

Chapitre 1 : Techniques de stérilisation et désinfection dans les Laboratoires

1. Techniques de stérilisation du matériel, des surfaces et de l'air

Les mesures de nettoyage et de désinfection des objets, des surfaces et des locaux sont importantes. Ces mesures sont efficaces pour réduire la transmission des infections, pourvu que les méthodes de travail, les produits, leur utilisation et la fréquence d'entretien soient adéquats. Par exemple, l'utilisation inappropriée d'un produit peut rendre les mesures inefficaces et avoir pour conséquence de ne pas protéger les occupants contre les infections et de les exposer inutilement à des substances chimiques.

La stérilisation

Est une opération appliquée sur des substances inertes permettant une élimination durable de tous les microorganismes sous leurs formes végétatives ou leurs formes sporulantes et aussi élimination des virus.

Les objets stérilisés doivent être protégés jusqu'à l'utilisation suivante pour éviter une recontamination. Les surfaces fréquemment touchées, ou à potentiel élevé de contamination, donc plus susceptibles d'être contaminées par des agents infectieux, comprennent par exemple :

- ✓ les tables ;
- ✓ les chaises hautes ;
- ✓ les accoudoirs de chaise ;
- ✓ les bavoirs en plastique ;
- ✓ les éviers et la robinetterie ;
- ✓ les interrupteurs ;
- ✓ les poignées de porte ;
- ✓ les appareils électroniques qui sont fréquemment touchés par les mains ;
- ✓ les claviers et souris d'ordinateur partagés ;
- ✓ les sièges et cuves de toiletteetc.

Certaines caractéristiques des surfaces et des objets influencent le choix des mesures d'entretien. On distingue deux catégories de surfaces :

- Poreuses;
- Non poreuses.

Les surfaces poreuses sont perméables. Elles absorbent l'humidité et peuvent héberger des agents infectieux. Les tapis, les tissus ou les cartons sont des exemples de surfaces poreuses. Celles-ci sont plus difficiles à nettoyer et à désinfecter. Pour ces raisons, les surfaces poreuses ne sont pas recommandées, en particulier aux endroits susceptibles d'être en contact avec du sang ou d'autres

Chapitre 1 : Techniques de stérilisation et désinfection dans les Laboratoires

liquides biologiques (ex. : urine, selles, etc.).

— Il existe trois niveaux d'opération : Le nettoyage ; La désinfection et L'assainissement.

Les surfaces non poreuses sont lisses et imperméables. Le choix et l'usage des matériaux non poreux sur les surfaces fréquemment touchées sont à privilégier, car ils se nettoient et se désinfectent plus facilement.

La technique utilisée pour stérilisation

La technique utilisée sera choisie en fonction de : La nature du produit ou du matériel à stériliser, le prix de revient et les possibilités locales d'utilisation.

Types de Stérilisation

A-Stérilisation par la chaleur sèche

A.1/ Le flamage : est basé sur l'emploi de la flamme du bec bunsen, utilisé pour la stérilisation de l'air de la zone du travail et ainsi pour la stérilisation extemporanée (pour utilisation immédiate) du matériel exemple : le fil de platine d'une anse, col des tubes et des flacons, extérieur des pipettes Pasteur.

A.2/ Le four Pasteur : L'air est chauffé à des températures contrôlable pendant un temps variable suivant le volume du matériel à stériliser : de 140° à 210° pendant 30 à 180 minutes. La matière organique est détruite à cette température. Il peut être utilisé sur le matériel métallique, la porcelaine (filtres, mortiers, ...), la verrerie sauf verreries de précision qui peuvent subir des déformations entraînées par la dilatation. En revanche, il est inutilisable sur le caoutchouc, les matières plastiques, milieux de culture et tous les liquides.

La verrerie à stériliser doit être propre et parfaitement sèche, éventuellement bouchée avec du coton et emballée dans du papier solide. Le matériel ainsi stérilisé sera laissé dans le four jusqu'à son refroidissement complet, puis stocké à l'abri de la poussière.

B-Stérilisation par la chaleur humide

L'action conjuguée de l'eau et de la température amène la dénaturation des protéines des microorganismes et par conséquent la coagulation de ces protéines ; ce qui entraîne, pour eux, l'impossibilité de se reproduire et la mort.

Chapitre 1 : Techniques de stérilisation et désinfection dans les Laboratoires

B.1/ Autoclavage :

C'est une technique appliquée dans l'**Autoclave** qu'est une chaudière fonctionnant en vase clos dont le principe de fonctionnement est le suivant : L'eau bout à 100° C sous une pression atmosphérique normale (760 Hg ou 1006 millibars), Si la pression augmente, la température d'ébullition s'élève aussi.

C'est une technique de stérilisation dans une atmosphère de vapeur d'eau exempte d'air, dans tel cas, tous les germes y compris les spores sont tués en **15-20 min à 115-121°C, 1.5 – 2 atm**

Il est utilisé pour stériliser les milieux de culture neufs **non thermolabiles**, tous les liquides, matériel en plastique et en caoutchouc.

B.2 / Pasteurisation :

Cette technique comme son nom l'indique, a été inventée en 1865 par le français « Louis Pasteur » (1822-1895). Il est utilisé pour la conservation naturelle et alimentaire dans un temps limité, détruisant la forme végétative, mais pas les spores. Elle peut se faire en bouteilles ou en vrac dans des bains marie. Elle est toujours suivie d'un refroidissement rapide. Le produit est soumis à une aspersion d'eau de plus en plus chaude, jusqu'à 65-75°C et séjourne à cette température pendant 20 à 30min, puis il est refroidi par de l'eau de plus en plus froide. On distingue la **pasteurisation basse** (chauffage à 65°C pendant 30 min) et la **pasteurisation haute** (chauffage à 85-90°C pendant 20 à 30 secondes). Cette méthode est utilisée pour les aliments liquides (lait) ou les boissons (jus, cidre).

B.3/ Tyndallisation :

Cette technique a été inventée en 1871 par le physicien irlandais « John Tyndall » (1820-1893). Elle consiste en chauffage discontinu dans le bain marie à une température relativement basse (60 ou 70°C suivant le cas) suivis de refroidissements. Au cours de ce traitement, les bactéries perdent leur aptitude à sporuler.

Actuellement, le procédé est réalisé en une série de 3 chauffages de 1h à 70-80°C, séparés par un intervalle de 24h à température ambiante, ce qui permet la germination et la destruction des spores, sans l'emploi de température excessive.

Chapitre 1 : Techniques de stérilisation et désinfection dans les Laboratoires

Cette méthode est utilisée pour les milieux fragiles contenant des substances thermolabiles et de forte viscosité qui ne peuvent être stérilisées par filtration, comme le sérum, œuf...

C-Stérilisation par la filtration

Elle consiste à faire passer un liquide à travers une substance poreuse qui retient les éléments solides et les bactéries en suspension contenus dans ce liquide. Cette méthode est utilisée pour les milieux thermolabiles et de viscosité faible (vitamines, certains médicaments). On utilise alors, selon le cas, les bougies de porcelaine (type Chamberland), les filtres de verre poreux (verre fritté N°5 arrête de nombreuses bactéries) ou les membranes filtrantes à usage unique, de type Millipore ou Sertorius.

La filtration n'est stérilisante qu'avec des filtres dont la porosité est inférieure à 0,2 μm . Les virus où leur taille est $< 0,1 \mu\text{m}$ ne sont pas retenus par les filtres

D-Stérilisation par les radiations

Les rayons X et les rayonnements Béta et Gamma sont très efficaces par leur intensité et leur pouvoir de pénétration. Ils sont utilisés pour la conservation de certains produits alimentaires ou pour la stérilisation industrielle des boîtes de Pétri en matière plastique. Les radiations peuvent être : ionisantes (rayons X, radio activité) ou non-ionisantes (rayons UV).

d-1/ Radiations ionisantes : leur longueur d'ondes est $\leq 10 \text{ nm}$, utilisables seulement en condition spéciales puisque elles sont trop dangereuses. Elles peuvent servir pour la stérilisation industrielle des boîtes de Pétri en plastique, médicament non autoclavables et non filtrables.....

d-2/ Radiations non ionisantes : (*Ultra-Violets*• : leur longueur d'ondes est située entre celle des rayons X et celle de la lumière visible ; c'est-à-dire entre 15 et 385 nanomètres.

On utilise généralement un rayonnement entre 200 et 280 nm (activité maximum : 280nm) La stérilisation par les UV est utilisée au laboratoire pour la décontamination de l'air et des paillasse situées sous la hotte à flux laminaire, le rayonnement n'agit que de façon directe et sa pénétration dans le produit ou le matériel à stériliser est faible.

2. Techniques de désinfection des surfaces

La désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les agents infectieux ou d'inactiver les virus indésirables portés par les milieux inertes contaminés. Elle détruit ou neutralise les agents infectieux qui peuvent se trouver sur les surfaces et qui n'ont pas été éliminés par le nettoyage.

La désinfection est l'élimination des formes végétatives des microorganismes sans ou peu d'effets sur les spores bactériennes. Pour ce faire, des produits chimiques sont utilisés, généralement pour la désinfection des salles et plans de travail et pour la destruction des germes portés par des instruments souillés.

Elle est plus fréquente pour les objets et les surfaces à haut potentiel de contamination, lors d'éclosions et pour certains objets et surfaces qui ont été en contact avec des liquides biologiques ou qui risquent de l'être.

Les surfaces devant être désinfectées plus souvent comprennent les tables à langer, les petits pots, les sièges et cuves de toilette, les dessus de comptoir, les éviers, les lavabos, les fontaines, les poignées des armoires et les poignées de porte. Les surfaces non poreuses peuvent être désinfectées plus facilement.

Tout comme les produits nettoyants, les désinfectants sont efficaces seulement lorsque les instructions du fabricant sont respectées quant à la dilution, à la durée de conservation une fois le désinfectant dilué et au mode d'utilisation (température de l'eau, temps de contact recommandé et nécessité de rincer ou non). Ils ne doivent jamais être mélangés à d'autres produits, car certains mélanges peuvent émettre des vapeurs nocives et dangereuses, ou provoquer des réactions dangereuses.

S'assurer que les conditions d'utilisation sont sécuritaires pour toutes les personnes susceptibles d'être en contact avec le produit ou ses émissions.

Fermer le couvercle du produit désinfectant tout de suite après l'utilisation et l'entreposer de façon sécuritaire.

Techniques de stérilisation et désinfection dans les Laboratoires

L'eau de Javel est un désinfectant souvent utilisé.

Les désinfectants à base de peroxyde d'hydrogène accéléré peuvent être une bonne option, surtout s'il y a présence de personnes intolérantes à l'eau de Javel au service de garde ou à l'école.

La désinfection par ionisation de l'eau n'est pas recommandée, car les preuves scientifiques sont pour l'instant insuffisantes pour conclure à son efficacité et à son innocuité.

Les désinfectants gazeux :

Formol : la vapeur d'une solution chauffée de formol est utilisée pour désinfecter les pièces et les étuves.

L'ammoniac aussi peut être utilisé en combinaison pour diminuer la toxicité des vapeurs

3. Règles du travail aseptique et maîtrise des risques d'infection liés à la manipulation de certains échantillons

3. A/PRÉVENTION DE LA CONTAMINATION CROISÉE

La contamination croisée est le passage d'agents infectieux d'une surface, d'une personne ou d'un objet à un autre qui peut se produire lors du nettoyage, de l'assainissement ou de la désinfection. Pour la prévenir, il est important d'en prendre conscience et d'éviter la diffusion des agents infectieux dans l'environnement par les mains, objets, liquides et autres utilisés lors de l'entretien.

Pour prévenir la contamination croisée :

- Après usage, nettoyer et faire sécher l'équipement utilisé pour le nettoyage, l'assainissement et la désinfection (ex. : linges, seaux et vadrouilles souillés) afin de diminuer leur niveau de contamination. Ne pas les laisser tremper dans l'eau souillée.
- Utiliser des linges et des vadrouilles propres, avec une solution propre seulement, préparée dans un contenant propre. Ne pas retremper le linge en microfibres déjà utilisé dans la solution. Ne pas laisser de solution résiduelle dans le seau et le faire sécher autant que possible entre les utilisations.
- Utiliser une poubelle à pédale pour éviter que les mains propres touchent la poubelle sale.
- Utiliser un code de couleur pour les linges et les vadrouilles (ex. : rouge pour les zones à risque telles que les toilettes et les tables à langer, bleu pour les autres).

L'installation de robinets automatiques peut aussi réduire le risque de contamination croisée, car les poignées des robinets standards sont souvent contaminées.

3. B/ÉQUIPEMENT DE PROTECTION INDIVIDUELLE (EPI)

L'EPI comprend les gants de protection, le masque, la blouse, la protection oculaire et les couvre-chaussures.

Il est recommandé d'utiliser les produits d'entretien les moins toxiques possible, et pour lesquels le port d'un EPI est peu ou pas nécessaire.

Certaines pratiques minimiseront le risque de contact avec les produits, telles que prévoir une zone de préparation appropriée (ex. : espace suffisant, hauteur de travail facilitant les manipulations, outil de transvasage qui limite les éclaboussures), dans un espace bien ventilé.

Cependant, certains produits ont un pH élevé et sont corrosifs pour les yeux et la peau.

D'autres peuvent être absorbés par la peau et causer une atteinte à la santé. L'EPI permet d'éviter un contact avec la peau et doit être adapté au type d'activité, selon l'évaluation des risques.

Le tableau 1 représente les équipements de protection individuelle requis selon la situation.

Techniques de stérilisation et désinfection dans les Laboratoires

Situation	Équipement de protection individuelle requis
Risque de contact avec du matériel infectieux	Gants jetables
Risque de contact avec une substance corrosive ou nocive	Gants en nitrile
Risque de contact avec du matériel coupant dans le cadre de travaux ménagers	Gants de caoutchouc ultrarésistant réutilisables*
Risque d'éclaboussures au visage	Masque et protection oculaire
Risque d'éclaboussures sur le corps	Blouse ou tablier ou sarrau
Risque de marcher dans des liquides biologiques ou des produits chimiques et de les disperser	Couvre-chaussures ou bottes

Tableau 1 : Les équipements de protection individuelle requis selon la situation.