

III. LA STÉRILISATION

Rappel

- On ne peut stériliser que ce qui est propre.
- Il est interdit de re stériliser un matériel à usage unique (circulaire 669 14 avril 86 et circulaire 51 du 12 décembre 1996).

(En cas de sinistre avec réutilisation de matériel à usage unique, outre la réparation par voie judiciaire des dommages causés, la jurisprudence considère qu'il y a délit de tromperie).

- L'objectif de la stérilisation est d'éradiquer tous les germes présents sur le matériel, qu'ils soient ou non pathogènes.

1. Moyens de stérilisation

Ils sont nombreux mais il en existe cinq d'utilisation courante:

- L'Oxyde d'éthylène
- Les Radiations ionisantes
- Le Gaz plasma
- La chaleur sèche (Poupinel)
- La chaleur humide (autoclave)

• STÉRILISATION À L'OXYDE D'ÉTHYLÈNE

C'est un procédé très efficace qui agit sur les acides nucléiques des microorganismes. Il est utilisable pour le matériel thermosensible car la température du cycle est comprise entre 40 et 55°

Cependant il faut un appareillage et un environnement particulier et assez complexe, ce qui en limite l'utilisation.

L'oxyde d'éthylène est un gaz spontanément inflammable et comporte des risques d'explosion. De plus il est toxique c'est pourquoi il faut un temps de désorption (évacuation du gaz sous une température élevée) qui peut aller jusqu'à 20 jours (notamment pour le caoutchouc et le pvc qui retiennent l'oxyde d'éthylène). Le matériel n'est pas disponible pendant ce temps.

• STÉRILISATION AU GAZ PLASMA*

C'est un procédé innovant utilisant le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à basse température. Dans un vide poussé il est transformé en plasma par un champ électro-magnétique générant outre des ions et des électrons libres, de nombreux radicaux libres (HO-, H O₂) à très forte activité sporicide, et bactéricide

Cependant ce procédé a de nombreuses limitations :

- Il faut un conditionnement spécial car la cellulose (papier) absorbe le peroxyde d'hydrogène rendant le procédé inefficace.
- Il en est de même de l'humidité et le matériel doit être parfaitement séché.
- Enfin le plasma diffuse mal dans les cavités creuses de petit diamètre (comme les canaux opérateurs des fibroscopes) ou de grande longueur.

- Mais son inconvénient majeur, dans le cadre actuel, est son absence d'action sur le prion

• STÉRILISATION PAR LES RAYONS IONISANTS

Les rayons ionisants entraînent une ionisation des protéines et des lésions de l'ADN qui ont un effet létal très rapide pour les bactéries.

Deux types de rayons sont utilisés : les rayons gamma et les faisceaux d'électrons (accélérés par un générateur électrique).

On peut par ce procédé stériliser en continu de gros volumes. Mais le coût et la complexité de l'installation, le fait réserver à l'industrie, essentiellement pour le matériel à usage unique.

• STÉRILISATION PAR LA CHALEUR

La chaleur humide est le standard actuel

a) Action de la chaleur sur les germes

On a pu démontrer expérimentalement que sous l'effet de la chaleur la réduction microbienne se fait non pas d'une manière linéaire, mais progressivement, selon une courbe logarithmique.

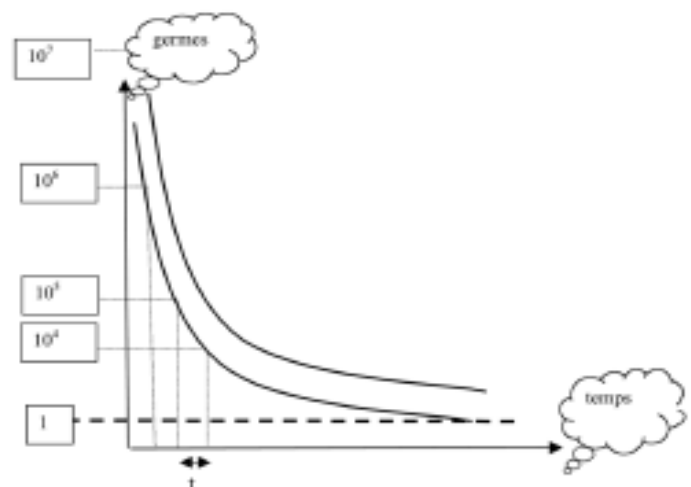
Si l'on part d'une charge initiale de 10⁶ colonies bactériennes, après une exposition à la chaleur (à une température suffisante, variable selon le germe) pendant un temps « t » on constate une diminution de 1 log, c'est-à-dire que le nombre de colonies est divisé par 10, il reste 10⁵ colonies.

Après un temps 2 "t" le nombre de colonies est encore divisé par 10. Il reste 10⁴ colonies.

Après un temps 3 "t" le nombre de colonies est encore divisé par 10. Il reste 10³ etc. ...

Ce temps « t » est variable selon la souche microbienne (c'est même une caractéristique de la souche) et selon la température. Plus la température est élevée plus rapide sera la décroissance microbienne.

Cette courbe appelle plusieurs commentaires importants.



*Le plasma est le quatrième état de la matière. Il est très proche de l'état gazeux. Mais les molécules ont été dissociées par un apport d'énergie formant alors un nuage de particules neutres, d'ions, d'électrons et de radicaux libres.

- C'est une courbe qui tend vers 0 mais **elle n'atteindra jamais 0**. La stérilité n'est donc pas 0 germe : c'est l'objectif de la stérilisation mais c'est en pratique un objectif impossible à atteindre. Le résultat obtenu est seulement une réduction très poussée de la charge microbienne.

Puisqu'on ne peut atteindre ce résultat théorique de 0 germe restant, il faut se mettre d'accord sur une définition pratique de l'état stérile.

Ainsi on définit conventionnellement l'état de stérilité comme **une chance sur un million de rencontrer un germe viable**, après que le matériel ait subi une procédure de stérilisation.

Si l'on considère un instrument portant 1 million de colonies, l'état stérile sera de 1 germe (C'est pourquoi l'on assimile souvent la stérilisation à une réduction de la charge bactérienne de 6 log, mais ce n'est pas strictement exact).

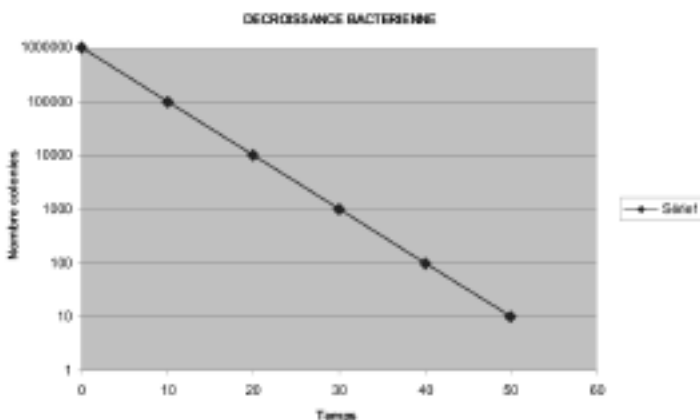
- Tout se passe au début. Après un certain temps, la réduction microbienne sera de moins en moins importante et on gagnera peu (en terme de diminution de colonies) à prolonger l'exposition à la chaleur. De plus la prolongation de l'exposition n'est pas anodine pour la longévité du matériel.
- Si l'on part d'une charge microbienne initiale de 10^8 colonies, cette nouvelle courbe sera parallèle à la précédente. On comprend dès lors qu'il faudra exposer beaucoup plus longtemps le matériel à la chaleur pour obtenir un état stérile. Il faut donc impérativement réduire le plus possible la charge microbienne initiale, par un nettoyage méthodique.

Il est impossible de stériliser un matériel qui n'est pas propre,

La sécurité obtenue par la stérilisation à l'autoclave est majeure, sous réserve que la procédure totale ait été respectée. Cependant on ne parvient pas à éliminer tous les germes et on obtient simplement une réduction microbienne, très poussée il est vrai.

On estime qu'un matériel est stérile lorsqu'il y a une chance sur un million de retrouver un germe viable.

- Il n'est en fait pas possible de représenter cette courbe en échelle normale, car il faudrait des kilomètres de papier. C'est pourquoi on la représente habituellement en coordonnées semi- logarithmiques : elle devient alors une droite.



La pente de cette droite représente l'efficacité de la chaleur. On peut avoir tous les intermédiaires entre une courbe horizontale, où la stérilisation est impossible, car la température est insuffisante, et une courbe verticale où la destruction microbienne (mais aussi du matériel !) est immédiate dans les très hautes températures.

b) La chaleur sèche

Elle s'obtient dans un four : le Poupinel

Elle est cependant moins efficace que la chaleur humide, car sa diffusion se fait moins bien et il faut globalement des températures plus élevées et des temps d'exposition plus longs. Il faut par exemple pour atteindre l'état stérile :

1 heure à 170°

2 heures à 160°

24 heures à 125°

La chaleur sèche reste très efficace mais difficile à manier. A titre d'exemple la NASA a stérilisé les capsules spatiales à l'aide de la chaleur sèche à 150° , mais sans les cosmonautes ...

Le Poupinel a beaucoup d'inconvénients :

- Les objets à stériliser sont placés dans une enceinte contenant de l'air ,mais l'air est mauvais conducteur de la chaleur.
- Les charges sont inhomogènes, avec des métaux différents, qui conduiront différemment la chaleur.

On tente de pallier ces deux inconvénients par des systèmes de ventilateurs intégrés mais les résultats restent aléatoires, et l'on a pu mettre en évidence des différences de 30° entre deux zones de l'enceinte.

- De plus les températures supérieures à 150° détrempe le matériel en acier et abîment considérablement les objets piquants ou tranchants.
- Enfin les temps d'exposition sont plus longs car la montée en température est lente.

La garantie de stérilité n'est pas suffisante : **Le Poupinel doit disparaître.**

c) La chaleur humide

Elle est obtenue dans l'autoclave. C'est le procédé de référence.

Le principe en est simple : obtenir de la vapeur d'eau en faisant bouillir de l'eau dans une enceinte fermée, sous pression pour augmenter la température de la vapeur.

Il faut en effet atteindre la température de 134° et la maintenir au moins 18 minutes pour inactiver le prion, tout en détruisant les autres germes.

La vapeur d'eau va agir en hydrolysant la coque bactérienne, mais pour cela il faut qu'elle arrive à son contact.

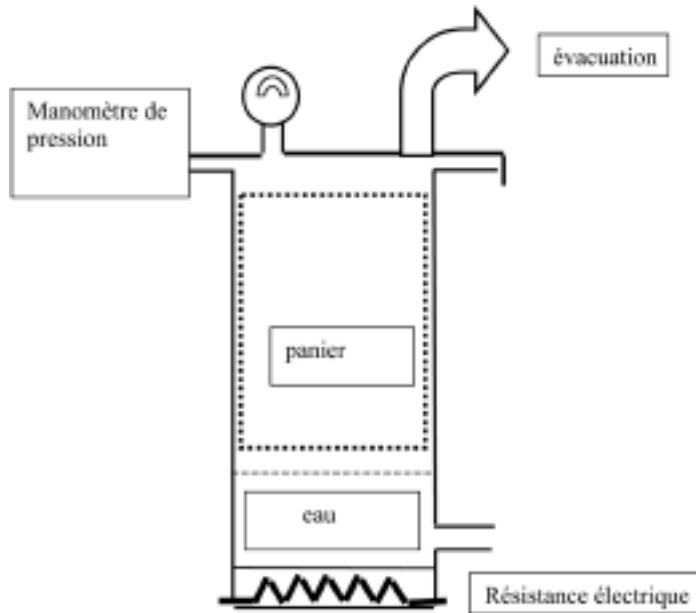
C'est le procédé le plus sûr et le plus pratiqué, probablement le plus économique.

Le matériel est mis dans l'autoclave conditionné dans des boîtes ou emballé dans des sachets. Il faut donc un conditionnement adapté pour que la vapeur pénètre et arrive au contact du matériel.

• L'AUTOCLAVE

Le plus simple est l'autoclave de Chamberland.

Après la mise en place du panier contenant les instruments, on ferme le couvercle et l'eau est chauffée par la résistance. Le robinet d'évacuation est laissé ouvert pour que la vapeur chasse l'air en prenant sa place. Lorsque la vapeur sort par le robinet en sifflant (comme une cocotte minute) on considère que l'air est purgé et on ferme alors le robinet.



Cet appareil est cependant imparfait car l'évacuation de l'air n'est que partielle, et la vapeur ne se mélangeant pas à l'air, ne diffuse pas d'une manière homogène.

Les autoclaves modernes comportent un système d'aspiration initial. Le vide, relativement poussé, permet une diffusion homogène de la vapeur. Une aspiration finale va évacuer la vapeur restante avant déchargement de l'autoclave. Ces appareils comportent en plus un système de préchauffage pour éviter la condensation initiale.

Il existe actuellement trois grands types d'autoclaves:

- Les autoclaves à déplacement d'air par gravité;
Ils utilisent le fait que l'air soit plus lourd que la vapeur et que ces deux gaz ne se mélangent pas. L'air va se concentrer au fond de l'autoclave. On injecte la vapeur au sommet de l'autoclave et on évacue l'air par le fond.
- Les autoclaves avec vide préalable;
Ce sont les plus utilisés et ils donnent une bonne sécurité. Le principe est de faire au début de la procédure deux ou trois cycles de vide pour aspirer l'air, puis d'injecter la vapeur une fois le vide obtenu.
- Les autoclaves à pression positive;
Ils utilisent une injection de vapeur préalable sous pression pour chasser l'air. Il n'y a pas d'aspiration par le vide, mais l'efficacité obtenue est comparable aux autoclaves à vide préalable.

Pourquoi faut-il augmenter la pression ?

La température de la vapeur est variable selon la pression :

Chacun sait que l'eau va entrer en ébullition à 100°. Mais ceci n'est vrai qu'au niveau de la mer c'est-à-dire à une pression d'un peu plus de 1000 millibars (on parle maintenant en hectopascal).

Par contre la température d'ébullition va baisser si l'on abaisse la pression (au sommet du Mont Blanc où la pression est diminuée de moitié l'eau va bouillir à 80° environ).

Inversement elle va augmenter si l'on augmente la pression. Ainsi pour arriver à une température de 134° il faudra monter la pression à 2,5 bars environ.

Ceci ne se vérifie qu'en vapeur saturée parfaitement pure. Il faut donc éliminer préalablement l'air contenu dans l'enceinte de l'autoclave par une pompe à vide. C'est le premier temps d'un cycle d'autoclave.

En pratique il y a toujours un peu d'air restant, mais la pression est suffisante pour obtenir la température de 134°.

Il faut cependant respecter certains paramètres:

- La durée de stérilisation (comptée à partir du moment où la température et la pression choisies sont atteintes).
- La température : actuellement 134° pour être efficace également sur le prion.
- La durée d'exposition : 18 minutes au moins pour les mêmes raisons.
- La qualité de la vapeur: il faut une vapeur saturée (100%) d'humidité. La vapeur sous saturée a une valeur stérilisante inférieure.
- L'absence de poche d'air dans la cuve qui empêche une bonne diffusion de la vapeur.
- Enfin la qualité de l'eau utilisée. Des substances en suspension dans l'eau (sels minéraux, cuivre ...) peuvent être transportées par la vapeur et se déposer sur le matériel.

2. Mise en œuvre de la stérilisation autoclavage

L'autoclave n'est que l'une des étapes de la procédure de stérilisation et on ne peut stériliser que ce qui est propre. Il y a donc une chaîne d'actions préalables à cette étape. Mais tout ceci n'est pas le rôle de l'urologue. Il doit simplement s'assurer que le matériel qu'il utilise a été correctement traité (art 71 code de déontologie).

Rappelons simplement les grandes étapes

- Décontamination
Immédiatement après l'utilisation du matériel par trempage dans un bain détergent décontaminant,
Cette étape réalise une réduction microbienne déjà significative, mais le matériel ainsi décontaminé n'est pas utilisable en l'état. La décontamination ne vise en fait qu'à rendre le matériel manipulable sans risque par le personnel.
- Lavage
A la machine ou manuel pour le matériel fragile,
L'objectif est d'éliminer toutes les salissures et de réduire le taux de contamination initial.

- Séchage
- Vérification, tri, contrôle

L'objectif est de vérifier la propreté macroscopique du produit, son intégrité fonctionnelle, de déterminer le type de conditionnement et de stérilisation à mettre en œuvre. Le risque est de laisser dans le circuit un dispositif médical souillé ou abîmé.

- Conditionnement

C'est-à-dire rangement du matériel dans des conteneurs ou dans des sachets poreux laissant passer uniquement la vapeur

Il est essentiel que le contenu des boîtes d'instruments soit identifié, car une fois les boîtes fermées, on ne peut plus connaître leur contenu. Il faut donc noter sur un cahier le contenu précis de chaque boîte et le respecter. On peut soit énumérer dans un classeur chaque instrument, soit les photographier, soit même faire une photocopie des instruments (voir annexe) afin d'avoir une traçabilité utilisable.

- Autoclavage proprement dit 134° pendant 18 minutes.
En respectant les règles du chargement de l'autoclave :
- La libération

Comprend le déchargement de l'autoclave, le contrôle de son bon fonctionnement et le contrôle de la charge stérilisée.

- La livraison

C'est l'acheminement des produits stérilisés vers le lieu de stockage en prenant soin de ne pas détériorer les emballages.

- Stockage
- Utilisation

3. Le contrôle de la stérilité

« La stérilisation fait partie des procédés spéciaux pour lesquels les résultats ne peuvent pas être entièrement vérifiés par un contrôle final du produit ... » circ. 672

La circulaire 672 oblige à mettre en place un système d'assurance qualité concernant l'ensemble des opérations de stérilisation garantissant la parfaite exécution des différentes étapes. Il n'est en effet pas possible de prouver qu'un matériel est stérile. La stérilité n'est qu'une présomption. Il faut donc être certain que chaque étape a été correctement exécutée.

Le simple fait d'ouvrir la boîte va aussitôt déstériliser le matériel. On peut seulement prouver qu'il a subi une **procédure propre à le rendre stérile**.

Il faut pour cela être certain que chaque étape de la procédure a été correctement réalisée (assurance qualité) et des audits réguliers doivent être réalisés afin de vérifier la bonne exécution des procédures.

Par ailleurs des contrôles du matériel et de l'efficacité des procédures sont indispensables.

- L'autoclave

Un enregistreur va permettre de s'assurer que la pression et la température ont atteint niveau satisfaisant. Un enregistrement continu permet une traçabilité.

- Le test de Bowie et Dick : va permettre de contrôler la bonne diffusion de la vapeur dans l'enceinte de l'autoclave
 - A faire chaque jour avant de commencer la première charge d'autoclave. Il va contrôler la diffusion de la vapeur à l'intérieur de l'autoclave en faisant virer un indicateur coloré. (La procédure initiale de ce test consistait à mettre un témoin à l'intérieur de 24 champs pliés pour vérifier la bonne diffusion de la vapeur).
- Au niveau des boîtes un témoin coloré appelé intégrateur est mis en place (il intègre plusieurs paramètres de température et de temps d'exposition et d'humidité pour pouvoir changer de couleur). Il va permettre de vérifier par un changement de couleur que la température souhaitée est atteinte et le temps d'exposition est correct.
- Un intégrateur doit se trouver à l'intérieur de chaque boîte. On met aussi, à l'extérieur de la boîte, soit des papiers intégrateurs collés, soit un système de cadenas. Ces marqueurs extérieurs ont simplement pour but de pouvoir repérer **au premier coup d'œil que la boîte est passée à l'autoclave** et que la stérilité n'a pas été violée par une ouverture intempestive.

Il ne renseigne en rien sur ce qui s'est passé à l'intérieur de la boîte.

Les intégrateurs ne sont pas une garantie absolue. Ce sont des marqueurs colorés chimiques qui peuvent avoir des défaillances. De plus ils indiquent ce qui se passe en un point mais ne préjugent en rien de ce qui se passe ailleurs dans la même boîte ou ailleurs dans l'autoclave. Cependant en pratique, le niveau de sécurité atteint en combinant paramètres de l'autoclave et intégrateurs est tout à fait bon.

On peut aussi utiliser des indicateurs biologiques, constitués par des échantillons microbiens (Bacillus Stéarothermophilus). Mais le résultat dans ce cas n'est pas immédiat, car il faut mettre les bandelettes supports à l'étuve pendant 24 h au moins.

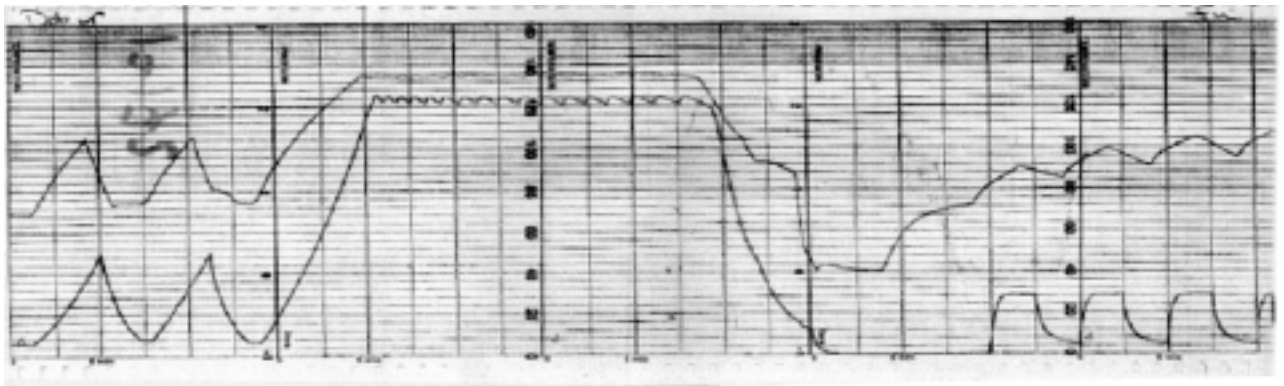


Diagramme d'un cycle d'autoclave

4. La conservation de l'état stérile

Le conditionnement du matériel va se faire dans des boîtes ou des sachets perméables à la vapeur de manière à permettre la stérilisation mais imperméable à l'air pour permettre la conservation de l'état stérile.

- **Les boîtes**

Ce sont des boîtes métalliques munies de filtres semi-perméables ou de soupapes qui vont s'ouvrir sous la pression de la vapeur dans l'autoclave. Elles laissent ainsi pénétrer la vapeur au contact du matériel, et se ferment ensuite, permettant de conserver l'état stérile.

Ces boîtes ne donnent cependant pas une garantie absolue. En effet, le fait que l'intégrateur dans la boîte ait viré donne une certitude sur l'ouverture de la valve et la pénétration de la vapeur, mais rien ne garantit la fermeture et l'étanchéité de la valve. Ces boîtes imposent donc des contrôles et une maintenance régulière.

Elles constituent un énorme progrès par rapport aux premières boîtes à éclipses, que l'on fermait manuellement au sortir de l'autoclave. Il est clair que les germes n'avaient pas l'obligation d'attendre la fermeture des éclipses, pour contaminer le contenu.

C'est pourquoi on leur préfère actuellement les boîtes munies d'un filtre qui laisse passer la vapeur sous pression. Le filtre en place protège de la contamination secondaire. Il faut cependant contrôler le bon positionnement et l'intégrité du filtre.

- **Les sachets**

Ce sont des sachets en papier semi-perméable dont les bords sont soudés. Une face est constituée par une enveloppe plastique transparente et imperméable, permettant de visualiser le contenu. L'autre face est constituée d'un papier semi-perméable opaque. Il faut normalement un double emballage et bien vérifier qu'il n'y a pas de déchirures ni de défaillance au niveau de la soudure. C'est là bien souvent leur point faible.

Ces emballages sont ensuite placés dans l'autoclave pour la stérilisation.

Ce système, de boîte et sachets, permet une conservation pendant 3 mois. Il est donc nécessaire d'afficher **une date de stérilisation et une date de péremption**

En fait plusieurs travaux montrent que l'état stérile dans de tels emballages peut se conserver pendant au moins six mois.