

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.

But stérilisation : diminuer de **6log** la contamination microbienne de départ. Il existe une probabilité de non-stérilité (risque de 10^{-6})

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 préférentiel 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**.
- **Valeur stérilisatrice(N₀)** : **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. Moyen de comparaison avec des valeurs fixes. **On calcule le gain de temps en fonction de la température.**

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

On va utiliser de la **vapeur d'eau** comme gaz de stérilisation (T≥121°C). *Hydrolyse des chaines peptidiques CONH, noyau et paroi des microorganismes et spores.*

Le cycle de stérilisation est **hétérogène**, on va alterner entre une phase de vide et de plateau.

Avantages :

- très efficace et répandu
- non toxique** (utilisé pour les médicaments)
- températures **basses**, entre 120° et 140°
- bien maitrisée**, normes de stérilisation connus.

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 (% d'eau transformée en vapeur)

Applications :

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

B) Stérilisation par chaleur SECHE

On va utiliser de **l'oxygène de l'air** pour entraîner une oxydation des protéines bactériennes. On utilise la convection de l'air dans l'étuve. Cette méthode prend **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**
- 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)

- **dénature** les protéines par alkylation
- se vaporise
- pénétration **lente** et **faible** dans le produit ou lieux à stériliser
- **corrosif** et **irritant** (n'est pas utilisé pour matériaux fragiles)
- coût **très faible** !

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.

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**

IV. STÉRILISATION 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 → 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.

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

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

Bande thermosensible **changeant de couleur** en contact avec **vapeur d'eau** pour la chaleur **humide** ou lorsque la température est égale à la **T°fusion** pour la chaleur **sèche**.

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**. Ces témoins appartiennent souvent à la famille des **bacillus** (ex : **Bacillus Thermophilus** comme témoin de stérilisation par chaleur **humide**).

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