



# OPÉRATION PHARMACEUTIQUE PARTIE 2

Et nous revoilà les loulous, voici la deuxième partie de ce cours. Bon courage !!!!

## 1. Opérations de stérilisation

La stérilisation va permettre de préparer des produits exempts de micro-organismes. *Il faut que chaque produit que l'on souhaite injecter dans le corps humain soit stérilisé pour n'avoir aucun risque d'infection.*

La stérilisation va avoir pour but de priver un objet ou un produit des micro-organismes qui le souillent. La méthode que l'on va utiliser pour stériliser doit être adaptée au produit (solide, liquide, sensible à la température ou aux rayonnements).

**ON RÉALISE LA STÉRILISATION À L'INTÉRIEUR DU CONDITIONNEMENT** (quand on le peut).

- L'efficacité de la stérilisation dépend du **DEGRÉ INITIAL DE CONTAMINATION MICROBIENNE** : + la matière sera contaminée au départ, - la stérilisation sera efficace. *On va privilégier une matière initiale la moins contaminée.*
- Il faut des **ZONES À ATMOSPHÈRE CONTRÔLÉE**.
- On peut associer différentes méthodes pour rendre la stérilisation encore + efficace.

### A. Les méthodes de stérilisation

- stérilisation par **chaleur humide**
- stérilisation par **chaleur sèche**
- stérilisation par **irradiation**
- filtration stérilisante**
- stérilisation **gaz plasma**
- stérilisation **par gaz alkylants** -> Stérilisation chimique (les autres stérilisations sont physiques).

### B. Les témoins de stérilisation

Ils vont permettre de vérifier et d'affirmer **l'efficacité** de la stérilisation.

- On va commencer par les **TÉMOINS PHYSICO-CHIMIQUES** :

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

On va avoir par exemple :



- Le changement de couleur par rapport au point de fusion (l'acide benzoïque a sa température de fusion à 121°C, si on le mélange avec l'éosine la couleur passera du rose pâle à l'orangé => efficacité de la stérilisation) = **chaleur sèche** (*puisque'on parle de température de fusion, on en déduit qu'on est en chaleur sèche*).
- Bande thermosensible ou changement de couleur au contact de la vapeur d'eau (**pour la chaleur humide**).
- Pastilles PVC imprégnées d'un indicateur de couleur pour la **stérilisation par rayonnement**
- Changement de couleur en présence de peroxyde d'hydrogène pour la **stérilisation par gaz plasma**.

- Ensuite, on a les **TÉMOINS BIOLOGIQUES** *apprenez les bien, ça tombe !*

Ce sont des témoins possédant une population dénombrée d'un germe connu : cela va permettre de vérifier de **réduction de 6 log** de cette population après traitement stérilisant.

Pour chaque indicateur, il faut connaître le **NO** (nombre initial de germes présentes) et le **DT**.

- Pour la chaleur sèche : **BACILLUS SUBTILUS**
- Pour chaleur humide : **BACILLUS STEAROTHERMOPHILUS**
- Pour stérilisation par oxyde d'éthylène : **BACILLUS SUBTILUS VER. NIGER**
- Pour la stérilisation par rayonnement : **BACILLUS PUMILUS**
- Pour la filtration stérilisante : **PSEUDOMONAS DIMINUTA**

*Mémo (à prendre ou à laisser) : je me disais que pour la chaleur sèche, c'est subtil. Pour la chaleur humide, qui est la + connue, c'est normal qu'y ait le mot « thermo ». Pour la stérilisation par oxyde d'éthylène, je me disais que c'était subtil à nouveau, mais d'une version différente (« ver. Niger »). Pour celle par rayonnement, je me disais rayonnement = radio des poumons = pumilus. Et enfin pour la filtration stérilisante, je me disais que c'était une pseudo stérilisation afin de diminuer les micro-organismes.*

Toutes les souches des témoins biologiques sont choisies parce que c'est les plus résistantes.

### C. Stérilisation par chaleur (en général).

C'est une méthode de **choix**, si le produit supporte des températures très élevées. 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** (végétative ou sporulée = encapsulée)



- de la **durée** du traitement
- du **nombre de germes avant- le traitement**
- de la **température**
- du **milieu de développement des germes**

→ **Les espèces microbiennes :**

La sensibilité à la chaleur dépend de l'espèce considérée. On va utiliser des espèces très résistantes à la température. Il faut également retenir que les **SPORES** sont beaucoup + résistantes que les formes végétatives pour une même espèce. Il faut donc que le moyen de stérilisation détruise les formes végétatives et aussi les spores.

→ **Durée et nombres de germes :**

La stérilisation suit une **LOI DÉCROISSANTE** du nombre de micro-organismes en fonction du temps à température constante.

Le nombre de germes survivant est inverse à la durée du traitement.

On peut prendre en compte la formule suivante :

$$\text{Log (N/N0)} = -kt$$

Avec :

**N0** = nombre initial de germes présents

**N** = nombre de germes à l'instant t

**DT** = temps de réduction décimale

→ **Temps de réduction décimale :**

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

Le DT est constant pour une souche donnée. Pour **BACILLUS STEAROTHERMOPHILUS DT = 1 min 30 - 2 min. ++++**

Donc après un temps DT, on a 10 fois moins de bactéries qu'au départ. Pour une stéréalisation efficace, il faut une décroissance d'au minimum **10<sup>6</sup>** par rapport à la contamination initiale (6 log).  
Donc 2min x 6 = 12 min, on rajoute une marge de sécurité de 3 min.

**La stéréalisation à la chaleur humide doit alors durer 15 min à 121°C.**

→ **La valeur d'inactivation thermique Z :**

**Z** = c'est l'élévation de température nécessaire pour réduire la valeur DT d'un facteur 10.



+ la température du traitement est élevée, + le DT diminue.

**Pour *Bacillus stearothermophilus*,  $z = 10^{\circ}\text{C}$ .**

*Petit exemple pour que ça soit bien clair : on rappelle que le DT de *Bacillus stearothermophilus* = 2 minutes. Donc, Z va nous servir à réduire ce DT d'un facteur 10 (diviser). On rappelle que la température de la chaleur humide est de  $121^{\circ}\text{C}$ .*

*Z =  $10^{\circ}\text{C}$ , donc on augmente jusqu'à  $131^{\circ}\text{C}$ . Grâce à ça, on divise le DT par 10, donc 2min devient 0,2 min = 12 secondes*

### → **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.

*Petit exemple : une minute à  $121^{\circ}\text{C}$  = 2 minutes à  $118^{\circ}\text{C}$ . De cette manière vous pouvez constater qu'une variation de quelques degrés, peut faire doubler ou tripler le temps nécessaire pour avoir le même résultat.*

### → **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.

### - **Petit aparté super important ++++++ :**

Quand  $Z = 10^{\circ}\text{C}$  et que la température de base  $T = 121^{\circ}\text{C}$ , la VALEUR STÉRILISATRICE est notée F<sub>0</sub>. ATTENTION, CETTE APPELLATION NE CONCERNE QUE LA CHALEUR HUMIDE.

Cela permet la comparaison de l'efficacité de traitements différents.

F<sub>0</sub> doit être au **MINIMUM de 8 minutes** pour que la stérilisation à chaleur humide soit dite efficace. C'est l'équivalent d'une stérilisation pour laquelle il y aurait eu une décroissance de 8 log donc de  $10^8$  pour des spores très résistants.

*Exemple : une stérilisation où  $F_0 = 35$  minutes est acceptable. Mais une stérilisation où  $F_0 = 4$  minutes pas acceptable.*

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 de  $10^{-6}$  se traduit par une réduction de 6 log de la contamination microbienne.

### D. **Stérilisation par CHALEUR HUMIDE :**



C'est une méthode de **CHOIX** si le produit la supporte grâce à son **efficacité**, son **innocuité** de son procédé, ses températures relativement **basses (120°C – 140°C)** et la maîtrise des moyens de contrôle.

- Pour cette stérilisation, il faut faire attention à la **qualité de l'eau utilisée** : on veut éviter les impuretés et l'entartrage.
- On vérifiera également la **qualité de la vapeur** : purger le système pour éviter les poches d'air (qui diminuent l'efficacité de la stérilisation). Le titre de vapeur saturée doit être de **99%** (poids vapeur/poids eau liquide), cela revient à dire que la vapeur doit rester à l'état gazeux pour assurer la stérilisation.
- L'eau doit être **chimiquement pure**, c'est-à-dire pas de graisses, pas de particules métalliques.

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

- 1- **Phase de vide** = élimination de l'air
- 2- **Phase de plateau = 121°C pendant 15 min puis ensuite 134°C pendant 10 min**
- 3- **Refroidissement**
- 4- **Séchage**

Les **AVANTAGES** : la facilité d'utilisation du matériel, innocuité de l'agent stérilisant.

Les **INCONVÉNIENTS** : il faut faire attention aux objets thermosensibles, attention aux objets sensibles à l'oxydation.

Les **APPLICATIONS** : pour les médicaments+++ (méthode de réf), matériel médico chirurgical, acier inoxydable, verre, latex.

**E. Stérilisation par CHALEUR SÈCHE :**

Cette technique utilise de l'air chaud à pression atmosphérique, dans une étuve.

- A **180°C pendant 30 min** pour la stérilisation des contenants en verre dans le cadre des procédés de fabrication aseptique -> excellente méthode +++
- À **220°C pour la dépyrogénéisation des contenants en verre.**

Les **INCONVÉNIENTS** : le temps pour atteindre la température de stérilisation est beaucoup plus long à cause de la faible conductivité thermique de l'air.

**Il faudra donc une température plus élevée et un temps plus long pour stériliser les objets.**

Les **APPLICATIONS** : pour objets métalliques et récipients verre p.p.i, mais jamais pour les médicaments !!!



### F. Filtration stérilisante

Cette technique s'applique aux **fluides** : gaz, liquides monophasiques. Cette technique est utilisée pour les solutions ayant un principe actif thermolabile (= sensible à la température).

Pour le choix du filtre :

- Il doit être **COMPATIBLE** avec le PA dissous
- Il doit avoir un faible taux de rétention du PA
- Le diamètre des pores doit être de **0,22µm** pour assurer la stérilisation +++
- Les mécanismes : criblage, impact inertiel, absorption

Les paramètres importants :

- La **nature du filtre** : cellulose, nylon, polypropylène
- Sa **porosité**
- Son **seuil de rétention**
- La **perte de charge**

L'efficacité de la filtration est confirmée avec une suspension de micro-organismes vivants de petite taille qui sera elle aussi filtrée. Le témoin biologique de référence est **PSEUDOMONAS DIMINUTA = 0,3µm**. Le filtrat ne doit pas donner le développement microbien dans un milieu approprié sinon cela veut dire que le filtre est endommagé.

### G. Stérilisation par les agents chimiques

1- **Le formaldéhyde (formol)** = évaporation sous forme de **monomères gazeux. ++++**

La pénétration de ces monomères est lente et faible ce qui crée une **alkylation** et une **dénaturation** des protéines.

Cette technique peut poser problème car les monomères peuvent se **polymériser** et donc diminuer **l'efficacité de la stérilisation**. Son prix de revient est faible.

**Le formaldéhyde n'agit qu'en présence de vapeur d'eau et à 50°C.**

Attention : il n'existe pas de système de détection du gaz car une fuite serait directement détectable du fait de son odeur caractéristique.

Les **INCONVÉNIENTS** : faible pénétration, maîtrise difficile des paramètres de stérilisation, polymérisation des monomères, corrosion du matériel, irritant pour la peau et l'appareil respiratoire.

**C'EST UNE MOLÉCULE AGRESSIVE !!**



Les **APPLICATIONS** : stérilisation des surfaces, mais absolument pas pour les médicaments !!!

2- **Oxyde d'éthylène** = gaz inodore, très réactif, inflammable et explosif si la température est entre 3% et 83%.

Pour réduire le risque d'explosion, on le mélange avec un **gaz inerte (N<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub>)**. Ce gaz agit également par **alkylation** et intervient donc dans le **métabolisme microbien**. Il nécessite une certaine **humidité** pour pouvoir agir.

Les **AVANTAGES** : excellente diffusibilité et bonne pénétration au sein des solides poreux.

Les **INCONVÉNIENTS** : réactivité, inflammabilité, explosivité donc dangerosité du gaz.

**Paramètres d'efficacité à retenir : +++++**

**-concentration en Oxyde d'éthylène qui dépend :**

->de la température,

->de la nature de l'objet,

-> du temps de contact.

**-Température : entre 37°C et 60°C +++++ (CE N'EST DONC PAS À TEMPÉRATURE AMBIANTE)**

**-Humidité relative** : elle permet la diffusion de l'oxyde d'éthylène à travers les membranes des germes, favorise l'alkylation et la transformation des formes sporulées en formes végétatives.

**-Durée d'exposition** : dépend de la concentration en OE et de la température, détermine la qualité de stérilisation, 30 min à 10h selon les systèmes.

Les **AVANTAGES** : bonne diffusibilité

Les **INCONVÉNIENTS** : la toxicité, la désorption lente sauf pour les polyéthylènes qui ont un relargage rapide, formation de dérivés toxiques si ajout H<sub>2</sub>O ou Cl<sup>-</sup> (éthylène chlorhydrine, éthylène glycol), maîtrise de l'humidité difficile, seuil olfactif haut (ça explose avant repérage) -> mise en place de système de détection.

Les **APPLICATIONS** : stérilisation des médicaments, s'il n'y a VRAIMENT AUCUNE AUTRE MÉTHODE, du matériel médico-chirurgical, du matériel à usage unique.

#### H. Stérilisation par les rayonnements ionisants

Cette méthode entraîne la formation de **radicaux libres instables** qui vont oxyder les membranes des bactéries 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 microorganismes : formation de radicaux libres à partir de l'eau et recombinaison pour former des peroxydes

**Deux sources irradiantes :  $^{60}\text{Co}$  et  $^{137}\text{Cs}$  (cobalt et césium).**

La dose absorbée dépend de :

- **L'activité et configuration de la source**
- De la **distance** de la source au produit
- Du **temps d'exposition et du nombre de passages** devant la source
- De la **nature** du produit, sa **composition, densité, 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.

Les **AVANTAGES** : pouvoir pénétration important, on peut donc facilement stériliser du matériel à travers son emballage étanche commercialisé, procédé fiable et reproductible. De plus, c'est une stérilisation à froid et un procédé maîtrisé.

Les **INCONVÉNIENTS** : modification possible des propriétés physico-chimiques des médicaments ou dispositifs médicaux.

Pour le **CONTRÔLE** : répartition des rayonnements et leur intensité, les dosimètres sont des intégrateurs avec lesquels on peut mesurer la densité optique. La variation de densité optique est proportionnelle à la dose absorbée.

Les **APPLICATIONS** : médicaments avec radiostérilisation, les antibiotiques à risque d'hydrolyse (non stérilisables le par la chaleur), matériel médico-chirurgical et greffon osseux.

Un **sel** ou un **Ester** est moins sensible que **l'acide libre** à la radiolyse.

**Les médicaments solides ou de milieu non aqueux plus stables aux rayonnements ionisants.**

### I. Stérilisation par plasma

Un cycle de stérilisation : **5 PHASES** : +++++

- 1- Phase de **vide**
- 2- **Injection de peroxyde d'hydrogène**
- 3- **Diffusion du peroxyde d'hydrogène**
- 4- Phase de **plasma**
- 5- **Retour à la pression atmosphérique**

**L'état plasma est un état de gaz ionisé.**



**L'agent stérilisant est le peroxyde d'hydrogène qui va être transformé en gaz plasma.**

Les éléments constitutifs du plasma, incluant des atomes d'hydrogène et d'oxygène, de l'oxygène dans son état excité et des radicaux OH° 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 des peroxydes d'hydrogène. Son témoin biologique est **BACILLUS CIRCULANS**.

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

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** : à basse température.
- **Température < oxyde éthylène (55°C)** donc supérieure à température ambiante. +++
- Possibilité de traiter **la plus grande gamme d'objets possibles**.
- **Absence de risque** pour opérateurs, patients, matériels dans des conditions normales d'utilisation.

**APPLICATION** : pour le matériel thermosensible comme ceux en plastique ou certaines fibres optiques.

*Et voilààààà !!!! C'est fini pour le cours sur les opérations pharmaceutiques !!! C'est un cours avec beaucoup de notions, qui malheureusement faut connaître par cœur, car les profs aiment beaucoup ce cours et le font tomber très régulièrement ! Mais l'avantage est qu'il n'est pas très compliqué à comprendre !*

*Je vous souhaite un bon courage pour votre semestre, donnez tout malgré la difficulté et un semestre bien chargé, vous pouvez le faire !!*

*Je laisse la place aux dédis....*

*BIG dédicace à tous mes fillots officiels et officieux (je ne ferai pas la liste désolée, vous vous reconnaîtrez), et en particulier à Sacha (oui, j'ai été contrainte sous la menace) à qui je dédie cette page...pour le temps que j'ai pris à mettre toutes les photos, t'as intérêt à passer en P2.*

