

## **Avantages et limites du nettoyeur-vapeur pour le bionettoyage des surfaces**

<h3><b>Validation de la technique par analyse microbiologique et observations microscopiques des surfaces traitées pendant 5 jours consécutifs</b></h3>
---

**Olivier Meunier, Françoise Salles, Sandrine Burger**

Equipe Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière  
Centre Hospitalier de Haguenau  
64 av. Professeur René Leriche  
67504 Haguenau Cedex

Tél. : 03.88.06.31.18

[Olivier.MEUNIER@ch-haguenau.fr](mailto:Olivier.MEUNIER@ch-haguenau.fr)

**Joseph Hemmerlé, Eric Mathieu**

Unité Inserm UMR 977 « Biomatériaux et Ingénierie Tissulaire » 11, rue Humann 67085  
Strasbourg

Date : 16 janvier 2013

6 pages

### **Introduction**

Le bionettoyage des locaux est une activité importante dans un établissement de santé tant par le temps de travail qui y est consacré que par l'obligation du résultat. Certains locaux comme le bloc opératoire sont nettoyés plusieurs fois par jour afin d'éviter tout risque de transmission croisée. D'autres comme la cuisine doivent être nettoyés pour permettre la manipulation de denrées sensibles sans risque de contamination par des microorganismes susceptibles d'altérer la qualité microbiologique des aliments. Nous avons voulu vérifier, pour ces deux indications précises, l'efficacité et l'intérêt du nettoyeur-vapeur Sanivap® gracieusement mis à notre disposition par la société du même nom.

Des études préalables menées par notre équipe au sein du CH de Haguenau avaient permis de conclure à une grande efficacité du nettoyeur-vapeur pour le nettoyage et la désinfection (matériel utilisé selon les recommandations du fabricant), au moins équivalente à celle observée par l'application du détergent-désinfectant Surfanios® (méthode actuellement utilisée dans l'établissement). Les études ont porté sur la visualisation des résidus de sang au

bloc opératoire par l'utilisation du Bluestar®, la mesure des valeurs résiduelles d'ATP et le résultat des contrôles microbiologiques des surfaces après l'un ou l'autre procédé.

Pour compléter ces premiers résultats encourageants et valider l'efficacité désinfectante du procédé vapeur, nous avons appliqué le procédé, 5 jours consécutifs, sur deux types de surface : le linoléum et le PVC. Nous avons ensuite mesuré la contamination bactérienne résiduelle chaque jour et observé l'aspect des surfaces par microscopie électronique à balayage. En parallèle, les mêmes observations ont été faites sur des échantillons traités 5 jours consécutifs par application de Surfanios®.

Le protocole expérimental avait pour but de vérifier les hypothèses suivantes :

- En une application, la vapeur désorganise le biofilm et libère les bactéries présentes qui sont aisément retrouvées à la surface de la gélose contact en quantité équivalente à celles isolées après application du Surfanios®.
- L'utilisation successive et consécutive, plusieurs jours de suite, de la vapeur devrait continuer à désorganiser le biofilm et libérer à terme la grande majorité des bactéries initialement présentes :
  - o les contrôles microbiologiques devraient s'épuiser progressivement au fil des usages,
  - o le biofilm doit disparaître progressivement (observation par microscopie électronique à balayage - MEB).

## **Matériel et méthode**

Deux revêtements de sol souvent présents dans les établissements de santé ont été utilisés : un linoléum (L) et un revêtement en PVC (P). Dans les deux cas, les revêtements sont anciens et ont été retirés de couloirs au moment de leur rénovation. Notons que nous ne procédons pas à une contamination bactérienne artificielle des supports, la contamination « naturelle » par l'usage des supports sert de référence.

Un balayage humide préalable est réalisé à l'aide d'une chiffonnette imprégnée d'huile végétale pour récupérer les poussières. Chaque support est délimité en deux parties.

Trois prélèvements de surface par gélose contact et un poinçonnage pour prélever un échantillon du revêtement qui sera observé en microscopie électronique à balayage (MEB) sont effectués sur la première partie et sont notés « Témoins contaminés » linoléum et PVC (TcL et TcP).

Concernant la deuxième partie, nous délimitons deux zones traitées quotidiennement l'une à la vapeur (V) et l'autre au Surfanios® (S) pendant 5 jours consécutifs (J1 à J5). Trois géloses contact par zone et un échantillon pour MEB sont prélevés chaque jour à des endroits différents. Ceci permet d'obtenir sur 5 jours consécutifs l'effet progressif de la vapeur sur une même zone et de le comparer à l'effet antibactérien progressif du Surfanios®. Notons que ces surfaces ne sont pas protégées d'une contamination environnementale éventuelle entre chaque nettoyage et prélèvement. Cependant, elles ne sont pas non plus soumises à la contamination par leur utilisation habituelle.

Les géloses contact sont, après prélèvement, immédiatement acheminées au laboratoire. Les résultats microbiologiques sont obtenus après incubation à 30°C pendant 2 jours, puis 3 jours supplémentaires à température ambiante. Ils sont exprimés en unité formant colonie (UFC) pour 25 cm<sup>2</sup>. Pour chaque situation, la moyenne et l'écart type permettent de comparer une série par rapport à la suivante et de rechercher une différence significative (t de student). Les courbes de décroissance de la numération bactérienne en fonction des traitements des surfaces et du temps sont tracées et comparées entre elles.

Les échantillons poinçonnés sont immédiatement immergés dans un milieu de fixation (Caco 0,115M, PFA 2%, Gluta 2.5%, pH7.4), puis acheminés au laboratoire de microscopie pour traitement selon la procédure habituelle des surfaces pour l'observation. De 18 à 27 photographies différentes (impression format 18 x 24 cm) de grossissement X80 sont obtenues pour chaque échantillon MEB. Un quadrillage (5 x 6 cm) permet de sélectionner par tirage au sort 5 zones à analyser sur 15 sur chaque photographie. Sur chacune de ces 5 zones, les particules sont comptées, les moyennes obtenues pour chaque série de photographies des échantillons analysés sont comparées (Anova, t de student).

## Résultats

### Numérations bactériennes

Les résultats moyens (n = 3) pour chaque série de prélèvements exprimés en logarithme sont regroupés dans le tableau 1. Les courbes d'évolution des résultats au cours de temps (de J1 à J5) montrent une décroissance des numérations bactériennes successives dans toutes les situations expérimentales : linoléum (figure 1) et PVC (figure 2) avec Surfanios® ou la vapeur. La décroissance est plus marquée tant sur le linoléum que sur le PVC avec le procédé vapeur.

Tableau I : logarithme décimal des résultats moyens des numérations bactériennes successives réalisées de J0 à J5 sur le linoléum (lino) et le PVC (pvc) après application quotidienne du détergent-désinfectant Surfanios® (surfanios) ou du procédé Sanivap® (vapeur).

	<b>SL lino surfanios</b>	<b>VL lino vapeur</b>	<b>SP Pvc Surfanios</b>	<b>VP pvc vapeur</b>
<b>J0</b>	1,4	1,4	1,2	1,2
<b>J1</b>	0,9	0,5	0,7	0,6
<b>J2</b>	0,6	0,5	0,3	0,0
<b>J3</b>	1,0	0,4	0,8	0,6
<b>J4</b>	0,7	0,6	0,7	0,4
<b>J5</b>	1,1	0,7	0,7	0,2

Figure 1 : Evolution des résultats au cours de temps (de J1 à J5) des numérations bactériennes successives sur linoléum avec Surfanios® ou vapeur.

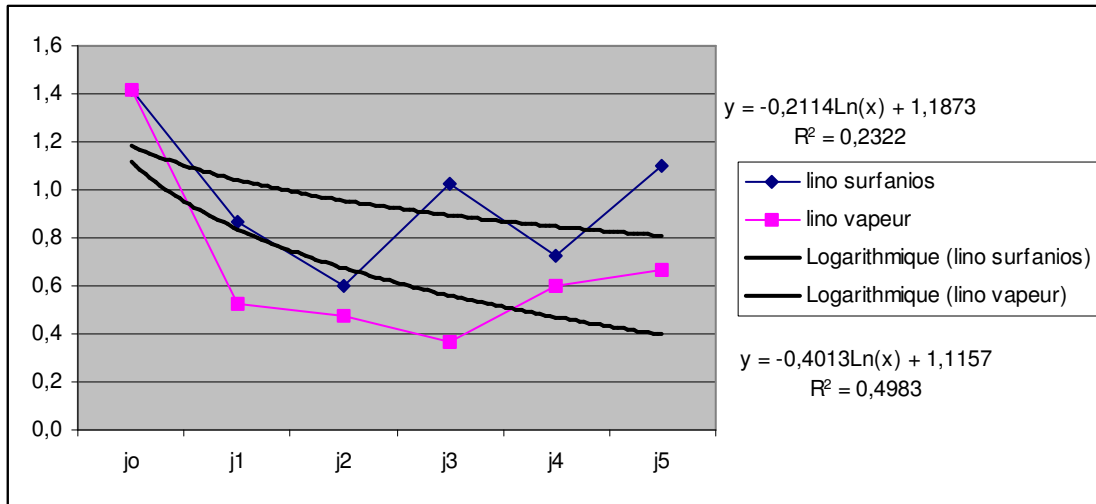
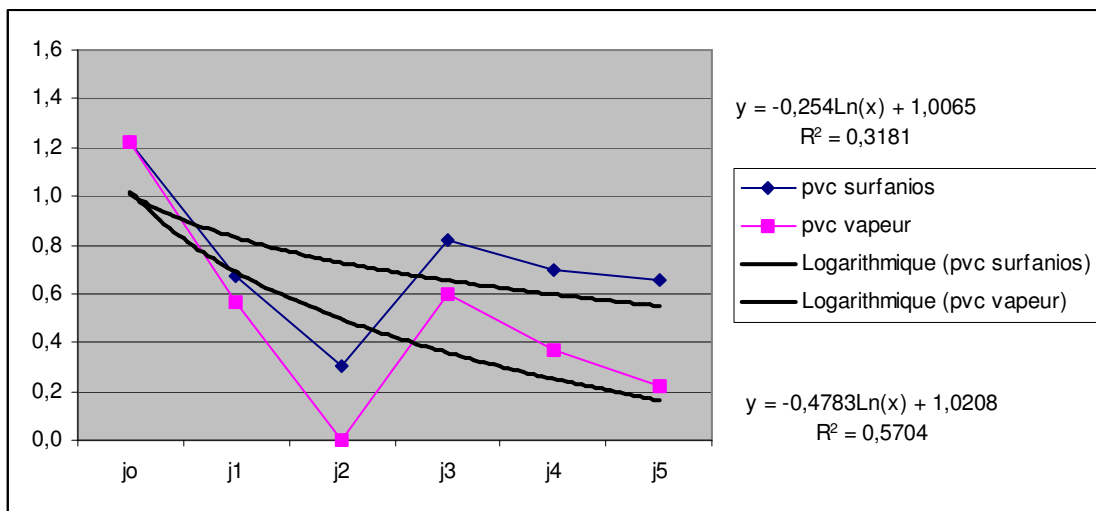


Figure 2 : Evolution des résultats au cours de temps (de J1 à J5) des numérations bactériennes successives sur le PVC avec Surfanios® ou vapeur.



## Observation au microscope électronique à balayage

Seuls 3 échantillons sur le support PVC, significatifs et susceptibles de répondre aux questions posées ont été étudiés par microscopie électronique à balayage : « témoin PVC contaminé », et « Surfanios à 5 j », « vapeur à 5 j ». Le grossissement X80 a été choisi pour avoir la vision d'une surface suffisante et permettant de compter les particules présentes. Pour la surface témoin contaminée, la moyenne des particules observées (5 zones sur 15) sur chaque photographie (n = 27) est de 105.3 (écart type : 53.23). Sur la surface traitée 5 jours consécutifs par l'application de Surfanios®, la moyenne (n = 22) est de 82.27 particules (écart type : 27.02). Enfin, sur la surface traitée 5 jours consécutifs par le procédé vapeur, la moyenne des particules observées (n = 18) est de 66.11 (écart type : 24.17).

Les différences observées entre les résultats des trois échantillons sont significatives (risque  $\alpha$  de 5 % ; Anova) et se situent entre les témoins et l'une ou l'autre des méthodes. En revanche, si un meilleur résultat en terme du nombre de particules résiduelles semble être obtenu avec la méthode vapeur (66,11 particules en moyenne versus 82.27 particules après Surfanios®), la différence n'est pas significative. On peut néanmoins conclure que le procédé vapeur à tester est au moins aussi efficace que l'usage répété du Surfanios® dans cette expérience.

## **Discussion**

Une désinfection efficace de l'ensemble des surfaces doit être réalisée après chaque acte opératoire selon les consignes décrites dans la procédure institutionnelle validée. Ce bionettoyage est essentiel car il permet d'offrir une salle susceptible d'accueillir sans risque un nouveau patient et ceci, quelles que soient les pathologies traitées au bloc opératoire et les antécédents du patient. La qualité de ce bionettoyage garantit la non transmission d'agents microbiens potentiellement pathogènes issus des patients précédents, de l'environnement ou des professionnels oeuvrant au bloc opératoire.

Plusieurs méthodes permettent de valider l'efficacité et la qualité du bionettoyage mis en œuvre : le contrôle visuel, la mise en évidence des résidus de sang par le Bluestar®, l'audit des pratiques, les mesures microbiologiques par prélèvements de surface, les mesures d'ATP sur les surfaces. Elles ont une vertu pédagogique indéniable et permettent de sensibiliser les professionnels à la nécessité du bionettoyage et à la qualité attendue. Les résultats valident la procédure et la qualité de sa mise en œuvre.

Sur le sol et les surfaces hautes du bloc opératoire, la vapeur permet un nettoyage aisé et visuellement efficace. Le nettoyage est facile à réaliser, rapide et efficace. La vapeur permet notamment d'éliminer les traces de sang non visibles à l'œil nu et laisse les surfaces propres. Néanmoins, dans cette dernière indication, il nous faut des garanties solides en terme de désinfection pour éliminer les charges microbiennes au bloc opératoire (flore pathogène des patients).

Les numérations bactériennes obtenues dans nos études préliminaires au bloc opératoire montraient qu'il n'y a pas de différence de réduction bactérienne après un passage par Surfanios® ou Sanivap®, tant sur le sol que sur les surfaces hautes.

De plus, deux applications successives de vapeur entraînent une augmentation du nombre de bactéries décrochées par empreinte gélosée. La vapeur permettrait de décrocher plus de bactéries qui seraient alors rendues accessibles à l'arrachement.

Sur la base de ces deux informations, des prélèvements bactériologiques ont été réalisés sur plusieurs journées successives en utilisant l'une ou l'autre méthode pour vérifier l'efficacité à long terme du nettoyage vapeur qui devait éliminer progressivement, à chaque passage, le biofilm en place. Nos derniers résultats confirment cette hypothèse. La différence est marquée sur le plan microbiologique. Les résultats sont meilleurs avec la vapeur qu'avec le Surfanios® après 5 jours. Les microphotographies selon notre méthode montrent que le nombre de particules diminue de façon significative avec la vapeur ou le Surfanios® avec un avantage non significatif (t de student) pour la vapeur. En définitive, les résultats Surfanios et Vapeur sur le PVC sont au moins équivalents.

Notre protocole d'étude teste l'efficacité des méthodes dans des situations réelles, in situ, à partir de surfaces contaminées par leur seule utilisation et manipulation. Aucune surcharge microbienne ou de matière organique n'a été ajoutée sur les surfaces nettoyées. Les bactéries présentes sont donc probablement installées dans un biofilm que seuls plusieurs passages pourraient éliminer.

## **Conclusion**

L'ensemble des résultats obtenus en comparant l'application en une ou plusieurs fois successives du Surfanios® ou du procédé Sanivap® montrent au minimum l'équivalence des deux méthodes, voire la supériorité de la vapeur pour le nettoyage et la désinfection des surfaces. Les avantages énumérés précédemment du procédé Sanivap® montrent que cette technique peut être privilégiée et trouve sa place dans les établissements hospitaliers pour le bionettoyage des surfaces.