

Stabilité et efficacité antimicrobienne de l'eau de Javel en milieu hospitalier tropical.

F. Ballereau, C. Merville, M.T. Lafleurriel & I. Schrive (1)

(1) Groupe d'Etudes Epidémiologiques et Prophylactiques (G.E.E.P.), GIS Médicament, Université de Nantes, Faculté de pharmacie, 1 rue Gaston Veil - 44035 Nantes
(2) Manuscrit n° 1800. «Santé publique». Accepté le 20 mai 1997.

Summary: Stability and antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite solutions for hospital cares in tropical countries.

Key-words: Sodium hypochlorite - Disinfection - Developing countries

A sodium hypochlorite solution (NaClO) containing 0.5% w/v of available chlorine (0.5% Cl₂ or 5000 ppm) is a good and cheap solution for disinfecting material used to medical care. It is effective against bacteria, fungi and viruses. It is easy to prepare. It can be a good solution for antiseptics and disinfection in dispensaries in developing countries. However, it is not always easy to keep it in adequate conditions. That's the reason why we have evaluated the durability of such a solution of NaClO exposed to disadvantageous factors, specially daylight and air, and its antibacterial effectiveness. In this study, after exposure of NaClO containing 4350 ppm of available chlorine to these adverse conditions, the final concentration of NaClO was 2300 ppm of available chlorine and was found effective for decontamination of medical material. A protocol for conservation and use of a sodium hypochlorite solution (0.5% Cl₂) in dispensaries of developing countries is proposed.

Résumé :

Une solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) contenant 0,5% (m/v) de chlore actif (0,5% Cl₂ ou 5000 ppm) est un désinfectant efficace et peu cher pour le matériel médical. Il est efficace contre les bactéries, les champignons et les virus et est facile à préparer. Il peut constituer une bonne solution pour l'antiseptie et la désinfection dans les dispensaires des pays en développement. Cependant, l'hypochlorite de sodium n'est pas toujours facile à conserver. C'est pour cette raison que nous avons testé la durée de validité d'une telle solution dans des conditions défavorables, en particulier en présence d'air et de lumière. Dans notre étude, une solution contenant initialement 4350 ppm de chlore actif conservée dans de telles conditions montre encore une efficacité pour la désinfection du matériel médical, puisqu'on y retrouve 2300 ppm de chlore actif en fin d'expérience. Un protocole de conservation et d'utilisation accompagne nos conclusions.

Mots-clés : Hypochlorite de sodium - Désinfectant - Pays en développement

Introduction

Nous avons réalisé une étude pour établir une procédure de décontamination du matériel médical, en particulier des seringues, utilisé dans les dispensaires dans les pays en développement. En effet, ces structures de soins manquent souvent de matériel d'injection et de moyens de stérilisation. Puisque le matériel à usage unique ne doit pas être réutilisé, il est préconisé de doter ces structures de soins de seringues réutilisables. Cependant, en l'absence de moyens de stérilisation, il peut être utile de disposer d'une méthode de décontamination faisant appel à un désinfectant efficace afin de prévenir le risque iatrogène. C'est dans cet esprit que nous avons retenu la solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) contenant 5000 ppm (partie par million) de chlore actif (0,5% Cl₂), en raison de son coût modique, de sa facilité de préparation et de son importante activité antimicrobienne. En effet, l'eau de Javel est le désinfectant universel, le seul aisément disponible dans les pays à faibles ressources économiques. Cette étude comporte trois temps :

- détermination de la teneur en chlore actif lors d'une exposition de la solution à la lumière, à l'air et à la chaleur (37°C).
- étude du pouvoir anti-bactérien sur des seringues contaminées par *Staphylococcus aureus*.
- recherche de traces de chlore sur le matériel désinfecté par une solution contenant 0,5% de chlore actif.

Matériel et méthodes

La solution d'hypochlorite de sodium utilisée est préparée par dilution d'un extrait concentré contenant 152 g/l (48 degrés chlorométriques) de chlore actif (une dose de 250 ml de solution concentrée permet d'obtenir 32 l de solution d'hypochlorite de sodium à 0,5%). La solution diluée est répartie dans trois types de flacons :

- flacons en verre teinté
- flacons en verre blanc
- flacons en PVC (chlorure de polyvinyle) haute densité transparent.

Chaque type de flacon est conservé dans différentes conditions (voir encadré).

Caractéristiques de l'hypochlorite de sodium

1 degré chlorométrique= 3,17 g/l de chlore actif=333 ppm
L'hypochlorite de sodium est un désinfectant à très large spectre, rapidement actif sur les bactéries Gram-positif et Gram-négatif, les mycobactéries, les spores, les champignons (normes AFNOR NF T 72-151 et NF T 72-190) ainsi que sur les virus;
- elle est inhibée par les matières organiques à forte concentration, mais elle reste active dans les essais réalisés en présence des substances interférentes de référence (norme AFNOR NF T 72-171);
- elle est dépourvue de toxicité dans les conditions normales d'utilisation. Des précautions doivent toutefois être observées pour le transport, le stockage, les manipulations et les dilutions pour éviter tout contact avec les muqueuses et avec les yeux;
- elle ne doit pas être mélangée avec des produits détergents, mais appliquée après nettoyage et rinçage. Seule l'addition de détergents tensio-actifs est possible;
- sa stabilité ne dépasse pas 3 mois sous forme de concentré de Javel titrant 48°chl, et 6 mois sous forme d'eau de Javel titrant 12° chl.; elle est parfaitement biodégradable et ne laisse subsister que d'infimes quantités de chlorure de sodium.

La teneur en chlore actif est déterminée selon la méthode titrimétrique décrite dans la Pharmacopée française (Xème édition), basée sur l'oxydation de l'iodure de potassium (KI) en iode (I₂) par l'hypochlorite de sodium en milieu acide. L'iode libérée est titrée en retour par le thiosulfate de sodium. Les dosages sont effectués à J0, J7, J14, J21, J28 et J35.

Parallèlement, l'action décontaminante de la solution est recherchée sur des seringues en verre et des seringues en polyéthylène, préalablement contaminées par *Staphylococcus aureus*, bactérie choisie en raison de sa fréquence et de sa pathogénicité.

Les seringues sont contaminées par l'aspiration d'une suspension bactérienne de *Staphylococcus aureus* contenant 10⁵ germes par millilitre. Le temps de contact est de 5 minutes en présence et en l'absence de matière organique interférente. Après rejet de la suspension, la solution décontaminante d'hypochlorite de sodium conservée dans des conditions défavorables (exposition à l'air et à la lumière) est laissée en contact avec la seringue pendant 20 minutes (aspiration et trempage) à J0, J7, J14, J21, J28 et J35. Le témoin est constitué en remplaçant la solution d'hypochlorite de sodium par de l'eau. Après élimination de la solution de décontamination, la seringue est rincée par aspiration d'eau distillée stérile. Cette eau stérile est ensuite filtrée à travers un filtre millipore, de porosité 0,45 µm. Le filtre est alors rincé par une solution de thiosulfate de sodium à 1% pour éliminer toute trace de chlore actif, puis mis en culture sur un milieu nutritif incubé à 37°C. La lecture est effectuée 8 jours après la mise en culture. Le témoin est traité dans les mêmes conditions. Ces conditions expérimentales ont été choisies car elles se rapprochent des conditions climatiques rencontrées en milieu tropical.

Enfin, nous mesurons la quantité résiduelle d'hypochlorite de sodium qui persiste après rinçage de la seringue, pour voir s'il pourrait exister une éventuelle interaction avec les médicaments à administrer et /ou un risque toxique pour l'endothélium veineux. Pour cette recherche, nous utilisons un réactif à l'aniline dont la limite de sensibilité est de 10 ppm de chlore actif. La technique utilisée fait appel à des dilutions successives. Nous notons le nombre de rinçages qu'il est nécessaire de faire pour négativer la réaction. L'essai est réalisé sur des seringues en verre et en polyéthylène.

Protocole de désinfection du matériel de soins inoxydable utilisant une solution d'hypochlorite de sodium (NaClO) à 0,5%.

Si possible, conserver la solution préparée à l'abri de la lumière (flacon opaque ou endroit sombre) dans des flacons fermés.

Conservation : 1 mois maximum

Après utilisation du matériel :

- 1) Pré-décontamination par trempage pendant 5 minutes dans une solution de NaClO à 0,5% qui sera jetée après usage, la présence de matières organiques réduisant l'action désinfectante de la solution.
- 2) Laver au savon et à l'eau, rincer abondamment.
- 3) Décontaminer par trempage pendant 20 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5%.
- 4) Effectuer trois rinçages successifs avec de l'eau bouillie, pour éliminer toute trace de désinfectant.
- 5) Laisser sécher à l'air sur un linge parfaitement propre.
- 6) Stocker dans une boîte décontaminée, hermétiquement scellée.

Ce protocole est destiné aux seuls dispositifs médicaux inoxydables (par exemple les instruments de petite chirurgie en acier inoxydable ou seringues de verre ou matériel en polyéthylène) à condition d'opérer à une température < 30°C, à une concentration n'excédant pas 1° chl. et en rinçant immédiatement après. En effet, les instruments métalliques (fer, acier chromé, nickel) sont très sensibles à l'effet corrosif de l'eau de Javel.

Résultats

Conservation d'une solution d'hypochlorite de sodium à 5%

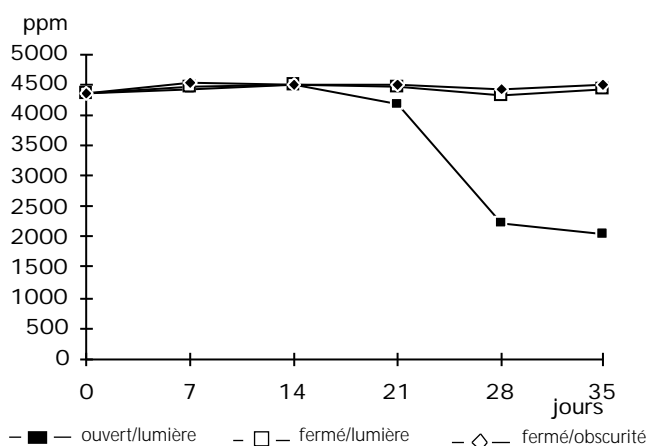
La concentration initiale en chlore disponible est de 4350 ppm.

Action de l'air et de la lumière

Les résultats sont présentés sur les figures 2, 3 et 4, après exposition à l'air et à la lumière, conditions les plus défavorables, durant 5 semaines. La teneur en chlore est encore de 2300 ppm si la solution est conservée dans un flacon de verre ou dans un flacon de PVC haute densité, alors qu'elle est de 3700 ppm si la solution est conservée dans un flacon en verre teinté.

Figure 1.

Influence de l'air et de la lumière sur la stabilité d'une solution d'hypochlorite de sodium (0,5% Cl₂) conservée dans un flacon en verre blanc.



Action de la chaleur (37°C)

La teneur en chlore diminue quasiment de façon identique, que la solution soit conservée dans un flacon en PVC haute densité, à l'abri de la lumière à une température de 37°C ou à température ambiante (25°C) pendant 35 jours (respectivement 7% et 4%).

Activité décontaminante

Aucun développement bactérien n'est observé sur le filtre pendant toute la durée de l'étude. L'hypochlorite de sodium conserve son activité bactéricide vis à vis de *Staphylococcus aureus* avec une teneur en chlore actif de 2300 ppm.

Figure 2.

Influence de l'air et de la lumière sur la stabilité d'une solution d'hypochlorite de sodium (0,5 % Cl₂) conservée dans un flacon en verre teinté.

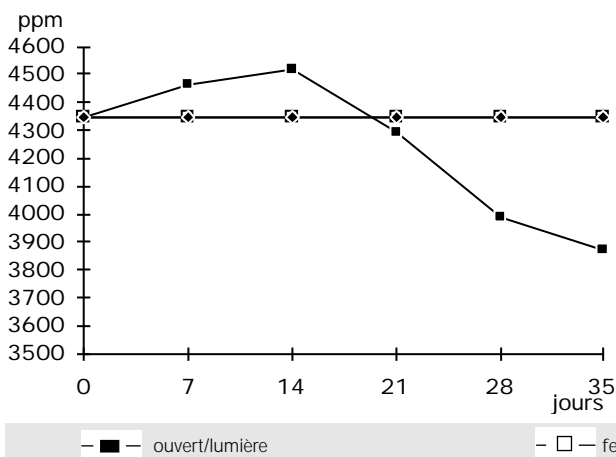
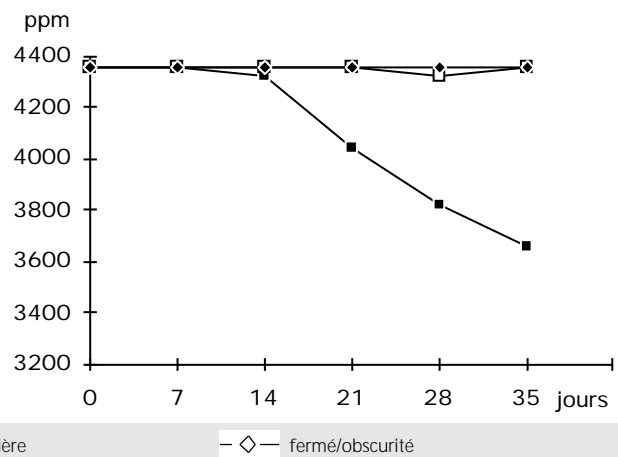


Figure 3.

Influence de l'air et de la lumière sur la stabilité d'une solution d'hypochlorite de sodium (0,5 % Cl₂) conservée dans un flacon en PVC



Traces de chlore actif

Des traces de chlore sont retrouvées dans l'eau après deux rinçages successifs de seringues en verre, respectivement de 30 et 10 ppm. Aucune trace n'est détectée lors du troisième rinçage pour ces seringues en verre. Aucune trace de chlore n'est détectable dans l'eau, dès le premier rinçage, en ce qui concerne les seringues en polyéthylène.

Discussion

Comme le montrent les graphiques, plusieurs facteurs accélèrent la dégradation de l'hypochlorite de sodium. L'exposition à la lumière est un facteur fondamental. La diminution du titre en chlore entre J0 et J35 est approximativement de 20% lorsque la solution est conservée dans un flacon de verre alors qu'elle n'est que de 5% si le même flacon est conservé à l'abri de la lumière (figure 3). L'air est également un facteur de réduction très important de la teneur en chlore, en particulier si la solution est exposée à la lumière, avec une action synergique de ces deux facteurs. La teneur en chlore diminue de moitié entre J0 et J35, lorsque la solution est conservée dans un flacon en verre blanc ouvert et exposé à la lumière (figure 2). Cette diminution n'est que de 20% si la solution est conservée dans un flacon en PVC dans les mêmes conditions (figure 4). Cette différence est encore moins nette lorsque la solution est conservée dans un flacon en verre teinté (réduction de 20% pour un flacon ouvert et de 3% seulement pour un flacon fermé). Bien que l'augmentation de la température accélère la décomposition de l'hypochlorite de sodium, ce paramètre ne paraît pas avoir une influence dans notre étude.

Cette étude démontre la relative stabilité de la solution d'hypochlorite de sodium contenant 0,5% de chlore actif, à la lumière, la chaleur et l'air. Ces données sont comparables avec les résultats publiés (1). L'action de la lumière sur la décomposition de l'hypochlorite de sodium est connue depuis longtemps. D'autres facteurs peuvent également influencer la conservation de la solution : la stabilité est meilleure pour un pH élevé, ce qui explique la bonne conservation de la solution à pH 11,15. Plus la concentration initiale est élevée, plus la diminution de teneur est rapide. En résumé, cette solution est un bon agent décontaminant car, même conservée dans les conditions les plus désavantageuses (lumière et air), elle conserve ses propriétés bactéricides pendant une période supé-

rieure à un mois. Ceci est en accord avec les résultats publiés, qui décrivent une action bactéricide rapide (moins d'une minute), pour une teneur minimale de 0,5 ppm en chlore actif (2). L'action sporicide nécessite une teneur en chlore 5 à 500 fois plus importante mais néanmoins bien inférieure à la valeur minimale trouvée dans notre étude. STAMM (8) a étudié l'activité de l'hypochlorite de sodium sur les amibocytes ; 4 ppm de chlore actif permet leur élimination de l'eau en 30 minutes. Mais il est rapporté que, dans des conditions particulièrement défavorables, jusqu'à 200 ppm peuvent être nécessaires.

L'action virucide est moins bien connue. Cependant, les travaux effectués par MARIS (4) ont montré qu'une solution de NaClO contenant 3170 ppm de chlore actif est active contre 7 virus non enveloppés, dont le très résistant poliovirus. Cette constatation permet de penser que cette solution est active contre les rétrovirus et en particulier contre le virus du sida. De plus, SPIRE *et al.* (7) ont mis en évidence qu'il persistait moins de 1 % de l'activité de la transcriptase inverse après un contact avec une solution contenant 0,2% d'hypochlorite de sodium. RESNICK *et al.* (5) ont montré que l'inféctivité du VIH n'est pas détectable, ce qui se traduit par une réduction de plus de 7 log du titre infectieux, après un contact d'une minute avec une solution à 0,5% d'hypochlorite de sodium.

En ce qui concerne le virus de l'hépatite B, l'équipe de SEHULTER (6) a mis en évidence en 1981 une détérioration immunologique et biophysique des antigènes de ce virus, *in vitro*, par des solutions contenant différentes concentrations de NaClO. Il apparaît que l'antigène HBs et le virus de l'hépatite B, en milieu aqueux ou en présence de faibles concentrations de protéines plasmatiques (2,5%), perd son pouvoir infectieux en moins de 5 minutes par l'addition d'une solution d'hypochlorite de sodium contenant 5600 ppm de chlore actif. La densité d'antigène HBs passe de 1,21 à 1,07 après traitement avec cette solution. Il a aussi été noté que l'activité DNA polymérase du virus de l'hépatite B était réduite à moins de 15% par rapport à un témoin après un contact de 10 minutes avec une solution d'hypochlorite de sodium contenant 2500 ppm de chlore actif. De la même façon, la réactivité de l'antigène HBc est significativement réduite (10 fois) après un contact de 2 minutes avec une solution de NaClO (5600 ppm), ce qui suggère une rupture de l'intégrité du virus.

Cette solution désinfectante agit sur les structures internes et externes des virus, ce qui permet d'envisager une action «*in vivo*». Cependant cette hypothèse, confirmée par d'autres études, suggère qu'un contact prolongé du matériel contaminé par l'HBV avec la solution étudiée serait efficace.

En raison de la présence de traces d'hypochlorite de sodium dans les deux premières eaux de rinçage des seringues en verre, il est important de préconiser les trois rinçages recommandés dans la méthode de décontamination du matériel de soins par une solution à 0,5% de NaClO, telle que présentée en annexe. Cependant, il a été montré qu'une injection accidentelle de petites quantités de NaClO restant dans la seringue ou l'aiguille après désinfection n'induit qu'une toxicité relativement faible (3). Ces résultats nous encouragent à poursuivre nos études avant de recommander cette procédure de décontamination pour le matériel de soins destiné à la voie parentérale.

Conclusion

Cette étude, dont le but était de démontrer la stabilité et l'activité antimicrobienne d'une solution d'hypochlorite de sodium (0,5%), facile à préparer, nous a amenés à proposer une méthode pour la décontamination du matériel de soins qui n'est pas sensible à l'oxydation. Cette solution constitue aussi un excellent décontaminant pour l'eau, le linge et les surfaces. Pour la désinfection de la peau saine ou lésée et des muqueuses, il est préférable d'utiliser une solution d'hypochlorite de sodium (0,5%), neutralisée à pH 7 (solution de Dakin). Cependant, il faut souligner que la conservation de cette dernière solution est moins bonne.

Les avantages de la solution désinfectante d'hypochlorite de sodium résident dans son activité bactéricide prouvée, son faible coût et sa bonne stabilité qui permet sa conservation pendant au moins un mois sans perte notable d'activité. Il semble donc que cette solution soit bien adaptée aux conditions de soins dans un dispensaire aussi bien que dans d'autres établissements de santé.

Références bibliographiques

1. BLOOMFIELD S F & FOX A - In : *Disinfectant : their use and evaluation of effectiveness* .- Ed. COLLINS C.H. & ALWOOD M.C. n°16. London, 1981, 77-83.
2. FRENEY J.- Composés chlorés. In : *Antiseptie et désinfection*. - J. Fleurette, J. Freney & E. Reverdy, éd. ESCA, Paris 1995, 199-221.
3. FRONER GA, RUTHERFORD GW & ROKEACH M - Injection of sodium hypochlorite by intravenous drug users. *JAMA*, 1987, **258**, 325.
4. MARIS P. - Activité de divers désinfectants sur 7 virus non enveloppés. *Annales de Recherche Vétérinaire*, 1986, **17**, 4, 433-439.
5. RESNICK LM, VEREN K, SALAHUDDIN SZ, TONDREAU S & MARKHAM PD - Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratories environments. *JAMA*, 1986, **255**, 1887-1891.
6. SEHULTER LM, HOLLINGER FB, DREESMAN GR & MELNICK JL - Immunological and biophysical alteration of hepatitis B virus antigens by sodium hypochlorite disinfection. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, **42**, 762-767.
7. SPIRE B, BARRE-SINOSSI F, MONTAGNIER L & CHERMANN JC - Inactivation of lymphadenopathy associated virus by chemical disinfectants. *Lancet*, 1984, **2**, 899-901.
8. STAMM WP - Amoebic aphorism. *Lancet*, 1970, **2**, 1355-1356.