

1. Les traitements thermiques

1-1. Effet de la Température sur la croissance microbienne

La température influence profondément la multiplication microbienne aussi bien que le métabolisme (sensibilité thermique des réactions catalysées par les enzymes).

La croissance microbienne a une dépendance envers des températures dites cardinales (figure 1) : températures de croissance minimales (T_{min}), maximales (T_{max}) et optimales (T_{opt}). La T_{opt} , où la capacité de croissance est maximale, est toujours plus proche de la T_{max} que de la T_{min} .

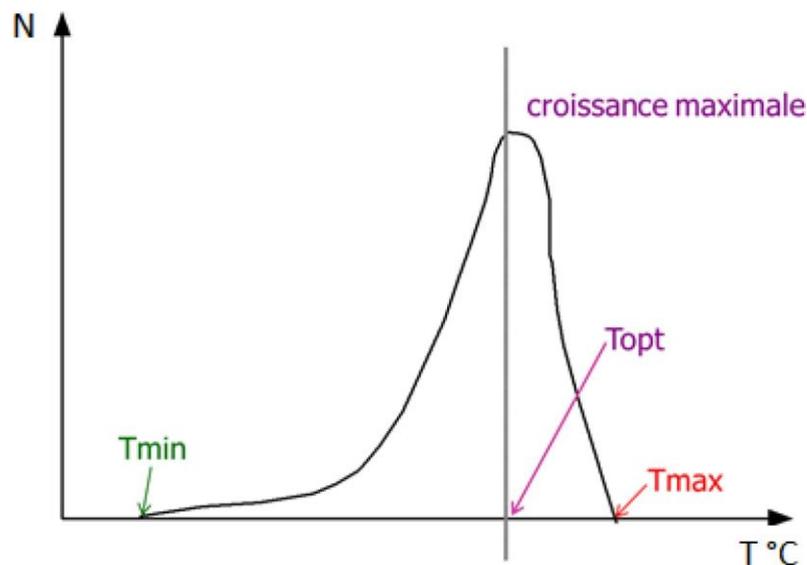


Figure 1 : L'effet de la température sur la croissance d'un microorganisme.

Avant la T_{opt} la capacité de croissance augmente régulièrement avec la température. La vitesse de catalyse augmente et double environ à chaque augmentation de 10 °C de la température. Le métabolisme global est activé, et le microorganisme se développe plus vite.

Après la T_{opt} , la capacité de croissance diminue due aux effets délétères de la température sur les enzymes, les systèmes de transport et d'autres protéines.

La température a aussi un effet significatif sur les membranes microbiennes. Aux très faibles températures, les membranes se solidifient. Aux températures élevées, la bicouche lipidique fond et se désintègre.

Aux températures supérieures à la T_{max} , il n'y a plus de croissance. Mais, les microorganismes ne sont pas toujours tués. Cela dépend de la valeur de la température

et du microorganisme. Exemple typique avec les bactéries du genre *Enterococcus* qui ne cultivent pas au-delà de 46 °C, mais qui supportent l'action de 60 °C durant 30 minutes.

1-2. Influence de la température sur la destruction microbienne

Les principaux groupes microbiens diffèrent par leur température de croissance maximale. La limite supérieure pour les protistes est de 50 °C environ. Les procaryotes peuvent vivre à des températures beaucoup plus élevées que les eucaryotes. L'appareil photosynthétique paraît aussi relativement instable car on ne trouve pas d'organismes photosynthétiques se développant à des températures très élevées.

L'étude expérimentale

Soit (N_0) le nombre initial de microorganismes d'une culture microbienne soumise à une température constante assez élevée pour exercer un effet nuisible sur ceux-ci.

On réalise une série de mesure du nombre N de germes revivifiables en fonction de la durée (t) d'exposition à cette température (figure 2 A).

On utilise parfois les logarithmes décimaux (\log) pour représenter le nombre de microorganismes et on appelle temps de réduction décimale (t_{10} ou valeur D) le temps nécessaire à la division de la flore par facteur 10 (figure 2 B).

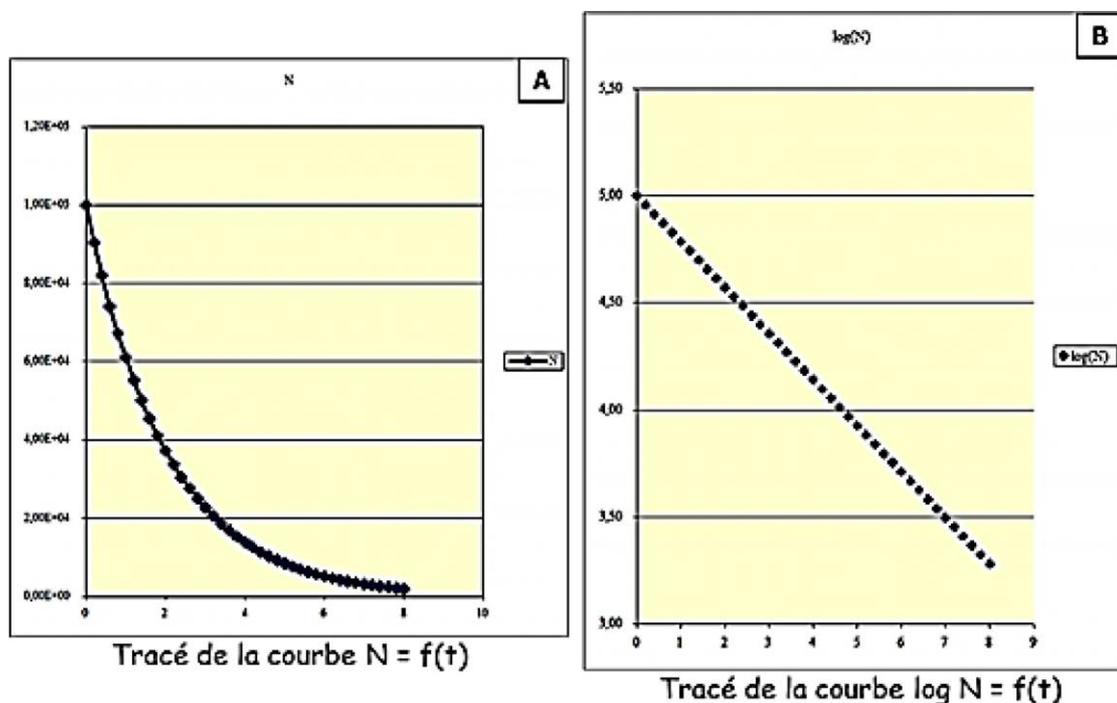


Figure 2: Influence de la température sur la destruction microbienne

Résultat et interprétation

La décroissance de la population microbienne est exponentielle en fonction du temps, ce

qui peut s'écrire : $\frac{dN}{dt} = -kdt$,

dN étant le nombre de microorganismes inactivés dans l'espace de temps dt.

K est une constante de vitesse qui permet de quantifier l'intensité du traitement.

Lorsque K diminue, t doit augmenter et vice versa.

Conclusions

La durée nécessaire pour obtenir (à une température donnée) une diminution importante du nombre de germes est d'autant plus longue que le produit au départ est plus contaminé.

L'efficacité d'une destruction thermique dépend de la charge initiale du produit en microorganismes.

Donc, d'une façon générale, il est nécessaire :

- de limiter au maximum la contamination d'un produit alimentaire ou pharmaceutique, même si celui-ci doit ensuite être stérilisé
- de nettoyer convenablement les objets à stériliser.

1-3. Relation entre la température d'exposition et la durée d'exposition

L'étude expérimentale

Soit un jus de maïs à pH 6,1 contaminé par $1,15 \cdot 10^5$ spores par cm^3 .

Nous cherchons à déterminer la durée nécessaire à la destruction de toutes les spores en fonction de la température.

Les résultats sont représentés dans la figure suivante :

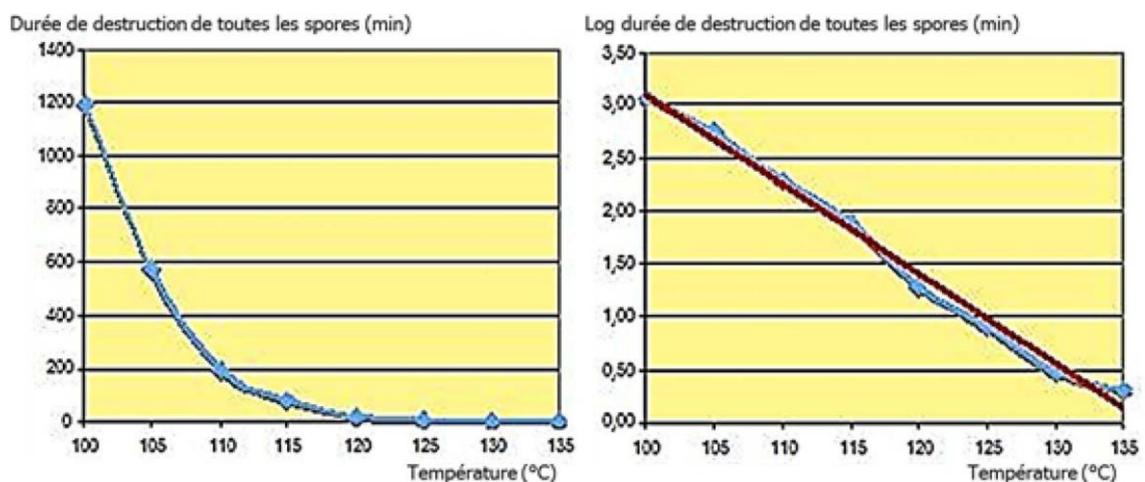


Figure 3 : Tracé de la courbe $t = f(T^\circ)$ et de $\log t = f(T^\circ)$

Conclusions

- Plus la température est élevée et plus la destruction est rapide (réduction du temps de traitement).

- Le phénomène de destruction suit une décroissance logarithmique.

1-4. Autres paramètres influençant l'effet de la température

Influence du milieu de stérilisation

La présence d'eau, de nitrites... accélèrent la stérilisation.

La nature des microorganismes présents dans le milieu

Les formes végétatives des levures et des moisissures, les spores de moisissures, les bactéries non sporulées (en particulier les bacilles Gram négatif) sont détruites par des traitements thermiques modérés.

La destruction des spores bactériennes nécessite un traitement thermique plus élevé.

1-5. Les procédés de stérilisation par la chaleur

Plusieurs méthodes sont utilisables en fonction des besoins.

a) Procédés utilisant la chaleur sèche

Le bec bunsen (le flambage) : Ce procédé consiste à maintenir l'objet à stériliser dans la flamme chauffante du bec bunsen (chaleur sèche). Cette méthode est utilisée pour la stérilisation extemporanée du matériel de manipulation (fils de platine, extérieurs et extrémités des pipettes Pasteur ou graduées, col des tubes à essais, des flacons et des fioles, ouverture de récipients, spatules, etc.). Il se produit à sa surface une destruction totale des matières organiques.

Le four Pasteur : est utilisé pour la stérilisation à sec (par l'air chaud) de la verrerie vide, objets en porcelaine, les seringues métalliques, les aiguilles, les pièces de métal.

Le matériel à stériliser, propre et parfaitement sec, bouché au coton et éventuellement emballé dans du papier solide (papier Kraft ou papier journal), est disposé à l'intérieur du four. Il subit un chauffage de 30 minutes à 170 – 180 °C. On stérilise parfois à 160 °C pendant deux heures afin d'éviter le brunissement du coton. Le matériel ainsi stérilisé sera laissé dans l'étuve jusqu'à son refroidissement complet, ensuite stocké à l'abri des poussières.

L'incinérateur : Il est utilisé pour la destruction du matériel contaminé non récupérable par carbonisation totale.

b) Procédés utilisant la chaleur humide

La stérilisation par autoclavage (destruction des spores) : Elle est réalisée en autoclave. Cette opération nécessite une température de 120 °C ou plus, obtenue par augmentation de la température d'ébullition de l'eau grâce à une pression d'au moins 2 kPa. La température utilisée est inférieure à celle utilisée en chaleur sèche car les microorganismes sont plus sensibles à la température en atmosphère humide.

La saturation de l'atmosphère en eau permet la stérilisation de milieux liquides sans évaporation. Il est déconseillé de stériliser par autoclavage les liquides albumineux, le lait, les solutions concentrées de glucides, la gélatine et toute autre solution facilement hydrolysable

La thyndalisation, procédé décrit par THYNDALL, nécessite une température relativement basse de 60 °C ou 70 °C. La durée de chauffage doit être de 30 minutes ou 1 heure, répétée trois fois constitutives en ménageant un intervalle de 12 à 24 heures à température ambiante entre chaque chauffage. Au cours du chauffage, seules les formes végétatives sont inactivées tandis que dans les intervalles, la plupart des spores thermorésistantes germent et sont sensibles au chauffage suivant. Donc destruction des spores sans l'emploi d'une température excessive.

Cette méthode est utilisée pour les milieux fragiles contenant le sérum, les œufs ou toute substance thermosensible de forte viscosité qui ne peut être stérilisée par autoclavage ou par filtration.

La pasteurisation, utilisée pour les milieux de culture comme pour les aliments, il est important de choisir des conditions qui assurent une bonne destruction microbienne, une destruction minimale des vitamines, et une production minimale de réactions défavorables comme les réactions de Maillard.

La pasteurisation entraîne la destruction des formes végétatives, en particulier de celles des microorganismes pathogènes ou responsables d'altérations organoleptiques, à l'exclusion de la plupart des formes sporulées bactériennes. Elle est obtenue par différents couples temps-température : 30 minutes à 60-65 °C, 10 minutes à 80 °C, quelques secondes à 90 °C, quelques fractions de seconde à une température supérieure à 100 °C.

La pasteurisation est toujours suivie d'un refroidissement rapide. Elle peut se faire en bouteilles ou en vrac.

Les diverses pasteurisations

Basse pasteurisation : le produit est maintenu au moins 30 minutes à 60-65 °C dans une enceinte à double paroi dans laquelle se trouve de l'eau chaude.

Exemples : Pasteurisation des jus de fruits.

Haute pasteurisation : le produit est chauffé pendant un temps très court (15 secondes à 2 minutes) à une température élevée (70 à 90 °C). Cette opération se fait dans des appareils à plaques ou à tubes.

Exemples : Pasteurisation du lait et des purées de légumes.

La stérilisation UHT (ultra haute température) : le procédé consiste à porter le produit sous couche mince pendant quelques secondes à 138 °C à 140 °C. Toutes les formes végétatives sont détruites, ainsi que les formes sporulées. Cette méthode est très sensible, il y a un grand risque de dénaturation du produit.

Autres méthodes : d'autres techniques de stérilisation par la chaleur sont utilisables comme le flambage à l'alcool qui est utilisé pour la stérilisation de matériel de manipulation en verre, tels les râtaux à étaler ou la désinfection des paillasses.

1-6. Les procédés de stabilisation par le froid

Le froid entraîne le ralentissement de la croissance et des transformations microbiennes.

La réfrigération qui utilise une température proche de 0 à 4 °C empêche la multiplication de nombreux germes mésophiles et donc celle de la plupart des microorganismes pathogènes, mais pas celle des germes psychrophiles. À -12 °C, un blocage de la croissance de la plupart des microorganismes est observé. La congélation à -18 °C et la surgélation (-40 °C et même -80 °C) permettent une stabilisation totale vis-à-vis des microorganismes (il n'y a plus de multiplication microbienne) et entraîne une mortalité plus ou moins importante selon la nature des germes et la vitesse de refroidissement.

2. Stérilisation par les radiations : Radio-stérilisation

On appelle irradiation l'action de soumettre un produit ou un matériel à un rayonnement.

2-1. Stérilisation par radiations ionisantes β et γ

Les rayonnements ionisants (β , γ) pénètrent profondément la matière. Ils sont utilisés pour la stérilisation industrielle des boîtes de Pétri, pipettes et flacons en matière plastique.

Les rayons Bêta sont des électrons accélérés, produits par un accélérateur électrostatique. Ces rayons traversent plusieurs dizaines de centimètre de la matière solide. Les rayons gamma sont des ondes électromagnétiques produits par un isotope radioactif (Cobalt 60). Ce rayonnement traverse le double de celui du rayonnement Bêta

Action : une irradiation ionisante est liée à la formation d'ions par perte d'électrons. En effet, les rayons arrachent les électrons des atomes de la matière ; elles dénaturent ainsi les molécules. Dans l'eau, il se forme des radicaux libres qui peuvent se fixer sur l'ADN, et induire une cassure sur le brin. L'information génétique est atteinte, et ceci peut induire une modification du fonctionnement de la cellule.

Avantages : stérilisation à basse température (15 °C) adaptée aux matières plastiques, pénétration du rayonnement dans l'emballage étanche, conservation stérile pendant 5 ans.

Inconvénient : installations très coûteuses.

2-2. Stérilisation par les radiations UV

Le rayonnement ultraviolet est produit par un tube en quartz à vapeur de mercure. Exemple les lampes germicides ou stérilampes utilisées dans la stérilisation des surfaces et de l'air ambiant, dans des locaux ou des hottes, servant aux manipulations en atmosphère stérile (hottes à flux laminaire).

La stérilisation par les rayons UV est utilisée au laboratoire pour la décontamination de l'air et des paillasse situés sous les hottes de protection. Des instruments ou des récipients, tels les boîtes de Pétri, peuvent être stérilisés de la sorte, de même que des liquides en couches minces.

Action : Ces rayonnements provoquent des mutations au niveau du génome bloquant ainsi les processus biochimiques servant à la reproduction.

Avantages : Pratiques à utiliser, ils sont employés au laboratoire (en virologie, en cultures cellulaires) et dans certaines industries pour la désinfection des atmosphères, de surfaces de couches liquides minces et en préparation et conditionnement des produits pharmaceutiques.

Inconvénients : Les rayons UV sont peu pénétrants et ne peuvent donc traiter que des surfaces ou des volumes gazeux. Ils ont une action plus décontaminante que stérilisante.

3. Stérilisation par filtration sur membrane

La filtration stérilisante n'est utilisable que pour les fluides : gaz, des liquides altérables par la chaleur à viscosité faible comme les sérums, les solutions hydrolysables, les solutions glucidiques, les vitamines etc. L'avantage majeur de ce procédé est de conserver les qualités organoleptiques du produit traité.

Elle nécessite l'emploi de filtres organiques ou minéraux (filtres en céramique, verre fritté, membrane en acétate de cellulose) dont le diamètre des pores est inférieur aux dimensions des microorganismes.

Les appareils filtrants à membrane sont de plusieurs types (figure 4). Ceux destinés à la filtration de grands volumes sont de type entonnoir ; ils sont en verre, en matière plastique (polycarbonate) ou en métal (acier inox).

Les membranes filtrantes sous forme de cartouches filtrantes adaptables sur une seringue sont pratiques pour la filtration des petits volumes de milieu : certaines sont à usage unique (conditionnées en sachet stérile), d'autres sont autoclavables et réutilisables.



Figure 4 : Unités de filtration.

Remarque : Les appareils de filtration à membrane peuvent être utilisés pour la concentration de microorganismes et la numération.