Décontamination sèche de simulants chimiques et biologiques

Maria Betzabeth Espina-Benitez, Elodie Denet, Marie-Alexandrine Bolzinger, Veronica Rodriguez Nava, Thierry Pollet, Isabelle Pitault, Didier Blaha, Stephanie Briancon

▶ **To cite this version:**

Maria Betzabeth Espina-Benitez, Elodie Denet, Marie-Alexandrine Bolzinger, Veronica Rodriguez Nava, Thierry Pollet, et al.. Décontamination sèche de simulants chimiques et biologiques. Medecine de Catastrophe Urgences Collectives, 2020, 10.1016/j.pxur.2020.06.004 . hal-03008596

HAL Id: hal-03008596
https://hal.science/hal-03008596

Submitted on 16 Nov 2020

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.

Décontamination sèche de simulants chimiques et biologiques / Chemical and biological dry decontamination

Maria Betzabeth Espina-Benitez,[1,2*¥] Elodie Denet,[3*¥] Marie-Alexandrine Bolzinger,[1,2] Veronica Rodriguez Nava,[3] Thierry Pollet,[4] Isabelle Pitault,[1] Didier Blaha,[3] Stéphanie Briançon[1,2]

[1]*Univ Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, LAGEPP UMR 5007, 43 boulevard du 11 novembre 1918, F-69100, VILLEURBANNE, France ;*

[2]*Univ Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire de Dermopharmacie et Cosmétologie, Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologique, F-69373, Lyon, France ;*

[3]*Université Claude Bernard Lyon 1, Laboratoire d'Ecologie Microbienne (UMR CNRS 5557, INRA 1418), Lyon, France*

[4]*OUVRY SAS, 24 av. Joannès Masset, F-69009 Lyon, France*

*maria-betzabeth.espina-benitez@univ-lyon1.fr et elodie.denet@univ-lyon1.fr

[¥] Contribution équivalente à cette étude

Lors d'une attaque ou d'un accident chimique/biologique, la décontamination par voie sèche représente une étape essentielle à la bonne prise en charge des victimes. Les systèmes actuels qui fonctionnent uniquement par adsorption et par déplacement, comme la Terre à Foulon, ont l'inconvénient de ne pas neutraliser les toxiques chimiques ou biologiques, donnant lieu à des contaminations croisées et ainsi à des risques de ré-aérosolisation de ces agents. Par conséquent, l'ajout d'une fonction de décontamination des agents adsorbés, par le biais d'une formulation à base de nanoparticules (NPs) d'oxyde métallique (OM) intéresse considérablement les acteurs d'opération (civils ou militaires). En effet, les nanoparticules offrent des performances prometteuses grâce à leur petite taille, leur surface spécifique élevée et leurs propriétés physico-chimiques uniques, qui leur permettent d'adsorber mais aussi de dégrader les composés toxiques.

L'objectif de ces travaux est de concevoir et de développer un dispositif de décontamination incluant des NPs d'OM actives contre les agents dangereux, qu'ils soient chimiques et/ou biologiques. Ainsi, une série d'OMs tels que le MgO, le TiO_2, le CeO_2, le ZnO et le ZrO_2 ont été testés, d'une part pour leur activité de dégradation chimique du substitut du VX, le paraoxon (POX) et d'autre part pour leur activité antibactérienne sur des agents simulant de la menace terroriste biologique (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli).* Les résultats de cette étude montrent que le MgO est le seul OM qui présente une activité de décontamination polyvalente (chimique et biologique). Dans le cadre d'une application de "décontamination" immédiate, les NPs peuvent donc s'intégrer dans le développement d'un dispositif de décontamination innovant, utilisable par tous et évitant les contaminations croisées.

Mots-clés : décontamination sèche, nanoparticules, oxyde métallique, agents toxiques de guerre.

Keywords : dry decontamination, nanoparticles, metal oxide, warfare agents.

1. Introduction

En cas d'attaque ou d'accident chimique, le nombre de victimes est plus élevé durant les premières heures suivant l'accident pour ensuite décroitre fortement. Un exemple est l'attaque au gaz sarin dans le métro de Tokyo en 1995, où plus de 60 % des victimes sont arrivées à l'hôpital, sans même connaître le nom de l'agent toxique utilisé, et cela 2h30 après l'attaque. Paradoxalement, en cas d'attaque biologique, le nombre de victimes est moins important dans les premières minutes mais augmente avec le temps en raison d'une propagation de l'agent pathogène qui, parfois, peut être très rapide.

Du fait de leur toxicité et réactivité, les principaux agents toxiques chimiques de guerre utilisés sont les agents neurotoxiques (tabun, soman, sarin et VX) et les agents vésicants (lewisite, gaz moutarde à l'azote et HD). Les propriétés physico-chimiques de ces toxiques telles que leur faible masse moléculaire et leur caractère hydrophobe et/ou volatile à pression atmosphérique facilitent leur pénétration dans l'organisme par voie cutanée, respiratoire et oculaire. Outre la menace chimique, il existe aussi la menace biologique. En effet, des attaques biologiques ont déjà été décrites dans le monde, comme par exemple, le cas des enveloppes contaminées avec des spores de *Bacillus anthracis* (1). *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, et le virus Ebola sont des agents pathogènes pouvant être utilisés dans les attaques biologiques. Ces germes sont très menaçants puisqu'ils ont plusieurs voies de pénétration dans le corps comme les yeux, la peau et les voies digestives et respiratoires.

La méthode de décontamination la plus utilisée actuellement est la décontamination physique, basée sur le transfert de l'agent toxique sur la Terre à Foulon, une poudre possédant une très grande capacité d'absorption mais qui peut conduire à une ré-aérosolisation de l'agent toxique et donc potentiellement à des contaminations croisées (2).

L'utilisation des NPs telles que les OMs, possédant des propriétés physico-chimiques bien définies (taille des particules, porosités, structure cristalline contrôlée, surface spécifique) , permet de combiner deux activités : l'adsorption et la dégradation des agents toxiques (3,4). Parmi les NPs d'OM couramment étudiées, l'oxyde de magnésium MgO présente un intérêt particulier car il s'agit d'un matériau non toxique et peu coûteux qui possède une bonne activité chimique et antibactérienne (5,6).

Dans ce contexte, plusieurs NPs d'OM ont été testées afin de sélectionner le ou les OM(s) ayant les meilleures performances en termes de décontamination chimique et biologique. Une cinétique de décontamination chimique d'un simulant du VX, le paraoxon (POX), a été réalisée *in vitro*. Quant à l'activité antibactérienne des OMs, des bactéries telles que *E. coli* et *S. aureus* ont été utilisées en tant que simulants de la menace biologique.

Matériel et méthodes

Le Paraoxon-éthyl (diéthyl 4-nitrophényl phosphate, CAS 311-45-5), pureté 90%, densité 1,27 g/ml a été acheté chez Sigma (St Quentin Fallavier, France). L'isopropanol (≥ 99%) a été acheté chez VWR (Fontenay-sous-Bois, France). Le méthanol (MeOH) a été fourni par Fisher Scientific (Leicestershire, Royaume-Uni). Le dioxyde de titane, le dioxyde de cérium, le dioxyde de zirconium, l'oxyde de zinc, l'oxyde de magnésium à 325 mesh (MgO-1) et l'oxyde de magnésium < 50 nm (MgO-2) étaient des produits commerciaux obtenus auprès de différents fournisseurs.

Une solution à 200 µmol L^{-1} de paraoxon éthyle (POX) a été préparée dans de l'isopropanol. Pour chaque expérience de dégradation, 200 mg de nanoparticules ont été introduits dans des flacons de verre, puis 2 mL de solution de POX, précédemment préparée dans l'isopropanol ont été ajoutés. Chaque échantillon a été placé à 25 °C dans un bain thermostaté, sous agitation magnétique, pendant 5 heures. Chaque expérience est réalisée en double. Une solution de 200 µmol L^{-1} de POX, sans nanoparticules, a été utilisée comme blanc de réaction. La dégradation du POX a été contrôlée par quantification de la concentration de POX par chromatographie liquide à haute performance (CLHP). La suspension contenant des nanoparticules a été centrifugée toutes les 30 min (ou 15 min pour les dégradations plus rapides). Le surnageant a été dilué à 1:10 dans du MeOH et filtré à travers un filtre à membrane en nylon avant analyse CLHP pour déterminer les quantités résiduelles de POX.

L'activité antibactérienne des nanoparticules d'oxyde métallique (MgO, ZnO, CeO_2, ZrO_2 et TiO_2) a été testée sur *Escherichia coli* souche de référence CIP 54.127 et *Staphylococcus aureus* souche de référence CIP 4.83 (souches obtenues auprès de la collection de l'Institut Pasteur, France). 1 mL de chaque suspension bactérienne préalablement ajustée à 10^8 UFC/ml a été ajouté à 100 mg de poudre

de nanoparticules d'oxyde métallique et ce mélange a été incubé pendant 3h à 37 °C sous agitation. A chaque pas de temps de cinétique (0 et 3h), 1mL de suspension a été prélevé et dilué en série dans du NaCl à 0,9 %. 100 µL de chaque dilution a été étalé sur un milieu Plate Count Agar (Solabia, France) et incubés à 37°C pendant 24 h. Les bactéries viables ont ensuite été dénombrées et ces résultats ont ensuite été comparés à la condition témoin réalisée sans nanoparticule.

2. Résultats et discussion

2.1. La décontamination chimique

Le test *in vitro* a été développé afin de cribler rapidement plusieurs NPs d'oxyde métallique, en fonction de leur capacité à dégrader le POX. La dégradation des POX a été exprimée en pourcentage de conversion de POX :

$$\%\ POX\ conversion = \frac{n_{POX,t=0} - n_{POX,t}}{n_{POX,t=0}} \times 100$$

où $n_{POX,t=0}$ est la quantité de mole de POX avant son contact avec l'oxyde métallique, et $n_{POX,t}$ est la quantité de mole de POX à chaque échantillonnage de la solution POX en contact avec l'oxyde métallique. La méthode utilisée pour l'essai donne des informations sur l'activité de dégradation des particules dans l'isopropanol à 25 °C. Le ZnO n'a pas dégradé le POX pendant la durée de réaction de 5 h. La capacité de dégradation du paraoxon par les autres nanoparticules d'oxyde métallique, est présentée dans le Tableau 1, à 1 h et à 5 h de réaction.

Tableau 1. Pourcentage de conversion du POX sous action des nanoparticules d'oxyde métallique

Temps de réaction	CeO_2	MgO-2	TiO_2	MgO-1	ZrO_2
1 h	98,9 ± 0,4	92,0 ± 1,4	87,8 ± 2,4	66,5 ± 1,7	48,4 ± 4,8
5 h	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	96,0 ± 0,6	94,7 ± 0,5

Après 1 heure de contact, deux groupes de nanoparticules se sont distingués :
- Le premier groupe de nanoparticules « dit de conversion rapide » est composé par le CeO_2, le MgO-2 et le TiO_2, qui dégradent plus de 80% du POX initial,
- Le second groupe de nanoparticules « dit de dégradation lente » est composé par le MgO-1 et le ZrO_2 dégradent moins du 70 % de la concentration de POX initial. Après 5 heures de contact, le POX est totalement dégradé par le premier groupe tandis que le deuxième groupe a dégradé 96,0 % et 94,7 % du POX initial avec MgO-1 et ZrO_2, respectivement.

La dégradation complète et rapide des composés organophosphorés par les nanoparticules d'oxyde métallique est rarement décrite dans la littérature, à l'exception du CeO_2, comme le démontrent Trenque *et al* , 2019 (7). Nos résultats sont en accord avec ceux de Trenque et al., qui montre 100 % de conversion du POX en p-nitrophénol en solution aqueuse en moins d'une heure. Néanmoins, une conversion très rapide du POX a également été observée avec le TiO_2 et le MgO-2.

2.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été testée sur une bactérie à Gram négatif et une bactérie à Gram positif. Le tableau 2 présente les résultats de cette activité antibactérienne des différents oxydes métalliques sur *E. coli* et *S. aureus* après 3h de contact.

Tableau 2. Activité antibactérienne des différentes nanoparticules d'oxyde métallique sur la croissance bactérienne après 3h

Espèces bactériennes / Oxydes métalliques	CeO_2	MgO-2	TiO_2	MgO-1	ZrO_2	ZnO
E. coli	0	+	0	+	0	+
S. aureus	0	+	0	0	0	0

0: pas d'activité bactéricide, +: activité bactéricide

Une activité bactéricide a été trouvée pour les deux MgO ainsi que le ZnO sur *E. coli* alors que le CeO_2, TiO_2 et ZrO_2 n'ont aucune activité antibactérienne sur cette même espèce. *A contrario,* seul le MgO-2 a présenté une activité bactéricide sur *S. aureus* et aucune activité antibactérienne n'a pas pu être constatée avec les autres oxydes métalliques testés sur cette espèce.

La différence d'activité antibactérienne des OMs sur les bactéries à Gram négatif *versus* à Gram positif peut s'expliquer par la composition de leur paroi bactérienne. En effet, les bactéries à Gram négatif possèdent une paroi complexe composée par une membrane externe avec une couche phospholipidique intérieure surmontée de macromolécules LPS (lipopolysaccharides) qui va recouvrir une fine couche de peptidoglycane. Les bactéries à Gram positif ont, quant à elle, une structure beaucoup plus simple puisqu'elles possèdent seulement une couche épaisse de peptidoglycane (6). Cette couche épaisse de peptidoglycane présente dans la paroi des bactéries à Gram positif fournirait une barrière efficace contre la pénétration des NPs au sein de la cellule et permettrait à ces bactéries d'être plus résistantes à l'action des NPs (8).

L'efficacité de l'activité antibactérienne et de dégradation de composés organophosphorés par les NPs dépend de leur taille, de leur morphologie et de leurs propriétés de surface. Pour cela, une caractérisation des NPs est nécessaire afin de corréler leur efficacité à leurs propriétés.

3. Conclusions

Etant donné les résultats obtenus sur la dégradation du POX et l'activité antibactérienne des OMs sur les espèces bactériennes à Gram positif ou négatif, le MgO-2 est le seul OM à avoir une action polyvalente. Ainsi, le MgO-2 a été choisi comme matériau à intégrer sous forme de NPs dans un textile intelligent afin de pouvoir confiner l'agent toxique (chimique et/ou biologique) dans le dispositif de décontamination après adsorption et ensuite de pouvoir le dégrader *in-situ* par action des NPs du MgO-2.

4. References bibliographiques

1. Canter DA, Gunning D, Rodgers PA, O'connor L, Traunero C, Kempter CJ. Remediation of *Bacillus anthracis* contamination in the U.S. Department of Justice mail facility. Biosecurity and bioterrorism : biodefense strategy, practice, and science. 2005;3(2):119-27.
2. Salerno A, Devers T, Bolzinger M-A, Pelletier J, Josse D, Briançon S. In vitro skin decontamination of the organophosphorus pesticide Paraoxon with nanometric cerium oxide CeO2. Chemico-Biological Interactions. 2017;267:57-66.
3. Jain S, Bhanjana G, Heydarifard S, Dilbaghi N, Nazhad MM, Kumar V, et al. Enhanced antibacterial profile of nanoparticle impregnated cellulose foam filter paper for drinking water filtration. Carbohydrate Polymers. 2018;202:219-26.
4. Salerno A, Pitault I, Devers T, Pelletier J, Briançon S. Model-based optimization of parameters for degradation reaction of an organophosphorus pesticide, paraoxon, using CeO2 nanoparticles in water media. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2017;53:18-28.
5. Sellik A, Pollet T, Ouvry L, Briançon S, Fessi H, Hartmann DJ, et al. Degradation of paraoxon (VX chemical agent simulant) and bacteria by magnesium oxide depends on the crystalline structure of magnesium oxide. Chemico-Biological Interactions. 2017;267:67-73.
6. Tang Z-X, Lv B-F. MgO nanoparticles as antibacterial agent: preparation and activity. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 2014;31(3):591-601.
7. Trenque I, Magnano GC, Bolzinger MA, Roiban L, Chaput F, Pitault I, et al. Shape-selective synthesis of nanoceria for degradation of paraoxon as a chemical warfare simulant. Phys Chem Chem Phys. 2019;21:5455-5465
8. Pasquet J, Chevalier Y, Couval E, Bouvier D, Noizet G, Morlière C, et al. Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five micro-organisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties. International Journal of Pharmaceutics. 2014;460(1):92-100.