

LES METHODES DE STERILISATION

But : **Priver** une substance des micro-organismes qui la souille (bactéries, virus, spores). La méthode de stérilisation dépend du produit à stériliser et il est possible d'associer différentes méthodes.

But stérilisation : diminuer de **6log** la contamination microbienne de départ. Il existe une **probabilité de non-stérilité (risque de 10^{-6})**, soit une unité non stérile sur 1 million d'unités stérilisées.

L'efficacité de la stérilisation dépend **du degré de contamination** initial → intérêt de contrôler **l'environnement** de la stérilisation (air filtré...)

Nb : La stérilisation se fait à **l'intérieur du conditionnement** et en milieu hospitalier on aura une utilisation préférentielle de la chaleur humide, de l'éthylène glycol et de la filtration stérilisante.

Les solutions sucrées favorisent le faible développement de germes. Un sirop à concentration de saccharose **>65% masse/masse** n'a pas besoin de conservateur.

I. STERILISATION PAR LA CHALEUR

Meilleure méthode de stérilisation de médicaments mais contre indiquée pour les substances thermosensibles.

Cette méthode permet la **destruction de spores** qui sont souvent responsables de la résistance de micro-organismes à la stérilisation.

Le nombre de germes survivants est **inversement proportionnel à la durée** de traitement (Dt) à température constante.

Ceci est caractérisé par la loi **logarithmique** de décroissance suivante :

$$\text{Log} (N/N_0) = - Dt$$

Cette loi logarithmique dépend du nombre initial de germes (N/N₀).

La définition standard de N₀ étant N₀=10⁶

Amélioration de la stérilisation avec une modification du **temps** de stérilisation et de la **température** de stérilisation, déterminés par des **constantes** :

- **Temps de réduction décimale DT** à une température donnée : Le DT étant le temps nécessaire pour **réduire la population** de micro-organisme d'un facteur **10**.
- **Valeur d'inactivation thermique Z** : élévation de température nécessaire pour **diminuer** la valeur de **DT** d'un facteur **10**.
Donc plus la température est élevée, plus le temps de réduction décimale est faible.
- **Valeur stérilisatrice Ft** : **Temps équivalent** qu'il aurait fallu appliquer si on était resté à la température de référence en comparaison avec la température augmentée, pour avoir la même efficacité. Cette valeur (notée F₀) permet de **comparer l'efficacité thermique** de traitements différents en rapportant tout aux conditions de référence.
Dans la pratique, un traitement de stérilisation ne se passe pas à une température uniforme. **La valeur stérilisatrice permet de mesurer l'efficacité du procédé de stérilisation.**

A) Stérilisation par chaleur HUMIDE (processus le plus répandu)

On a une production de **vapeur d'eau** par chauffage **sous pression** : la vapeur saturante constitue le gaz stérilisant. On va avoir une dénaturation des macromolécules bactériennes sous l'action de la chaleur et une hydrolyse partielle des chaînes peptidiques.

Pour les récipients contenant des solutions à stériliser, l'effet stérilisant est réalisé par l'eau de la solution. Pour la stérilisation terminale, le conditionnement doit être perméable à la vapeur d'eau.

Le cycle de stérilisation est **hétérogène** : phase de vide, phase de plateau, refroidissement et séchage.

Avantages :

- très efficace et répandu
- non toxique** (utilisé pour les médicaments)
- températures **basses**, entre 120° et 140°
- bien maîtrisée**, normes de stérilisation connus.
- facilité d'utilisation matériel

Inconvénients :

- Ne fonctionne **pas** pour les produits thermosensibles
- Ne fonctionne **pas** pour les produits sensibles à l'oxydation (métaux...)

Précautions à prendre :

- qualité et pureté de l'eau
- qualité de la vapeur : le système doit être purgé pour éviter les poches d'air. Une absence d'homogénéité de la vapeur ne permet pas une stérilisation optimale dans toutes les zones du produit.
- contrôle du titre de la vapeur saturée qui doit être de 99% (% d'eau transformée en vapeur)

Applications :

- Stérilisation de **médicaments** et **solutions injectables**
- Stérilisation de **matériel** médico-chirurgical (acier inoxydable, verre, latex)

Nb : L'**autoclave** fonctionne via cette méthode de stérilisation.

B) Stérilisation par chaleur SECHE

On va utiliser de **l'oxygène de l'air** (porté à une T° élevée) pour entraîner une oxydation des protéines bactériennes. On utilise la convection de l'air dans l'étuve. L'air a une **faible conductivité thermique** (le temps pour atteindre la température de stérilisation est long), cette méthode prend donc **plus de temps** que la méthode par chaleur humide.

Dans des étuves sèches à pression atmosphérique on va d'abord chauffer à 180°C puis à 220°C pour dépyrogéniser.

Applications :

- Récipients et **objets** métalliques **qui ne supportent pas l'humidité**
- Récipients verre p.p.i
- N'est **pas utilisé pour les médicaments** ++

II. LA FILTRATION STERILISANTE (très utilisée)

S'applique pour les **gaz** et liquides **monophasiques**.

Plus compliqué que la chaleur humide via autoclave.

On va filtrer le produit et chercher à obtenir une rétention des agents souillant.

Les pores du filtre doivent avoir un diamètre **inférieur ou égal à 0,22 µm**.

Nb : Le diamètre des pores doit être compatible avec le PA. S'il y a une rétention du PA, les concentrations du produit final ne seront pas exactes.

III. STERILISATION PAR AGENTS CHIMIQUES

A) Le formaldéhyde (de moins en moins utilisé)

- évaporation du formaldéhyde liquide sous forme de **monomères gazeux**
- **dénature** les protéines par alkylation
- n'agit qu'en présence de **vapeur d'eau**
- pénétration **lente et faible** dans le produit ou lieux à stériliser
- **corrosif** et irritant (n'est pas utilisé pour matériaux fragiles)
- coût **très faible** !
- maîtrise des paramètres difficiles à contrôler
- pas de système de détection (gaz irritant, toxique)

Application :

Uniquement pour les **locaux** (**JAMAIS pour les médicaments**)

B) L'oxyde d'éthylène (OE)

- gaz **très réactif**, inflammable et toxique ainsi qu'**explosif** et **inodore** (dangereux)
- mélangé à des gaz inerte (azote et gaz carbonique) pour abaisser le risque d'explosion
- **dénature** les protéines par alkylation (nécessite une certaine humidité pour alkyler)
- **diffusible ++++**, traverse les solides poreux

Applications :

Très utilisé en hôpitaux et industries ainsi que pour le **matériel** médico-chirurgical à usage **unique** (diffuse à travers le plastique) et pour les **plastiques thermosensibles**.

Paramètres importants :

- Concentration en OE dépendant de la température (entre 37° et 60°C), de l'objet et du temps de contact.
- L'humidité relative : permet alkylation et diffusion
- Temps d'exposition
- Temps de désorption : **très long +++**, gros désavantage.

Avantages/Inconvénients :

- Polyéthylène relâche l'OE rapidement, le latex lentement
- **Toxicité**
- **Désorption lente**
- H₂O et Cl⁻ transformés en dérivés toxique : éthylène glycol et éthylène chlorhydrine
- Humidité difficile à maîtriser
- **Seuil olfactif haut** (seuil d'explosion inférieur au seuil olfactif)
- OE est **sensible à la chaleur**
- matériel à usage **unique** (traverse emballage)

IV. STERILISATION PAR RAYONNEMENTS IONISANTS

Issus principalement du **radium** et **cobalt**. On utilise des rayons gamma (plus pénétrants). L'énergie est faible (**<5 MeV**), il n'y a pas de risque de radioactivité.

Mécanisme : RI → formation de radicaux libre → radiolyse de l'eau → peroxydation lipidique.
L'action est **cumulative, proportionnelle** à la dose.

La dose absorbée dépend de :

- L'activité recherchée et de la source
- La **distance** substance-source de RI
- Le **temps d'exposition** et le **nombre de passages** devant la source
- La nature du **produit**, sa composition, sa densité et son conditionnement

Avantages : pénétration importante, procédé **fiable** et reproductible, stérilisation à **froid**, procédé maîtrisé.

Inconvénients : modification possible des propriétés physico-chimique des médicaments ou matériaux (changement de couleur, odeur, viscosité pour certains produits)

Précautions à prendre :

- répartition **homogène** des rayons et intensité contrôlée des rayons (utilisation d'un dosimètre)
 - Attention au plexiglas qui s'assombrit avec les rayons.
- On a une **variation de densité optique proportionnelle à la dose**.

Applications :

- Certains médicaments thermosensibles
- ATB (conservateurs antibactérien) non stérilisables par chaleur humide
- Sels ou esters
- Matériaux chirurgicaux +++
- Tissus vivants (greffons osseux...)

V. LES TÉMOINS DE STÉRILISATION

A) TEMOINS PHYSICO-CHIMIQUES

Témoignent du passage par phase de stérilisation.

- chaleur humide : **bande thermosensible** changeant de couleur en contact avec vapeur d'eau.
- chaleur sèche : lorsque la température est égale à la **T° de fusion**.
- rayonnement : pastilles **PVC** imprégnées d'indicateur coloré
- stérilisation par plasma : changement de couleur avec **peroxyde d'hydrogène**

B) INDICATEURS BIOLOGIQUES

Témoins qui permettent de vérifier la **quantité de germes réduite**. Une population dénombrée d'un germe connu doit voir sa population diminuer de **6Log**.

On utilise des espèces microbiennes très **résistantes**, souvent sous forme de **spore** (car plus résistant) comme gage de **qualité** de la stérilisation.

- Chaleur sèche : Bacillus subtilis
- Chaleur humide : Bacillus stéarothermophilus
- Oxyde d'éthylène : Bacillus subtilis var. niger
- Stérilisation par rayonnement : Bacillus pumilus