



2019	SL02
Cours	Stérilisation

Introduction

1

Les biotechnologies sont des activités industrielles qui réclament énormément de matériel : verrerie, dispositifs de pipetage, de stockage, milieux, ...

En outre, les biotechnologies doivent faire face à une exigence de stérilité dans la plupart de leur processus : ne pas contaminer le processus pour assurer sa réussite, et garantir l'absence de contaminants affectant les qualités organoleptiques ou pouvant être toxiques pour le consommateur.

Il est donc nécessaire de stériliser les matériels, dans le cadre des biotechnologies.

Les processus de stérilisation présentent tous la même contrainte : éliminer les agents contaminants sans détruire le matériel stérilisé.

Certains matériels sont très fragiles (milieux de culture, nutriments, enzymes, plastiques, ...) et d'autres sont plus résistants (verre). Les procédés de stérilisation seront différents.

Nous ne présenterons que les procédés de stérilisation employés dans un laboratoire de lycée.

La chaleur

La chaleur est un excellent moyen de stériliser le matériel. A quelques exceptions près, la grande majorité des microorganismes et des virus sont mésophiles (température supportée entre 20 et 40°C).

Dès que la température augmente, les cellules et virus sont déstabilisés :

- Agitation des membranes par action de la chaleur sur les lipides : les cellules se percent ;
- Dénaturation irréversible des protéines : les capsides virales éclatent ;
- Dénaturation des acides nucléiques : destruction de l'ADN et des ARNs ;
- Evaporation du cytoplasme : les cellules éclatent.

Le principal problème de la chaleur, c'est qu'elle est également efficace sur le matériel à stériliser :

- Destruction des plastiques ;
- Destruction de certains nutriments ou enzymes...

L'utilisation de la chaleur est donc réservée à des matériels résistants :

- Verrerie ;
- Outillage en métal : pinces, anses, ciseaux, ...
- Milieux de culture.

On emploie deux types de chaleur :

- La chaleur sèche = four de cuisine ;
- La chaleur humide = cocotte-minute (mais ça dure plus d'une minute...)

1 – Stérilisation par chaleur sèche

Cette méthode de stérilisation est réservée aux matériels les plus résistants = verrerie et métal. Les matériels sont placés dans une enceinte, chauffée à 180°C, pendant 2 heures.

Voir document 1A.

2 – Stérilisation par chaleur humide

Cette méthode de stérilisation est privilégiée dans le cas des milieux liquides ou solides, mais également pour l'élimination des déchets de microbiologie.

La chaleur est amenée progressivement dans l'enceinte, sous pression. La température est maintenue à 121°C pendant 15 minutes (ou 20 minutes selon les données du fabricant de milieu).

Voir document 1B.

Voir document 2.

3 – Commentaires

Les méthodes de stérilisation par la chaleur sont très efficaces dans leur champ d'application mais exposent le manipulateur à d'importants dangers : chaleur intense, vapeur, récipient sous pression, et court-circuit. La manipulation de ces méthodes de stérilisation nécessite une formation et une certification préalable.

La filtration

Dans ce cas, on parle de microfiltration : les filtres utilisés présentent de pores de 0.45 µm ou 0.22 µm pour les plus fins. Ces tailles sont suffisantes pour retenir la grande majorité des microorganismes et des virus.

Cette méthode douce de stérilisation est particulièrement adaptée aux solutions contenant des molécules fragiles, comme des enzymes.

Voir document 1C.

Cette méthode est utilisable par tout le monde mais peut être fastidieuse à mettre en œuvre pour des volumes importants. Il faut parfois plusieurs minutes pour filtrer une dizaine de mL, en fonction de la viscosité du milieu.

L'utilisation des UV

Le rayonnement UV est très toxique pour les organismes en raison de l'importante détérioration des molécules qu'il provoque, notamment sur les acides nucléiques.

Cette méthode est adaptée aux outils qui ne peuvent pas être traités par la chaleur, comme les dispositifs de pipetage en plastique.

Voir document 1D.

3

Cette méthode nécessite une mise en œuvre plus longue, plusieurs heures, puisque les effets sur les microorganismes agissent à plus long terme. En effet, la détérioration de l'ADN ne provoque la mort d'un microorganisme qu'au bout de plusieurs générations.

Résumé des approches = document 3.



1A. Four à chaleur sèche, type Poupinel.



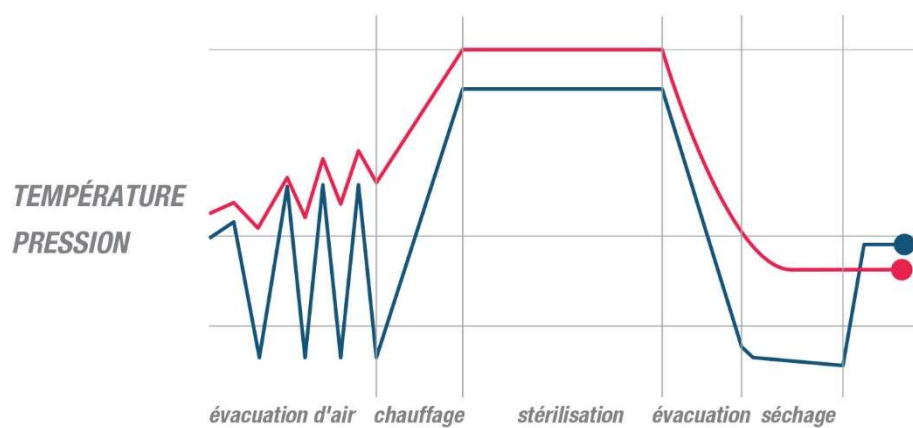
1B. Four à chaleur humide, type autoclave.



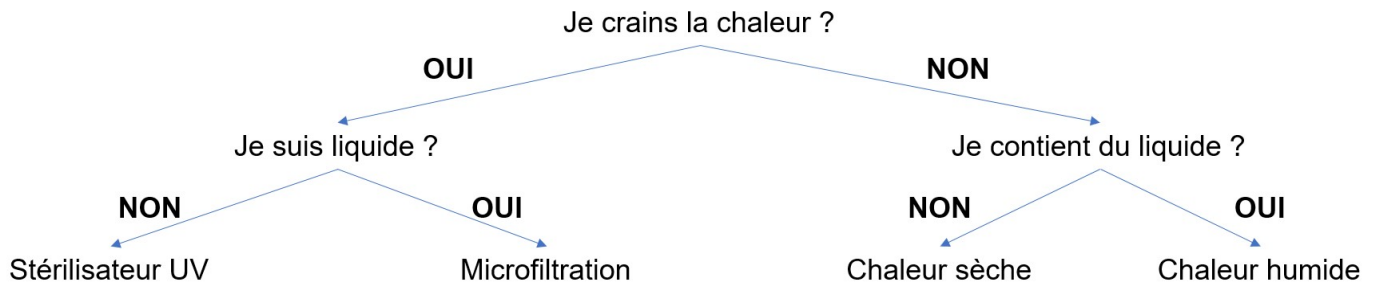
1C. Microfiltre à 0.45 μm .



1D. Stérilisateur à UV.



2. Cycle température – pression dans un autoclave.



3. Schéma-bilan des stratégies de stérilisation au laboratoire.

Bertrand Faurie – 2020

Bioscience.fun

