La stérilisation

I. Introduction

La stérilisation est le fait de **priver** un objet ou un produit des **micro-organismes qui le souillent**. On doit adapter la méthode au produit et il est possible de les associer (il faut considérer si le produit est solide, liquide, sensible à la température, aux rayonnements

+++ Il faut toujours réaliser la stérilisation à l'intérieur du conditionnement et dans une zone à atmosphère contrôlée +++

L'efficacité de la stérilisation **dépend du degrés initial de contamination microbienne**, on va donc utiliser une matière peu contaminée initialement pour plus d'efficacité (logik).

Il existe différentes méthodes de stérilisation+++ : *(on va le revoir point par point)*

- § Stérilisation par la chaleur (chaleur sèche et chaleur humide)
- § Stérilisation par les gazs alkylants (= agents chimiques)
- § Stérilisation par irradiations (= rayonnement ionisant RI)
- § Filtration stérilisante
- § Stérilisation par gaz plasma
- § Stérilisation par des agents chimiques (Formaldéhyde, oxyde d'éthylène)

II. Les témoins de la stérilisation

Ils permettent de vérifier **l'efficacité de la stérilisation** : il faut vérifier **la température et la durée**.

1. Les témoins physico-chimiques

+++ Ce sont des substances qui témoignent du passage par la phase de stérilisation **+++**

On retrouve plusieurs indices de passages :

→ Changement de couleur par rapport au point de fusion :

Ex : Acide benzoïque qui possède une température de fusion à 121°C

→ Indicateur coloré :

Ex : Eosine passant du rose pâle à l'orangé

Les méthodes que l'on utilise ont des **caractéristiques différentes** pour témoigner du passage par la phase de stérilisation :

Chaleur humide	Chaleur sèche	Par rayonnement	Par gaz plasma
Bande thermosensible avec un changement de couleur au contact de la vapeur d'eau	Bande thermosensible avec un changement de couleur au point de fusion	Pastille PVC imprégnées d'un indicateur coloré	Changement de couleur en présence de peroxyde d'hydrogène

2. Les témoins biologiques

Ce sont des témoins qui permettent de vérifier la réduction de 6log d'une population après traitement stérilisant

+ + + + + + + + + +

Pour chaque indicateur il faut connaître le **N0** (nombre initial de germes présents) et le **DT** (Temps de réduction décimal) +++

Ce qui suit c'est super important, c'est vraiment du par <3, ça tombe chaque année et c'est des points gratuits

En fonction de la méthode de stérilisation nous n'utiliserons pas la même souche pour vérifier si la stérilisation a été efficace : *En gris les mémos*

→ **Chaleur sèche** : Bacillus subtilus
(la même lettre « s » au début)

→ **Chaleur humide** : Bacillus stearothermophilus
(thermo comme température et la chaleur sèche est déjà prise donc c'est forcément la chaleur humide)

→ **Par oxyde d'éthylène (gaz alkylant)** : Bacillus subtilus var. Niger

→ **Par rayonnement** : Bacillus pumilus
(rayonnement = cancer, le plus connu est le cancer du poumon = pumilus)

→ **Par filtration stérilisante** : Pseudomonas diminuta
(dans la filtration on diminue ce qui peut passer à travers le filtre donc diminuta)

→ **Par gaz plasma** *:* Bacillus circulans *(plasma du sang, le sang circule = circulans)*

Ces souches n'ont pas étés choisies au hasard, **ce sont les souches les plus résistantes** pour le traitement donné.

/!\ Attention, il faut bien faire la différence entre les **témoins physico-chimiques** (substance qui témoigne du passage par la phase de stérilisation) et **témoins biologiques** (permettent de vérifier la réduction de 6log après stérilisation) /!\

III. Stérilisation par la chaleur

C'est une **méthode de choix** si le produit la support car c'est la méthode la **plus efficace** et la **plus sûre**. +++

La **sensibilité des micro-organismes à la chaleur** dépend de plusieurs facteurs :

- § De l'espèce microbienne
- § De la forme
- § De la durée du traitement
- § Du nombre de germes avant traitement (**N0**)
- § De la température
- § Du milieu de développement des germes (l'abondance en eau favorise le développement des germes alors que dans un milieu lipophile on aura moins de chances de développement des germes)
  Lipophile = Qui n'aime pas l'eau

Désolé pour tout ces tirets, retenez surtout que c'est logique

1. Les espèces microbiennes

Leur sensibilité à la chaleur dépend de l'espèce considérée. On apprécie cette méthode par l'utilisation **d'espèces très résistantes à la température.**

Il faut aussi savoir que les **spores sont beaucoup plus résistantes que les formes végétatives pour une même espèce** (spores = forme de résistance).
Donc le moyen de stérilisation utilisé devra non seulement détruire les formes végétatives mais aussi les spores.
Logique car si on détruit les spores on a sûrement déjà détruit les formes végétatives puisqu'elles sont moins résistantes

2. Durée et nombre de germes

La stérilisation suit une **loi décroissante** du nombre de micro-organismes en fonction du temps à une température constante.
+++ Le nombre de germes survivant est inverse à la durée du traitement. +++

a. Le temps de réduction décimale DT

+++ A une température donnée, **DT** correspond au **temps nécessaire** pour réduire la population de micro-organismes **d'un facteur 10 soit 1log +++**

*Donc après un temps DT, on a **10 fois moins** de bactéries qu'au départ*

Le **DT** est constant pour une souche donnée.
Ex : Pour le Bacillus stearothermophilus (utilisé pour la chaleur humide) le **DT = 1min30/2min**

+++ Pour une stérilisation efficace, il faut une décroissance **d'au minimum 10^6** soit **6log** par rapport à la contamination initiale. +++

Donc **2min** (**DT** du Bacillus stearothermophilus) **x6** (car pour une stérilisation efficace il faut une décroissance de 10^6) **= 12 min**, on rajoute une marge de sécurité de **3 min**.
+++ La stérilisation par la chaleur humide doit alors durer **15 min à 121°C** +++ *ça tombe souvent*

b. La valeur d'inactivation thermique Z

+++ C'est **l'élévation de température** nécessaire pour réduire la valeur de **DT** d'un **facteur 10**.
Plus la température du traitement est élevée, plus le **DT** diminue **+++**

Ex : Pour **Bacillus stearothermophilus, Z = 10°C**. Donc pour une élévation de 10°C (soit 131°C), le **DT est divisé par 10** et ne vaut plus que 0,2 min soit 12s.

c. Le temps équivalent FT

+++ C'est le **temps nécessaire** pour obtenir **le même effet** qu'un temps défini à la température de référence.
Ce paramètre permet de **comparer** des traitements thermiques différents. **+++**

Ex : 1min à 121°C équivaut à 2min à 118°C

Cela veut dire que si l'appareil varie simplement de quelques degrés, on va doubler ou tripler le temps nécessaire pour avoir le même résultat de stérilisation.

d. La valeur stérilisatrice F2T

+++ C'est la **somme des effets stérilisants** sur l'ensemble du cycle de stérilisation.
Elle permet de vérifier si la stérilisation a été **efficace ou non**. **+++**

Ex : Pour la chaleur humide : Quand **Z = 10°C** et que la **T = 121°C**, la valeur stérilisatrice est notée **F0** et permet la comparaison de l'efficacité de traitements différents.
F0 doit être au minimum de 8min pour que la stérilisation soit dite efficace. +++
C'est l'équivalent d'une stérilisation pour laquelle il y aurait eu une décroissance de 8log donc de 10^8 pour des spores très résistants.
On peut dire qu'une stérilisation où **F0 =** 35min est **acceptable**. Mais on ne peut pas dire qu'elle est acceptable si **F0 =** 4min. *Ce qu'il faut retenir c'est que si **F0 ≥ 8min** la stérilisation est acceptable sinon non **+++***

Le but de la stérilisation est d'obtenir une probabilité de non-stérilité de 10^{-6}
Le niveau assurance stérilité minimale de 10^{-6} se traduit donc par une réduction de **6log** de la contamination microbienne de départ.

3. Stérilisation par la chaleur humide

Bacillus Stearothermophilus

C'est une **méthode de choix** de par son efficacité, l'innocuité de son procédé *(ce n'est que de l'eau transformée en vapeur)*, ses températures relativement basses (120 ; 140°C)

Il va y avoir une **maîtrise des moyens de contrôle** :

- § Qualité de l'eau : traitée pour éviter impuretés et entartrage
- § Qualité de la vapeur : purger le système pour éviter les poches d'air
- § Le titre de vapeur saturée : doit être de **99% (poids vapeur/poids eau liquide++)**, cela veut dire que la vapeur doit rester à l'état gazeux pour assurer la stérilisation
- § Pureté chimique de l'eau : pas de traces de graisses, de particules métalliques

Un cycle de stérilisation à la chaleur humide est composé **4 phases +++ :**

I. Phase de vide — élimination de l'air

II. Phase de plateau — 121°C pendant 15min+++ **ou** 134°C pendant 10min

III. Refroidissement

IV. Séchage

Avantages	**Inconvénients**
¤ Facilité d'utilisation du matériel ¤ Innocuité agent stérilisant	¤ Attention objet thermosensible ¤ Attention objet sensibles à l'oxydation
Applications	
¤ **Surtout les médicaments** ¤ Matériel médico-chirurgical acier inoxydable, verre, latex	

4. Stérilisation par la chaleur sèche

Bacillus Subtilus

C'est une technique utilisant de **l'air chaud** à **pression atmosphérique** en **étuve**.

Il va y avoir **2 étapes** lors de la stérilisation par chaleur sèche +++ :

A 180°C pendant 30 min — Pour la stérilisation des contenants en verre dans le cadre des procédés des procédés de fabrication aseptique

A 220°C pour la dépyrogénisation — Des contenants en verre (ampoules, flacons p.p.i)

Ces deux valeurs sont à retenir, elles tombent souvent !!!

Le temps pour atteindre la température de stérilisation est plus long à cause de la faible conductivité thermique de l'air

Applications
¤ **Pas pour les médicaments** ¤ Pour objet métalliques et récipients verre p.p.i

IV. Filtration stérilisante ***Pseudomonas Diminuta 0,3µm***

C'est une technique de stérilisation qui s'applique aux **fluides (gaz et liquides monophasiques)**.
Cette technique est utilisée pour les solutions ayant **un principe actif thermolabile** (=thermosensible)

Le filtre est choisi et il doit : +++
- § Être **compatible** avec le PA dissous
- § Avoir un **faible taux de rétention** du PA *(PA = principe actif)*
- § Avoir un diamètre des pores de **0,22 µm** pour assurer la stérilisation
- § Mécanismes : Criblage, impact inertiel, adsorption

Les paramètres importants sont :
- § La nature du filtre (cellulose, nylon, polypropylène)
- § Sa porosité
- § Son seuil de rétention
- § La perte de charge

L'efficacité de la filtration stérilisante est confirmée avec **une suspension de micro-organismes vivants** de petite taille qui sera elle aussi filtrée.

Le filtrat ne doit pas donner de développement microbien dans un milieu approprié sinon cela veut dire que le **filtre est endommagé**.

V. Stérilisation par des agents chimiques

1. Le formaldéhyde

Cette technique consiste en **l'évaporation du formaldéhyde liquide sous forme de monomères gazeux**.
La pénétration de ces monomères est **lente et faible**. Elle crée une alkylation et une dénaturation des protéines.

Cette technique peut poser des problèmes car les monomères peuvent se **polymériser** et ainsi **diminuer l'efficacité** de la stérilisation.

Le formaldéhyde n'agit qu'en présence de **vapeur d'eau et à 50°C**.
Un système de détection du gaz (qui est irritant, toxique) **n'est pas nécessaire** car une fuite serait **directement détectable** du fait de son odeur caractéristique.

Inconvénients	Applications
¤ **Faible pénétration** ¤ Maitrise difficile des paramètres de stérilisation ¤ **Polymérisation des monomères** (=baisse de l'efficacité) ¤ Irritant pour la peau et l'appareil respiratoire	¤ Stérilisation des surfaces ¤ Absolument **pas pour les médicaments**

2. L'oxyde d'éthylène (OE) *Bacillus Subtilus Var. Niger*

L'Oxyde d'éthylène est un gaz **inodore**, **très réactif**, **inflammable**, **explosif** (si 3% < C° < 83%).
Pour abaisser le risque d'explosion on le mélange avec un gaz inerte comme le **N2** ou le **CO2**.
Ce gaz agit par alkylation et intervient donc dans le métabolisme microbien. Il a une excellente pénétration au sein des solides poreux. Lui aussi nécessite une certaine humidité pour pouvoir agir.

Paramètres d'efficacité :

§ La concentration en OE dépend de la température, de la nature de l'objet, du temps de contact
§ Température : **entre 37 et 60°C +++ (donc PAS à température ambiante)**
§ **Humidité relative** : permet la diffusion de l'OE à travers les membranes des germes, **favorise l'alkylation** et la transformation des formes sporulées en formes végétatives (moins résistantes)
§ Durée d'exposition : dépend de la concentration en OE et de la température, détermine la qualité de la stérilisation

Avantages	**Inconvénients**
¤ Bonne diffusibilité	¤ Toxicité ¤ **Désorption lente** (difficile de faire sortir le gaz du matériau à stériliser) ¤ **Polyéthylènes : relargage rapide et latex : relargage lent ++** ¤ Formation de dérivés toxiques si ajout H2O ou Cl (**éthylène chlorhydrine, éthylène glycol**) **++** ¤ Seuil olfactif haut (explose avant repérage donc nécessité d'un système de détection) ¤ Matériel sensible à la chaleur
Applications	
¤ **Stérilisation des mdc s'il n'y a aucune autre méthode possible**, du matériel médico-chirurgical, du matériel à usage unique	

VI. Stérilisation par les rayonnements ionisants (RI) *Bacillus Pumilus*

Cette technique entraine la formation de **radicaux libres instables** qui vont oxyder les membranes des bactéries (peroxydation lipidique) pour les éliminer. Il y a une **action cumulative et proportionnelle à la dose**.

Le mécanisme est celui de la radiolyse de l'eau contenue dans les micro-organismes

+++ On a deux sources irradiantes : **60Co (Cobalt)** et **137Cs (Césium)** +++

La dose absorbée dépend :

§ De l'activité et configuration de la source
§ De la distance de la source aux produits
§ Du temps d'exposition et du nombre de passages devant la source
§ De la nature du produit, sa composition, densité, de son conditionnement

Ça aussi c'est logikkkkk 😊

Les **rayons gamma** sont les plus utilisés car ils sont **les plus pénétrants**. L'énergie apportée doit être **inférieure à 5 MeV** pour ne pas créer de radioactivité induite.

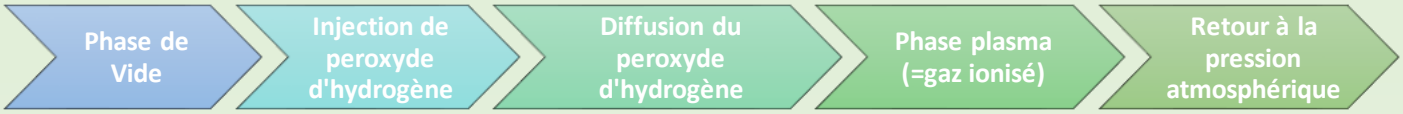
Avantages	**Inconvénients**
¤ Pouvoir de pénétration importante, on peut donc facilement stériliser du matériel à travers son emballage étanche commercialisé ¤ Procédé fiable et reproductible **¤ Stérilisation à froid**	¤ Modifications possibles des propriétés physico-chimiques des mdc ou matériaux
Contrôle	**Applications**
¤ Répartition des rayonnements et leur intensité : les dosimètres sont des intégrateurs ce qui fait qu'on peut mesurer leur densité optique et la variation de densité optique est proportionnelle à la dose absorbée	¤ Médicaments avec radio-stérilisation, antibiotiques à risque d'hydrolyse (non stérilisables par chaleur humide) ¤ Matériel médico- chirurgical ¤ Greffons osseux

Un sel ou un ester est moins sensible que l'acide libre à la radiolyse, les médicaments solides sont plus stables aux rayonnements ionisants.

VII. Stérilisation par le plasma

Bacillus Circulant

Un cycle de stérilisation par plasma est composé de **5 phases** :



Les éléments constitutifs de plasma sont transportés en flux continu vers la chambre de stérilisation pendant toute la phase plasma.
C'est une stérilisation à **basse température**, réalisée par combinaison des effets du peroxyde d'hydrogène et du plasma.
Le gaz ou le mélange de gaz **n'a pas d'effet sporicide** tant qu'il n'est pas activé (= tant qu'il n'est pas à l'état de plasma). La durée de vie des espèces du plasma est très courte.

Caractéristiques :

§ Durée inférieure à celle de la stérilisation sèche ou humide
§ **Température < oxyde éthylène (55°C) +++**
§ Possibilité de traiter la plus grande gamme d'objets possible Absence de risque pour opérateurs, patients, matériel dans les conditions normales d'utilisation

Applications
¤ Matériel thermosensible comme ceux en plastique, certaines fibres optiques (fibroscopies)

Dédis dans une autre fiche !!
En attendant, pas de dédicaces :
- Aux amendes de parking
- Aux ronéos qui ne sont pas numérotés à partir de la page de garde
- A ma proprio de l'année dernière et ses 200 balles de ménage alors que j'ai rendu l'appart aussi propre que quand elle me l'a laissé, ça te plait d'arnaquer des étudiants avec des contrats plus longs que mon bras ? (Oui j'ai la haine)
Mais dédicace :
- A l'alphabet sans qui je ne saurais pas compter
- Aux nombres sans qui je ne pourrais pas écrire