

Travaux Pratiques 3 : La stérilisation



1-Définitions de la stérilisation : La stérilisation est l'opération qui consiste à éliminer les micro-organismes d'un objet, et ce de manière durable. Un objet stérile est totalement dépourvu de microorganismes et de spores, l'agent chimique ou physique qui permet la stérilisation est appelé agent stérilisant. En microbiologie, le but de la stérilisation est d'une part de maîtriser les micro-organismes introduits dans le milieu d'étude, et d'autre part d'éviter la contamination du milieu extérieur et des personnes.

2-Les différents types de stérilisation :

Il existe plusieurs moyens de stérilisation : par les méthodes physiques (chaleur et filtration), par les moyens chimiques et par les radiations.

2-1- La stérilisation par la chaleur :

La chaleur détruit les bactéries et les spores. On distingue les procédés à chaleur sèche et humide :

2-1-1- La stérilisation par la chaleur sèche : 02 procédés assurent la stérilisation par le voie sèche :

Flambage : Le passage dans la flamme (bec bunsen) de la surface du matériel non inflammable assure une parfaite stérilisation. On stérilise de cette façon les anses de platine et les pipettes Pasteur.

Four pasteur ou Popinelle : C'est un four-étuve à air chaud et sec. Il est utilisé à **180°C** pendant **90 minutes** pour détruire les formes végétatives et également les spores. Cet appareil n'est utilisé que pour la stérilisation de la verrerie préalablement nettoyée et séchée ou de matériels métalliques (instruments de dissection, pince) pouvant tolérer de très hautes températures. Le matériel ainsi stérilisé sera laissé dans l'étuve jusqu'à son refroidissement complet, puis stocké à l'abri des poussières.

2-1-2- La stérilisation par la chaleur humide : La stérilisation par la chaleur humide, reconnaît trois modalités :

La stérilisation par Autoclave : C'est un appareil indispensable dans un laboratoire de microbiologie. Le chauffage a lieu sous pression de vapeur d'eau, à une température de **120°C** pendant une durée de **20 min**. Ce procédé tue toutes les cellules végétatives et les endospores.

Pasteurisation : La pasteurisation est un traitement à chaud de liquides, tuant des pathogènes mais pas forcément toutes les bactéries. Les températures de la pasteurisation se situent entre **60 à 100°C** (Par exemple, la pasteurisation du lait se fait à 72°C pendant 15 secondes, jus de fruit à 97°C pendant 10secondes).

Tyndallisation : La tyndallisation est une série de 3 chauffages brefs à des températures de **70°C** à intervalles réguliers, ceci afin de laisser aux formes résistantes la possibilité de germer pour les tuer au chauffage suivant. Par exemple la destruction des pathogènes du lait se fait par un cycle de 63°C pendant 30 minutes suivie de 73°C pendant 15 minutes.

2-2-La filtration :

La filtration est une technique qui consiste à faire passer un liquide à travers un filtre dont les pores ont un diamètre de **0,2 µm** (figure 1). Les micro-organismes sont trop gros et sont donc retenus par le filtre mais ne retient pas les virus. Cette technique est intéressante lors d'utilisation de produits thermolabiles comme certains acides aminés aromatiques, vitamines, hormones de croissance, acides nucléiques et une bonne partie des antibiotiques.

La stérilisation par filtration adopte l'utilisation de filtre écran

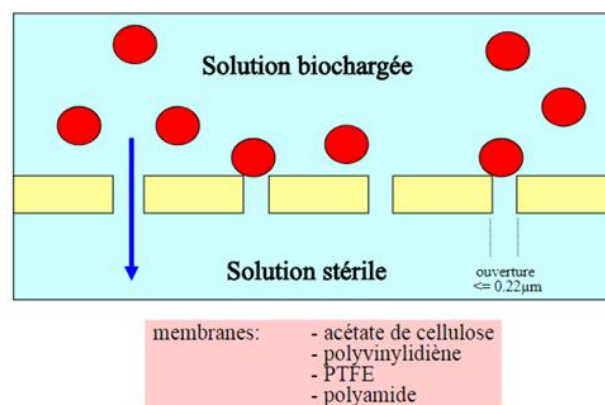


Figure 1 : Stérilisation par filtration

Certaines matières (Plastiques, Caoutchoucs...) ne tolèrent pas l'autoclave ou se détériorent rapidement après des expositions répétées à la chaleur.

2-3-Stérilisation par radiations :

La stérilisation par les Rayons ultra-violet (U.V.) est utilisée pour stériliser l'air et surfaces de travail, laboratoires, salle d'ensemencement, bloc opératoire et les paillasse situées sous la hotte de protection au niveau des laboratoires. Ces rayons ne pénètrent pas en profondeur des objets. Les rayons X et gamma (γ) pénètrent en profondeur des objets et sont utilisés pour stériliser les produits pharmaceutiques et alimentaires, matière plastique, des pansements, des boîtes de Pétri.

2-4-Stérilisation par Agents chimiques : Stérilisation par rayons Bêta Ils sont utilisés en général pour la désinfection des salles de travail et pour la destruction des germes portés par des instruments souillés. Ce mode de stérilisation doit être systématiquement pratiqué dans le laboratoire pour les lames et pour la verrerie qui ne passe pas en autoclave. Parmi les désinfectants les plus utilisés :

Les composés phénoliques : le Phénol est 1^{er} désinfectant et antiseptique largement utilisé

Les alcools : Parmi les désinfectants et les antiseptiques les plus utilisés Ethanol

Chlores : un des désinfectants les plus communs pour le traitement des eaux

Eau oxygénée : agent oxydant (H_2O_2)