

ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ *IN VIVO* D'UN SAVON CHIRURGICAL À BASE DE CHLORHEXIDINE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Marie-Laure, Michèle, Juliette TANNEUR
Née, le 6 octobre 1980 à PARIS (75)

Directeur de thèse : Mme le Docteur Patricia MEYNAUD

JURY

PRESIDENT :
M. Paul BONNEVIALLE

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
Mme Patricia MEYNAUD
M. André AUTEFAGE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

REMERCIEMENTS

A notre jury de thèse,

Monsieur le professeur Bonnevialle Paul,

Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse,
Praticien hospitalier,
Chirurgie orthopédique et traumatologique.

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse.
Hommages respectueux.

Madame le docteur Collard-Meynaud Patricia,

Maître de conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie chirurgicale.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la direction de notre thèse et qui nous a permis de réaliser ce travail.
Sincères remerciements.

Monsieur le professeur Autefage André,

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
Pathologie chirurgicale.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse.
Sincères remerciements.

A Laurent Flaus, président de la société Axience, sans qui ce travail n'aurait pas été réalisé.

Au Laboratoire Vétérinaire Départemental de Haute-Garonne,
Pour sa participation à l'étude expérimentale, avec nos respectueux sentiments.

A mes parents, pour leur soutien tout au long de ces années, leurs encouragements et leur amour : un grand merci

A Gérard, un grand frère formidable qui est toujours là pour moi.

A ma grand mère paternelle et ma mamie d'adoption, qui m'ont toujours soutenue et resteront dans mon cœur.

A toute ma famille, pour les bons moments passés et à venir.

A Alexandre, qui m'a soutenue dans les moments difficiles, qui m'apporte chaque jour un peu plus de bonheur et que j'aime énormément.

A Lulu, pour ces mercredis après-midi inoubliables, les fous rires partagés, sa bonne humeur et son amitié.

A mes amis, Emilie, Régis, Vanessa, Muriel et Matthieu, Manu et Virginie, Michel, David...pour les bons moments passés ensemble.

A mes animaux, qui m'ont donné envie de faire ce métier.

A mes poulottes, Anne, Marie-Laure et Stéphanie, qu'elles réussissent dans la vie !

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	1
TABLE DES ILLUSTRATIONS ET DES TABLEAUX	4
INTRODUCTION	5
I- Données bibliographiques	6
A- La désinfection chirurgicale	6
1- Définitions	6
a- Selon l'Association Française de NORmalisation (AFNOR)	6
α - L'antisepsie et les antiseptiques	6
β - La désinfection et les désinfectants	7
b- Selon le Comité Européen de Normalisation	7
2- Normes régissant l'évaluation de l'activité des antiseptiques et des désinfectants	8
a- Les normes AFNOR	8
b- Principe de la normalisation européenne : les normes EN	8
α - Normes de base ou de phase 1	8
β - Normes d'application de phase 2	9
δ - Normes d'application de phase 3	9
3- Ecologie microbienne de la peau : la flore cutanée et ses caractéristiques	9
a- La flore résidente	9
b- La flore transitoire	10
c- Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avant-bras	10
4- Désinfection chirurgicale des mains : techniques	11
a- La préparation	11
b- Le lavage et la désinfection des mains	11
α - Désinfection chirurgicale des mains à l'aide d'un désinfectant alcoolique	11
β - Désinfection chirurgicale des mains à l'aide d'un savon désinfectant	11
c- Le séchage	13
B- La chlorhexidine, les ammoniums quaternaires et les agents surgraissants : données bibliographiques	14
1- La chlorhexidine	14
a- Présentation	14
b- Indications de la chlorhexidine	14
c- Mode d'action	14
d- Spectre d'activité	14
e- Toxicité, contre-indications	15
f- Facteurs influençant l'activité de la chlorhexidine	15
g- Incompatibilités	15

2- Les ammoniums quaternaires	15
a- Indications des ammoniums quaternaires	15
b- Mode d'action	16
c- Spectre d'activité	16
d- Toxicité, contre-indications	16
e- Facteurs influençant l'activité des ammoniums quaternaires	16
3- Synthèse des données sur la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires	17
4- Les agents surgraissants	18
C- Présentation détaillée du savon désinfectant RIVADOUCE®	19
1- Domaine d'application	19
2- Composition et caractéristiques physico-chimiques	19
3- Normes appliquées au savon désinfectant Rivadouce ®	19
4- Etudes de toxicité	20
5- Précautions d'emploi du produit pur	21
6- Avantages du produit	21
7- Méthodes de désinfection recommandées par le laboratoire	22
a- Désinfection hygiénique	22
b- Désinfection chirurgicale	22
D- Méthodes d'évaluation de l'efficacité d'un désinfectant	23
1- Contexte des études	23
2- Protocoles expérimentaux décrits	23
a- Choix des volontaires	23
b- Organisation des études	23
c- Réalisation des prélèvements bactériologiques	24
d- Identification des bactéries	24
e- Etudes statistiques	25
II- Etude expérimentale	26
A- Matériels et méthodes	26
1- Objectifs de l'étude	26
2- Matériels	26
a- L'opérateur	26
b- Accessoires de l'opérateur	26
c- Boîtes de gélose nutritive	26
d- Aérobicollecteur air IDEAL® (Biomérieux®)	27
e- Savon désinfectant chirurgical Rivadouce®	27
f- Eau courante du robinet	27

3- Méthodes	28
a- Description globale du protocole expérimental	28
b- Description de chaque série	31
α- Série n°1	31
β- Série n°2	32
γ- Série n°3	32
c- Dénombrement et identification des bactéries	32
 B- Résultats	 33
1- Série n°1	34
2- Série n°2	34
3- Série n°3	35
 C- Discussion	 36
 III- Conclusion de l'étude	 39
 IV- Bibliographie	 40
 ANNEXE 1: Composition de la flore résidente	 43
 ANNEXE 2 : Exemples de Normes AFNOR et EN applicables aux antiseptiques et désinfectants miscibles à l'eau	 44
 ANNEXE 3 : Résultats des bactériologies d'ambiance A1 à A3 (série n° 1)	 45
 ANNEXE 4 : Résultats bactériologiques des prélèvements cutanés D1 à D3 et G1 à G3 (série n° 1)	 46
 ANNEXE 5 : Résultats des bactériologies d'ambiance B1 à B3 et C1 (séries n° 2 et 3)	 47
 ANNEXE 6 : Résultats bactériologiques des prélèvements cutanés D4 à D9 et G4 à G6 (séries n° 2 et 3)	 48

TABLE DES ILLUSTRATIONS ET DES TABLEAUX

Photo 1 : Bouteille de savon désinfectant Rivadouce® avec pompe doseuse	21
Photo 2 : Aérobiocollecteur airIDEAL®	27
Photo 3 : Prélèvement bactériologique avant lavage des mains	28
Photo 4 : Distribution de 2ml de savon Rivadouce® à l'aide de la pompe doseuse	29
Photo 5 : Lavage soigneux des mains et des avant-bras	29
Photo 6 : Séchage avec un essuie main stérile	30
Photo 7 : Prélèvement bactériologique après désinfection des mains	30
Photo 8 : Equipement de l'opérateur après désinfection des mains	31
Photo 9 : Boite de gélose D1 après incubation	33
Photo 10 : Boite de gélose B1 après incubation	33
Figure 1 : Technique de lavage des mains en 6 étapes	12
Tableau 1 : Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avant-bras	10
Tableau 2 : Spectre d'activité de la chlorhexidine	15
Tableau 3 : Spectre d'activité des ammoniums quaternaires	16
Tableau 4 : Synthèse des données concernant la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires	17
Tableau 5 : Résumé des études microbiologiques réalisées sur le savon désinfectant RIVADOUCE®	20
Tableau 6 : Tableau récapitulatif du déroulement des séries	32
Tableau 7 : Résultats de la série n°1	34
Tableau 8 : Résultats de la série n°2	35
Tableau 9 : Résultats de la série n°3	35

INTRODUCTION

Aujourd'hui, les vétérinaires sont de plus en plus exigeants en matière de désinfection chirurgicale. Avec les progrès techniques, l'amélioration de la formation des chirurgiens et la demande grandissante de la clientèle, d'avantage d'interventions chirurgicales sont réalisées dans divers domaines (orthopédie, chirurgies thoraciques et abdominales, chirurgies reconstructrices...), en plus des interventions de convenance. Les actes chirurgicaux sont donc devenus plus courants, mais aussi plus compliqués, plus longs et plus exigeants en matière d'asepsie.

Le vétérinaire doit alors disposer d'un savon efficace, permettant d'assurer la meilleure désinfection possible de la peau du chirurgien et du patient pendant toute la durée de l'opération.

De nombreux savons chirurgicaux existent sur le marché vétérinaire, mais ces produits ne représentent en réalité que quelques familles de désinfectants : solutions alcooliques, povidone iodée, chlorhexidine, ammoniums quaternaires.

Le vétérinaire a donc peu de choix parmi des produits qui présentent certains inconvénients : - les solutions alcooliques n'ont pas d'activité résiduelle et provoquent un dessèchement cutané ;

- la povidone iodée est absorbée par la peau. Elle est légèrement irritante pour l'hygiène manuelle et certains individus y sont allergiques ;

- la chlorhexidine provoque également quelques réactions allergiques et de rares kératites [1].

L'utilisation de ces produits se révèle souvent peu confortable lors d'utilisations répétées : la peau devient sèche voire même irritée.

Un savon destiné à la désinfection chirurgicale de la gamme Rivadouce ® a été présenté par la société Axience au service de chirurgie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse en début d'année 2004. Ce savon est essentiellement composé de chlorhexidine associée à un ammonium quaternaire et à des agents surgraissants. Il est présenté comme étant adapté à la désinfection chirurgicale des mains et moins agressif pour la peau que les autres savons chirurgicaux.

Ce savon est déjà utilisé depuis quelques années dans le milieu hospitalier et dispose d'une autorisation de mise sur le marché vétérinaire. Ce produit répond à des normes européennes concernant la désinfection chirurgicale, mais il n'a pas fait l'objet d'étude de rémanence *in vivo* (persistance de l'effet anti-microbien du savon sur la peau après lavage chirurgical) [2].

L'objectif de cette thèse a été d'évaluer l'activité bactéricide du savon chirurgical Rivadouce® sur les mains d'un chirurgien, lors de la désinfection chirurgicale et sur la durée.

Dans un premier temps, ce travail présentera les données bibliographiques concernant la désinfection chirurgicale, le savon à tester et les principes actifs composant ce produit.

Les chapitres suivants seront consacrés à la réalisation, la présentation des résultats et des conclusions d'une étude expérimentale testant l'efficacité et la rémanence du savon chirurgical Rivadouce ®, réalisée à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

I- Données Bibliographiques

Les données bibliographiques recueillies dans ce chapitre visent à définir le vocabulaire relatif à la désinfection chirurgicale, à présenter les normes françaises et européennes en matière de désinfection et à donner une vue d'ensemble sur l'écologie microbienne cutanée. Une présentation détaillée du savon sera réalisée ainsi qu'une synthèse bibliographique concernant les différents principes actifs. Des protocoles expérimentaux, utilisés pour évaluer l'efficacité de produits désinfectants, seront exposés dans une dernière partie.

A- La désinfection chirurgicale

1- Définitions

Les antiseptiques et les désinfectants sont des produits :

- capables d'inhiber la croissance des micro-organismes (bactériostase, fongistase, virustase) ;
- pouvant avoir une action létale sur les micro-organismes (bactéricidie, fongicidie, virucidie, sporicidie).

Certains antiseptiques et désinfectants présentent ces deux modes d'action en fonction des doses utilisées et des germes rencontrés. Le mécanisme d'action des produits varie d'une famille à l'autre : coagulation des organites intracellulaires, altération de la membrane... Selon leur nature et leur concentration, les antiseptiques et désinfectants ont une ou plusieurs cibles à l'intérieur de la cellule. Ils doivent donc traverser la paroi cellulaire pour exercer leur action [2].

Il semble important de définir certains termes concernant la désinfection et l'antisepsie chirurgicales, afin d'éviter certaines confusions.

a- Selon l'Association Française de NORmalisation (AFNOR)

La norme AFNOR NF T 72-101 de mars 1981 permet de mieux cadrer les notions d'antisepsie et de désinfection [3].

α - L'antisepsie et les antiseptiques

L'**antisepsie** (du grec "anti" : contre et "septikos" dérivé de "sepein" : corrompre), désigne une « opération au résultat momentané permettant, **au niveau des tissus vivants**, dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération » [4].

Un **antiseptique** est un « produit ou procédé utilisé pour l'antisepsie dans des conditions définies. Si le produit ou le procédé est sélectif, ceci doit être précisé. Ainsi, un antiseptique ayant une action létale limitée aux champignons est nommé " antiseptique à action fongicide ". Il est présenté dans sa forme d'utilisation et doit être utilisé comme tel sauf exception justifiée et autorisée»[4] .

L' action des antiseptiques est de courte durée. Elle vise les micro-organismes présents au moment de l'application : c'est-à-dire **qu'elle ne prévient pas une possible recontamination**. Enfin, comme le rappelle la définition, il ne faut pas s'attendre à une

décontamination totale : les « objectifs fixés » demeurent une diminution optimale du titre bactérien [4].

Les antiseptiques sont donc des préparations ayant la propriété d'éliminer les micro-organismes ou d'inactiver les virus sur des tissus vivants (peau saine, muqueuses, plaies). (Xème édition de la Pharmacopée française (Janvier 1990)). Ils n'altèrent pas les tissus sur lesquels ils sont placés [2].

β- La désinfection et les désinfectants

La désinfection, quant à elle, est une « opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des **milieux inertes contaminés**, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération » [4].

Une désinfection est un procédé dont l'objectif est bien défini : elle vise à supprimer le danger lié à la présence de certains micro-organismes. Son but est de réduire le nombre de micro-organismes à un niveau tel que le risque de transmission d'une infection puisse être éliminé dans une application particulière [5].

Un désinfectant est alors un "produit ou procédé utilisé pour la désinfection ou la décontamination dans des conditions définies".

La décontamination ou pré-désinfection constitue l'étape préalable à la désinfection : c'est le premier traitement à effectuer sur le matériel souillé par des matières organiques, dans le but de diminuer la population des micro-organismes et de faciliter le nettoyage ultérieur [2].

b- Selon le Comité Européen de Normalisation

→ le terme d'**antisepsie** devrait être réservé au cas où l'opération est destinée au traitement d'une infection constituée ;

→ le terme de **désinfection** désigne une opération visant à prévenir une infection.

Il faut ainsi parler de désinfection de la peau saine, de désinfection des mains, mais d'antisepsie d'une plaie.

En ce qui concerne le lavage et la désinfection des mains, la normalisation européenne utilise le terme "hygiénique" à la place du terme "antiseptique". Le terme de lavage hygiénique des mains correspond à l'utilisation d'un savon antiseptique. Celui de friction hygiénique correspond à un lavage réalisé à l'aide une solution hydro-alcoolique pour la désinfection des mains sans rinçage [2].

Si jusqu'ici la distinction mentionnée par l'AFNOR avait le mérite de la clarté, la définition selon les normes européennes est différente : un désinfectant est un produit de désinfection destiné à être appliqué sur les matières inertes mais aussi sur la peau saine.

Ceci introduit une confusion, car un produit comme la chlorhexidine sera à la fois un désinfectant (appliqué sur la peau saine) et un antiseptique (appliqué sur la peau lésée ou des muqueuses), alors qu'elle est inadéquate pour la désinfection des matières inertes [5].

En pratique, les définitions du Comité Européen de Normalisation sont les plus fréquemment suivies.

2- Normes régissant l'évaluation de l'activité des antiseptiques et des désinfectants

Les antiseptiques et les désinfectants doivent répondre à certaines normes pour être commercialisés en tant que tels. En France, ces normes sont fixées par l'Association Française de Normalisation (normes AFNOR) et par le Comité Européen de Normalisation (normes EN) (Annexe 2).

a- Les normes AFNOR

L'AFNOR (Association Française de Normalisation) a été créée en 1926. L'étude de l'activité des antiseptiques et des désinfectants est standardisée par l'AFNOR depuis 1975. Les normes AFNOR décrivent des méthodes *in vitro* permettant d'évaluer la concentration minimale du produit qui, dans des conditions déterminées de température et de temps de contact, provoque la réduction, dans des proportions préalablement définies, d'une population initiale microbienne [2].

L'application de ces normes s'effectue en trois phases :

1. mise en contact du produit à tester avec un inoculum microbien ;
2. annulation de l'activité du produit à l'issue du temps de contact selon deux méthodologies possibles :
 - par dilution/neutralisation du mélange (micro-organismes / produit) (norme NFT 72-190) ;
 - par filtration du mélange sur une membrane (norme NFT 72-151) ;
3. mise en culture des germes survivants par culture en milieu approprié.

Les tests sont réalisés à la température de 20°C.

Chacune des deux méthodologies présente des avantages et des inconvénients : la norme NFT 72-151 est facile à réaliser, permet d'essayer un grand nombre de produits en peu de temps, mais s'éloigne des conditions réelles dans lesquelles a lieu l'antisepsie. La norme NFT 72-190 est plus proche de la pratique mais d'exécution plus délicate. En outre, il est impossible à l'issue du temps de contact micro-organisme/produit, d'interrompre rapidement et complètement l'action de l'antiseptique qui se poursuit dans le diluant ; l'emploi de neutralisants, ou l'exécution aussi rapide que possible des essais sont parfois nécessaires [2, 4].

b- Principe de la normalisation européenne : les normes EN

Les normes européennes comportent des normes de base (dites de phase 1) et des normes d'application (de phase 2 et 3) adaptées au domaine d'utilisation : par exemple, la désinfection des surfaces en agro-alimentaire, la désinfection des dispositifs médicaux...[2] :

α- Normes de base ou de phase 1

Des essais en suspension sont réalisés pour évaluer l'activité de base du produit : le produit est mis en contact avec une suspension de micro-organismes en milieu liquide. Cette phase, appliquée aux activités bactéricides (NF EN 1040 ou NF T 72-152) et fongicides (NF EN 1275 ou NF T 72-202), correspond aux anciennes normes AFNOR NF T 72-150/151 et NF T 72-200/201.

β- Normes d'application de phase 2

Les produits répondant à ces normes ont fait l'objet d'essais en laboratoire dans des conditions les plus représentatives possibles de la pratique hospitalière, afin de déterminer la concentration efficace et les indications. Cette phase est divisée en 2 étapes :

- 1^{ère} étape : des essais en suspension sont pratiqués comme pour la phase 1, dans des conditions plus proches de la pratique : essais, par exemple, en présence d'espèces de micro-organismes spécifiques de l'application et/ou en présence de substances interférentes définies (protéines, eau dure, etc ...).

- 2^{ème} étape : des essais simulant la pratique sont réalisés, par exemple sur porte-germes pour les désinfectants de surface, sur des mains artificiellement contaminées pour les produits destinés à la désinfection des mains par lavage ou friction.

δ- Normes d'application de phase 3

Des essais sont effectués sur le terrain, dans des conditions pratiques d'utilisation, afin de confirmer la concentration efficace. Par exemple, ces essais peuvent être pratiqués avec des souches hospitalières [2].

3- Ecologie microbienne de la peau : la flore cutanée et ses caractéristiques

La flore cutanée est constituée d'une flore résidente (micro-organismes implantés de manière permanente sur la peau) et d'une flore transitoire, de contamination récente [6].

a- La flore résidente

La flore résidente, également nommée de séjour ou commensale, est la flore physiologique non pathogène. Elle est constituée de bactéries qui habitent, survivent et se multiplient sur la peau. La plupart de ces micro-organismes sont situés dans les couches superficielles de la peau mais une partie d'entre eux se trouvent aussi dans les couches profondes. Ces espèces se sont installées de façon prolongée, voire permanente, au niveau de l'épiderme, dans les canaux des glandes sébacées et des follicules pileux. Ils y trouvent les éléments nécessaires à leur métabolisme et à leur multiplication.

La flore résidente comprend des bactéries (Annexe 1) :

- aérobies : *Staphylococcus epidermidis*, Corynébactéries, Microcoques ;
- anaérobies : essentiellement *Propionibacterium acnes*.

Ces bactéries sont habituellement peu pathogènes chez l'homme sain, car elles jouent un rôle de barrière en s'opposant à l'implantation d'autres espèces potentiellement pathogènes. Elles sont à l'origine d'infection lorsqu'elles sont introduites dans l'organisme lors de procédures invasives, telles qu'une intervention chirurgicale, une plaie, une ponction, un cathétérisme...

Cette flore est difficile à éliminer et se reconstitue rapidement (4 à 6 heures), à partir de la flore de voisinage et des bactéries survivantes. Le port de gants chirurgicaux accélère le processus : le milieu, chaud et humide, est idéal pour une croissance rapide des micro-organismes. La flore résidente est seulement réduite malgré l'action mécanique du lavage et l'action bactéricide des antiseptiques [6, 7].

b- La flore transitoire

La flore transitoire est composée de micro-organismes ayant contaminés récemment la peau et provenant :

- du tube digestif ;
- de l'environnement ;
- de matériel contaminé ;
- du contact avec des individus colonisés ou infectés.

La plupart du temps, ces micro-organismes séjournent brièvement sur la peau car ils sont incapables de se multiplier en surface, ni même de survivre plus de quelques heures au niveau de la peau saine. La flore résidente a un effet protecteur qui empêche ces micro-organismes de survivre longtemps. En outre, l'environnement cutané est peu favorable à leur croissance (froid, sécheresse...) [6, 7]

La flore transitoire se compose essentiellement de :

- Entérobactéries ;
- *Pseudomonas spp* provenant de l'environnement ;
- Klebsielles ;
- Streptocoques du groupe A ;
- *Enterococcus spp* ;
- *Staphylococcus aureus* ;
- *Candida albicans* : chez les sujets immunodéprimés ou diabétiques ;
- Spores de *Bacillus spp* et *Clostridium spp*, provenant de l'environnement.

Cette flore est totalement éliminée par un lavage simple ou hygiénique des mains avec un savon antiseptique. [6, 8]

c- Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avant-bras

Le tableau 1 présente une estimation de la contamination bactérienne cutanée des mains, des avant bras et du pli du coude.

Les mains sont les zones les plus contaminées par les bactéries (4 à 7 \log_{10}/cm^2) et en comportent 1,5 à 5 fois plus que les avant-bras. Les Corynébactéries sont majoritaires dans la contamination bactérienne de la peau des avant-bras et du pli du coude, contrairement à la contamination des mains, qui est plus diversifiée. Les follicules pilo-sébacés sont de grands réservoir à Staphylocoques et à *Propionibacterium spp* [9].

Tableau 1 : Estimation quantitative de la flore cutanée des mains et des avant-bras.

Localisation	Densité bactérienne
Mains	<ul style="list-style-type: none">• 4 à 7 \log_{10}/cm^2
Avant-bras et pli du coude	<ul style="list-style-type: none">• 1,2 à 5,6 \log_{10}/cm^2• dont 2,1 \log_{10}/cm^2 de Corynébactéries
Follicules pilo-sébacés	<ul style="list-style-type: none">• 3,5 à 5,6 \log_{10}/cm^2 de Staphylocoques et• 5 \log_{10}/cm^2 de <i>Propionibacterium spp</i>

4- Désinfection chirurgicale des mains : techniques

La désinfection chirurgicale des mains constitue la désinfection pré-opératoire.

Elle est différente du lavage hygiénique de mains, qui a pour objectif de nettoyer les mains de toute souillure visible ou invisible, sans nécessairement détruire les micro-organismes. Lors du lavage hygiénique des mains, une partie de la flore transitoire est éliminée en même temps que les souillures [7].

La désinfection chirurgicale des mains, quant à elle, a pour objectif de détruire la flore transitoire, ainsi que de réduire et freiner le développement de la flore résidente. Associée à l'effet bactéricide immédiat, cette désinfection chirurgicale recherche un effet prolongé de 2 à 6 heures [7].

La désinfection chirurgicale des mains comprend 3 phases :

- la préparation ;
- le lavage et la désinfection des mains et des avants-bras ;
- le séchage.

a- La préparation

Il faut enlever les montres et les bijoux. Le calot (ou la charlotte) et le masque doivent être mis en place [7]. Les ongles des mains doivent être coupés courts, être lisses et sans vernis. Le vernis écaillé peut retenir une charge bactérienne et en outre, masquer la saleté qui se trouve sous les ongles [10].

b- Le lavage et la désinfection des mains

Il existe deux techniques de désinfection chirurgicale des mains : la friction avec un désinfectant alcoolique et le lavage avec un savon désinfectant.

α - Désinfection chirurgicale des mains à l'aide d'un désinfectant alcoolique

Lors de désinfection avec un désinfectant alcoolique, les mains et les avant-bras sont lavés selon une méthode classique de lavage hygiénique des mains : les mains et les avant-bras mouillés sont frottés soigneusement à l'aide d'un savon liquide, de sorte que toutes les zones soient frottées 10 secondes minimum, puis séchées. Une friction est ensuite effectuée, avec une quantité de désinfectant alcoolique telle que les mains et les avants bras soient abondamment couverts. La peau sèche ensuite au contact de l'air [7].

β - Désinfection chirurgicale des mains à l'aide d'un savon désinfectant

Notre étude étant réalisée sur un savon désinfectant, la technique de lavage avec un savon sera plus particulièrement détaillée.

Lors de la désinfection chirurgicale des mains avec un savon désinfectant, les temps de contacts sont déterminés en fonction du produit utilisé [7]. Deux étapes principales sont décrites :

✕ Premier temps :

- mouiller les mains et les avant bras jusqu'aux coudes. Actionner à cet effet le levier du robinet au moyen du coude et le régler afin d'obtenir un débit et une température modérée ;

- mettre du savon désinfectant dans la paume de la main en poussant le levier du distributeur à l'aide du coude ou du front ;

- frotter les mains et les avant-bras durant le temps recommandé par le fabricant, sans ajouter d'eau. Veiller à frotter toutes les parties des mains (figure 1) ;

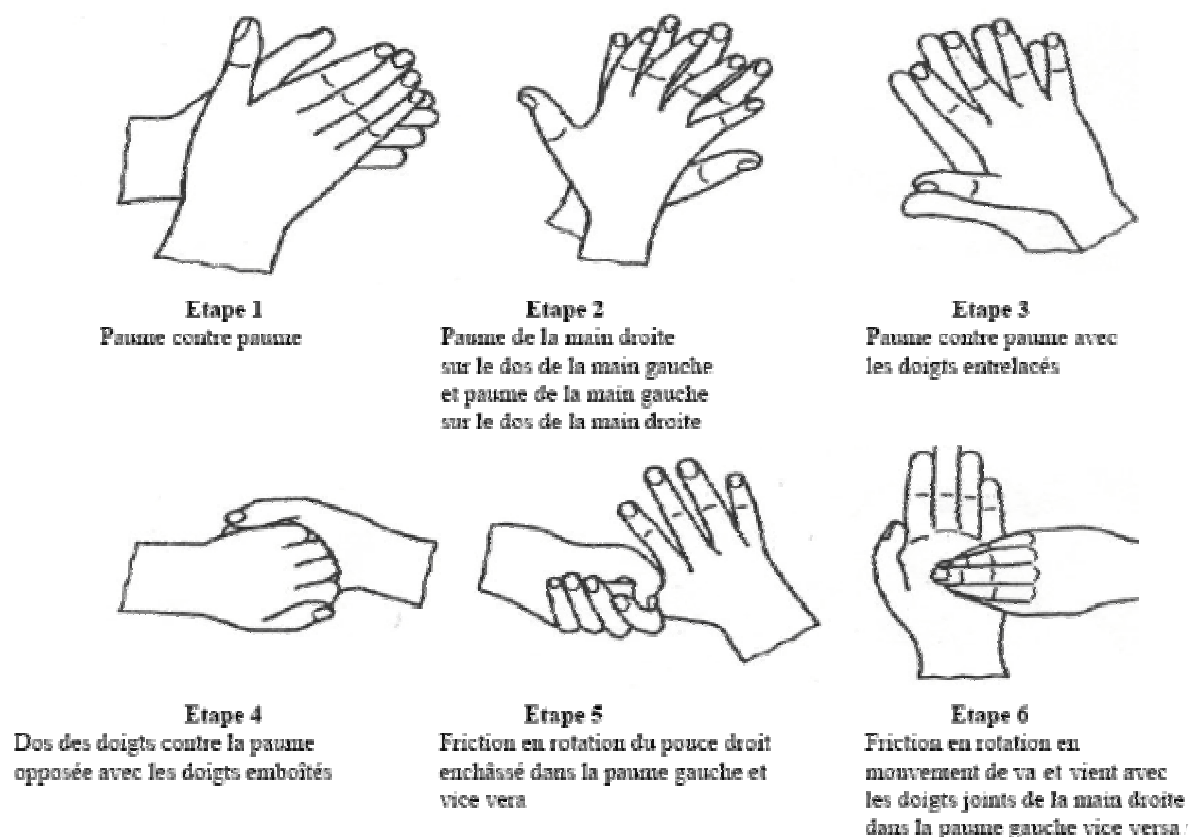


Figure 1 : Technique de lavage des mains en 6 étapes [11].

- utiliser une brosse pour les ongles et les espaces interdigitaux. Brosser soigneusement les ongles ;

- rincer abondamment les mains et les avant-bras en veillant à ce que les mains restent plus haut que les coudes, afin d'éviter que l'eau de rinçage ne reflue sur les mains [7].

✘ Deuxième temps :

- prendre à nouveau le même savon désinfectant dans la paume de la main en actionnant le levier du distributeur au moyen du coude ou du front ;

- frotter les mains et les avant bras sans ajouter d'eau durant le temps prescrit, en veillant à laver toutes les parties des mains ;

- rincer les mains et les avant-bras de la même manière que précédemment [7].

c- Le séchage

Prendre une serviette stérile et sécher en tamponnant une main, en commençant par les doigts, ensuite la paume et enfin, l'avant-bras. Jeter la serviette et recommencer de la même manière pour l'autre main et l'avant-bras avec un nouvelle serviette stérile [7].

B- La chlorhexidine, les ammoniums quaternaires et les agents surgraisants : données bibliographiques.

1- La chlorhexidine

a- Présentation

La chlorhexidine appartient à une famille d'antiseptiques : les Biguanides. Elle est généralement utilisée sous forme de digluconate ou de diacétate de chlorhexidine. Des formulations moussantes contenant des agents tensio-actifs, permettent de réaliser un lavage hygiénique ou chirurgical des mains ainsi que la préparation d'un champ opératoire [2].

b-Indications de la chlorhexidine

La chlorhexidine a plusieurs indications :

- elle est utilisée pour réaliser le nettoyage et l'antiseptie de plaies chirurgicales, de plaies traumatiques peu profondes et de brûlures à différents degrés de gravité ;
- la chlorhexidine fait partie de la composition de savons utilisés pour le lavage hygiénique ou chirurgical des mains et pour la préparation du champ opératoire ;
- elle entre également dans la composition de nombreux produits destinés à l'hygiène bucco-dentaire : dentifrices, solutions pour bain de bouche...[2, 12].

c- Mode d'action

La chlorhexidine est un agent cationique qui réagit avec les groupements chargés négativement de la paroi bactérienne. Elle est immédiatement adsorbée à la surface des bactéries. L'effet sur la cellule bactérienne dépend de la quantité de produit adsorbé et du type de micro-organisme :

- pour des concentrations faiblement bactéricides, la paroi cellulaire est altérée. Ceci permet la fuite des éléments cytoplasmiques et l'inhibition de certaines enzymes cellulaires. La cellule n'est pas forcément détruite mais son développement est compromis ;
- pour des concentrations fortement bactéricides, la cellule paraît intacte, mais le cytoplasme apparaît coagulé, probablement par précipitation des protéines et de l'acide nucléique. La cellule meurt [2].

L'action est rapide, quelques minutes de contact avec les micro-organismes suffisent pour obtenir un effet. La rémanence de la chlorhexidine est excellente : des études réalisées *in vivo* ont montré que son effet se poursuivait de manière optimale pendant une durée d'au moins 2 heures [1, 13]. Les objectifs principaux de ces études n'étaient pas d'évaluer la durée de la rémanence de la chlorhexidine : l'efficacité de la chlorhexidine n'a donc pas été mesurée *in vivo* au-delà de 2 heures.

d- Spectre d'activité

La chlorhexidine est bactéricide sur les bactéries à gram positif et à un moindre degré sur les bactéries à gram négatif : l'apparition d'une résistance à la chlorhexidine de *Pseudomonas aeruginosa* est rapportée par différents auteurs (tableau 2) [14]. Elle est peu active sur les Mycobactéries. Elle n'est ni sporicide, ni virucide. La chlorhexidine a une action anti-fongique sur *Candida albicans*. Une association avec l'alcool permet de renforcer son activité sur les Mycobactéries et d'avoir une action virucide sur les virus enveloppés [12,15].

Tableau 2 : Spectre d'activité de la chlorhexidine [12, 14, 15].

Micro-organismes	Action létale
<u>Bactéries gram+</u>	Excellente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bonne
<u>Bactéries gram-</u>	Bonne
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Moyenne
<i>Escherichia coli</i>	Bonne
<i>Enterococcus faecalis</i>	Bonne
<i>M. tuberculosis</i>	Mauvaise
<i>Candida spp</i>	Moyenne
virus nus	Moyenne
virus enveloppés	Moyenne à bonne
spores	Mauvaise

e- Toxicité, contre-indications

La chlorhexidine provoque rarement quelques réactions allergiques cutanées locales (irritation, érythème, urticaire). Elle est toxique pour les éléments de l'oreille moyenne et ne doit pas être utilisée dans le conduit auditif lors de perforation tympanique [3].

f- Facteurs influençant l'activité de la chlorhexidine

Les protéines et les matières organiques (sang, pus) diminuent légèrement l'activité de la chlorhexidine [1]. Les minéraux, l'eau dure et un pH > 8 provoquent une précipitation de la chlorhexidine. L'association avec les ammoniums quaternaires et l'alcool potentialise l'activité de la chlorhexidine [2].

g- Incompatibilités

La chlorhexidine est incompatible avec les savons : en cas d'utilisation d'un savon sur la peau, il faudra bien le rincer avant d'y appliquer un produit à base de chlorhexidine [16].

Son activité est fortement diminuée en présence d'halogènes, d'aldéhydes, de dérivés chlorés, iodés et mercuriels. Elle ne doit pas être associée aux tensio-actifs anioniques et non ioniques.

Elle ne doit pas être contenue dans des récipients en polyéthylène à basse densité et est incompatible avec le tanin contenu dans les bouchons de liège [2].

2- Les ammoniums quaternaires

Les ammoniums quaternaires sont des tensio-actifs cationiques, qui présentent de bonnes propriétés détergentes. Les deux principaux composés sont le chlorure de benzalkonium et le bromure de cétyltriméthyl-ammonium. Ils sont toujours utilisés en association avec de l'alcool pour potentialiser leur action [5, 15].

a- Indications des ammoniums quaternaires

Les ammoniums quaternaires sont utilisés pour l'antisepsie et le nettoyage de la peau saine et des muqueuses. Ils servent également dans le traitement d'appoint des affections dermatologiques [2].

b- Mode d'action

Les ammoniums quaternaires agissent par inactivation des enzymes et dénaturation des protéines cellulaires. Ils perturbent la perméabilité de la paroi des cellules. Les substances contenues dans les cellules se retrouvent alors dans le milieu extérieur, entraînant la destruction de celles-ci [17].

c- Spectre d'activité

En fonction de leur concentration, les ammoniums quaternaires sont bactéricides ou bactériostatiques sur les bactéries à gram positif (tableau 3). Ils sont uniquement bactériostatiques sur les bactéries à gram négatif, car celles-ci ne possèdent pas de paroi. Ils sont peu actifs sur les *Pseudomonas* qui peuvent résister à de fortes concentrations. Les ammoniums quaternaires sont fongistatiques et inactifs sur les Mycobactéries. Leur efficacité est faible sur les virus enveloppés et nulle sur les virus nus et les spores [17].

Tableau 3 : Spectre d'activité des ammoniums quaternaires

Micro-organismes	Action létale
Bactéries gram+	Bonne
Bactéries gram-	uniquement bactériostatique
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mauvaise
<i>Escherichia coli</i>	Bonne
<i>M. tuberculosis</i>	Mauvaise
<i>Candida spp</i>	Bonne (fongistatique)
virus nus	Nulle à moyenne
virus enveloppés	Moyenne
spores	Mauvaise

d- Toxicité, contre-indications

Tout comme la chlorhexidine, les ammoniums quaternaires ne doivent pas être utilisés dans le conduit auditif en cas de perforation tympanique. Ils présentent une toxicité pour les éléments de l'oreille moyenne.

Le contact doit être évité avec les yeux et les muqueuses génitales (risque de vaginite et de balanite).

Enfin, les ammoniums quaternaires sont hémolytiques et curarisants par voie orale, il ne doivent donc pas être administrés *per os* [2].

e- Facteurs influençant l'activité des ammoniums quaternaires

Ces antiseptiques sont très sensibles aux conditions du milieu :

- ils sont moins actifs en milieu alcalin ;
- leur activité est réduite de 50 à 150 fois en présence de matières organiques ou de savon ;
- leur efficacité est réduite en présence d'eau dure et de composés anioniques ou non ioniques (polysorbates) ;
- ils précipitent en présence de solutions iodo-iodurées, iodo-mercurate de potassium, de sels d'or [2, 5].

3- Synthèse des données sur la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires

Le tableau 4 récapitule les données concernant les mécanismes d'action, les spectres d'activité, les cinétiques d'activité et les particularités de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires.

Ces deux antiseptiques n'utilisent pas les mêmes modes d'action pour détruire les micro-organismes : leur spectre d'activité est donc différent. Le spectre d'activité des ammoniums quaternaires est plus étroit que celui de la chlorhexidine ; l'activité sur les virus et les *Pseudomonas* est faible, cependant l'action fongistatique sur les espèces de *Candida* est efficace. L'association de la chlorhexidine et d'un ammonium quaternaire, sous condition qu'il n'existe pas d'antagonisme entre ces deux antiseptiques, permet d'élargir le spectre d'action sur les micro-organismes. Il faut noter que l'action sur *M. tuberculosis*, *P. aeruginosa* et les spores reste de mauvaise qualité.

La chlorhexidine est présentée comme ayant une bonne rémanence, bien qu'aucune étude ne l'ait exactement déterminée *in vivo* à ce jour. Son effet n'est pas perturbé par la présence de matière organiques, contrairement aux ammoniums quaternaires.

Tableau 4 : synthèse des données concernant la chlorhexidine et les ammoniums quaternaires [1, 2,17]

	Chlorhexidine	Ammonium quaternaire
Mécanisme d'action	Destruction de la paroi	Déstabilisation de la paroi Dénaturation des protéines
Action sur les gram+	Excellente	Bonne
Action sur les gram-	Bonne	Bonne
Action sur <i>M. tuberculosis</i>	Mauvaise	Mauvaise
Action sur <i>P. aeruginosa</i>	Variable	Mauvaise
Action sur <i>E. coli</i>	Bonne	Bonne
Action sur <i>Candida</i> spp	Moyenne	Bonne
Action sur les virus nus	Moyenne	Nulle à moyenne
Action sur les virus enveloppés	Moyenne à bonne	Moyenne
Action sur les spores	Mauvaise	Mauvaise
Rapidité d'action	Quelques minutes (2-5 min)	Quelques minutes (2-5min)
Rémanence	Excellente	Mauvaise
Inactivation par la matière organique	Minime	Forte
Sécurité, toxicité	Réactions allergiques cutanées rares, ototoxicité	Ototoxicité, toxique par contact pour les yeux et les muqueuses, hémolytique et curarisant par voie orale

4- Les agents surgraissants

Les agents surgraissants sont des adjuvants constitués d'une substance lipidique employée dans les détergents, les savons, les produits nettoyants et les produits de maquillage, afin de protéger l'épiderme contre le dessèchement [18]. Ils permettent de diminuer l'agressivité cutanée d'un produit de base [9].

Les huiles naturelles ou synthétiques sont souvent employées comme surgraissant, ainsi que les triglycérides naturels : calendula, avocat, amande douce [18].

De nombreux savons répondant aux normes européennes contiennent des agents surgraissants. Cependant l'action de ces surgraissants sur l'effet désinfectant n'a pas fait l'objet d'étude approfondie [9].

C- Présentation détaillée du savon désinfectant RIVADOUCE®

Le savon désinfectant Rivadouce® (anciennement savon liquide nettoyant et antiseptique Dynaderm®) est un savon liquide lavant et désinfectant, formulé spécialement pour le lavage hygiénique des mains. Les spécificités de ce savon seront successivement présentées dans ce chapitre.

1- Domaine d'application

Ce savon s'emploie avant tout geste aseptique et de façon systématique avant et après tout contact avec un patient ou du matériel contaminant. Il est utilisé pour le lavage hygiénique et le lavage chirurgical des mains. Il peut aussi être utilisé pour la toilette du patient (douche pré-opératoire) [19]. Chez l'animal, ce savon est également recommandé pour le lavage pré-opératoire du site d'intervention [20].

2- Composition et caractéristiques physico-chimiques

Pour des raisons de secret de fabrication, les laboratoires Rivadis®, fabricants du savon désinfectant Rivadouce®, n'ont pas souhaité révéler la composition exacte du savon. Celle-ci sera donc exposée brièvement.

Le savon désinfectant Rivadouce® est composé de principes actifs ayant des propriétés anti-microbiennes :

- digluconate de chlorhexidine (5%) ;
- ammonium quaternaire (0,2%).

Ce savon contient également des agents protecteurs de la peau :

- agent surgraissant (6%) ;
- propylène glycol (13%), un agent hydratant [19].

Son pouvoir détergent est assuré par une composition particulière de tensio-actifs non ioniques [20].

Le savon a une couleur jaune pâle. Il est limpide à légèrement trouble et a une odeur de chèvre-feuille. Son pH à 20°C est de 6,75 +/- 0,5. Le produit se conserve un mois après ouverture [19].

3- Normes appliquées au savon désinfectant Rivadouce®

L'association de la chlorhexidine et d'un ammonium quaternaire dans le savon permet d'obtenir une activité bactéricide selon la norme EN 1040 et une activité fongicide selon la norme EN1275 sur *Candida albicans*.

Ceci correspond :

➤ Pour la norme EN 1040, à la capacité de réduire *in vitro* de 5 log en 5 minutes une population bactérienne composée de :

- *Staphylococcus aureus* ;
- *Enterococcus hirae* ;
- *Pseudomonas aeruginosa* ;
- *Escherichia coli* ;
- *Mycobacterium smegmatis* [2].

➤ Pour la norme EN 1275, à la capacité de réduire *in vitro* une population de *Candida albicans* de 4 log en 15 minutes [2].

Les résultats des études microbiologiques réalisées sur le savon chirurgical Rivadouce® sont résumées dans le tableau 5. Le pouvoir bactéricide a été testé selon la norme EN 1040, avec une solution diluée à l'eau distillée, contenant 0,25 % de savon. Le pouvoir fongicide a été évalué suivant la norme EN 1275, avec une solution diluée à l'eau distillée, contenant 5 % de savon. Ces études ont été réalisées à une température de 20°C.

Tableau 5 : Résumé des études microbiologiques réalisées sur le savon désinfectant RIVADOUCE® [19].

Normes	Concentration en savon %	Temps de contact	T° d'essai	N° de rapport et date	Laboratoire d'expertise
Bactéricidie EN 1040	0,25%	5 min ± 10 s	20 ± 1°C	314/0701-1 16/08/01	IRM Mitry Mory
Fongicide EN 1275 (<i>Candida.albicans</i>)	5%	15 minutes	20 ± 1°C	51/F-10- 091/C 19/10/01	Laboratoire RIVADIS

4- Etudes de toxicité

Les laboratoires Rivadis, fabricants du savon désinfectant Rivadouce®, ont réalisé des études de toxicité cutanée, oculaire et par voie orale du savon.

La tolérance cutanée aiguë a été évaluée chez 10 volontaires adultes. Le potentiel irritant primaire du savon désinfectant a été déterminé après une application unique de produit sous forme de patch pendant 24 h. Le savon était dilué à 5 % dans l'eau. Au bout de ces 24 h, la peau des volontaires ne présentait aucune lésion. Les sujets n'ont pas développé de réaction allergique. Le savon a été déclaré non-irritant pour la peau [19].

La tolérance oculaire aiguë a été testée sur modèle *in vitro*. La capacité du produit à induire des effets cytopathiques sur des cornées reconstituées par culture cellulaire *in vitro* de kératinocytes a été évaluée. Cette méthode est généralement reconnue dans la littérature scientifique comme étant très sensible et fiable.

Le produit dilué à 5% a été appliqué sur deux cultures équivalentes pendant 10 minutes, 1 heure et 3 heures. La viabilité cellulaire a ensuite été évaluée. Après 10 minutes de contact, la viabilité cellulaire était totale ; elle était de 50% après 1 heure et de 0% après 3 heures. Le savon a été déclaré légèrement irritant au niveau oculaire [19].

La toxicité aiguë du savon par voie orale a été évaluée chez le rat. 10 rats ont reçu une administration unique de 2g/kg de savon par voie orale. Ils ont été suivi pendant 14 jours puis sacrifiés et autopsiés. Aucun signe de toxicité systémique n'a été noté pendant toute la durée de l'étude. Le savon a été déclaré non toxique par voie orale [19].

5- Précautions d'emploi du produit pur

Le savon désinfectant Rivadouce® est réservé à un usage externe et ne doit pas être avalé. Il ne doit pas être introduit dans le conduit auditif en cas de perforation tympanique, la chlorhexidine présentant une toxicité pour les éléments de l'oreille moyenne. En cas de contact avec les yeux, il convient de les laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et de consulter un spécialiste [19].

6- Avantages du produit

L'association de la chlorhexidine et d'un ammonium quaternaire confère une action synergique, bactéricide et fongicide du savon contre les micro-organismes. Cela permet au produit de répondre aux normes EN 1040 et EN 1275 sur *Candida albicans* [20].

La composition du savon désinfectant Rivadouce, en base lavante neutre et en agents sgrassants, permet de protéger la peau [20].

Le savon désinfectant Rivadouce® est conditionné dans un flacon de 1000 ml. Il est fourni avec une pompe doseuse, facile d'emploi, délivrant 2ml de savon à chaque pression (photo 1). La pompe doseuse est équipée d'une valve anti-reflux, permettant de protéger le savon contenu dans le flacon, de la contamination ascendante de germes [20].



Photo :Auteur

Photo 1 : Bouteille de savon désinfectant Rivadouce® avec pompe doseuse.

7- Méthodes de désinfection recommandées par le laboratoire

a- Désinfection hygiénique

L'objectif de la désinfection hygiénique est de réduire fortement la flore transitoire et diminuer sensiblement la flore résidente.

La technique recommandée par le laboratoire est la suivante : les mains doivent être mouillées, savonnées pendant 1 minute et rincées abondamment pendant 1 minute. Il convient d'utiliser un essuie-main à usage unique pour le séchage [20].

b- Désinfection chirurgicale

L'objectif de la désinfection chirurgicale est d'éliminer la flore transitoire et de diminuer fortement la flore résidente.

La technique recommandée par le laboratoire est la suivante : 2 désinfections hygiéniques consécutives doivent être réalisées, ainsi qu'un brossage minutieux des ongles avec le savon. Les mains sont rincées abondamment après chaque lavage et séchées avec un essuie-main stérile [20].

D- Méthodes d'évaluation de l'efficacité d'un désinfectant

Il existe, dans la littérature scientifique, différents articles concernant l'évaluation de l'efficacité de produits désinfectants. Pour établir notre protocole expérimental, nous nous sommes inspirés de certains de ces articles, traitant de l'efficacité de savons destinés à la désinfection chirurgicale.

1- Contexte des études

Les objectifs de ces différentes études étaient les suivants :

- comparer l'efficacité bactéricide de produits désinfectants à base d'alcool, de triclosan, de chlore et de povidone iodée [21, 22] ;
- comparer l'efficacité bactéricide de savons contenant différentes concentrations de chlorhexidine [23] ;
- comparer l'efficacité de la désinfection par friction des mains à l'aide d'une solution alcoolique avec la désinfection par un savon antiseptique à base de chlorhexidine [24].

2- Protocoles expérimentaux décrits

Les protocoles expérimentaux des études étaient bâtis dans le but de mesurer le taux de réduction bactérienne obtenu avec différents produits : la contamination bactérienne des mains de volontaires était évaluée, avant et après désinfection chirurgicale. Les résultats obtenus pour les différents produits étaient ensuite comparés entre eux.

a- Choix des volontaires

Les volontaires choisis pour participer aux études étaient des adultes en bonne santé, hommes et femmes, âgés de 18 à 65 ans [21, 23]. Ces personnes ne devaient présenter ni coupures, ni lésions cutanées au niveau des mains et des avant bras [21, 23]. Dans la majorité des cas, les volontaires étaient tenus de ne pas utiliser de substances antibactériennes (antibiotiques, antiseptiques...) dans la semaine précédant les études, afin que ces substances n'interfèrent pas avec l'étude à venir et que la flore cutanée des volontaires soit normalement constituée [21, 23, 24].

b- Organisation des études

Dans une étude, un pré-lavage des mains avant les manipulations était demandé : il consistait à effectuer un lavage hygiénique des mains avant le premier prélèvement bactériologique, afin d'éliminer les particules étrangères à la peau et diminuer la flore transitoire [18]. Ce lavage hygiénique n'était pas réalisé dans les autres études [22, 23, 24].

Les manipulations se sont généralement déroulées de la manière suivante :

- un prélèvement bactériologique a été effectué sur les mains avant la désinfection chirurgicale. Il a permis de déterminer la flore basale de la peau ;
- le volontaire a procédé à la désinfection chirurgicale des mains, en respectant la méthode préconisée pour le produit à tester ;
- un prélèvement bactériologique a eu lieu sur une ou deux mains immédiatement après le lavage, après séchage des mains à l'aide d'un essuie-main stérile ;
- les mains ont été gantées de manière stérile ;

- après un temps défini, un ou deux gants ont été retirés et de nouveaux prélèvements bactériologiques ont été réalisés.

Lorsque les études évaluaient l'efficacité d'un seul produit, les manipulations ont été répétées avec un produit témoin, d'efficacité connue [23, 24].

c- Réalisation des prélèvements bactériologiques

Les prélèvements bactériologiques ont été réalisés indifféremment sur la main droite ou la main gauche. Cependant, certains auteurs ont préféré effectuer ces prélèvements uniquement sur la main dominante des volontaires, susceptible d'être plus contaminée [24].

Dans les différentes études, deux techniques de prélèvement ont fréquemment été utilisées :

- dans la première, les phalanges distales des mains ont été appliquées pendant une minute sur des boîtes de pétri contenant du bouillon de culture gélifié à base de trypsine et de soja. Ce milieu de culture est non sélectif, non inhibiteur et adapté à la croissance de la flore cutanée. Les boîtes de pétri ont ensuite été mises à incuber à 36°C pendant 24 heures. Les unités formant des colonies (UFC) ont été dénombrées dans les 24 heures suivantes [21, 24] ;

- la seconde technique de prélèvement a consisté à mettre un gant stérile sans poudre sur la main à prélever. 75 ml d'une solution d'échantillonnage ont été ajoutés aseptiquement dans le gant. Celui-ci a été fermé hermétiquement à la base du poignet et massé uniformément pendant une minute. Un échantillon du liquide a alors été prélevé et mis en culture sur des boîtes de pétri contenant un bouillon de culture gélifié à base de trypsine et de soja. Les boîtes ont été incubées à 30° C pendant 48 à 72 heures. Les UFC ont été dénombrées dans les 24 heures suivantes [21, 22, 24].

Les boîtes de pétri contenant plus de 300 colonies ont été exclues des différentes études, le dénombrement précis des UFC étant difficile au delà de ce nombre [23].

Lors d'études concernant un produit à base de chlorhexidine, les milieux de culture contenaient des agents neutralisants la chlorhexidine (solution composée de polysorbate 80, saponine, histidine et cystéine) [22, 23, 24]. Ceci permet de supprimer l'effet rémanent de la chlorhexidine sur les bactéries encore vivantes lors du prélèvement.

d- Identification des bactéries

Dans certaines études, les bactéries cultivées ont été identifiées en utilisant des galeries d'identification. Ces galeries permettent d'identifier des espèces de bactéries ou de levures en établissant le profil enzymatique des micro-organismes.

Le principe est le suivant : une galerie présente plusieurs logettes contenant différents substrats d'enzymes. Un échantillon de culture de micro-organismes est instillé dans chaque logette. Lorsqu'un substrat est dégradé par une enzyme, le contenu de la logette change de couleur. Ceci permet de caractériser les enzymes présentes dans les micro-organismes. Le profil enzymatique obtenu permet alors d'identifier le micro-organisme.

e- Etudes statistiques

Après obtention des résultats bactériologiques, le taux de réduction bactérienne (TR) a été calculé de la manière suivante :

$$TR = \frac{\text{nombre d'UFC dans le prélèvement avant désinfection}}{\text{nombre d'UFC au temps t après la désinfection}} \times 100$$

Des TR moyens ont été calculés en prenant en compte les résultats obtenus pour chaque volontaire, aux différents temps suivant la désinfection. Les TR moyens calculés pour différents produits ont été comparés par des tests statistiques afin de confronter l'efficacité des désinfectants chirurgicaux.

II- Etude expérimentale

A- Matériels et méthodes

1- Objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude a été de tester l'efficacité bactéricide du savon chirurgical désinfectant de la gamme Rivadouce® présenté par le Dr Flaus, à l'Ecole Nationale vétérinaire de Toulouse.

Les principes actifs (chlorhexidine et ammoniums quaternaires) de ce produit sont associés à des agents surgraisants. Ces agents permettent de protéger la peau du dessèchement et de l'irritation occasionnés par l'action des désinfectants. Les effets de cette association sur le pouvoir bactéricide des désinfectants n'ont pas été évalués précédemment et la rémanence de ce savon n'a jamais fait l'objet d'étude.

Nous nous sommes alors proposés de réaliser un protocole expérimental permettant :

- de vérifier l'efficacité du savon en évaluant son pouvoir bactéricide *in vivo*,
- d'étudier la rémanence du savon sur les mains d'un opérateur.

Ce protocole expérimental a été élaboré en s'inspirant d'autres études réalisées dans le but d'apprécier l'efficacité de différents désinfectants chirurgicaux [21 à 24]. Les résultats des expérimentations permettront de calculer la capacité de réduction bactérienne du savon après lavage des mains, et d'étudier son activité dans le temps.

2- Matériels

a- L'opérateur

Cette étude a été réalisée sur une seule personne répondant à certains critères :

- les mains de l'opérateur ne devaient pas avoir été lavées avec un produit antiseptique ou désinfectant durant la semaine précédant les expérimentations. Ainsi, la flore cutanée de l'opérateur n'était pas réduite par les effets d'un autre produit et toute interaction éventuelle entre le savon Rivadouce® et un autre désinfectant (ou antiseptique) était évitée ;
- les mains de l'opérateur ne devaient pas comporter ni lésions, ni bijoux, ni vernis à ongles pendant l'étude.

b- Accessoires de l'opérateur

Pendant l'étude, les accessoires utilisés par l'opérateur ont été les suivants :

- des gants stériles ;
- des blouses stériles ;
- des essuie-mains stériles ;
- des masques et des charlottes non stériles.

c- Boîtes de gélose nutritive

Des boîtes de gélose nutritive contenant un milieu de culture standard, ont été utilisées pour réaliser les prélèvements bactériens sur les phalanges et l'air ambiant.

d- Aérobiocollecteur air IDEAL® (Biomérieux®)



Photo :Auteur

Photo 2 : Aérobiocollecteur air IDEAL®

Cet appareil a permis de réaliser des bactériologies de l'air ambiant (photo 2). Son utilisation avait pour objectif d'évaluer et d'identifier la charge bactérienne de l'air ambiant lors des études.

Pour chaque prélèvement, un échantillon d'air (environ 400L dans cette étude) a été aspiré et canalisé à travers une grille de prélèvement. L'air a été accéléré par une turbine et dirigé sur la surface d'une boîte de gélose nutritive sous la grille. Le débit de l'air (100L/min) et la vitesse de l'impact (20m/sec) étaient conformes à la norme ISO/DIS 14698-1, garantissant une collecte efficace, et non agressive pour les micro-organismes. Ce processus de prélèvement n'altérerait pas la capacité de développement des micro-organismes sur la gélose [24].

Le nombre de colonies bactériennes dénombrées après incubation sur la boîte de gélose correspondaient au nombre d'UFC qui étaient présentes dans 400 litres d'air. A partir des résultats de chaque prélèvement, une moyenne d'unités capables de former des colonies (UFC) par m³ d'air a été calculée :

$$\text{Moyenne d'UFC/m}^3 \text{ d'air} = \frac{\text{Moyenne des UFC}}{400} \times 1000$$

e- Savon désinfectant chirurgical Rivadouce®

Lors de l'étude, le savon désinfectant Rivadouce ® utilisé était fixé au mur de la salle de lavage des chirurgiens (photo 1). Une pompe doseuse de 2ml, équipée d'une valve anti-reflux, permettait d'utiliser des quantités assez précises de savon pour la désinfection des mains.

f- Eau courante du robinet

L'opérateur a utilisé de l'eau potable courante du robinet, délivrée par la Générale des Eaux, pour se laver et se rincer les mains.

3- Méthodes

L'étude a été réalisée en 3 séries de manipulations (séries n°1 à 3). Le protocole expérimental a été identique pour chaque série, seuls les temps auxquels les prélèvements étaient effectués différaient. Ces manipulations se sont déroulées sur deux journées, espacées d'une semaine. Elles ont toutes été réalisées dans la salle de lavage chirurgical des mains du Grand Bloc de Chirurgie de l'ENVT, par un unique opérateur.

a- Description globale du protocole expérimental

Le protocole expérimental s'est déroulé en plusieurs étapes : des prélèvements bactériologiques ont été effectués sur les mains de l'opérateur avant et après lavage, puis à différents temps suivant la désinfection chirurgicale des mains. Simultanément, des prélèvements bactériologiques de l'air ambiant ont été réalisés.

Etape 1: Prélèvements bactériologiques avant lavage

Un premier prélèvement bactériologique réalisé sur mains non lavées a été effectué afin de connaître la flore cutanée de départ de l'opérateur. Ce prélèvement a servi de valeur de base pour évaluer la capacité d'élimination des bactéries sur la peau par le savon. Pour obtenir un prélèvement riche en bactéries et diversifié, l'opérateur a posé ses mains sur divers supports et animaux présents de le bloc de chirurgie le jour même . Le prélèvement a ensuite été réalisé.

Les mains de l'opérateur n'ont été lavées avec aucun savon antiseptique ou désinfectant dans la semaine précédente afin d'éviter toute interférence avec le savon testé dans l'étude.

Les extrémités distales des phalanges des doigts 2, 3 et 4 (index, majeur et annulaire) de chaque main ont été apposées 5 secondes sur la gélose de 2 boîtes de prélèvements, en appuyant assez fortement (photo 3). Les boîtes de prélèvement ont ensuite été identifiées : Di pour la main droite et Gj pour la main gauche, i et j variant selon les manipulations (tableau 6).



Photo 3 : Prélèvement bactériologique avant lavage des mains

Un prélèvement bactériologique de l'air ambiant a été réalisé grâce à l'aérobicollecteur d'air simultanément aux prélèvements des mains. Les boîtes correspondant aux prélèvements d'air ambiant ont été nommées A, B ou C en fonction des séries (tableau 6).

Etape 2 : Lavage chirurgical des mains

La désinfection des mains a été la même que pour une désinfection chirurgicale pré-opératoire. L'opérateur s'est équipé au préalable d'une charlotte sur la tête et d'un masque. Les mains ont été lavées soigneusement une première fois, pendant une minute, avec une dose de savon Rivadouce® délivrée automatiquement par la pompe doseuse, soit 2 ml (photo 4). A aucun moment, les mains et les avants-bras de l'opérateur ne sont entrés en contact avec le distributeur.



Photo : Auteur

Photo 4 : Distribution de 2ml de savon Rivadouce® à l'aide de la pompe doseuse

Aucune brosse n'a été utilisée pour les lavages. L'opérateur a frotté vigoureusement chaque zone des 2 mains (photo 5). Les mains ont été rincées à l'eau courante et relavées une deuxième fois de la même manière, pendant une minute.



Photo : Auteur

Photo 5 : Lavage soigneux des mains et des avant-bras

L'opérateur s'est ensuite séché les mains et les avants-bras avec du papier stérile (photo 6).



Photo :Auteur

Photo 6 : Séchage avec un essuie main stérile

Etape 3 : Prélèvement bactériologique après lavage.

Un prélèvement a été réalisé une minute après le rinçage des mains, comme lors de l'étape 1, pour chaque main (photo 7).



Photo :Auteur

Photo 7 : Prélèvement bactériologique après désinfection des mains

Etape 4 : Temps d'attente

L'opérateur a enfilé une blouse et des gants stériles (photo 8). L'opérateur a ensuite attendu le prélèvement suivant, en veillant bien à ne pas percer ses gants.



Photo :Auteur

Photo 8 : Equipement de l'opérateur après désinfection des mains

Etape 5 : Derniers prélèvements bactériologiques

Au terme d'un temps donné, le gant de la main droite a été retiré et les phalanges distales des doigts 2, 3 et 4 de cette main ont été apposées quelques secondes sur une boîte de gélose nutritive. L'autre gant a été conservé une heure de plus avant de réaliser le prélèvement bactériologique. Simultanément à ces prélèvements, des bactériologies d'ambiance ont été réalisées.

b- Description de chaque série

α - Série n°1

Lors de la première série de manipulations, les prélèvements bactériologiques ont été réalisés avant (D1 et G1) et une minute après la désinfection chirurgicale des deux mains (D2 et G2). Les prélèvements suivants ont été effectués sur les mains droite et gauche, respectivement 3 heures et 4 heures après la désinfection (D3 et G3). Des prélèvements d'air ambiant ont été réalisés simultanément aux prélèvements cutanés, avant lavage, et 3 et 4 heures après celui-ci (A1 à A3). Les heures et les noms des prélèvements sont récapitulés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Tableau récapitulatif du déroulement des séries

Séries	Temps	bactériologie mains		bactériologie ambiance
		Droite	Gauche	
N°1	Avant lavage	D1	G1	A1
	1 min après lavage	D2	G2	
	3 heures après lavage	D3		A2
	4 heures après lavage		G3	A3
N°2	Avant lavage	D4	G4	B1
	1 min après lavage	D5	G5	
	1 heure après lavage	D6		B2
	2 heures après lavage		G6	B3
N°3	Avant lavage	D7		C1
	1 min après lavage	D8		
	1/2 heure après lavage	D9		

β- Série n°2

Cette série a été réalisée une semaine après la première. Le déroulement a été identique à la première série, mais les derniers prélèvements ont eu lieu 1 et 2 heures après la désinfection (tableau 6).

γ- Série n°3

Cette série a été effectuée 4 heures après la série n°2. Les prélèvements ont été réalisés sur une seule main, avant, 1 minute et une demi-heure après le lavage (D7 à D9). Un seul prélèvement de l'air ambiant a été réalisé car peu de temps séparait les différents prélèvements cutanés (tableau 6).

c- Dénombrement et identification des bactéries

A la fin des différentes séries, les boîtes de gélose contenant les prélèvements ont été remises au Laboratoire Vétérinaire Départemental de Haute-Garonne. Les boîtes ont été placées à incuber pendant 72 heures à 30°C. A l'issue de cette période, les colonies bactériennes présentes dans chaque boîte ont dénombrées, et identifiées à l'aide d'une galerie d'identification API, par un bactériologiste du laboratoire.

B- Résultats

Les fiches de résultats bactériologiques délivrées par le Laboratoire Vétérinaire Départemental de la Haute-Garonne sont présentées en annexes (Annexes 3 à 6).

Les résultats des bactériologies effectuées sur les différents prélèvements sont rapportés dans les tableaux 7 à 9 : des colonies bactériennes et des moisissures ont été dénombrées dans certaines boîtes de gélose.

Les photos 9 et 10 représentent les boîtes de gélose D1 et B1 après incubation. Les colonies bactériennes sont visibles sur les deux géloses et des moisissures sont reconnaissables sur la gélose de la boîte de prélèvement d'air ambiant (photo 10). Les empreintes de doigts laissées par l'opérateur avec la poudre des gants lors du prélèvement sont discernables sur la photo 9.

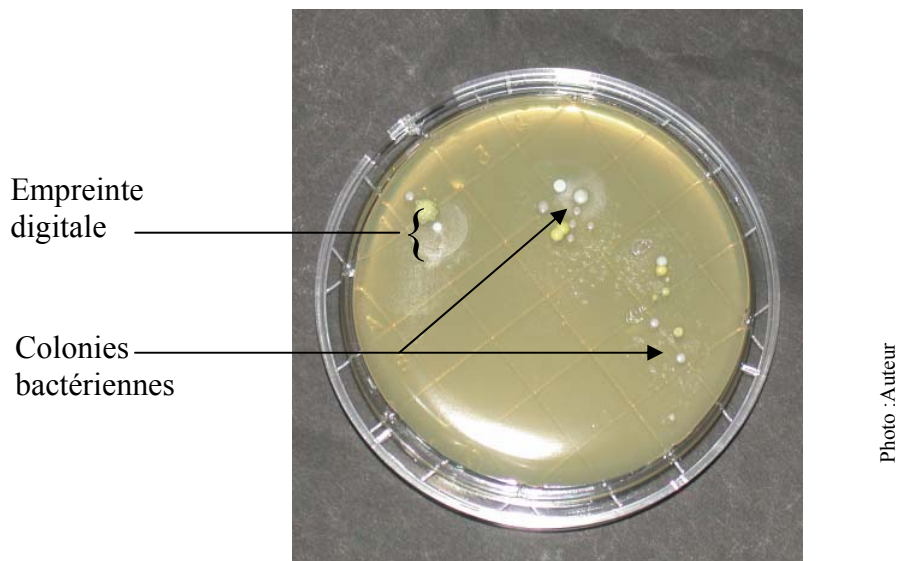


Photo 9 : Boîte de gélose D1 après incubation

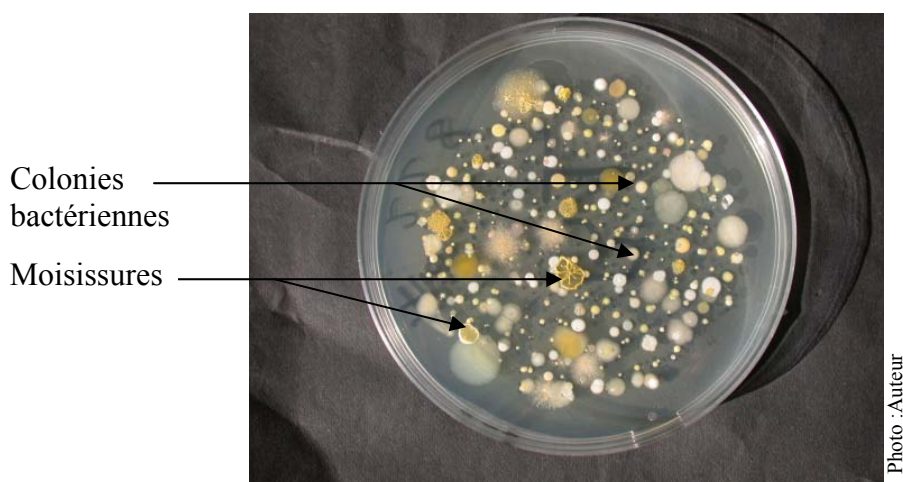


Photo 10 : Boîte de gélose B1 après incubation

1- Série n°1

Lors de la première série de manipulations, des colonies bactériennes ont uniquement été dénombrées lors des prélèvements précédant la désinfection chirurgicale des mains. Les prélèvements cutanés suivants étaient stériles (tableau 7).

Les mains de l'opérateur avant le lavage étaient contaminées par des bactéries du genre *Neisseria* (hôte du naso-pharynx) et par *Staphylococcus epidermidis* (flore cutanée résidente). Les doigts de la main gauche semblaient plus contaminés que ceux de la main droite : la boîte de gélose D1 contenait 13 colonies alors que la boîte G1 en contenait 28 (tableau 7).

Des colonies bactériennes et des moisissures ont été dénombrées dans chaque prélèvement d'air ambiant. Le prélèvement d'air réalisé avant la désinfection des mains était 2,5 fois plus contaminé par les bactéries que les suivants et contenait 308 UFC. Les espèces de bactéries identifiées ont été les suivantes : *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus epidermidis* et *Aeromonas hydrophila*. Le nombre de moisissures dénombrées dans les 3 prélèvements variait de 7 à 12.

Tableau 7 : Résultats de la série n°1

Prélèvements	Temps après lavage des mains	Dénombrement des colonies	Identification des bactéries
D1 G1	Avant lavage Avant lavage	13 colonies 28 colonies	<i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>Neisseria spp</i>
D2 G2	+1 min +1 min	0 colonie 0 colonie	- -
D3 G3	+ 3 heures +4 heures	0 colonie 0 colonie	- -
A1 A2 A3	Avant lavage + 3 heures +4 heures	308 colonies dont 12 moisissures 136 colonies dont 11 moisissures 117 colonies dont 7 moisissures	<i>Staphylococcus cohnii</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Corynebacterium spp</i>

2- Série n°2

Comme pour la première série de manipulations, des colonies bactériennes ont uniquement été dénombrées sur les prélèvements précédant la désinfection chirurgicale des mains, les autres prélèvements cutanés étant stériles (tableau 8).

Les mains de l'opérateur avant le lavage étaient contaminées par des bactéries du genre *Bacillus* (flore transitoire cutanée), *Pantoea* (entérobactéries) et par *Staphylococcus hominis* (flore résidente cutanée). Le premier prélèvement réalisé sur la main gauche était plus contaminé que celui de la main droite : la boîte de gélose D4 contenait 32 colonies alors que la boîte G4 en contenait 71 (tableau 8).

Des colonies bactériennes et des moisissures ont été dénombrées dans les prélèvements d'air ambiant. Ceux-ci étaient richement contaminés, comme lors de la première série. Les colonies bactériennes et les moisissures présentes sur le prélèvement B1 n'ont pas

pu être dénombrées car elles étaient trop nombreuses et se chevauchaient. Les espèces de bactéries n'ont pas été identifiées sur ces prélèvements (tableau 8).

Tableau 8 : Résultats de la série n°2

Prélèvements	Temps après lavage des mains	Dénombrement des colonies	Identification des bactéries
D4 G4	Avant lavage Avant lavage	32 colonies 71 colonies	<i>Bacillus spp</i> <i>Pantoea spp</i> <i>Staphylococcus hominis</i>
D5 G5	+1 min +1 min	0 colonie 0 colonie	- -
D6 G6	+1 heure +2 heures	0 colonie 0 colonie	- -
B1 B2 B3	Avant lavage +1 heure +2 heures	colonies indénombrables + moisissures 204 colonies dont 10 moisissures 284 colonies dont 13 moisissures	6 types de colonies bactériennes différents sur les boîtes, de nature indéterminée

3- Série n°3

Lors de cette série, les prélèvements ont été réalisés sur la main droite. Là encore, seul le prélèvement cutané réalisé avant le lavage chirurgical contenait des bactéries (62 colonies). Les bactéries identifiées étaient les mêmes que celles de la deuxième série de manipulations (*Bacillus spp*, *Pantoea spp*, *Staphylococcus hominis*).

Le prélèvement d'air ambiant contenait 298 colonies dont 18 moisissures, qui n'ont pas été identifiées (tableau 9).

Tableau 9 : Résultats de la série n° 3

Prélèvements	Temps après lavage des mains	Dénombrement des colonies	Identification des bactéries
D7	Avant lavage	62 colonies	<i>Bacillus spp</i> <i>Pantoea spp</i> <i>Staphylococcus hominis</i>
D8 D9	+1 min + 1/2 heure	0 colonie 0 colonie	- -
C1	Avant lavage	298 colonies dont 18 moisissures	plusieurs types de colonies bactériennes différents sur la boîte, de nature indéterminée

A partir des résultats de dénombrement des colonies sur les prélèvements d'ambiance, une moyenne d'unités capables de former des colonies (UFC) par m³ d'air a été calculée. Cette moyenne a été d'environ 562 UFC / m³ d'air.

C-Discussion

La discussion concernant cette étude s'articulera en trois parties. Une première partie sera consacrée à la discussion du protocole expérimental. Les points forts de l'analyse des résultats seront détaillés dans une deuxième partie. Enfin, les perspectives d'études seront exposées dans la dernière partie de cette discussion.

L'objectif de cette étude était de tester l'efficacité du savon Rivadouce® après la désinfection chirurgicale des mains. Le protocole expérimental a été élaboré en s'inspirant d'autres études testant l'efficacité de produits désinfectants [21 à 24]. Contrairement à ces études, nos expérimentations ont été effectuées sur un unique opérateur. Les résultats obtenus ne permettent donc pas de réaliser une étude statistique approfondie. Les études n'ont pas été reproduites non plus avec un produit témoin, qui aurait permis de réaliser une étude comparative.

Les résultats bactériologiques des séries de manipulations nous ont cependant permis d'avoir une première idée sur l'efficacité et la rémanence du savon, et nous avons pu estimer les coûts d'une telle étude sur un opérateur. Cette étude constitue une première approche, en vue de réaliser des études plus complètes par la suite.

Les conditions de réalisation des séries ont été adaptées à nos possibilités d'organisation. L'intervalle de temps d'une semaine entre les séries n°2 et n°3 n'a pas pu être respecté en raison de contraintes techniques (disponibilité de l'aérobiocollecteur).

Les séries ont été réalisées *in vivo* et en conditions réelles (lavage chirurgical des mains et ports de gants pendant un temps donné), à la différence près que l'opérateur n'effectuait pas d'intervention chirurgicale pendant le temps d'attente : cela a permis de faire les prélèvements à des temps précis et a évité tout accident, comme le délabrement d'un gant.

Aucun prélèvement n'a été effectué au delà de 4 heures après la désinfection des mains : nous avons choisi cette limite de temps, pour cette première étude, car les interventions les plus courantes durent rarement plus de 4 heures.

Pour la réalisation des prélèvements bactériologiques, nous avons retenu la méthode, présentée par la majorité des autres études, consistant à appliquer les doigts de l'opérateur sur une boîte de gélose [21, 22, 24]. Cette technique était plus facile à mettre en oeuvre et moins risquée (erreur d'asepsie) que celle consistant à mettre une solution d'échantillonnage dans le gant et à la récupérer ensuite [23].

Les bactéries n'ont pas été identifiées dans tous les prélèvements d'air ambiant. Les prélèvements étaient fortement contaminés : le chevauchement des colonies a rendu difficile l'identification des micro-organismes. Les résultats des trois premières analyses permettent tout de même d'avoir une idée de la population bactérienne contaminante de l'air de la salle de préparation des chirurgiens.

Les résultats des bactériologies réalisées pendant les séries de manipulations ont été très satisfaisants puisqu'ils ont montré qu'après un lavage chirurgical soigneux des mains durant 2 minutes avec ce savon, le taux de réduction bactérienne sur la peau était de 100%. Ces résultats étaient attendus et concordent avec les données bibliographiques concernant l'efficacité de la chlohexidine et des ammoniums quaternaires [1, 2, 12, 13].

Les agents surgraissants présents dans le savon testé ne semblent pas perturber l'action désinfectante de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires, puisque le taux de réduction bactérienne est optimum après chaque désinfection des mains.

Le savon désinfectant Rivadouce semble avoir une activité bactéricide prolongée dans le temps sur la peau : jusqu'à 4 heures après le lavage chirurgical des mains, le taux de réduction bactérienne est resté de 100 %. La peau ne s'est pas recontaminée, malgré le port de gants chirurgicaux qui génère un milieu confiné très favorable au développement des bactéries (chaleur, humidité). Le savon semble donc avoir une excellente rémanence, comme les résultats d'autres études réalisées sur l'efficacité de savon à base de chlorhexidine le laissent envisager [22, 23].

Les résultats des bactériologies d'ambiance soulignent la contamination de l'air dans la salle de préparation des chirurgiens. Celle-ci est d'environ 562 UFC / m³ d'air, ce qui correspond à la contamination de locaux normaux (de 200 à 700 germes / m³). Dans une salle d'opération, cette contamination doit être inférieure à 200 germes / m³ [26]. Il paraît alors normal qu'il en soit de même dans une salle de préparation où les chirurgiens se désinfectent les mains avant de mettre leurs gants. Les résultats de ces bactériologies attirent donc l'attention sur ce problème. Il serait intéressant de prendre des mesures pour diminuer cette contamination bactérienne et fongique (amélioration de l'aération de la pièce, nettoyage plus rigoureux, accès réglementé...).

Malgré la charge bactérienne et fongique de l'air ambiant, les géloses des boîtes utilisées pour les prélèvements cutanés n'ont pas été contaminées, puisque plusieurs d'entre elles sont restées stériles. Deux hypothèses sont alors envisageables :

- soit aucune bactérie ou levure aérienne ne s'est déposée sur la gélose des boîtes lors des prélèvements ;
- soit les molécules de produits actifs désinfectants encore présents sur les mains ont pu se disperser dans la gélose et empêcher toute multiplication de bactéries.

Dans le cas où cette deuxième hypothèse se vérifierait, les résultats des bactériologies réalisées sur les prélèvements cutanés après lavage chirurgical seraient contestables : les bactéries présentes sur les mains ne pourraient pas se multiplier lors de l'incubation, et peu de colonies (ou aucune) seraient dénombrées.

Il serait donc intéressant que la gélose des boîtes de prélèvements comportent des inhibiteurs de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires, comme cela a été réalisé dans certaines études traitant de l'efficacité de savon à base de chlorhexidine [21, 23, 24].

Les résultats de cette étude sur l'efficacité du savon désinfectant Rivadouce® sont très encourageants, mais celle-ci mériterait d'être améliorée et poursuivie. En effet, la fiabilité des résultats peut être remise en cause par le fait que les séries n'ont été réalisées que sur un seul et même opérateur. En outre, nous ne disposons que d'un résultat de bactériologie sur les prélèvements réalisés une demi-heure, 1 heure, 2 heures, 3 heures et 4 heures après le lavage des mains. Il est possible que le taux de réduction bactérienne obtenu après désinfection n'eut pas été de 100 % si les manipulations avaient été répétées.

Les résultats et conclusions des études réalisées pour cette thèse ouvrent de nouvelles perspectives d'études concernant l'efficacité du savon désinfectant Rivadouce® :

★ une étude plus complète pourrait être réalisée en suivant le même protocole et en le répétant sur plusieurs opérateurs, afin d'obtenir plus de données statistiques sur le taux de réduction bactérienne obtenu ;

★ comme il a été évoqué précédemment, l'utilisation d'inhibiteurs de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires dans la gélose permettrait d'apporter plus d'informations sur l'efficacité du savon. La peau des mains semble protégée de la recontamination bactérienne par l'action rémanente du savon. Cependant, il est possible que des bactéries restent en phase de latence (capables de survivre mais pas de se multiplier). En cas de rupture des gants lors d'une intervention chirurgicale, celles-ci pourraient contaminer l'animal opéré. La présence d'inhibiteurs des produits désinfectants dans les boîtes de gélose permettrait de détecter la présence de ces bactéries puisqu'elles deviendraient capables de se multiplier. Ces bactéries « résistantes » au savon Rivadouce® pourraient alors être dénombrées et identifiées ;

★ les résultats de cette étude montrent que la réduction bactérienne est toujours de 100%, 4 heures après désinfection. Il serait judicieux de bâtir un protocole expérimental comprenant des prélèvements bactériologiques à des temps supérieurs à 4 heures après le lavage chirurgical des mains. Ceci permettrait de déterminer le temps au bout duquel la rémanence du savon s'atténue ;

★ il est également envisageable de réaliser d'autres études comprenant des protocoles de désinfection chirurgical des mains, permettant par exemple de déterminer le temps de lavage minimum pour un effet optimum du savon ;

★ des études pourraient être réalisées pour comparer l'efficacité et la rémanence du savon désinfectant Rivadouce® avec d'autres savons, pouvant servir de témoins ;

★ pour finir, l'efficacité du savon chirurgical Rivadouce® mériterait d'être testée sur la peau animale afin d'évaluer son effet lors de la désinfection pré-opératoire, et sa rémanence.

Les perspectives d'études sur l'efficacité et la rémanence du savon désinfectant Rivadouce® suite à cette thèse sont nombreuses. Les résultats des bactériologies de l'air ambiant dans la salle de préparation soulèvent quelques questions : ce taux de contamination est-il normal dans un tel lieu ? Si non, comment la réduire ? Une étude sur ce sujet mériterait également d'être réalisée.

III- Conclusion de l'étude

Les chirurgiens sont fréquemment sujets à des affections cutanées : dessèchements des mains, irritation plus ou moins marquée de la peau... Le savon désinfectant Rivadouce® apporte une solution à ces problèmes cutanés car des agents surgraissants ont été intégrés à sa composition, afin de préserver la peau de toute irritation cutanée. Cependant, ce savon n'avait fait l'objet d'aucune étude d'efficacité et de rémanence *in vivo*, et les effets de l'association d'agents surgraissants aux désinfectants n'étaient pas connus.

L'objectif premier de cette étude était donc de tester l'efficacité bactéricide du savon Rivadouce® lors de la désinfection pré-opératoire des mains du chirurgien, ainsi que sa rémanence.

Les résultats des manipulations réalisées ont été très encourageants : après un lavage chirurgical soigneux des mains durant 2 minute avec ce savon, le taux de réduction bactérienne sur la peau a été de 100% jusqu'à, au moins 4 heures après la désinfection cutanée des mains.

L'efficacité et la rémanence de ce savon paraissent être excellente. Ces résultats permettent également de conclure que les agents surgraissants présents dans le savon ne semblent pas perturber l'action désinfectante de la chlorhexidine et des ammoniums quaternaires.

Cependant, le taux constant de réduction bactérienne (100%) peut être discuté : les prélèvements mériteraient d'être répétés sur le même opérateur ainsi que sur plusieurs personnes afin de vérifier la répétabilité et la reproductibilité des résultats bactériologiques, ceux-ci pouvant varier d'un individu à l'autre.

En outre, ce 100 % de réduction bactérienne pourrait être lié à une persistance de l'action désinfectante des produits actifs dans la gélose (principalement de la chlorhexidine qui a une bonne rémanence). Il serait intéressant de renouveler les manipulations en utilisant des géloses contenant des inhibiteurs de la chlorhexidine, afin de comparer les résultats.

Pour terminer, cette thèse ouvrent de nombreuses perspectives d'études concernant la recherche de nouveaux protocoles de désinfection des mains, la durée de rémanence du savon Rivadouce®, la désinfection pré-opératoire des patients, et la contamination de l'air ambiant dans la salle de désinfection chirurgicale des mains au grand bloc chirurgical de l'ENVV.

IV- Bibliographie

- 1- ABBARA A. Comparaison des différentes techniques d'hygiène des mains [en ligne]. France, 2004. (page consultée le 21/10/04).
Adresse URL: http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/hygiène_mains_antiseptiques_caractéristiques.html
- 2- C.CLIN PARIS-NORD. Recommandations de bonnes pratiques d'utilisation des antiseptiques et des désinfectants en milieu hospitalier [en ligne]. Paris, France. Mai 2000. (page consultée le 21/10/04).
Adresse URL: http://umvf.cochin.univ-paris5.fr/article.php3?id_article=338
- 3- Banque de Donnée Automatisée sur les Médicaments (BIAM). Chlorhexidine gluconate.[en ligne].France.1192.2001. (page consultée le 20/10/04).
Adresse URL: <http://www2.biam2.org/www1/Sub860.html>
- 4- MIMOZ O., CLEVENOT D. Texte des experts : antiseptie cutanée, gestion des pansements et de la ligne veineuse, actualisation de la 12^{ème} conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence (Paris 94)[en ligne]. Poitiers, France, 2002. (page consultée le 13/12/04).
Adresse URL: <http://www.srlf.org/actualisation/reactualisation-12-conf/Omimozinfkt.htm>
- 5- HAXHE J-J., ZUMOFEN H. Notion d'hygiène hospitalière [en ligne]. Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles, 2003. (page consultée le 2/11/04).
Adresse URL: <http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/HHo.htm#top>
- 6- ABBARA A. Ecologie microbienne de la peau, la flore cutanée et ses caractéristiques [en ligne]. France, 2004. (page consultée le 21/10/04).
Adresse URL: http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/flore_transitoire_résidente_peau_mains.html
- 7- HAXHE J-J., ZUMOFEN H. Hygiène des mains [en ligne]. Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles, octobre 2000. (page consultée le 20/05/05).
Adresse URL : <http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/mains.htm>
- 8- GROSSET J. Hygiène hospitalière [en ligne]. Tours, France. Faculté de médecine de Tours, juin 2004 (page consultée le 2/11/04).
Adresse URL : <http://www.med.univ-tours.fr:enseign/santepub/doc-ped/prevention/prevention-IN/lavage-mains.htm>
- 9- CARRELET T., POSPISIL F. Objectif mains ; Guide technique pour l'hygiène et la protection des mains.
Publications C.CLIN SUD-Est, Tabloid Communication, Paris, 2001 ; 49-52.
- 10- Division de la diffusion des documents au laboratoire de lutte contre la maladie, Santé Canada. Guide de prévention des infections : lavage des mains, nettoyage, désinfection et stérilisation dans les établissements de santé [en ligne]. Ottawa, décembre 1998 (page consultée le 25/11/05).
Adresse URL : <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/98pdf/cdr24s8f.pdf>.

- 11- AGGOUNE M., BAFFOY N., BARET M-F. Hygiène des mains, guide de bonnes pratiques [en ligne]. C.CLIN Paris-Nord, Paris, 2001 (page consultée le 25/11/05).
Adresse URL : www.ccr.jussieu.fr/cclin/Guides/mains.pdf
- 12- ABBARA A. Les antiseptiques [en ligne]. France, 2004. (page consultée le 21/10/04).
Adresse URL: http://www.aly-abbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiène/antiseptiques_classification_caracteristiques.html
- 13- KHERA S-Y., KOSTYAL D., DESHMUKH N. A comparison of chlorhexidine and povidon-iodine skin preparation for surgical operations.
Current Surgery. July/August 1999. 56 : 341-343
- 14- VENDITI GOMES C., AUN C-E., ALVES MEYER M-P. Susceptibility of some oral micro-organisms to chlorhexidine and paramonochlorophenol.
Brazilian Oral Research. Juillet 2004. 18 : 3-5
- 15- CLEVENOT D., ROBERT S., DEBAENE B., MIMOZ O. Analyse critique de la littérature sur l'utilisation comparée de deux antiseptiques lors du cathétérisme vasculaire ou rachidien.
Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation. 22 ; (2003) : 787-797.
- 16- L'Infirmière Libérale Française. Les plaies [en ligne]. 2002 (page consultée le 25/11/05).
Adresse URL : <http://www.I-idel/plaies.htm>
- 17- BELLOIN J-C. L'hygiène dans l'industrie alimentaire, les produits et application de l'hygiène. Les désinfectants : les agents oxydants non halogènes [en ligne]. Food and Agriculture Organization of the United Nations (page consultée le 25/05/05)
Adresse URL: <http://www.fao.org/DOCREP/004/T0587F/T0587F05.htm>
- 18- Terminalf : Ressources Terminologiques en Langue Française. Les cosmétiques et leurs composants : fiche complète du terme surgraissant [en ligne]. 1998 (page consultée le 27/11/05).
Adresse URL : <http://www.infolang.u-paris10.fr/terminal/cfm/fich-1.cfm?IDChercher=149&numtable=86>
- 19- Laboratoire Rivadis. Notice d'instruction, Dossier pharmacien : savon désinfectant Rivadouce ®, lavage hygiénique des main et douche préopératoire. Janvier 2003.
- 20- Fiche de présentation du savon désinfectant Rivadouce® remise aux vétérinaires par le laboratoire Axience (2004).
- 21- MARCHETTI MG., KAMPF G., FINZI G. , SALVATORELLI G. Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. Journal of Hospital Infection. November 2003, 55(33):238.
- 22- HERRUZO-CABRERA R., VIZCAINO-ALCAIDE M-J., FDEZ-ACINORO M-J. Usefulness of an alcohol solution of N-Duopropenide for the surgical antisepsis of hands compared with handwashing with iodine-povidone and chlorhexidine: clinical essay.
Journal of Surgery Research. November 2000. 94 : 6-12.
- 23- MULBERRY G., SNYDER AT., HEILMAN J., PYRECK J. Evaluation of a waterless scrubless chlorhexidine gluconate / ethanol surgical scrub for antimicrobial efficacy.
American Journal of Infection Control. December 2001. 29 : 377-382.

24- GIROU E., LOYEAU S. Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomised clinical trial. British Medical Journal. August 2002 : 325-362.

25- LABORATOIRE BIOMERIEUX. Air IDEAL® a complete, practical and reliable solution for air contamination control [en ligne]. Marcy l'Etoile, janvier 2002. (page consultée le 18/08/05).

Adresse URL: http://www.biomerieux.fr/servlet/srt/bio/portail/dynPage?doc=PRT_NWS_REL_G_PRS_RLS_11

26- Faculté de médecine, Université catholique de Louvain, UCI Bruxelles, 2003 (page consultée le 25/05/05).

Adresse URL: <http://www.md.ucl.ac.be/didac/hosp/cours/HH6.htm>

ANNEXE 1 : Composition de la flore résidente [5,13]:

Genre	Espèces	Localisation	Densité
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. epidermidis</i>	Tous les territoire cutanés, mais surtout sur la face, les narines, les creux axillaires.	- Zones humides : 10 ³ à 10 ⁶ UFC/cm ²
	<i>S. haemolyticus</i>	Les zones humides : - bras, - jambes, - espaces interdigitaux	
	<i>S. hominis</i>	Les creux axillaires, les plis inguinaux, le périnée	- Zones sèches : 10 à 10 ³ UFC/cm ² C
	<i>S. aureus</i>	Chez 19 à 40 % de la population au niveau des narines, des creux axillaires et les plis inguinaux	
	<i>S. haemolyticus</i> <i>S. hominis</i> <i>S. simulans</i> <i>S. epidermidis</i>	Espèces principales au niveau des mains.	4 à 7 log ₁₀ /cm ²
	<i>S. haemolyticus</i>	Prédominant, avec les <i>Corynebacterium</i> , dans les espaces interdigitaux.	
<i>Corynebacterium</i>	<i>C. lipophiles</i>	Abondantes au niveau : - des narines ; - espaces interdigitaux ; - le périnée.	
	<i>C. jeikeium</i>	Colonise : - les mains du personnel hospitalier : jusqu'à 18 % - la peau du sujet sain : 11 à 36 % - la peau des malades non immunodéprimés : 13 à 79 % - la peau des malades immunodéprimés : 40 à 82 %	
	<i>C. urealyticum</i>	Portage cutané fréquent en milieu hospitalier	
	<i>C. jeikeium</i> <i>C. urealyticum</i>	Espèces principales au niveau des mains.	
	<i>C. lipophiles</i> <i>C. urealyticum</i> <i>C. minutissimum</i>	Avec les <i>Staphylococcus haemolyticus</i> , ils prédominent dans les espaces interdigitaux des mains.	
	<i>Propionibacterium</i>	<i>P. acnes</i>	Il apparaît à la puberté au niveau : - des zones riches en acides gras libres : cuir chevelu, ailes du nez, face ; - sur les muqueuses ; - il colonise le canal du follicule pilo-sébacé en superficie.
<i>P. granulosum</i> <i>P. avidum</i>			
Autres genres...	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Micrococcus varians</i>		
	<i>Streptococcus</i> Groupes A, B, C		
	<i>Brevibacterium</i>	Au niveau des espaces interdigités	
	<i>Malassezia</i>	En zones cutanées lipidiques	

ANNEXE 3 : Résultats des bactériologies d'ambiance A1 à A 3 (série n°1)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



HAUTE-GARONNE
CONSEIL GENERAL

LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

N° de dossier : 05 - 604
N° DIPLABO : 050607008762 - 02

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS
Prénom :
Adresse : Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN
Téléphone : 01 41 83 23 12
N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD
Adresse : ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore d'ambiance sur 3 prélèvements

Echantillon	Culture - numération	Identification
A1	308 colonies dont 12 moisissures	<i>Staph. Cohnii</i> <i>Staph. epidermidis</i>
A2	136 colonies dont 11 moisissures	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Corynebacterium spp</i>
A3	117 colonies dont 7 moisissures	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

Viviane TKACZUK-MOQUAY

**ANNEXE 4 : Résultats bactériologiques des prélèvements cutanés D1 à D3 et G1 à G3
(série n°1)**

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



HAUTE-GARONNE
CONSEIL GENERAL

LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

N° de dossier : 05 - 603
N° DIPLABO : 050607008762 - 01

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS
Prénom :
Adresse : Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN
Téléphone : 01 41 83 23 12
N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD
Adresse : ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 6 prélèvements

Echantillon	Culture - numération	Identification
D1	13 colonies	<i>Staph. epidermidis</i> <i>Neisseria</i>
D2	0 colonie	
D3	0 colonie	
G1	28 colonies	<i>Staph. epidermidis</i> <i>Neisseria</i>
G2	0 colonie	
G3	0 colonie	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

Viviane TKACZUK-MOQUAY

ANNEXE 5 : Résultats des bactériologies d'ambiance B1 à B3 et C1 (séries n°2 et 3)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



HAUTE-GARONNE
CONSEIL GENERAL

LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

N° de dossier : 05 - 609
N° DIPLABO : 050607008800 - 02

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS
Prénom :
Adresse : Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN
Téléphone : 01 41 83 23 12
N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD
Adresse : ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore d'ambiance sur 6 prélèvements

Echantillon	Culture - numération	Identification
B1	nbreuses colonies	Présence de 6 colonies différentes sur l'ensemble des boîtes, en plus des moisissures.
B2	204 colonies dont 10 moisissures	
B3	284 colonies dont 13 moisissures	
C1	nbreuses colonies, non comptées	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

Viviane TKACZUK-MOQUAY

**ANNEXE 6 : Résultats bactériologiques des prélèvements cutanés D4 à D9 et G4 à G6
(séries n°2 et 3)**

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
LIBERTE-EGALITE-FRATERNITE



HAUTE-GARONNE
CONSEIL GENERAL

LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE DÉPARTEMENTAL

RAPPORT D'ANALYSES

N° de dossier : 05 - 608
N° DIPLABO : 050607008800 - 01

Nom ou raison sociale : Société AXIENCE – Dr FLAUS
Prénom :
Adresse : Tour ESSOR – 14, rue SCANDICCI 93500 PANTIN
Téléphone : 01 41 83 23 12
N° de cheptel :

Vétérinaire prescripteur : Dr MEYNAUD
Adresse : ENVT – Service de chirurgie

Recherche effectuée : Flore manuelle sur 9 prélèvements

Echantillon	Culture - numération	Identification
D4	32 colonies	<i>Bacillus</i> <i>Pantoea spp</i> <i>Staph. hominis</i>
D5	0 colonie	
D6	0 colonie	
D7	62 colonies	<i>Bacillus</i> <i>Pantoea spp</i> <i>Staph. hominis</i>
D8	0 colonie	
D9	0 colonie	
G4	71 colonies	<i>Bacillus</i> <i>Pantoea spp</i> <i>Staph. hominis</i>
G5	0 colonie	
G6	0 colonie	

LA DIRECTRICE DU LABORATOIRE

Viviane TKACZUK-MOQUAY

Toulouse, 2006

NOM : TANNEUR

PRENOM: Marie-Laure

TITRE : Etude de l'efficacité *in vivo* d'un savon chirurgical à base de chlorhexidine.

RESUME:

Cette thèse a eu pour objectif de tester *in vivo* l'efficacité et la rémanence d'un savon contenant des agents désinfectants et surgraissants, lors de la désinfection des mains. Aucune étude de ce type n'a été pratiquée auparavant.

Plusieurs prélèvements bactériologiques ont été réalisés sur les mains d'un opérateur avant et après lavage chirurgical à l'aide du savon Rivadouce®. Des prélèvements de l'air ambiant ont aussi été réalisés. Après incubation, les colonies ont été dénombrées et identifiées. Les résultats ont été satisfaisants car le taux de réduction de bactérienne a été de 100%, jusqu'à 4 heures après la désinfection, malgré une forte contamination de l'air ambiant.

Ce travail a montré la faisabilité de l'étude qui devra être répétée sur le même opérateur et sur d'autres pour réaliser une analyse statistique. Les résultats obtenus ouvrent de nombreuses perspectives d'études concernant la rémanence du savon, son efficacité lors de la désinfection de la peau animale...

MOTS-CLES : DESINFECTION CHIRURGICALE, SAVON, REMANENCE, CHLORHEXIDINE.

TITLE: Study of the *in vivo* effectiveness of a chlorhexidine surgical soap.

ABSTRACT:

This thesis aims to test the *in vivo* effectiveness and the remanence of a surgical soap, containing disinfecting and overgreasing agents, after surgical washing of hands. No study of this kind had been practised before.

Several bacteriological swab were carried out on the hands of an operator before and after surgical washing using the Rivadouce® soap. Swab of the ambient air were also carried out. After incubation, the colonies were counted and identified. The results were satisfactory since the reduction ratio of bacterial was 100%, up to 4 hours after disinfection, in spite of a heavy contamination of the ambient air.

This work showed the feasibility of the study which will have to be repeated on the same operator as on others, in order to carry out statistical analysis. The results obtained open many prospects for studies concerning the remanence of the soap, bearing on the effectiveness of the soap during the disinfection of the animal skin...

KEYWORDS: SURGICAL DESINFECTION, SOAP, REMANENCE, CHLORHEXIDINE.