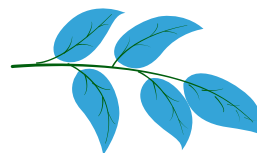


## Stérilisation



La stérilisation a pour but de **priver un objet ou un produit des microorganismes qui le souillent**. +++ La méthode doit être adaptée au produit, il est possible d'associer plusieurs méthodes pour plus d'efficacité (solide, liquide, **thermolabile**, sensible aux rayonnements...). L'efficacité de la stérilisation dépend du degré initial de contamination microbienne (+ contaminé = + difficile à stériliser), on commence le processus avec la matière la moins contaminée possible !

Il faut toujours réaliser, si possible, la stérilisation à l'intérieur du conditionnement (ce qui évite des manipulations à risque de contamination)

La stérilisation se fait en zone à atmosphère contrôlée, pour éviter de polluer les produits avec notre atmosphère.

Il existe plusieurs méthodes de stérilisation (*détaillées plus bas*) :

- Stérilisation par chaleur humide ou sèche, par irradiation, par filtration stérilisante, par gaz plasma = stérilisation physique
- Stérilisation par gaz alkylants = stérilisation chimique

### 1 - Les témoins de la stérilisation

Ils permettent de vérifier, d'affirmer l'efficacité de la stérilisation, en vérifiant la température ou la durée de la phase de stérilisation.

- A. Les témoins physico-chimiques

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

Parmi les indices de passage par la phase de stérilisation, on retrouve :

- ➔ Changement de couleur par rapport au point de fusion (*ex : Acide benzoïque qui possède une température de fusion à 121°C + Eosine passant du rose pâle à l'orangé selon le pH*)
- ➔ Chaleur humide : bande thermosensible avec un changement de couleur au contact de la vapeur d'eau
- ➔ Chaleur sèche : bande thermosensible avec un changement de couleur au point de fusion
- ➔ Par rayonnement : pastille PVC imprégnées d'un indicateur coloré.
- ➔ Par gaz plasma : changement de couleur en présence de peroxyde d'hydrogène

Les méthodes de stérilisation ont des méthodes différentes pour témoigner du passage par la phase de stérilisation.

- B. Les témoins biologiques

Ce sont des témoins qui permettent de vérifier la **réduction de 6log (=10<sup>6</sup>)** d'une population après traitement stérilisant.

Pour chaque indicateur il faut connaître le **NO** (nombre initial de germes présents) pour vérifier la population après traitement stérilisant et le **DT** le temps de réduction décimal. En fonction de la méthode de stérilisation nous n'utiliserons pas la même souche pour vérifier si la stérilisation a été efficace (*et je vous ai mis des petits mémos pour tout retenir*)

- ➔ Chaleur sèche : **Bacillus subtilis** (la même lettre 's' au début)

- ➔ Chaleur humide : ***Bacillus stearothermophilus*** (*thermo comme température, chaleur sèche déjà prise donc chaleur humide*)
- ➔ Par oxyde d'éthylène (gaz alkylant) : ***Bacillus subtilis var. Niger***
- ➔ Par rayonnement : ***Bacillus pumilus*** (*rayonnement = cancer, cancer du poumon -> pumilus*)
- ➔ Par filtration stérilisante : ***Pseudomonas diminuta*** (*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 ne sont pas choisies au hasard, ce sont les souches les plus résistantes pour le traitement donné.

## 2 - Stérilisation par la chaleur

C'est une **méthode de choix** si le produit la supporte, 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 (végétative ou sporulée/encapsulée)
- 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, contrairement à un environnement lipophile)

### 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) -> le moyen de stérilisation devra détruire les formes végétatives et aussi les spores.

### Durée et nombre de germes :

La stérilisation suit une loi décroissante du nombre en fonction du temps à température constante.

**Le nombre de germes survivant est inverse à la durée du traitement :  $\log(N/N_0) = -kt$**

N0 : nombre initial de germes présents ( $10^6$ )

N : nombre de germes à l'instant t

DT : temps de réduction décimale

#### 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.

Après DT, on a 10 fois moins de micro-organismes qu'au départ. Le DT est constant pour une souche donnée : *Bacillus stearothermophilus* (utilisé pour la chaleur humide) DT = 1min30/2min

Pour une stérilisation efficace, il faut une décroissance d'au minimum  $10^6$  soit 6log par rapport à la contamination initiale.  $DT \times n(\log) = 2\text{min} \times 6 = 12\text{min}$  plus 3min de marge de sécurité.

Une stérilisation efficace à la chaleur humide doit durer 15min à 121°C +++++

#### 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*,  $Z = 10^{\circ}\text{C}$  : pour une élévation de  $10^{\circ}\text{C}$  ( $\rightarrow 131^{\circ}\text{C}$ ) alors le DT est divisé par 10 donc 0,2min soit 12s (*en théorie*)

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  $121^{\circ}\text{C} \Leftrightarrow$  2min à  $118^{\circ}\text{C}$

Si la température varie même très peu, on va doubler ou tripler le temps nécessaire pour avoir le même résultat de stérilisation

d. La valeur stérilisatrice F<sub>2T</sub>

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.

Pour la chaleur humide : quand  $Z = 10^{\circ}\text{C}$  et  $T = 121^{\circ}\text{C}$  la valeur stérilisatrice est notée  $F_0$  et permet la comparaison de l'efficacité de traitements différents.

$F_0$  doit être au **minimum de 8min** pour que la stérilisation soit dite efficace. C'est l'équivalent d'une stérilisation avec décroissance de 8log pour des spores très résistants. On peut dire qu'une stérilisation où  $F_0 = 35\text{min}$  est acceptable mais  $F_0 = 4\text{min}$  n'est pas acceptable. *Tant que c'est supérieur à 8min on est bon*

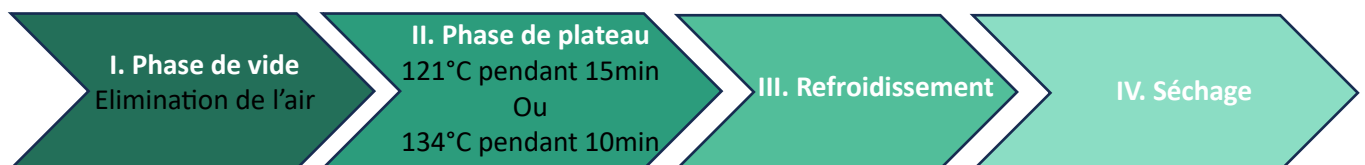
Le but de la stérilisation est d'obtenir une **probabilité de non stérilité de  $10^{-6}$**  soit **une unité non stérile sur 1 million d'unités stérilisées**. +++ Le niveau d'assurance stérilité minimal doit être de  $10^{-6}$  donc une réduction de 6log de la contamination microbienne de départ.

### 3 - Stérilisation par la chaleur humide

Méthode de choix de par son efficacité, innocuité du procédé (vapeur d'eau), températures relativement basses

On a une maîtrise des moyens de contrôle :

- Qualité de l'eau : eau traitée, pour éviter impuretés et entartrage
- Qualité de la vapeur : on purge le système pour éviter les poches d'air (=diminuent efficacité de la stérilisation), le titre de vapeur saturée (poids vapeur/poids eau liquide) soit être de 99%, l'eau doit être 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 de 4 phases (+++) :



Avantages (+) : facilité d'utilisation du matériel, innocuité de l'agent stérilisant

Inconvénients (-) : Attention aux objets thermosensibles, ou sensibles à l'oxydation

( $\rightarrow$ ) Applications : Surtout médicaments et matériel médico-chirurgical acier inox, verre, latex

#### 4 - Stérilisation par la chaleur sèche

Utilise de l'**air chaud à pression atmosphérique**, en étuve :

A **180°C pendant 30min** (+++) pour la stérilisation des contenants en verre dans le cadre des procédés de **fabrication aseptique**

A **220°C** pour la **dépyrogénisation** (+++) des contenants en verre (ampoules, flacons PPI)

Inconvénients (-) : Le temps pour atteindre la température de stérilisation est plus long à cause de la faible conductivité thermique de l'air. (*par rapport à la vapeur d'eau*)

(->) Applications : PAS pour les médicaments, uniquement pour les objets métalliques et récipients en verre PPI

#### 5 - Filtration stérilisante

Cette technique s'applique **aux fluides** (gaz et liquides monophasiques), utilisée pour les solutions ayant un principe actif **thermolabile**

Le filtre doit :

- Être **compatible** avec le PA dissous
- Avoir un **faible taux de rétention du PA** (le PA ne doit pas rester dans le filtre)
- Avoir un **diamètre des pores de 0,22µm** (jusqu'à 1 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 microorganismes vivants de petite taille qui sera filtrée : le filtrat ne doit pas donner de développement microbien dans un milieu approprié (incubation sur gélose) sinon cela veut dire que le filtre est endommagé. Le témoin biologique de référence est *Pseudomonas diminuta* = 0,3µm

#### 6 - Stérilisation par des agents chimiques (gaz alkylants)

##### 1. Le formaldéhyde

Cette technique consiste en l'évaporation du formaldéhyde liquide sous forme de monomères gazeux, la **pénétration est lente et faible** et crée une alkylation et une dénaturation des protéines. S'il y a polymérisation, la stérilisation est moins efficace.

**Agit en présence de vapeur d'eau et à 50°C.**

Un système de détection du gaz (qui est irritant et toxique) n'est pas nécessaire car une fuite serait directement détectable du fait de son odeur caractéristique (dès 0,2 ppm)

Inconvénients (-) : faible pénétration, maîtrise difficile des paramètres de stérilisation, polymérisation des monomères (= baisse l'efficacité), irritant pour la peau et l'appareil respiratoire

(->) Applications : stérilisation des surfaces, absolument **pas pour les médicaments**

## 2. L'oxyde d'éthylène

L'oxyde d'éthylène est **inodore**, très **réactif**, **inflammable** et **explosif** (si  $3\% < C^0 < 83\%$ ). On le **mélange à un gaz inerte** comme N<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub> pour abaisser le risque d'explosion. Le gaz agit par alkylation, il intervient dans le métabolisme microbien. Il a une très bonne pénétration au sein des solides poreux et **nécessite une certaine humidité** pour agir.

Paramètres d'efficacité :

Concentration en OE dépend de la T°, de l'objet, du temps de contact

- température (37-60° donc non ambiante)
- humidité relative (sporulées -> végétatives, favorise alkylation, aide à la diffusion à travers membranes)
- durée d'exposition (selon concentration, température) 30min à 10h.

Avantages (+) : Bonne **diffusibilité**, **pénétration** au sein des solides poreux

Inconvénients (-) : Toxique, désorption lente (sauf PET), risque de dérivés toxiques avec H<sub>2</sub>O et Cl (éthylène chlorhydrine, éthylène glycol), seuil olfactif haut donc mise en place de systèmes de détection, matériel sensible à la chaleur

(->) Applications : Stérilisation des médicaments s'il n'y a aucune autre méthode possible (*c'est pas ton plan B c'est ton plan R*), matos médico-chirurgical, à usage unique (à travers l'emballage) -> sonde G-I, urinaire, matériel perfusion, seringues

## 7 - Rayonnements ionisants

Formation de radicaux libres instables qui oxydent les membranes des bactéries (peroxydation lipidique) pour les éliminer.

Il y a une action cumulative et proportionnelle à la dose.

Deux sources irradiantes : <sup>60</sup>Co (Cobalt) <sup>137</sup>Cs (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**

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

Avantages (+) : Pouvoir de pénétration importante, on peut donc facilement stériliser du matériel à travers son emballage étanche commercialisé. Fiable et reproductible. A froid

Inconvénients (-) : Modifications possibles des propriétés physico-chimiques des mdc et matériaux

Contrôle qualité : **répartition** des rayonnements et leur intensité : les **dosimètres** sont des intégrateurs (bandes de plexiglas qui s'assombrit selon les effets des rayonnements) : on mesure la densité optique proportionnelle à la dose

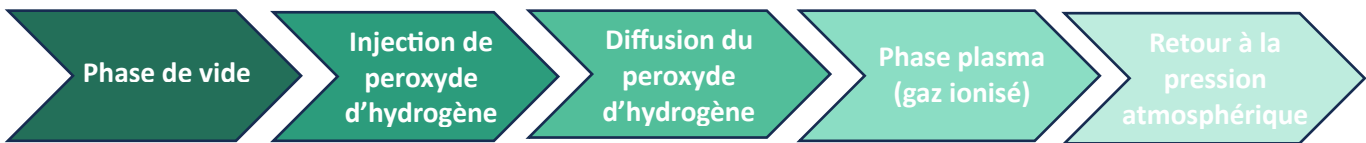
(->) Applications : médicaments avec **radio-stérilisation** (decapeptyl, tétracycline, néomycine, pommade ophtalmique), **antibiotiques à risque d'hydrolyse**, matériel médico-chirurgical, greffons osseux

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

## 8 - Stérilisation par le plasma

*Cette méthode n'est pas très courante mais est en train de se développer*

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



Le peroxyde d'hydrogène en gaz plasma est composé d'atomes d'oxygène et d'hydrogène, de l'oxygène excité, des radicaux OH°. Ces éléments constitutifs de plasma sont transportés en **flux continu** vers la chambre de stérilisation pendant toute la phase plasma : la durée de vie des espèces du plasma est très courte.

La stérilisation par exposition aux espèces issues d'une décharge gazeuse pour du matériel spécifique.

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)

Caractéristiques :

- Durée inférieure à celle de la stérilisation par la chaleur (sèche ou humide)
- Température < pour l'oxyde d'éthylène (55°C)
- Possibilité de traiter la **plus grande gamme d'objets** possible.
- Absence de risque pour les opérateurs, le patient, le matériel en conditions normales

(->) Applications : Matériel thermosensible comme ceux en plastique, certaines fibres optiques (fibroscopes)



Et maintenant, dédicaces :

- A mon père acide (il a insisté pour que je lui fasse une dédicace avec un jeu de mot, notez ce jeu de mots sur 10)
- A la dynastie Pharmacie, qui commence à peine à s'établir à Nice <3
- Aux infirmières du service de chirurgie réparatrice pour le super stage, franchement je m'attendais pas à ce que ce soit tellement incroyable
- A toi jeune P1 à qui je souhaite de super stages à toi aussi l'année prochaine
- A Houcine pour son incroyable talent de montage et sa nuit blanche pour sortir le meilleur court métrage que j'ai vu de ma vie.
- A toute l'équipe du film (j'ai pas de talent, j'ai pas joué dedans mais je les admire)
- A Ilona, quelle belle matière que la kiné, je l'ai pas eu (LAS2) mais j'ai \*presque\* envie de la faire du coup
- A Sofia, je te laisserai jamais qu'écoufflopper
- A Manon R (Manocytocine), merci d'avoir géré la première mise en page pour l'ECUE 9, tu gères trop !!!
- A Manon B (Mammoniac), à chaque fois que je te vois tu es habillée en business woman stylée, alors que j'ai toujours pas récupéré de la P1 je suis en pull 80% du temps, je t'admire
- A Adel, mon co-ronéiste au S1, stp parle pas du PSG, l'OGC Nice est une bien meilleure équipe
- A Emilie, dont j'aime beaucoup les cheveux (sincèrement) et les yeux (je suis sûre qu'on te l'a jamais faite celle-là)