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (A) et l'eau de javel 0.5% (B) en fonction des souches testées.

**Conclusion :** L'activité sporicide obtenue avec le SaniVap 2000 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est supérieure à 3 log<sub>10</sub> et ne dépend pas des souches testées. Cette activité est liée au peroxyde d'hydrogène.

## Références