



LA STÉRILISATION



I. Introduction

La **stérilisation** est le fait de **priver** un objet ou un produit des **micro-organismes qui la souillent**. On doit adapter la méthode au produit et il est possible de les associer.

+++ 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 degré initial de contamination microbienne**, on va donc utiliser une matière peu contaminée initialement pour plus d'efficacité.

+++ Il existe différentes méthodes de stérilisation :

- ✓ Stérilisation par la chaleur (chaleur sèche et chaleur humide)
- ✓ Stérilisation par les gaz alkylants (= agents chimiques)
- ✓ Stérilisation par irradiations (= rayonnements ionisant RI)
- ✓ Filtration stérilisante
- ✓ Stérilisation par gaz plasma

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 : Éosine 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	Pastilles 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).

Vous m'apprenez ça par cœur les gars : (PS mémos de vos super tuteurs en fin de fiche)

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

- Chaleur sèche : Bacillus subtilus
- Chaleur humide : Bacillus stearothermophilus
- Par oxyde d'éthylène : Bacillus subtilus var. Niger
- Par rayonnement : Bacillus pumilus
- Par filtration stérilisante : Pseudomonas diminuta
- Par gaz plasma : Bacillus circulans



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

RECAP : Bien différencier 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 supporte car c'est la méthode la plus efficace et la plus sûre.

La sensibilité des micro-organismes à la chaleur dépend :

- 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 dvp des germes alors que dans un milieu lipophile on aura moins de chances de dvp des germes) *lipophile = qui n'aime pas l'eau*

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.

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. +++

Logique, car plus vous traitez longtemps le produit moins il y a de risque qu'il reste de germes à la fin.

On peut donc prendre en compte la formule suivante : **$\log(N/N_0) = -kt$**

Avec **N_0** : nombre initial de germes présents (vaut 10^6)

N : nombre de germes à l'instant t

DT : temps de réduction décimale

Cette formule n'est pas à apprendre, retenir seulement que le nombre de germes survivant est une fonction inverse de 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 stearotherophilus** (utilisé pour la chaleur humide) le **$DT = 1\text{min}30/2\text{min}$** .

+++ 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 stearotherophilus) **x 6** (car pour une stérilisation efficace il faut une décroissance de 10^6) = **12min**, on rajoute une marge de sécurité de 3min.

+++ La stérilisation par la chaleur humide doit alors 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 stearotherophilus**, **$Z = 10^\circ\text{C}$** . Donc pour une élévation de 10°C (soit 131°C), le **DT est divisé par 10** et ne vaut plus que 0,2min 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.

C'est parce que F0 doit être au MINIMUM de 8min.

Le but de la stérilisation est d'obtenir une probabilité de non-stérilité de 10^-6.

Le niveau **assurance stérilité minimal** de 10^-6 se traduit donc par une réduction de **6log** de la contamination microbienne de départ.



3. Stérilisation par la chaleur humide

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 **maitrise 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 de **4 phases** :



Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ○ Facilité d'utilisation du matériel ○ Innocuité agent stérilisant 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Attention objet thermosensibles ○ Attention objet sensibles à l'oxydation
Applications	
<ul style="list-style-type: none"> ○ Surtout les mdc ○ Matériel médico-chirurgical acier inoxydable, verre, latex 	

4. Stérilisation par chaleur sèche



BACILLUS SUPTILUS

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 :



Le prof tient à ces 2 valeurs alors on retient

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

Applications

- Pour objet métalliques et récipients verre p.p.i.
- **Pas pour les mdc**

IV. Filtration stérilisante



PSEUDOMONAS DIMINUTA 0,3µm

C'est une technique de stérilisation qui s'applique aux **fluides (gaz, 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 dvp 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	Application
<ul style="list-style-type: none"> ○ Faible pénétration ○ Maitrise difficile des paramètres de stérilisation ○ Polymérisation des monomères (=baisse de l'efficacité) ○ Irritant pour la peau et l'appareil respiratoire 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Stérilisation des surfaces ○ Absolument pas pour les mdc

2. L'oxyde d'éthylène



L'OE 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 :

- 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
<ul style="list-style-type: none"> ○ Bonne diffusibilité 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 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
<ul style="list-style-type: none"> ○ Applications 	
<ul style="list-style-type: none"> ○ 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)



Cette technique entraîne 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

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
<ul style="list-style-type: none"> ○ Pouvoir de pénétration importante, on peut donc facilement stériliser du matériel à travers son emballage étanche commercialisé ○ Procédé fiable et reproductible ○ Stérilisation à froid 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Modifications possibles des propriétés physico-chimiques des mdc ou matériaux
Contrôle	Applications
<ul style="list-style-type: none"> ○ 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 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Mdc 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 mdc solides sont plus stables aux rayonnements ionisants.

VII. Stérilisation par le plasma



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)

Voilàààà c'est fini pour cette fiche (trop triste), n'hésitez pas à m'envoyer vos retours sur la fiche. Si vous avez des questions sur la pharma, Marseille, envoyez-moi un message sur fb Marie-Amélie Beteille. Cette fiche vous sert de support pour la TTR, mais également de support pour toute l'année puisqu'elle est **ultra complète**.

Petit rappel abréviation : [mdc = médicament], [PA = principe actif], [dvp = développement ou développer]

Mémos Bacillus :

Chaleur Sèche : Bacillus Subtilis (facile même première lettre)

Chaleur Humide : Bacillus stearothermophilus on pense à la température → chaleur (on sait que le Bacillus subtilis est déjà pour la chaleur sèche donc chaleur humide)

Par rayonnement : Bacillus pumilus on pense aux rayonnements → cancer → le + connu le poumon → Bacillus pumilus (vous l'aurez compris pumilus ressemble à poumon)

Par gaz plasma : Bacillus circulans le sang est composé de plasma + il circule dans notre corps d'où Bacillus circulans

Maintenant place aux Dédis :

D'abord grosse Dédis à mes parents et à mon frère, la famille c'est le soutien du premier instant, vous les remercieriez à la fin de cette année !

Dédis à Julien, mon pilier de la PACES sans qui ces deux années n'auraient pas été les mêmes. Les gars trouvez-vous quelqu'un que vous pouvez appeler à n'importe quelle heure du jour et de la nuit qui sera là pour vous écouter et vous conseiller, je vous jure ça fait la diff !!!

Dédis à mes fillotes : Marine, Selma, Clara et Milly, je suis fière de vous les filles, on ne lâche rien !!

Dédis à Lucie, mon binôme de la PACES, je la looove

Dédis à Inès, mon binôme de TP (askip le best)

Dédis à Margaux, ma sœur, toujours là pour me changer les idées, big love

Dédis à mes Co-Tuts Lucas et Annalisa avec qui on fait un travail de fou, on espère que vous kiffez la pharmacie (attention sinon)

Dédis à l'ensemble du tutorat, c'est une véritable famille je vous aime

Et enfin Dédis à toi jeune P1 qui finit cette fiche, reste toujours motivé car le meilleur t'attend !!

Une phrase qui me motivait bcp pendant ma PACES je vous la donne « *Tout est possible à celui qui rêve, ose, travaille et n'abandonne jamais* » (j'avais fini par la mettre en fond d'écran mdr).

Des bisous de la (best) Team Pharmacie.

