

A close-up photograph of a petri dish containing a red agar medium. A metal inoculation loop is shown streaking the surface of the agar. The streaks are arranged in a zig-zag pattern. The background is blurred, showing a blue object, possibly a biohazard container.

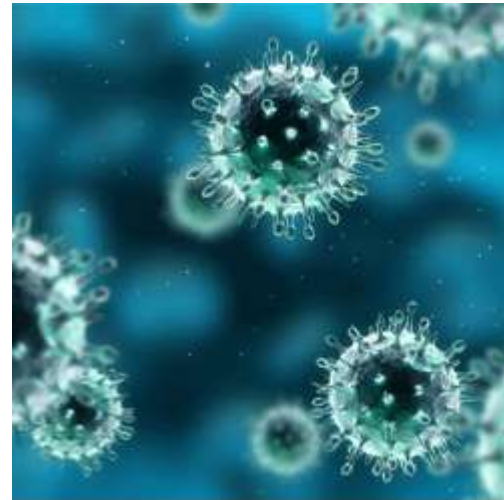
Frédéric CAVIN – Expert en stérilisation CHUV

Quels contrôles microbiologiques en stérilisation ?

Journée SSSH du 16 mars au CHUV

Plan

- Eau
- Surfaces
- Air
- Instruments
- Stérilisateurs
- Conclusion



Eau et « Bonnes pratiques » (1)

- Eau potable
- Eau pour le rinçage final et pour la production de vapeur doit être compatible avec le processus de stérilisation
- EN 285 + A2 : 2009 (annexe B et E)
- EN 13060 + A1 : 2009 (point 4.7.6)
- Eau doit être évaluée, maîtrisée et surveillée

Eau et « Bonnes pratiques » (2)

- Analyses périodiques
- Contrôles microbiologiques de germes opportunistes
- Anomalies évaluées
- Conception du réseau prévue en conséquence
 - pas de bras mort

Schéma de production d'eau et de vapeur pour la stérilisation centrale

Production

Contrôles internes CHUV

Réseau externe

CHUV
sanitaires

CHUV
sanitaires

Distribution

Stérilisation
centrale

Alimentation eau
potable du réseau

Adoucisseur

Osmose inverse

Dégazage

Générateur de
vapeur

Stérilisateur

Distribution aux
différents robinets
d'alimentation

Laveurs
désinfecteurs

Contrôle
microbiologique
mensuel

Contrôle
microbiologique
mensuel
Sous contrôle
pharmacie

Contrôle
Conductivité
**automatique en
continu 24h/24h**

Contrôle
chimique
annuel

Contrôle
chimique du
condensat des
stérilisateurs
selon EN 285
annuel

IMU-DAM accrédités selon norme ISO 17025 STS No. 328

<p>Patient: ZZ PHARMACIE.CHUV Date de naissance: 01.01.1901 Sexe: M No séjour/séjour (JF): 1020007438 No IPP: 620732</p> <p>Demandeur: PHARMACIE Original à: PHARMACIE Copie à: ST ATELIER SANITAIRE STERILISATION CENTRALE (SDL)</p>	<p>Stérilisation centrale (SDL) M. CAVIN F. Chef du service BH-04 1011 Lausanne N° Fax : 021 314 59 25</p>
<p>No de demande: 13 0131 1935 Prélevé le 31.01.13 à Reçu le 31.01.13 à 11h46</p>	

Page 1/1

Compte-rendu FINAL du 05.02.13 A CONSERVER

BH 03-006 (APRÈS FILTRE STÉRILE) 05.02.13
Eau purifiée (PHA.) Germes mésophiles (1.25 CFU/mL conforme)
BH 03-006 (RETOUR BOUCLE) 05.02.13
Eau purifiée (PHA.) Germes mésophiles (2.7 CFU/mL conforme)

6.2.2013

CHUV
Frédy CAVIN
Expert en stérilisation
BU21/04/110
1011 Lausanne



< 100 selon Pharmacopée Euro présente.

Les différentes eaux à l'hôpital

Type d'eaux	Normes Recommendations	Responsabilité
potable du réseau	Ordonnance sur les denrées alimentaires	Ville
potable du réseau	Rec OFSP légionelles	Hôpital
potable en bouteille	Ordonnance sur les denrées alimentaires	Producteur
stériles	Pharmacopée Européenne	Producteur (hôpital)
purifiée	Pharmacopée Européenne	Producteur (hôpital)
hautement purifiée	Pharmacopée Européenne	Producteur (hôpital)
pour dialyse conventionnelle	Pharmacopée Européenne, Rec Européennes, ISO 13959	Hôpital
pour hémodiafiltration	Rec Européennes	Hôpital
Liquide de dialyse	ISO 11663	Hôpital
de rinçage des laveurs/désinfecteurs de fibroscopes	Norme ISO 15883-4	Hôpital
des tours de refroidissement	Rec OFSP légionelles	Hôpital

Quels contrôles de l'eau sur les LD ?

- Eau potable, au moins
- Qualité de l'eau de rinçage final
 - Idem qualité d'eau d'alimentation des générateurs de vapeur (EN 285, annexe B1)
- Résidus de produits chimiques
 - conductimètre
- Contrôles microbiologiques
 - Pas si désinfection thermique
 - Si LD-E, nécessaire

Essais relatifs à la contamination microbienne de l'eau de rinçage après désinfection (Annexe E – EN ISO 15883-4)

- Echantillon d'eau, au moins 200 ml
 - Alimentation
 - Déversement
 - Dans un flacon stérile de 250 ml
- Test après 4 h ou 48 h si conservation entre 2 et 5°C
- Désinfection des surfaces à l'isopropanol 70% filtré stérilement à 0.2 µ et laisser sécher

Quels microorganismes rechercher ? (1)

- EN ISO 15883-4, 4.9.2.2
 - Bactéries aérobies mésophiles
 - Exigences : <10 ufc/100 ml



Quels microorganismes rechercher ? (2)

- Absence de :
 - Legionellae
 - Pseudomonas aeruginosa
 - Mycobactéries
- Méthodologie décrite
 - annexe E de l'EN ISO 15593-4
 - Milieux de culture
 - Temps d'incubation
 - Etc.

Maîtrise des surfaces

- Contrôle microbiologique
 - Plaques de gélose de surface définie (au moins 20 cm²)
 - Pression 25 g/cm²
 - Durée 10 secondes
- Réduction du nombre de placards et étagères
- Tables de travail sans tiroir

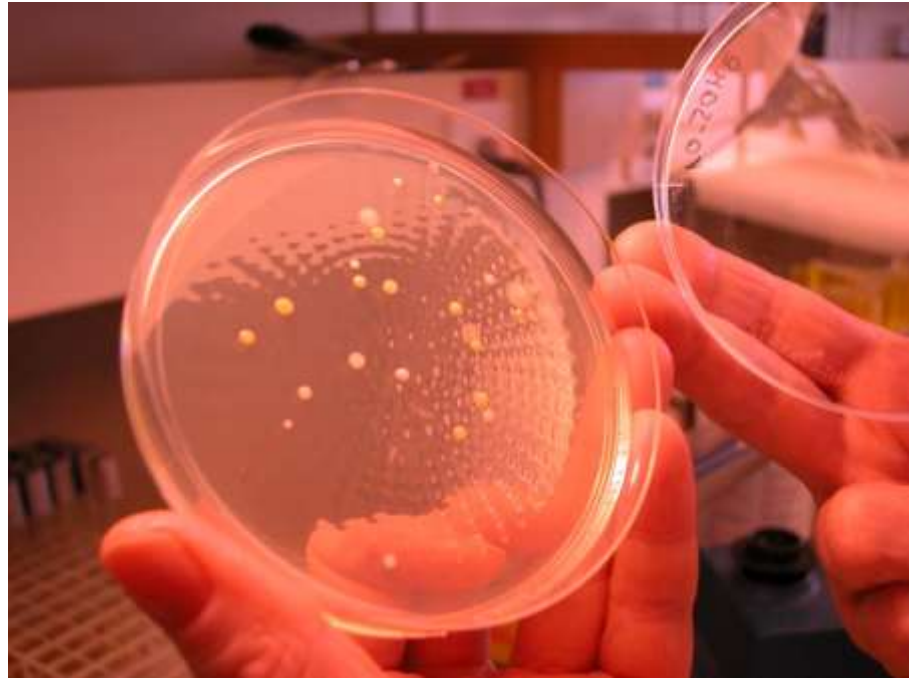


Résultats des contrôles microbiologiques

	Cible	5<x<15	x>15			15<x<30	x>30	Présence <i>Staphylococcus</i> <i>Entérobactérie</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Aspergillus</i>
Zone lavage hors présence humaine	x<5	acceptable	un point : signaler	2 à 4 points : revoir nettoyage	5 points : inacceptable			revoir procédure nettoyage - contrôle
Zone conditionnement et sortie stérile hors présence humaine	x<5	acceptable	un point : signaler	2 à 4 points : revoir nettoyage	5 points : inacceptable			revoir procédure nettoyage - contrôle
Zone conditionnement et sortie stérile en présence humaine	x<15					acceptable	alerte : revoir comportements	
Zone de stockage	x<5	acceptable	un point : signaler	2 à 4 points : revoir nettoyage	5 points : inacceptable			revoir procédure nettoyage - contrôle
Zones annexes	x<5	acceptable	un point : signaler	2 à 4 points : revoir nettoyage	5 points : inacceptable			

Contrôle de l'air

- Limites de la classe 8 en activité
Contamination microbiologique
 - maximum 200 ufc/m³
- Prélèvement d'air
 - Appareil spécifique
 - Voir avec hygiène hospitalière ou société spécialisée



Contrôles des instruments

- Biocharge (bioburden)
 - Contrôle sur le matériel après lavage
 - La charge microbienne doit rester faible
 - locaux
 - aération
 - vêtements
 - flux de la marchandise

Rappel normatif

- EN ISO 17665-1 introduction

« *Lorsqu'il est nécessaire de fournir un DM stérile, les Normes internationales qui spécifient les exigences relatives à la validation et au contrôle de routine des procédés de stérilisation **exigent de réduire la contamination bactériologique adventive d'un DM à sa valeur minimale avant stérilisation.*** »

Importance

- Faible contamination des instruments

Analyse de la contamination microbienne sur les instruments

N° ciseau	A	B
	Nbre de colonies	Nbre de colonies
1	16	0
2	125	2
3	15	0
4	65	0
5	223	1
6	14	0
7	29	0
8	17	1
9	56	2
10	24	1
Total	584	7
Moyenne	58.40	0.70

A : 5 janvier 1999, prélèvement avec les mains juste avant l'emballage

B : 26 janvier 1999, prélèvement avec des gants à la sortie du tunnel de lavage

Méthodologie

- Choix des instruments :
 - Courants
 - Provenant du circuit hospitalier
 - De dimension adaptée
 - Lavage
 - Manipulation avant conditionnement à main nue



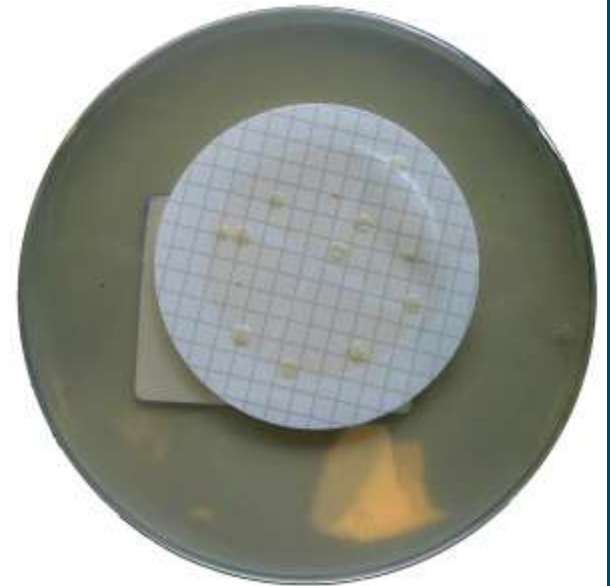
Méthodologie

- Prélèvement des instruments (nombre déterminé) sur le lieu d'activité
 - Mise dans un flacon stérile numéroté présenté par la personne responsable des prélèvements
 - Enregistrement du prélèvement sur une fiche d'enregistrement avec type d'instrument et nom de la personne ayant manipulé et contrôlé l'instrument



Méthodologie

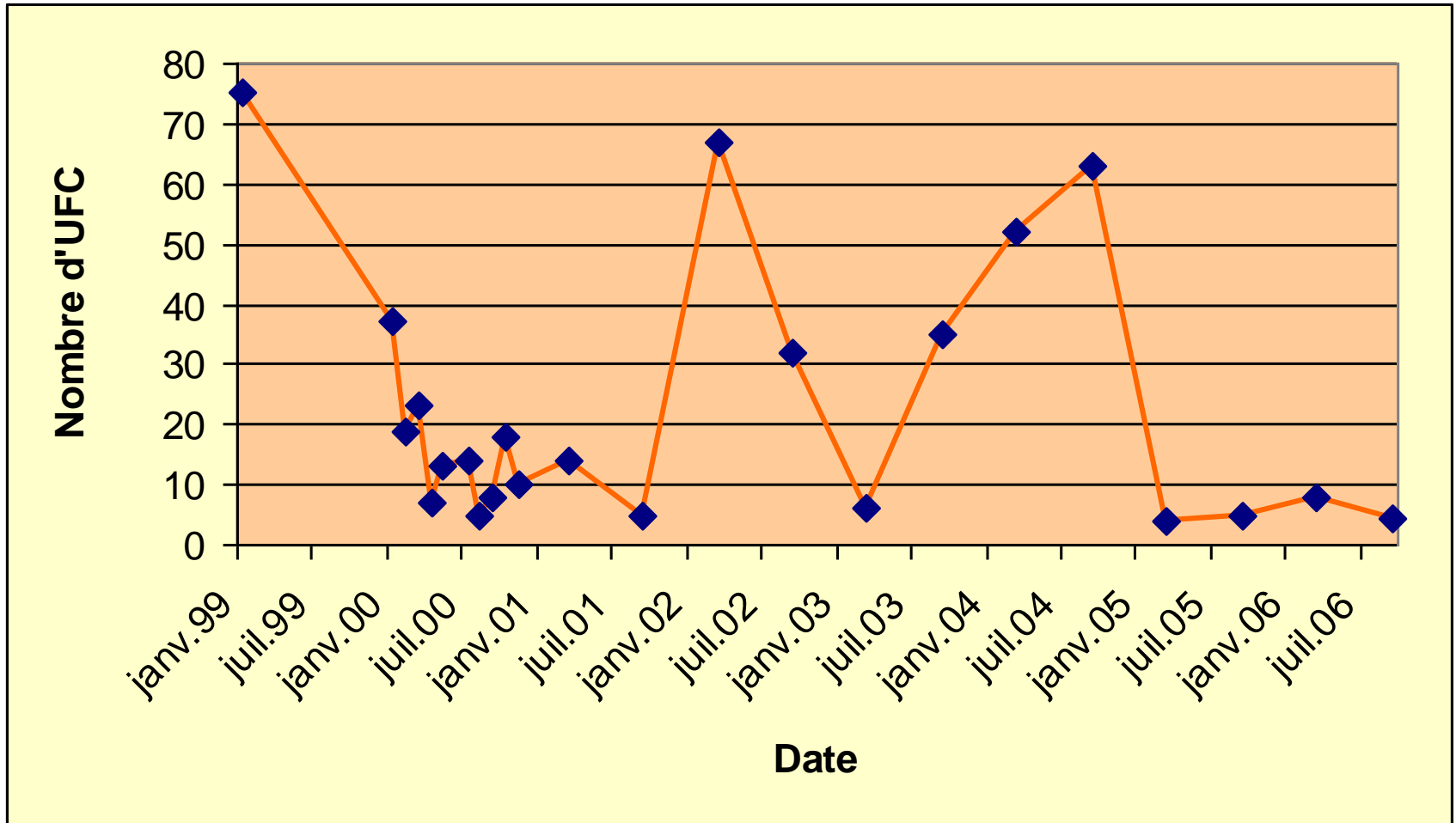
- Elution des instruments avec un milieu défini
- Filtration de la solution
- Incubation à 30°C
- Lecture
 - Comptage des UFC après 3 jours.



RESULTATS

Bio-contamination moyenne

(UFC/instrument après correction) observée à chaque contrôle (N=10 instruments) sur une période de 8 ans.



Contrôles des stérilisateurs

- Les indicateurs chimiques et biologiques sont utilisés chaque fois que nécessaire. Ils peuvent participer à l'évaluation de l'efficacité de la stérilisation. Ils répondent aux normes en vigueur.
- Vapeur : éventuellement lors de la validation
- Oxyde d'éthylène : chaque cycle
- VH_2O_2 : selon modèle

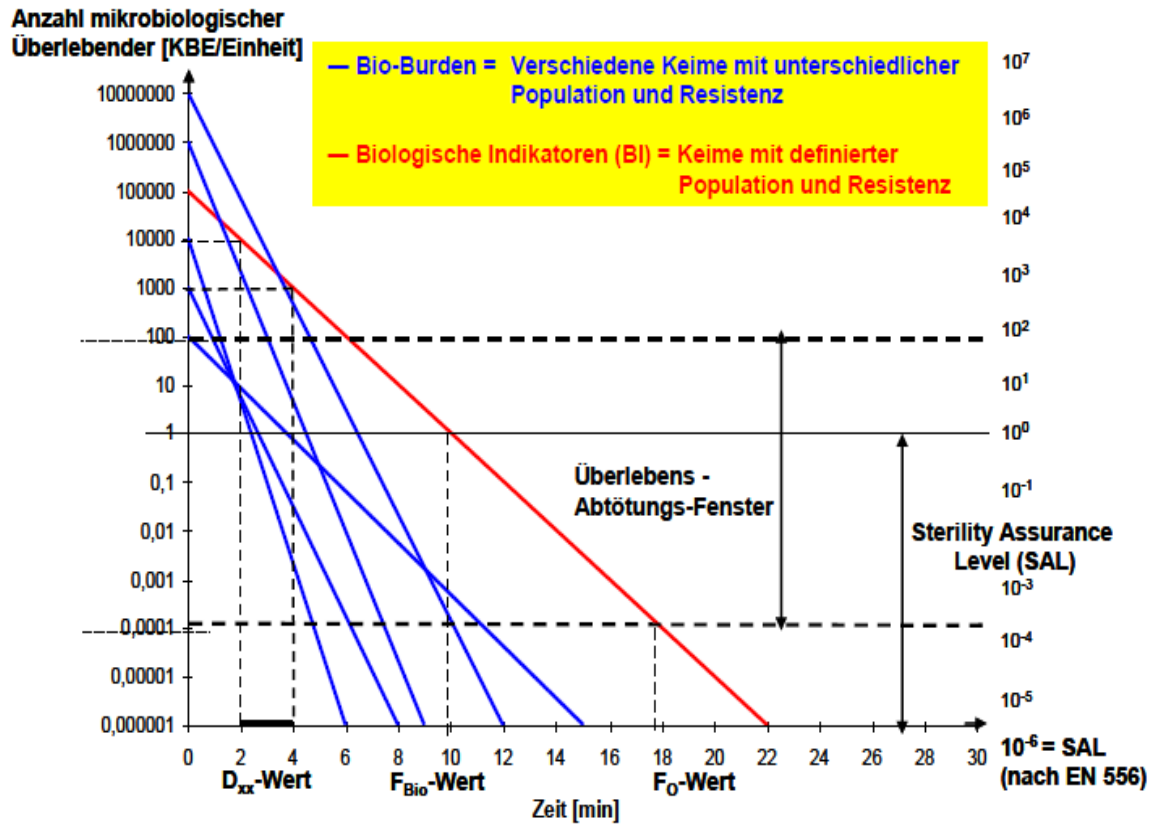
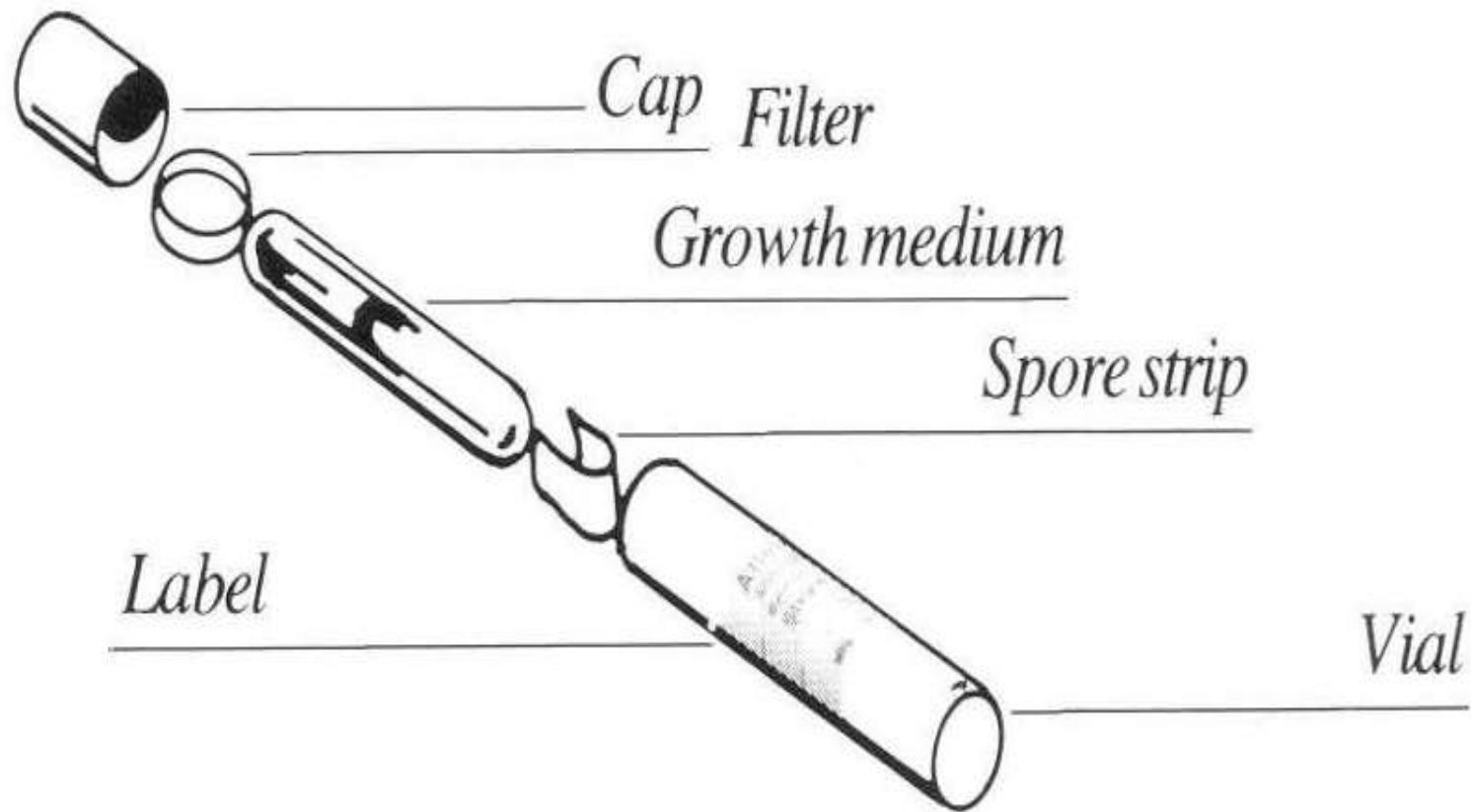


Diagramm 3: Definition Bioburden, SAL, Biologischer Indikator, F_{Bio} -Wert, F_0 -Wert

Extrait documentation GKE

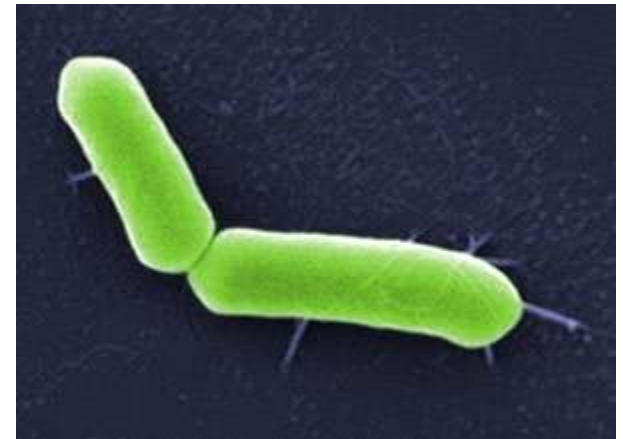
Normes

- Auparavant EN 866-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7
- ISO 11138-1 : 2006 Exigences générales
- ISO 11138-2 : 2006 Indicateurs biologiques pour la stérilisation à l'oxyde d'éthylène
- ISO 11138-3 : 2006 Indicateurs biologiques pour la stérilisation à la chaleur humide
- ISO 11138-4 : 2006 Indicateurs biologiques pour la stérilisation à la chaleur sèche
- ISO 11138-5 : 2006 Indicateurs biologiques pour la stérilisation à la vapeur d'eau et au formaldéhyde à basse température
- ISO/CD 11138-6 : 2008 Indicateurs biologiques pour la stérilisation aux vapeurs de peroxyde d'hydrogène



Organismes d'essai

- Vapeur
 - *Geobacillus stearothermophilus*
- Oxyde d'éthylène
 - *Bacillus atrophaeus* , *Bacillus subtilis*
- Chaleur sèche
 - *Bacillus atrophaeus*
- Formaldéhyde
 - *Geobacillus stearothermophilus*
- Irradiation
 - *Bacillus pumilus*
- Peroxyde d'hydrogène
 - *Geobacillus stearothermophilus*



Population d'organismes d'essai

- Population nominale
 - *Geobacillus stearothermophilus* $\geq 1 \times 10^5$
 - *Bacillus atropeus* $\geq 1 \times 10^6$
 - nombre déterminé à 0.1×10^5 ou 10^6
- Valeur D
 - *Geobacillus stearothermophilus* ≥ 1.5 min (121° C)
 - *Bacillus atropeus* ≥ 12.5 min (600 mg.l⁻¹ OE à 30° C)
 - *Bacillus atropeus* ≥ 2.5 min (600 mg.l⁻¹ OE à 54° C)

Caractéristiques

- Nom de l'espèce bactérienne
 - *Geobacillus stearothermophilus*
- Numéro de souche dans la collection d'origine
 - ATCC 7953, NCTC 10007, DSM 22 et CIP 52.81
- Nombre de spores viables par support
 - $\geq 1 \times 10^5$
- Valeur D : ≥ 1.5 min (121° C)

Documentation fournie par le fabricant

PERFORMANCE DATA for MESA PROSPORE²

ORGANISM: *Geobacillus stearothermophilus* derived from(ATCC 7953)

POPULATION:* 1.4 x 10⁸ CFU/S** 10.215" x 0.75" paper strip

RESISTANCE CHARACTERISTICS:

D₀₁ VALUE:*** 1.6 minutes (saturated steam at 121.1°C)
 t_{0.01} VALUE: 0.30 minutes (extrapolated from Z-value determination)
 Z-VALUE: 14.1 °C (based on ISO 11138 and EN856)

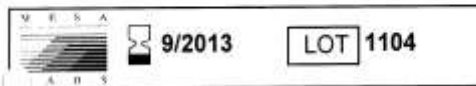
*After preliminary heat treatment
 ** Colony forming units
 *** Determined on Primary Spore Strip using Fraction-Negative procedure or survivor curve procedure after graded exposures. See accompanying Certificate of Analysis for method used.

AGENT	CONDITIONS	SURVIVES	KILLED
saturated steam	121.1 ± 0.5°C	5.0 min	14.6 min
saturated steam	132.2°C	0.9 min	2.7 min

INCUBATION: 24 hours at 55-60°C. (See instructions for use)

STORAGE: 60-80°F (15-27°C), 30-70% RH. Away from sterilizing agents, direct sunlight and all other forms of UV light. (DO NOT REFRIGERATE.)

DISPOSAL: Do not use after expiration date. Sterilize all cultures before discarding.



AttestTM Rapid Readout E0 Biological Indicators 1294

For use ... monitoring ethylene oxide sterilization processes.
 Organism: *Bacillus atrophaeus* ATCC[®] 9372

LOT 2014-06TF

*Population (mean/strip)= 1.2 x 10⁷ C.F.U.
 **Test D-value (54°C): 3.4 min.
 **Survival Time: 17.27 min.
 **Kill Time: 37.67 min.

*Determined at time of manufacture. Population is reproducible only under the exact conditions under which it was determined.
 **Survival/Kill is verified and D-value is determined in a resistometer at 54°C, 60% RH, 600mg EO/liter. D-values are determined by a fraction negative procedure after graded exposures to sterilization conditions. D-value is reproducible only under the exact conditions under which it was determined. Survival and kill times tested according to ISO 11138 equations: Survival time (in minutes) = not less than (log₁₀ labeled population - 2) x labeled D-value; Kill time (in minutes) = not more than (log₁₀ labeled population +4) x labeled D-value. Spore-associated enzyme is completely inactivated at 60 minutes exposure.

Refer to package insert for complete instructions.

©GM 2008 All rights reserved.
 3M and Attest are trademarks of 3M
 34-8701-8464-4

ATCC is a registered trademark of American Type Culture Collection

STERRAD[®] CycleSure[®] 24 Biological Indicator REF 14324

CERTIFICATE OF PERFORMANCE

Geobacillus stearothermophilus (*Bacillus stearothermophilus*) ATCC 7953

LOT 812127

2013-03

Population: 2.5 x 10⁷ CFU/center

(Population determination is performed after a preliminary heat treatment.)

Performance Data (BIER Vessel)

Parameter ¹	Value
Test D-value (50° C)	1.58 seconds
Survival Time	7 seconds
Kill Time	40 seconds

The performance data are reproducible only under the exact conditions they are determined.

Performance data generated as follows:

D-value determined per ISO 11138-1, calculated by Stumbo-Murphy-Cochran method
 Survival time calculated and verified per ISO 11138-1
 Kill time empirically determined, verified per ISO 11138-1

¹Survival/Kill is verified and D-value is determined in a BIER vessel at 50° C, 2.5 mg/L H₂O₂. User would not necessarily obtain the same results.

Certificate of Performance

STERRAD[®] Biological Indicators are used in monitoring the STERRAD[®] Sterilization System. This document certifies that these Biological Indicators were manufactured, packaged and tested according to current Advanced Sterilization Products specifications.

ASP ADVANCED STERILIZATION PRODUCTS[®]

A Johnson & Johnson company

Division of Ethicon, Inc.

33 Technology Drive, Irvine, CA 92618-4824

CC-REF

Johnson & Johnson Medical GmbH

Obststraße 1, 22644 Norderstedt, Germany

© Ethicon, Inc. 2008-2009



LA-107041 Rev.0

Utilisation (1)

- Quand ?
 - chaque cycle de stérilisation qui ne sont pas libérables paramétriquement, soit :
 - EO, FO
 - VH_2O_2 (?)
 - lors de la validation des stérilisateurs
- Où ?
 - Placer les indicateurs biologiques aux points les plus difficiles
 - Eventuellement dans un dispositif d'épreuve de procédé



Utilisation (2)

- Dès la fin du cycle, l'indicateur est placé dans un incubateur, en même temps qu'un indicateur biologique témoin du même lot de fabrication et non exposé à la stérilisation
- Comment ?
 - selon les indications du fabricant
 - exemples :
 - 1 - 7 jours à 55-60°C pour la vapeur
 - 1 - 7 jours à 30-35° C pour l'oxyde d'éthylène
 - Lecture rapide
 - Attention au calibrage des étuves !



STEAM



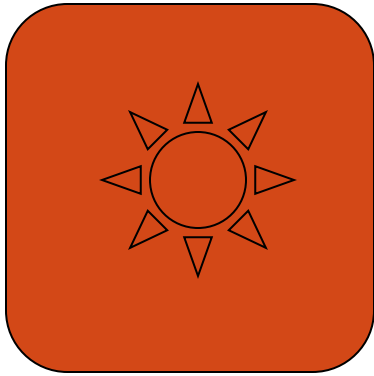
VH2O2

Incubateurs



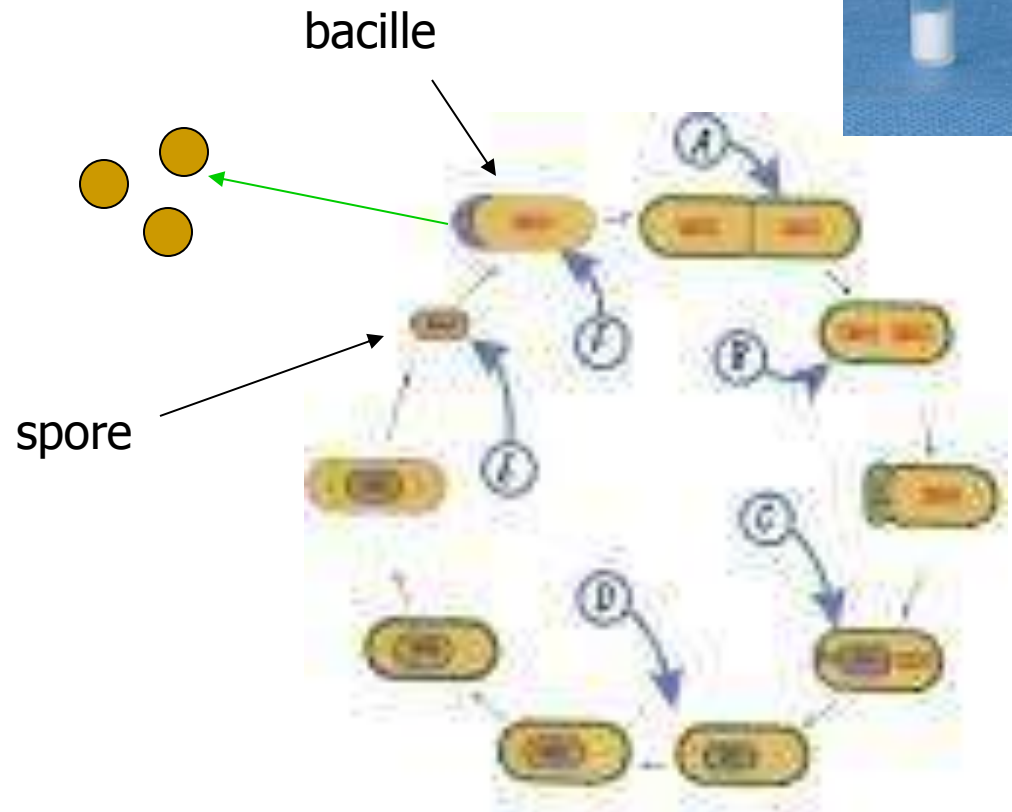
Indicateur biologique à lecture rapide

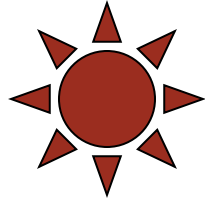
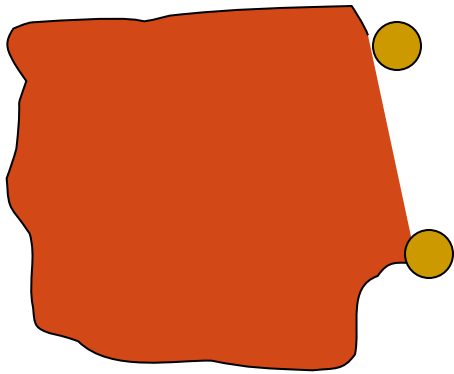
- Détection d'une enzyme naturelle de *Bacillus subtilis*, la bêtaglucosidase qui intervient dans la croissance des spores
- Analyse d'un produit fluorescent
- Lecteur spécifique nécessaire
- Après 3 ou 4 heures seulement



Milieu initial

Si croissance, il y a libération d'enzymes





L'activité enzymatique libère
la substance fluorescente

Appareil à lecture
rapide



Résultats

Témoin non stérilisé	+	+	-	-
Indicateur stérilisé	+	-	+	-
Résultats	NC	C	NC	NC

Les résultats doivent être consignés, datés et visés

Responsabilité – ISO 14161 : 2009

- Le responsable de la stérilisation s'assure que :
 - L'indicateur biologique convient au procédé de stérilisation à valider ou contrôler
 - Les recommandations du fabricant pour le stockage et l'utilisation sont suivies
 - Pas d'utilisation après la date limite
 - Manipulations conformes aux directives
 - Achat de produit conforme à EN ISO 11138
 - Déclaration de conformité
 - Formation adéquate du personnel
 - Mise au rebut



Quelle remarque à faire sur cette image ?

Conclusion

- Si l'on croit les comptes rendus des laboratoires et les procès-verbaux des policiers, il est plus facile de dénombrer à mille près des microbes que des manifestants

Philippe Bouvard

