

# Efficacité virucide de huit désinfectants contre les pneumovirus, coronavirus et parvovirus

P Maris

► **To cite this version:**

P Maris. Efficacité virucide de huit désinfectants contre les pneumovirus, coronavirus et parvovirus. Annales de Recherches Vétérinaires, INRA Editions, 1990, 21 (4), pp.275-279. hal-00901949

**HAL Id: hal-00901949**

**<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00901949>**

Submitted on 1 Jan 1990

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Effacité virucide de huit désinfectants contre les pneumovirus, coronavirus et parvovirus

P Maris

Centre national d'études vétérinaires et alimentaires, Laboratoire des médicaments vétérinaires, La Haute-Marche, Javène, 35133 Fougères, France

(Reçu le 30 mars 1990; accepté le 22 mai 1990)

**Résumé** — L'activité virucide de 8 désinfectants a été analysée vis-à-vis de 3 groupes de virus importants en pathologie animale (pneumovirus, coronavirus, parvovirus). En absence ou en présence de matière organique, le parvovirus a été plus résistant, puisqu'il a été nécessaire pour l'inactiver d'appliquer des concentrations 20 à 500 fois plus élevées que celles nécessaires pour inactiver le coronavirus et le pneumovirus. La présence de matières organiques a réduit fortement l'activité des désinfectants. Parmi les produits testés, la soude à 0,8% et la solution d'hypochlorite de sodium à 1° chlorométrique ont été les plus actifs.

**désinfectant / virus / in vitro**

**Summary** — Virucidal efficacy of common disinfectants against pneumovirus, coronavirus and parvovirus. The virucidal activity of 8 disinfectants was analyzed towards 3 groups of viruses responsible for diseases in animals (pneumovirus, coronavirus, parvovirus). Whether organic matter is present or not, parvoviruses are the most resistant, since concentrations of disinfectants 20–500 times higher than those inactivating coronaviruses and pneumoviruses must be used. When organic matters are present the activity of disinfectant is considerably reduced. Among the products tested, 0.8% soda and sodium hypochlorite with 1° chlorometric were the most active.

**disinfectant / virus / in vitro**

### INTRODUCTION

Les désinfectants sont des produits permettant de détruire sur les surfaces de très nombreux micro-organismes et, notamment, des virus. Des études précédentes nous ont permis d'évaluer des méthodes d'étude de l'activité virucide des désinfectants (Maris, 1986a) et d'apprécier la sensibilité aux produits chimiques de quelques virus appartenant aux groupes des picornavirus, adénovirus, rotavirus, réovirus, herpèsvirus, poxvirus et paramyxovirus (Maris, 1986b, 1988). Afin de compléter l'analyse du spectre d'activité de ces désinfectants utilisés en éle-

vage, nous nous sommes intéressés à 3 autres groupes intervenant fréquemment en pathologie animale. Les parvovirus, produisant par exemple des troubles de la reproduction chez la truie (Vannier, 1983), sont reconnus très résistants à la chaleur et aux radiations (Srivastava et Lund, 1980; Monteith et Shannon, 1986; Herman, 1987). Les coronavirus, responsables de diarrhées, présentent également dans des milieux très variés des résistances assez fortes (Laude, 1981; Ijaz *et al*, 1985; Herman, 1987; Panon *et al*, 1988). Enfin, nous avons choisi les pneumovirus représentés par le virus de la rhinotrachéite de la dinde récemment classé dans la famille des Paramyxoviri-

dæ (Collins *et al*, 1986). Ce virus étant apparu brutalement au début des années 1980 en France, nous ne possédons pas d'informations sur sa résistance aux désinfectants.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### *Les désinfectants*

Nous avons sélectionné des désinfectants déjà testés lors de précédentes expérimentations (Maris, 1986a et b, 1988) afin de comparer leur

comportement vis-à-vis d'une large gamme de virus. Parmi les 8 désinfectants, nous trouvons 5 spécialités, et 3 produits de référence utilisés pour le traitement des surfaces contaminées par des agents responsables de maladies légalement réputées contagieuses (Anonyme, 1957). La composition et la dose usuelle d'emploi de chacun d'eux sont précisées dans le tableau I.

Toutes les solutions d'essais ont été préparées dans de l'eau distillée stérile. La gamme de concentrations employée (exprimée en pourcentage ou degré chlorométrique pour le produit H) était : 0,01; 0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5; 10. Pour les solutions de formaldéhyde et de soude, nous avons testé en plus les doses recommandées 0,3% et 0,8%.

**Tableau I.** Concentrations virucides de 8 désinfectants. <sup>a</sup> : valeurs obtenues en absence de matières organiques (valeurs obtenues en présence de matières organiques); <sup>b</sup> : non déterminé; <sup>c</sup> : produits de référence.

<i>Désinfectants</i> <i>Matières actives (%)</i>	<i>Dose usuelle (%)</i>	<i>Pneumovirus</i>	<i>Coronavirus</i>	<i>Parvovirus</i>
Désinfectant A Benzylchlorophenol (5) Méthylchlorophénol (10)	0,5	0,01 <sup>a</sup> (nd) <sup>b</sup>	0,05 (0,5)	5 (>10)
Désinfectant B Iodophore, iode libre (1)	1	0,05 (nd)	0,1 (0,5)	5 (>10)
Désinfectant C Acide peracétique (2)	0,2	0,1 (nd)	0,1 (0,5)	2 (10)
Désinfectant D <sup>c</sup> Formaldéhyde (0,3)	100	0,1 (nd)	0,1 (0,3)	2 (2)
Désinfectant E Ammonium quaternaire (6) Glutaraldéhyde (5) Formaldéhyde (7,5)	0,5	0,01 (nd)	0,05 (0,5)	2 (nd)
Désinfectant F Chloramine T (100)	0,3	0,02 (nd)	0,01 (0,1)	2 (5)
Désinfectant G <sup>c</sup> Soude (0,8)	100	0,1 (nd)	0,1 (0,5)	0,8 (0,8)
Désinfectant H <sup>c</sup> Hypochlorite (1° chlorométrique)	100	0,01 (nd)	0,05 (0,5)	0,2 (0,4)

## Les virus

Trois modèles viraux ont été choisis :

- le virus de la rhinotrachéite infectieuse de la dinde (RTI) fourni par le Laboratoire de pathologie aviaire – CNEVA, Ploufragan, 22 (réf : 86004) –, produit et titré sur la lignée cellulaire MA 104 (Giraud *et al*, 1988);
- le coronavirus bovin, fourni par le Laboratoire de pathologie bovine – CNEVA, Lyon – produit et titré sur la lignée cellulaire Vero;
- le parvovirus canin, fourni par le Laboratoire central de Maisons-Alfort – CNEVA (souche vaccinale Carmichael) – produit et titré sur la lignée cellulaire CRFK.

Le titrage de ces virus a été réalisé en microplaques à 96 cupules (Greiner M<sub>24</sub> ArtI), en utilisant des dilutions de raison 10 et 5 cupules par dilution. Le titre a été exprimé par l'inverse de la plus forte dilution de suspension virale donnant un effet cytopathique dans 50% des cupules (DCP 50, calculée par la méthode de Reed et Muench, 1938). Pour le parvovirus, l'effet cytopathique est révélé par hémagglutination d'hématies de porc. Les logarithmes décimaux des titres moyens par ml ont été de 4,2 pour le virus de la rhinotrachéite de la dinde, 6,5 pour le coronavirus bovin et 5,5 pour le parvovirus canin.

## Détermination de l'activité virucide

Nous avons utilisé la méthode de dilution décrite dans la norme NF T 72-180 (Association française de normalisation, 1986). Elle se déroule en 2 étapes : la 1<sup>re</sup> étape se résume à 2 essais préliminaires qui ont pour but de déterminer le seuil de non-cytotoxicité du désinfectant, puis de préciser si à cette dilution les cellules conservent leur capacité à produire le virus; la 2<sup>e</sup> étape consiste à mélanger volume à volume la suspension virale et la solution de désinfectant concentrée 2 fois, en absence ou en présence de matière organique. Cette dernière, faite d'un mélange de 1% d'extrait de levure et 1% d'albumine bovine (Association française de normalisation, 1989), simule des conditions dans lesquelles peuvent se trouver les particules virales.

## Expression des résultats

Du fait de titres viraux faibles, notamment pour le virus RTI, et d'une toxicité cellulaire importante de certains désinfectants, nous avons retenu comme valeur, la plus faible concentration de désinfectant donnant un abaissement d'au moins 99% du titre viral.

## RÉSULTATS

Pour le pneumovirus ayant un titre trop faible, nous n'avons pas pu apprécier un abaissement du titre viral de 99% lors des essais en présence de matières organiques. Les concentrations minimales virucides des désinfectants vis-à-vis du pneumovirus et du coronavirus ont été voisines. Par contre, elles ont été de 20 fois (produit C, acide peracétique, et produit D, formaldéhyde) à 500 fois (produit A, dérivés phénoliques) plus élevées vis-à-vis de parvovirus. Les produits G (soude) et H (hypochlorite de sodium) sont actifs à des concentrations inférieures à celles des autres produits. La présence de matière organique réduit (jusqu'à 10 fois) l'efficacité des désinfectants. Les produits A (dérivés phénoliques), E (ammonium quaternaire, glutaraldéhyde, formaldéhyde) et F (chloramine T) ont été les plus sensibles à l'action du milieu interférent (tableau I).

## DISCUSSION

À partir des résultats que nous venons de présenter, nous pouvons faire un certain nombre d'observations. Nous avons constaté que le virus de la rhinotrachéite de la dinde, sur lequel nous n'avions aucune information à ce jour, est très sensible aux

désinfectants. Il est, en particulier, plus sensible que le virus de la maladie de Newcastle appartenant à la même famille des Paramyxoviridae et très proche du comportement du poxvirus, qui est le virus de la maladie de la myxomatose (Maris, 1988). Concernant les coronavirus, Saknimit *et al* (1988) ont montré que beaucoup de désinfectants (alcools, ammoniums quaternaires, iodophores, hypochlorite de sodium) les inactivent, alors que seuls le formaldéhyde à 0,7%, un iodophore à 0,005% d'iode libre et l'hypochlorite de sodium à 0,3° chlorométrique détruisent le parvovirus. Travaillant avec un parvovirus porcine, Brown (1981) conclut que seuls la soude, l'hypochlorite de sodium et le glutaraldéhyde sont efficaces, alors que les iodophores, les ammoniums quaternaires, les dérivés phénoliques et les alcools sont inactifs. Ce même auteur vérifie sur un coronavirus (virus de la gastroentérite transmissible) que tous les désinfectants testés sont actifs. Enfin, Scott (1980), travaillant sur 27 spécialités, constate que seulement 3 d'entre elles, à base de formaldéhyde, glutaraldéhyde et hypochlorite de sodium, sont efficaces sur le parvovirus.

Si nous comparons les doses d'emploi des 5 spécialités et les concentrations virucides sur le parvovirus, nous observons que toutes ces doses sont très largement insuffisantes, même en l'absence de matière organique. Par contre, pour les 3 substances de référence et aux doses recommandées pour l'agrément vétérinaire (Anonyme, 1957), la soude (G) et l'hypochlorite de sodium (H) sont efficaces, alors que la solution de formaldéhyde (D) est trop faiblement dosée.

Lorsque nous rapprochons les résultats de cette étude des concentrations minimales virucides obtenues dans les mêmes conditions expérimentales (Maris, 1986b et 1988), nous pouvons déduire quels sont les désinfectants les plus efficaces sur des

virus représentatifs du monde viral, c'est-à-dire des virus à ARN et ADN, nus et enveloppés, de diamètre allant de 20 nm à 250 nm. Nous pouvons les rassembler en 3 groupes : le 1<sup>er</sup> groupe contient les virus enveloppés et, parmi ceux-ci, le pneumovirus et le poxvirus sont les plus sensibles; le 2<sup>e</sup> groupe contient l'adénovirus et le rotavirus avec, pour ce dernier, une plus grande résistance notamment vis-à-vis de la chloramine T; enfin, le 3<sup>e</sup> groupe contient le picornavirus et le parvovirus, avec toutefois ce dernier virus inactivé seulement aux concentrations les plus souvent les plus fortes. Ces différences importantes de comportement des virus s'expliquent en partie par leur nature chimique et par celle des désinfectants. Des produits à action brutale (oxydants forts, réducteurs forts, acides ou bases fortes) agissent sur toutes les structures de la particule virale dans une fourchette de concentrations étroites, alors que les autres produits lipophiles (dérivés phénoliques, ammoniums quaternaires) ont une action préférentielle sur les virus dont l'enveloppe est de nature lipidique et n'ont pas d'action sur les virus non enveloppés.

En conclusion de cette étude, il est important d'alerter les utilisateurs de désinfectants pour leur faire prendre conscience que le choix d'un produit actif sur un seul groupe de virus ne suffit pas, mais qu'ils doivent connaître plus précisément leur performance sur une grande variété d'espèces afin d'écarter beaucoup d'entre eux, totalement inefficaces aux doses usuelles d'emploi sur certains virus importants en pathologie animale.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions M<sup>me</sup> Fresnel pour son excellente collaboration technique, ainsi que les directeurs du Laboratoire de pathologie aviaire,

du Laboratoire central de Maisons-Alfort et du Laboratoire de pathologie bovine (CNEVA, Lyon) pour avoir mis à notre disposition les souches virales.

## RÉFÉRENCES

- Association française de normalisation (1986) Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide miscibles à l'eau. Détermination de l'activité virucide. Virus des vertébrés. Norme AFNOR NF T 72 180 AFNOR, Paris, 21 p
- Association française de normalisation (1989) Recueil de normes françaises. Antiseptiques et désinfectants, 2<sup>e</sup> ed, AFNOR, Paris, 671 p
- Anonyme (1957) Arrêté du 28 février 1957. Désinfection dans le cas de maladies légalement contagieuses des animaux. *Journal officiel*, 1<sup>er</sup> mars 1957, 2
- Brown T (1981) Laboratory evaluation of selected disinfectants as virucidal agents against porcine parvovirus, pseudorabies virus and transmissible gastroenteritis virus. *Am J Vet Res* 42, 1033-1036
- Collins S, Gough RE, Lister SA, Chettle N, Eddy R (1986) Further Characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis. *Vet Rec* 13, 606
- Giraud P, Guittet M, Toquin D, Bennejean G (1988) La rhinotrachéite infectieuse de la dinde. Description et rôle d'un nouvel agent viral. *Recl Méd Vét* 164, 39-44
- Herman S (1987) Virucidal effect of the heat treatment of waste food for swine. *Tieraerztl Umsch* 42, 892-896
- Ijaz MK, Brunner AH, Sattar SA, Nair RC, Johnson-Lussenburg CM (1985) Survival characteristics of airborne human coronavirus 229E. *J Gen Virol* 66, 2743-2748
- Laude H (1981) Thermal inactivation studies of a coronavirus, transmissible gastroenteritis virus. *J Gen Virol* 56, 235-240
- Maris P (1986a) Étude de l'activité virucide *in vitro* des désinfectants au moyen de deux méthodes. *Ann Rech Vét* 17, 115-122
- Maris P (1986b) Activité de divers désinfectants sur sept virus non enveloppés. *Ann Rech Vét* 17, 433-439
- Maris P (1988) Comparaison *in vitro* des propriétés bactéricides et virucides des désinfectants. *Recl Méd Vét* 164, 53-57
- Monteith HD, Shannon EE (1986) The inactivation of a bovine enterovirus and a bovine parvovirus in cattle manure by anaerobic digestion, heat treatment, gamma radiation, ensilage and composting. *J Hyg* 97, 175-184
- Panon G, Tache S, Labie C (1988) Respective stability of rotavirus and coronavirus in bovine milk. *Lait* 68, 49-64
- Reed LJ, Muench H (1938) A simple method of estimating fifty per cent end point. *Am J Hyg* 27, 493-497
- Saknimit M, Inatsuki I, Sugigama Y, Yagami K (1988) Virucidal efficacy of physico-chemical treatments against coronaviruses and parvoviruses of laboratory animals. *Exp Anim* 37, 341-345
- Scott FW (1980) Virucidal disinfectants and feline viruses. *Am J Vet Res* 41, 410-414
- Srivastava RN, Lund E (1980) The stability of bovine parvovirus and its possible use as an indicator for the persistence of enteric viruses. *Water Res* 14, 1017-1021
- Vannier P (1983) Le parvovirus et les troubles de la reproduction chez la truie. *Élev Porcs* 150, 24-30