

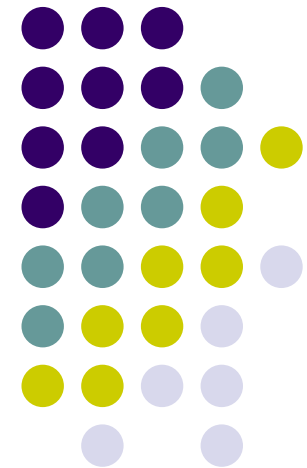
STERILISATION DU MATERIEL MEDICAL

S. Villeger, J.P. Sarrette et A. Ricard

Centre de physique des Plasmas et de leurs
Applications de Toulouse

M. Sixou

Laboratoire Ecosystème Buccal et Biomatériaux
Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse



Stérile : Exempt de tout micro-organisme viable



Il n'est pas possible de vérifier si tout dispositif, pris au hasard dans une population de dispositifs traités est conforme à cette définition

Stérilité d'une population

Probabilité théorique
d'existence d'un produit
non stérile dans cette
population

Niveau d'assurance de stérilité
(N.A.S.)

10^{-6}

Norme NF/ISO/EN 14 937



Critères généraux pour la caractérisation d'un agent stérilisant et pour le développement, la validation et la vérification de routine d'un processus de stérilisation

- Caractérisation:
 - définition de l'agent stérilisant
 - définition des protocoles de croissance, d'inoculation, d'exposition, de récupération et de numération des micro-organismes
 - facteurs influençant l'efficacité du procédé
 - effet sur les matériaux
 - exigences pour la sécurité des personnels et de l'environnement

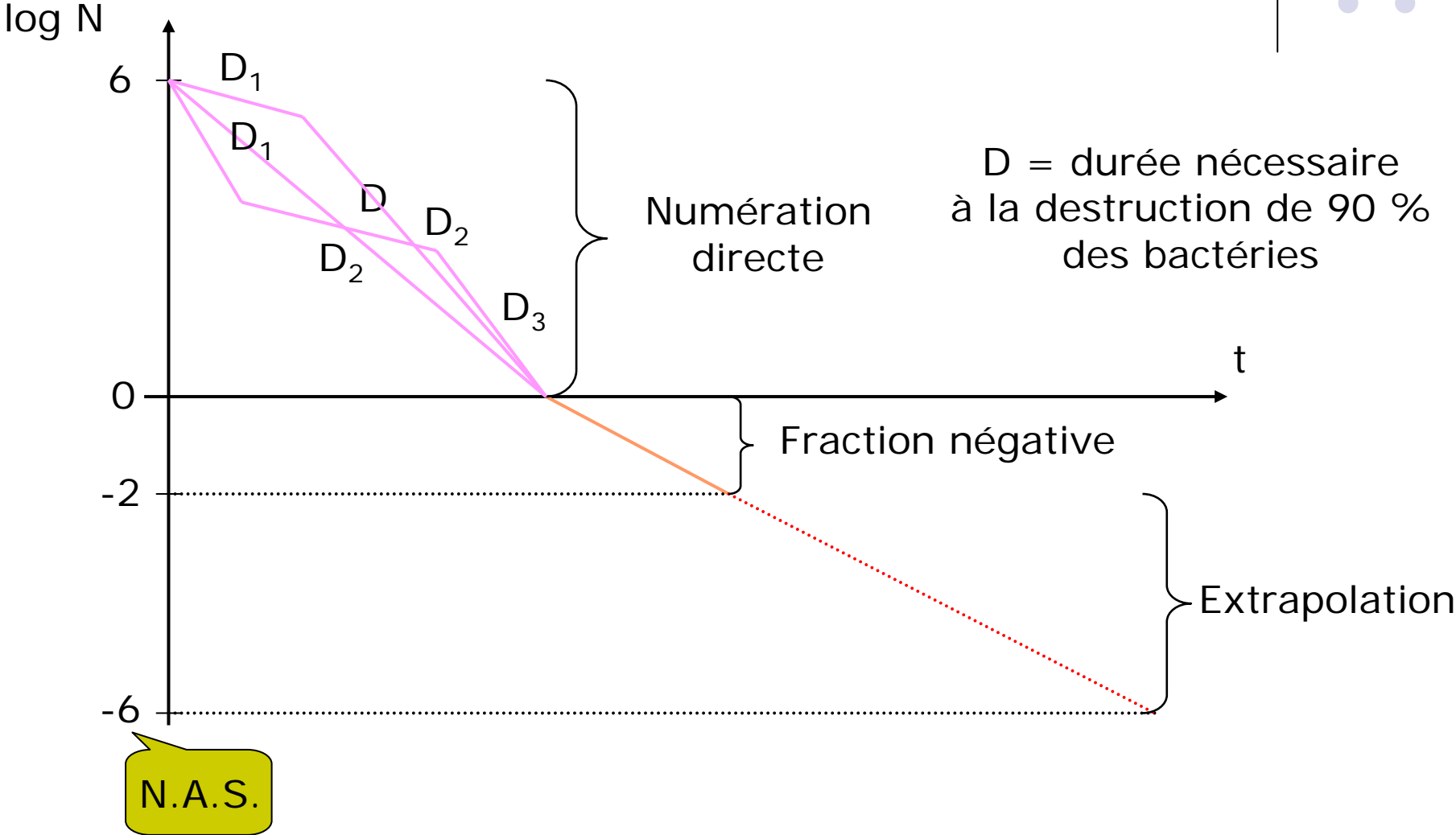
Norme NF/ISO/EN 14 937



Critères généraux pour la caractérisation d'un agent stérilisant et pour le développement, la validation et la vérification de routine d'un processus de stérilisation

- Etude qualitative:
 - définir l'activité microbicide sur un large spectre de micro-organismes
 - identifier des micro-organismes résistants
- Etude quantitative:
 - montrer que le N.A.S. peut être obtenu
 - définir la cinétique d'inactivation microbienne

Courbes d'inactivation microbienne

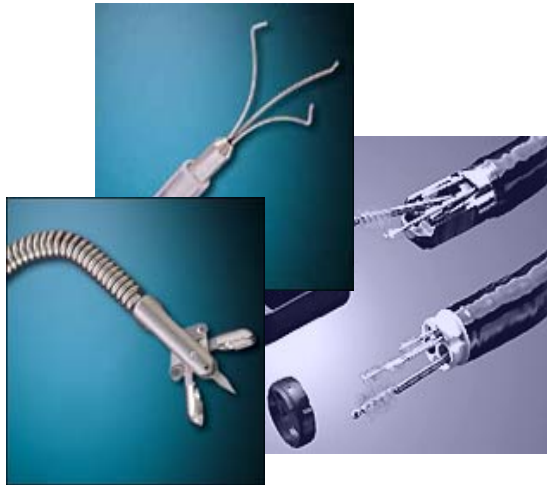


Les procédés actuels de stérilisation

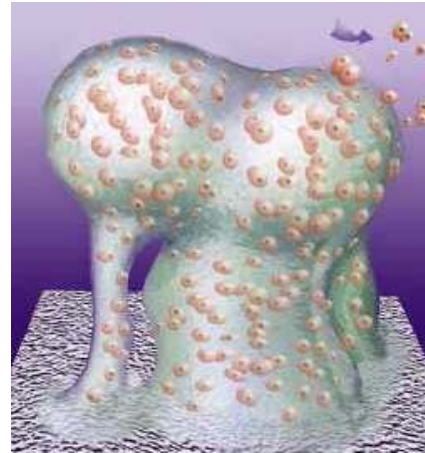


Procédé	Mode d'action	Matériels	T°	Immobilisation	+	-
Chaleur sèche	Oxydation des protéines	Métal Verre	180°C	6 heures		Long Inhomogène
Vapeur d'eau	Destruction des chaînes peptidiques	Acier Verre Caoutchouc	134°C	90 minutes	Référence Coût Non toxique	Haute température
Gaz alkylants	Alkylation des molécules organiques	Thermo-sensibles Plastiques	55°C	Plusieurs jours	Basse température	Gaz toxiques Temps d'immobilisation
Rayons γ	Lésion de l'ADN	Usage unique	-	24 heures	Gros volumes	Coûteux Non applicable

Les besoins en stérilisation médicale



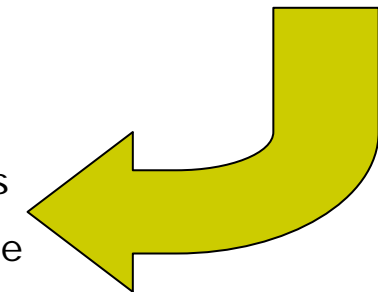
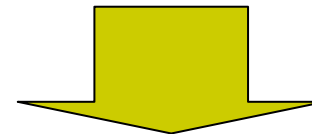
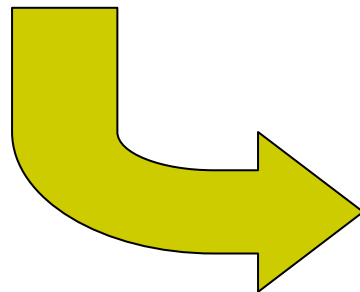
Endoscopes, micro-moteurs, appareils de dialyse, ...



Biofilms

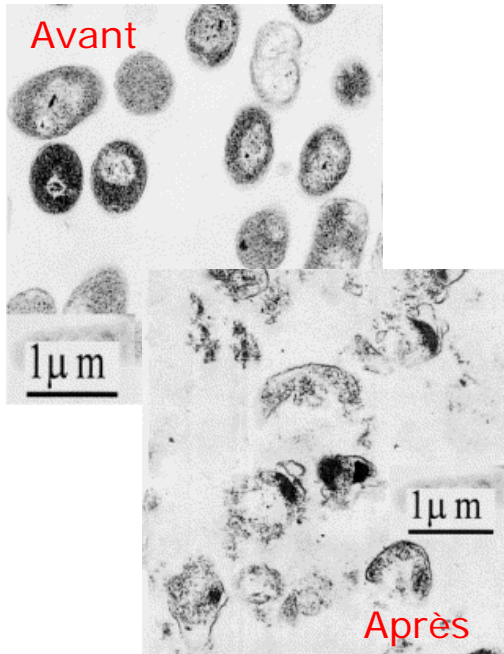


Protéine prionique



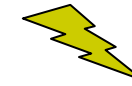
- Efficaces sur un large spectre de micro-organismes
- Efficaces sur des instruments aux formes complexes
- Rapides et d'un coût équivalent à celui de l'autoclave
- Sans génération de sous-produits toxiques
- Basse température (< 70° C)

Une alternative: La stérilisation plasma



*In R.B. Gadri et al.
Surf. Coat. Technol.
131 (2000) 528*

Les voies possibles



Dans la décharge (SHP)

En post-décharge (SBP)

Effets thermique
et électrostatique

Gravure chimique

Gravure physique

UV

Forte réactivité

Photodésorption

UV

Avantages :

Rapidité
Possibilité de fcmnt. pulsé
Pression atmosphérique

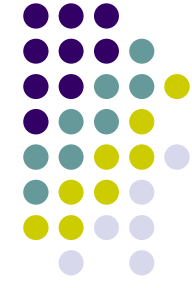
Traitement « doux »
Basse température
Volumes importants

Inconvénients :

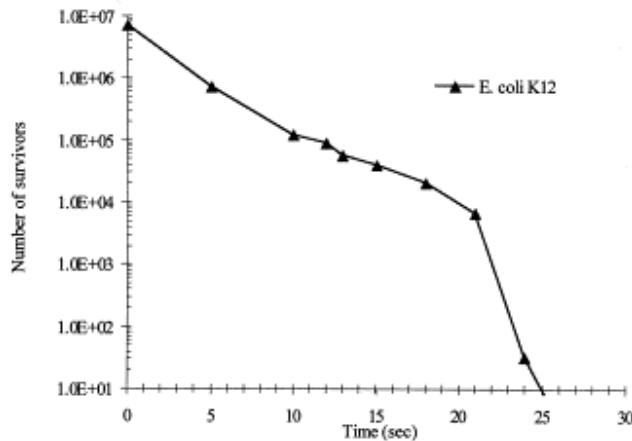
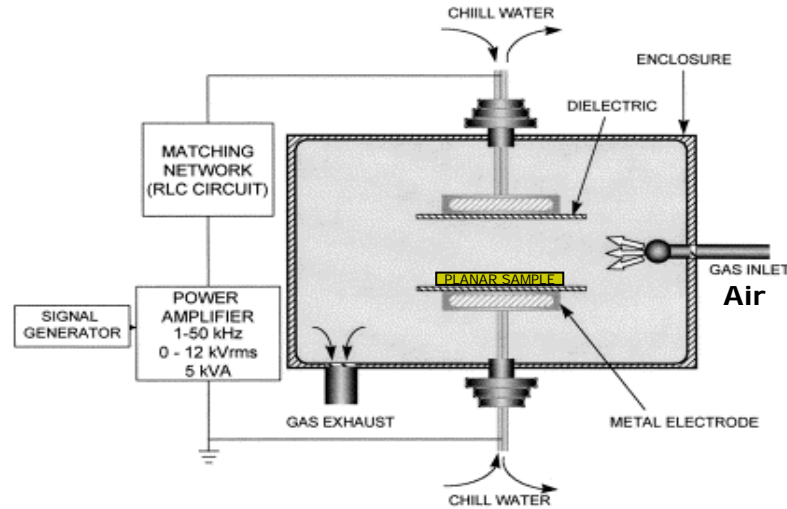
Faible volume traité
Agressif pour les matériaux

Durée
Basse pression

Quelques résultats typiques en SHP



One Atmosphere Uniform Glow Discharge Plasma, from R.B. Gadri et al.,
Surf. Coat. Technol., 131 (2000) 528



Microorganisms (Concentration)	Surface ^a	Exposure, time	Log reduction of cells	D values ^b
Gram negative bacteria				
<i>E. coli</i> K12 (8×10^6)	Polypropylene	24 s	≥ 5	$D_1=6$ s $D_2=2$ s
<i>E. coli</i> K12 (2×10^7)	glass	70 s	≥ 3	$D_1=33$ s $D_2=7$ s
<i>E. coli</i> O157:H7 (9×10^5)	glass	76 s	≥ 2	$D_1=36$ s $D_2=11$ s
<i>E. coli</i> K12 (8×10^7)	agar	300 s	≥ 7	$D_1=70$ s $D_2=26$ s
<i>P. aeruginosa</i> (2×10^7)	polypropylene	30 s	≥ 6	ND ^c
Gram positive bacteria				
<i>S. aureus</i> (1×10^7)	polypropylene	22 s	≥ 6	$D_1=7$ s $D_2=2$ s
<i>D. cinereus radiodurans</i> (1×10^7)	glass	48 s	≥ 2	$D_1=5$ s $D_2=4$ s
<i>Bacillus subtilis</i> (1.5×10^8)	glass	60 s	≥ 3	$D_1=13$ s $D_2=10$ s
<i>Bacillus stearothermophilus</i> endospores (1×10^6)	nitrocellulose	5.5 min	≥ 5	ND
<i>Bacillus pumilus</i> spores (1×10^6)	paper	2.4 min	≥ 4	$D_1=1.8$ min $D_2=12$ s
<i>Bacillus subtilis niger</i> spores (1×10^8)	paper	4 min	≥ 4	$D_1=5.5$ min $D_2=12$ s
Yeast				
<i>S. cerevisiae</i> (1.5×10^6)	glass	4.3 min	≥ 5	$D_1=5$ min $D_2=30$ s
<i>C. albicans</i> (1.5×10^6)	glass	2.3 min	≥ 5	$D_1=2.1$ min $D_2=30$ s
Viruses				
Bacteriophage Phi X 174 (1×10^8)	lyophilized	9 min	≥ 6	ND

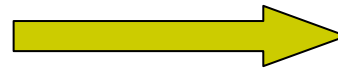
Quelques résultats typiques en SHP



One Atmosphere Uniform Glow Discharge Plasma, from R.B. Gadri et al., Surf. Coat. Technol., 131 (2000) 528

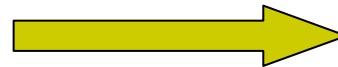
Mécanismes suggérés

Peu d'effet des UV



Gamme spectrale efficace
 $200 \text{ nm} < \lambda < 280 \text{ nm}$

Accumulation des espèces actives (radicaux, charges) sur la membrane externe jusqu'à la rupture



Faible dose

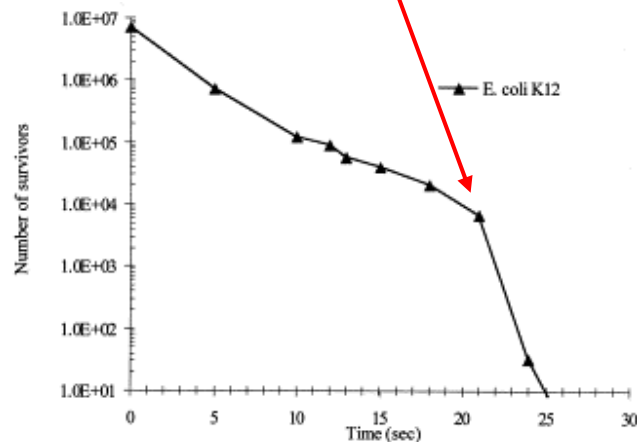
Espèces à base d'oxygène
 $\text{O}, \text{O}_2(\text{a}), \text{O}_3$

OH

NO_x

et/ou

Electrons
(fragmentation)

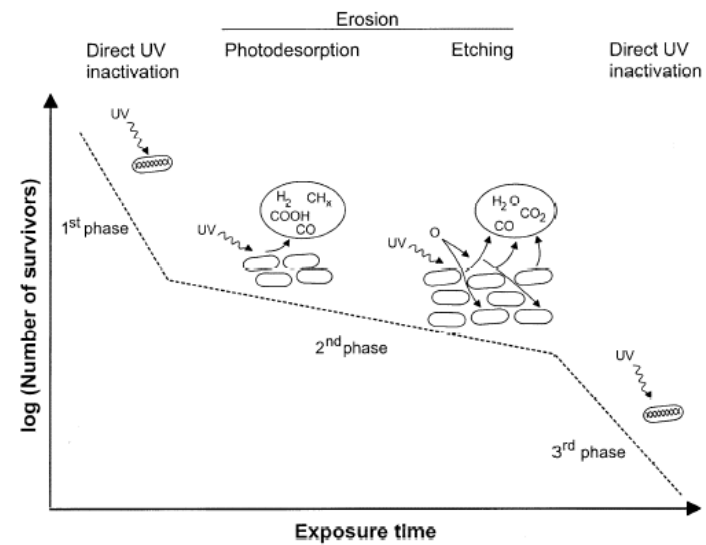
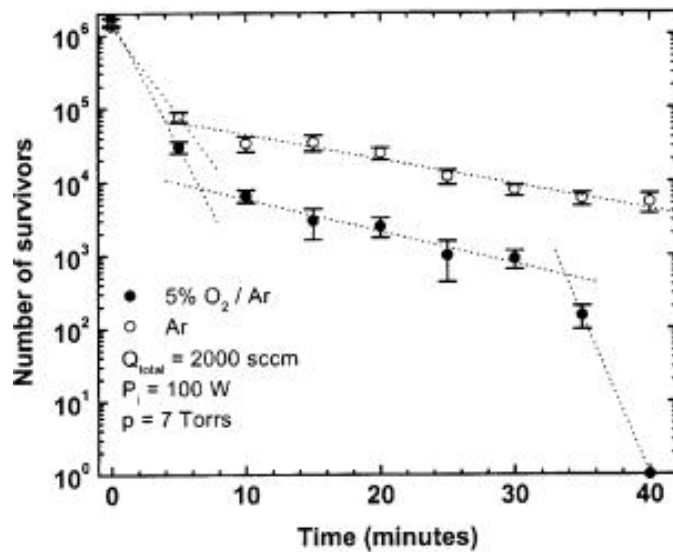
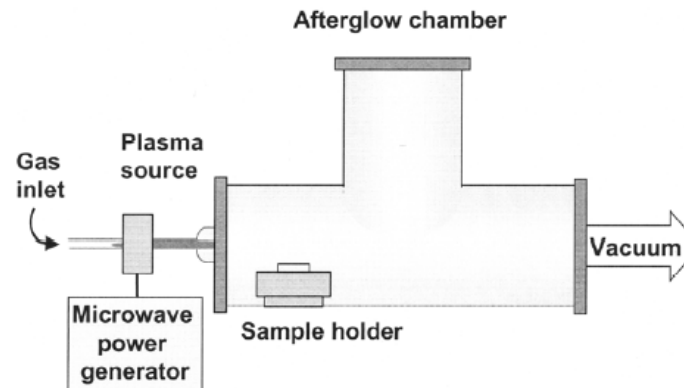


Quelques résultats typiques en SBP



*Microwave flowing afterglow, from M. Moisan et al., Int. J. Pharm., 226 (2001) 1
 et N. Philip et al., IEEE Trans. Plasma Sci., 30 (2002) 1429*

P ~ quelques Torr
Réacteur Pyrex 20 litres
D Surfatron / Bactéries # 20 cm

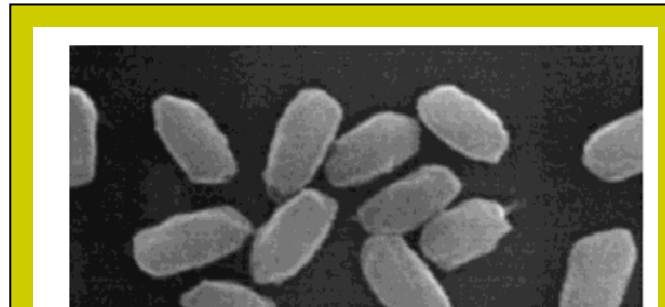


Mécanismes proposés

Quelques résultats typiques en SBP

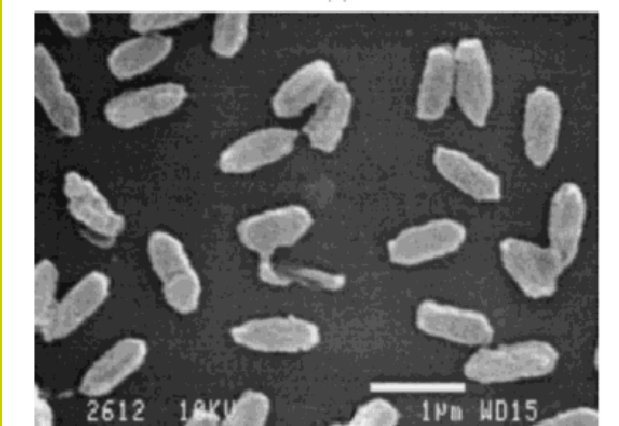


*Microwave flowing afterglow, from M. Moisan et al., Int. J. Pharm., 226 (2001) 1
et N. Philip et al., IEEE Trans. Plasma Sci., 30 (2002) 1429*



Spores
Bacillus Subtilis
non traitées

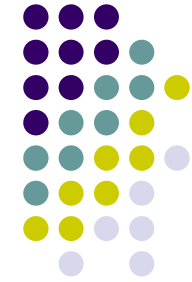
Spores *Bacillus Subtilis*
exposées à 15 mn de
traitement plasma
O₂ pur, 80 mTorr, 50 sccm



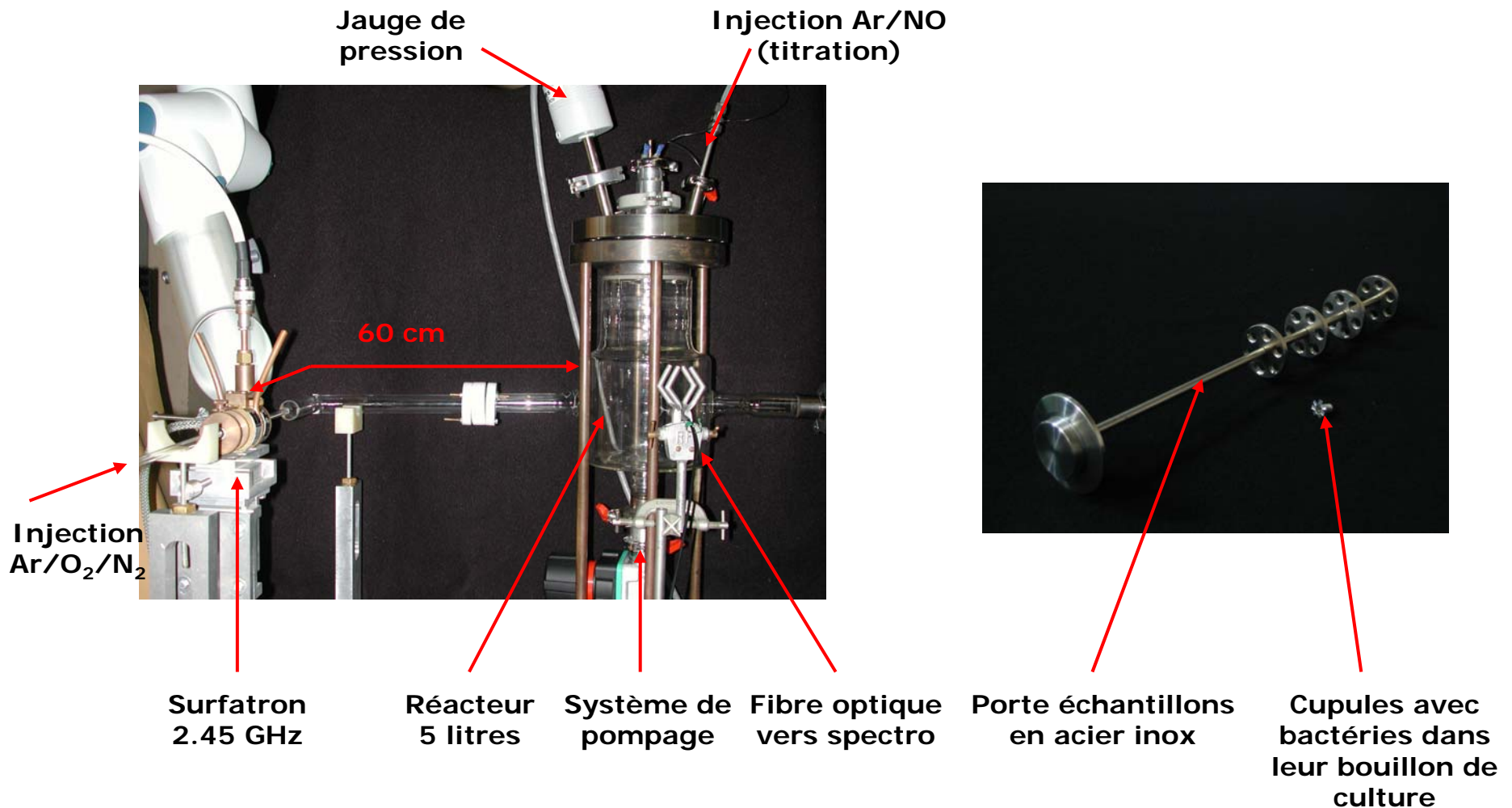
Spores *Bacillus Subtilis*
traitées 20 mn à 121°C
dans l'autoclave



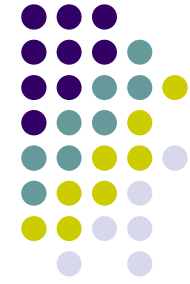
Quelques résultats typiques en SBP



*Microwave flowing afterglow, from S. Villeger et al., J. Phys. D, 36 (2003) L60
et Eur. Phys. J. Appl. Phys., 26 (2004) 203 ; Sarrette et al., Proceedings of the XVth
International Conference on Gas Discharges and their Applications, Toulouse (2004) 733*

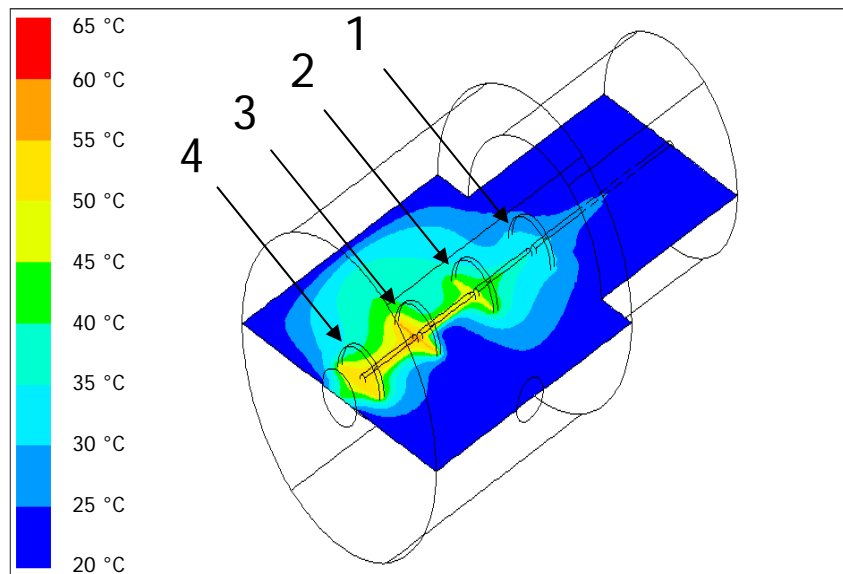
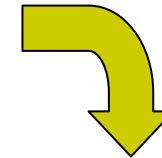


Quelques résultats typiques en SBP



Microwave flowing afterglow, from S. Villeger et al., J. Phys. D, 36 (2003) L60 and Eur. Phys. J. Appl. Phys., 26 (2004) 203; Sarrette et al., Proceedings of the XVth International Conference on Gas Discharges and their Applications, Toulouse (2004) 733

Cinétique dominée par les recombinaisons sur les parois



Champ de températures
Mélange N_2 /1% O_2 , 5 Torr, 100 W
Porte échantillons acier inox

Chauffage du porte échantillons !!

Etage	1	2	3	4
T_s (°C) mesurée	43	55	67	59
T_s (°C) calculée	40	53	62	60

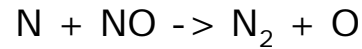
Quelques résultats typiques en SBP

Microwave flowing afterglow (NO titration), from A. Ricard et al., *J. Phys. D*, 34 (2001) 1203 and P. Vasina et al., *Plasma Sources Sci. Technol.*, 13 (2004) 668

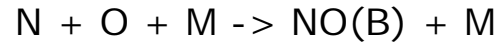


Titration par NO des concentrations d'atomes N et O en post décharge

N₂ pur ou Ar/N₂



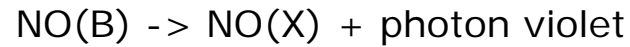
N₂/O₂



$$I_{NO(B)} \propto [N] \cdot [O] = ([N]_0 - [NO]) \cdot [NO]$$

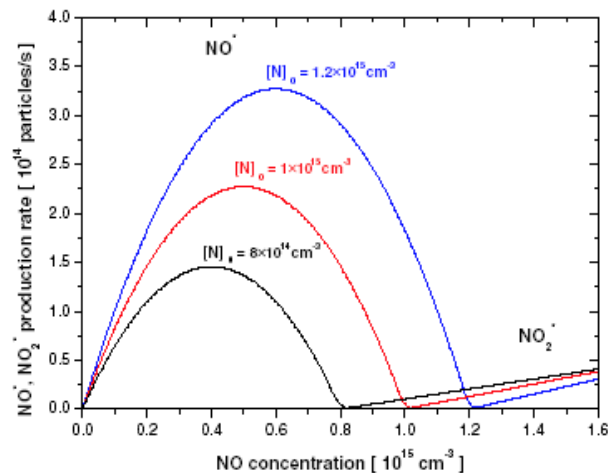
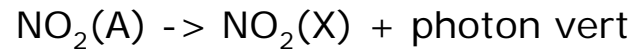
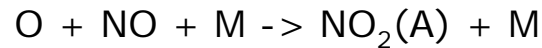
$$I_{NO(B)} \propto ([N]_0 - [NO]) \cdot [NO]$$

$$I_{NO(B)} \propto -[NO]^2 + [N]_0 \cdot [NO]$$

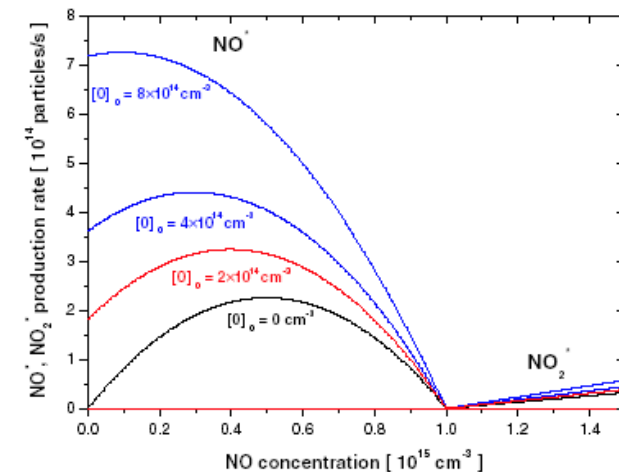


$$I_{NO(B)} \propto [N] \cdot [O] = ([N]_0 - [NO]) \cdot ([O]_0 + [NO])$$

$$I_{NO(B)} \propto -[NO]^2 + ([N]_0 - [O]_0)[NO] + [N]_0[O]_0$$



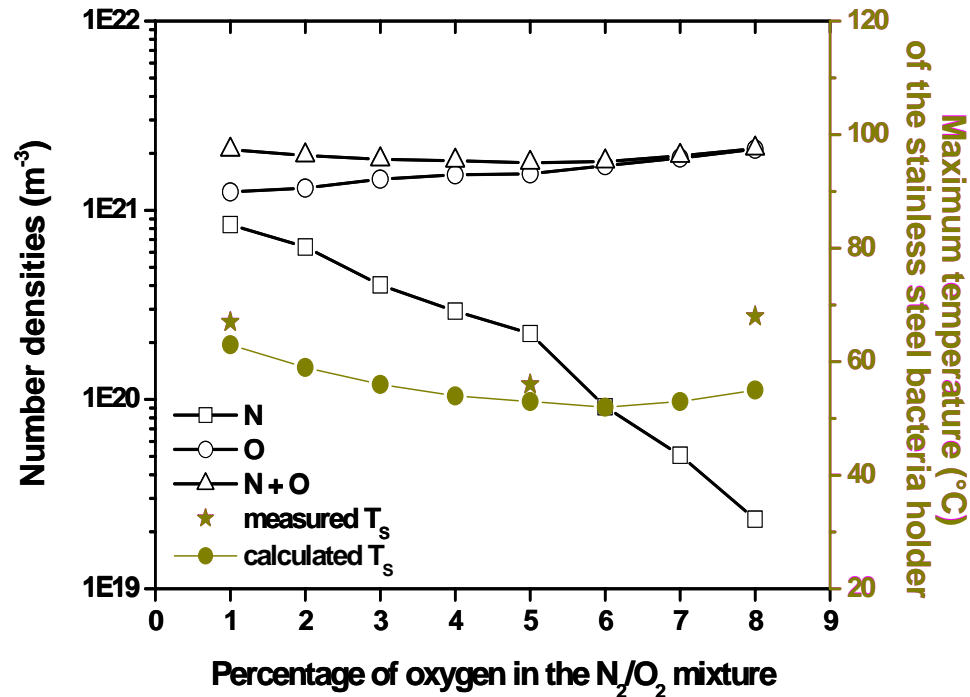
A l'extinction, $Q_{NO} = Q_N$



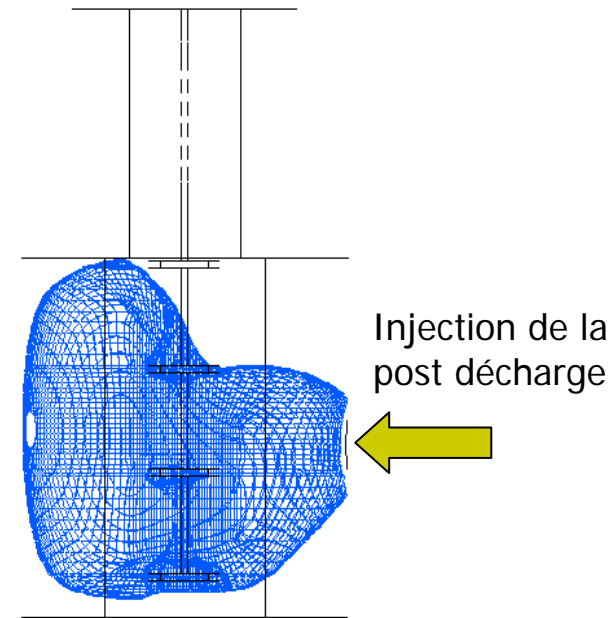
Quelques résultats typiques en SBP



Microwave flowing afterglow, from S. Villeger et al., J. Phys. D, 36 (2003) L60 and Eur. Phys. J. Appl. Phys., 26 (2004) 203; Sarrette et al., Proceedings of the XVth International Conference on Gas Discharges and their Applications, Toulouse (2004) 733



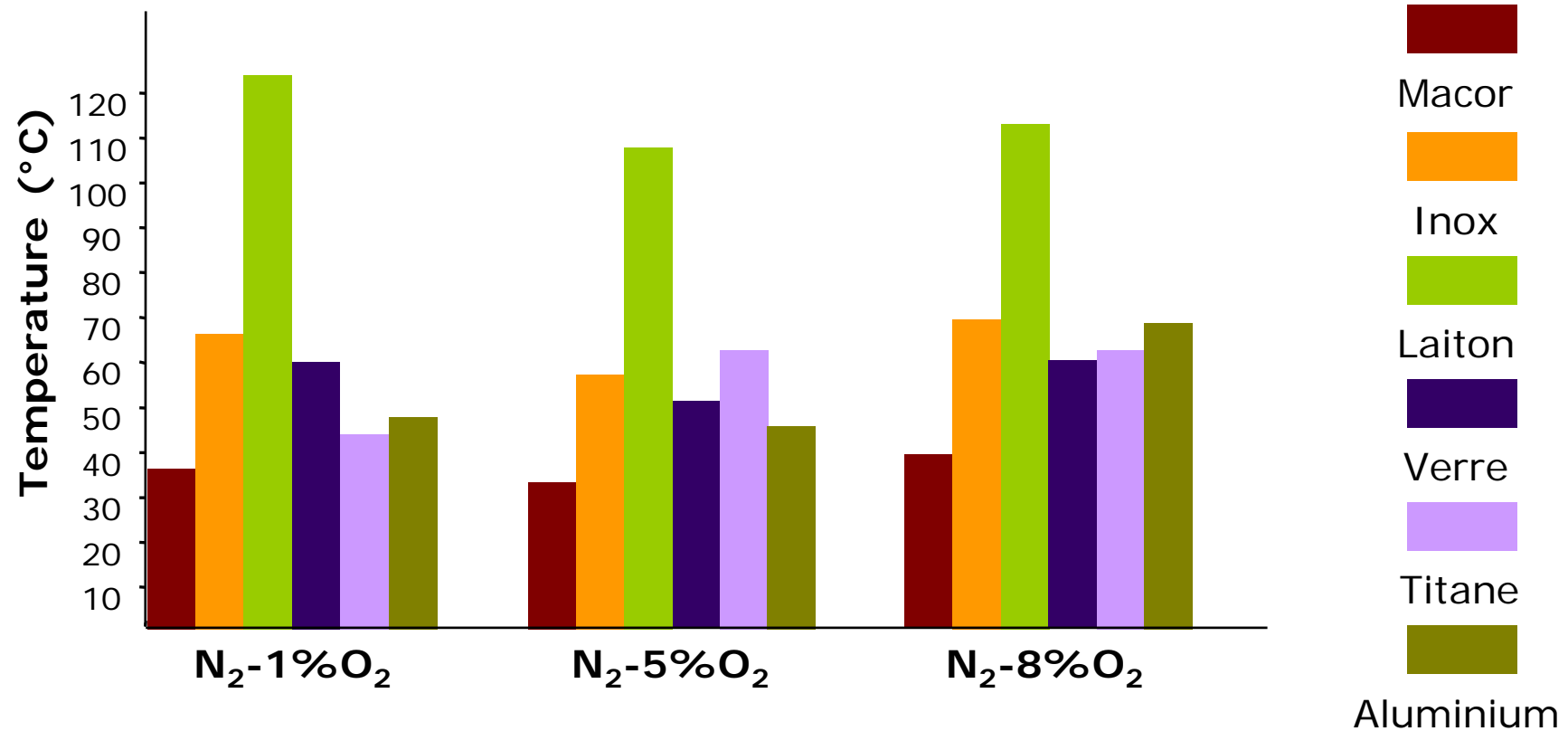
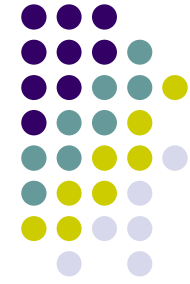
Conditions opératoires
100 W, 1 NI/min, 5 Torr



Isoconcentration en atomes N
(Mélange N₂/5% O₂)
=
5 % de la concentration
à l'entrée

Quelques résultats typiques en SBP

*Microwave flowing afterglow, from S. Villeger et al., J. Phys. D, 36 (2003) L60
and Eur. Phys. J. Appl. Phys., 26 (2004) 203; Sarrette et al., Proceedings of the XVth
International Conference on Gas Discharges and their Applications, Toulouse (2004) 733*

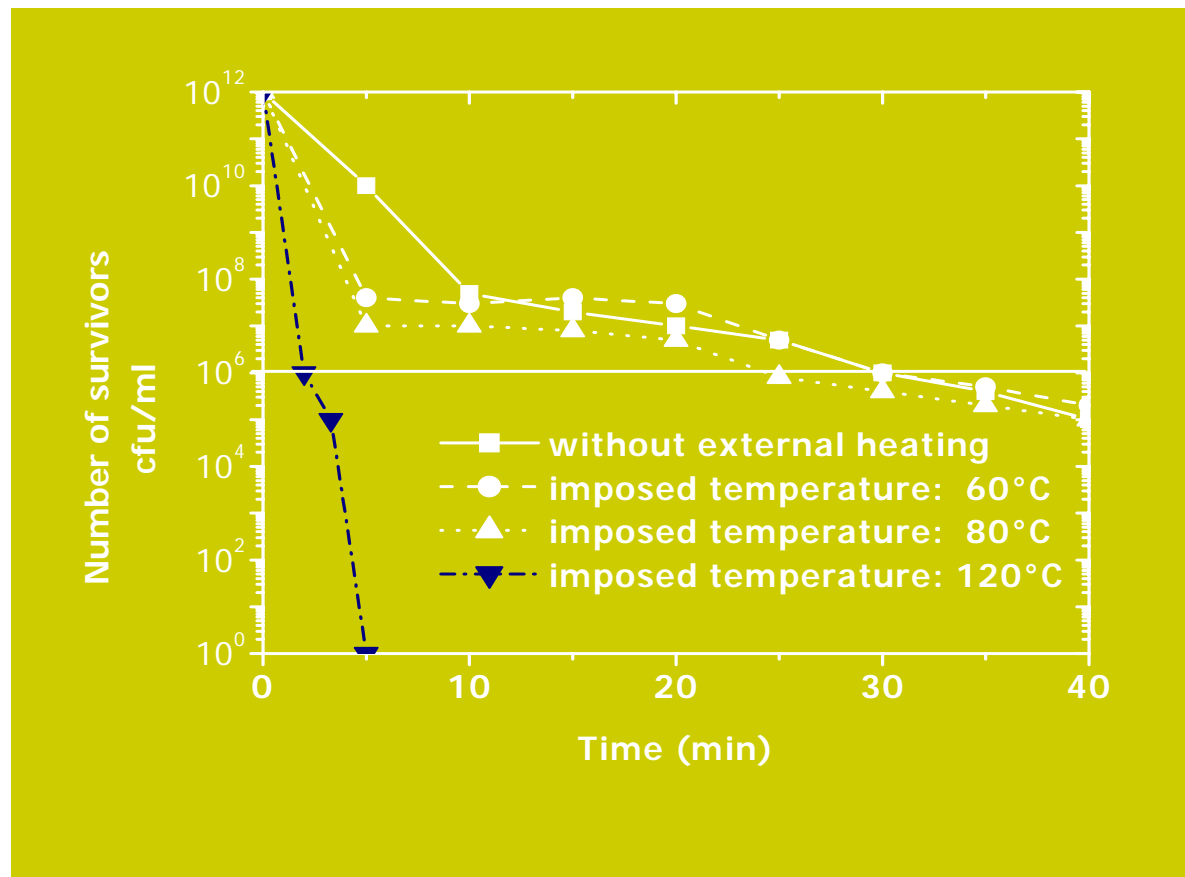


Quelques résultats typiques en SBP

Microwave flowing afterglow, from S. Villeger et al., J. Phys. D, 36 (2003) L60 and Eur. Phys. J. Appl. Phys., 26 (2004) 203; Sarrette et al., Proceedings of the XVth International Conference on Gas Discharges and their Applications, Toulouse (2004) 733



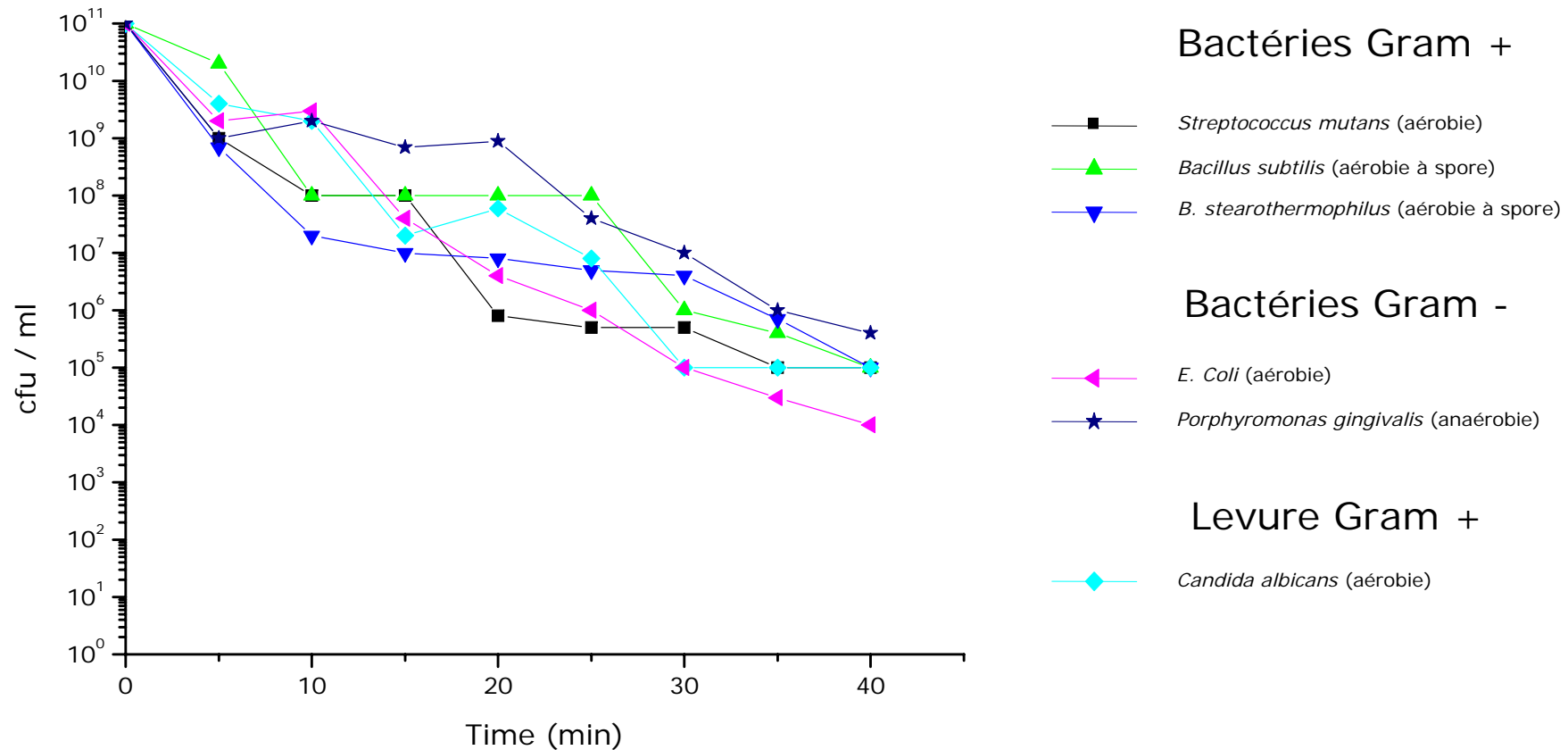
Effet synergique de la température du support sur la stérilisation



P. Echantillons en Acier Inox, 5 Torr, 100 W, 1 NI/min, mélange N₂/5% O₂

Quelques résultats typiques en SBP

Microwave flowing afterglow, from S. Villeger et al., J. Phys. D, 36 (2003) L60 and Eur. Phys. J. Appl. Phys., 26 (2004) 203; Sarrette et al., Proceedings of the XVth International Conference on Gas Discharges and their Applications, Toulouse (2004) 733



P. Echantillons en Acier Inox, 5 Torr, 100 W, 1 NI/min, mélange N₂/1% O₂

Perspectives - Challenges



Comprendre les mécanismes de la stérilisation plasma

Résoudre les problèmes «technologiques» liés à la diffusion



Agro-alimentaire ← Milieu médical → Décontamination

Modifications métaboliques

from M. Laroussi et al., *Appl. Phys. Lett.*, 81 (2002) 772

