



WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT
VOLKSGEZONDHEID
INSTITUT SCIENTIFIQUE
DE SANTÉ PUBLIQUE

MODALITES DE VALIDATION ET DE CONTROLE DES AUTOCLAVES DANS LE CADRE DE L'INACTIVATION DES DECHETS RESULTANTS D'UTILISATIONS CONFINEES D'ORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES ET/OU PATHOGENES

DO Expertise, Prestations de service et Relations clients
Service de Biosécurité et Biotechnologie

Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique

www.wiv-isp.be

Service de Biosécurité et Biotechnologie | Septembre 2011 | Bruxelles, Belgique
Editeur responsable : Dr Johan Peeters, Directeur général | Rue J. Wytsman 14 | 1050 Bruxelles
N° de référence interne : ISP/41/AL/11-0912
N° de dépôt: **D/2011/2505/39**

Dr Amaya Leunda
Mme Chuong Dai Do Thi
M Bart Brosius
Dr Nicolas Willemarck
Dr Céline Verheust
Mme Bernadette Van Vaerenbergh

Service de Biosécurité et Biotechnologie
Chef de service : Dr Philippe Herman

Le projet est financièrement soutenu par

La Région de Bruxelles-Capitale - Bruxelles-Environnement - Institut bruxellois pour la Gestion de l'environnement (IBGE)

La Région flamande - Gouvernement flamand - Département Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE)

La Région wallonne - Service Public de Wallonie - Direction Générale Opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement (DGARNE)





Remerciements

Les auteurs remercient le Dr Philippe Herman et le Dr Ir Katia Pauwels pour leur contribution importante à la réalisation de ce document.

Dit document bestaat ook in het Nederlands

© Institut Scientifique de Santé Publique | Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, Bruxelles 2011.
Ce rapport ne peut être reproduit, publié ou distribué sans l'accord du WIV-ISP.

Table des matières :

1.	Objectifs	5
2.	Introduction	5
3.	La stérilisation à la vapeur d'eau	6
4.	Principe de stérilisation par la vapeur d'eau	7
5.	Validation de l'autoclave	9
5.1.	Mise en service de l'autoclave	10
5.2.	Qualification opérationnelle	10
5.3.	Qualification de performance	10
5.4.	La maintenance	11
6.	Le contrôle en routine	11
6.1.	Les contrôles permanents	11
6.2.	Les contrôles périodiques	13
7.	Inactivation des déchets contaminés issus des utilisations confinées d'organismes GM et/ou pathogènes	14
8.	Conclusion	20
9.	Annexes	21
	Annexe 1 : Gestion des déchets et/ou matières biologiques issus des activités d'utilisations confinées d'organismes GM et/ou pathogènes.....	21
	Annexe 2 : Pour en savoir plus sur la stérilisation à la vapeur d'eau.	24
	Annexe 3 : Gestion des Déchets biologiquement contaminés et lignes directrices et filières d'élimination en Région de Bruxelles-Capitale	26
10.	Références	29

1. Objectifs

Le sujet abordé dans ce document entre dans le cadre général de la gestion des déchets résultants des activités d'utilisations confinées de (micro-)organismes génétiquement modifiés (OGM) et/ou pathogènes telle qu'elle est prévue par la législation belge. La validation et le contrôle de l'inactivation de ces déchets par la vapeur d'eau en utilisant un stérilisateur, aussi appelé autoclave, sans étape de broyage sont spécifiquement développés ici.

Le document décrit d'abord l'appareil de stérilisation à la vapeur d'eau et son principe de fonctionnement. Il discute ensuite les questions relatives à la validation et au contrôle de l'inactivation des déchets contaminés biologiquement. D'une part, il fournit des informations aux **autorités compétentes** sur les procédés qui sont appliqués, dans quelles situations et comment ils peuvent être appliqués. D'autre part, il donne aux **utilisateurs** quelques recommandations pour mettre en place une validation de l'autoclave et une procédure de contrôle de l'inactivation des déchets adaptées à leurs activités.

2. Introduction

Les déchets issus des activités d'utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes font partie des déchets dangereux tels que définis dans la Directive européenne 78/319/CEE (1). Celle-ci impose aux Etats membres une gestion rigoureuse et stricte des déchets dangereux¹. Cette gestion comprend l'identification et l'enregistrement des déchets, la séparation des différents types de déchets, l'évacuation, le conditionnement, le stockage et le transport de ces déchets.

En Belgique, la gestion des déchets est une matière régionalisée. Les arrêtés régionaux relatifs aux utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes prévoient que les déchets biologiques (milieux de culture, etc.), les résidus biologiques (cadavres et excréments d'animaux infectés, litière, plantes contaminées, substrats contaminés, etc.), ainsi que le matériel contaminé (verrerie, cages, etc.), provenant de laboratoires, d'animaleries, de serres, de chambres de culture, de chambres hospitalières et d'installations de procédés à grande échelle **doivent subir une procédure d'inactivation appropriée et validée avant leur élimination** (2, annexe 1). L'inactivation, définie comme étant la suppression de l'activité biologique des (micro-)organismes, est obligatoire indépendamment de la classe de risque de l'organisme et **indépendamment de la classe de risque de l'utilisation confinée** (2). Le choix d'une méthode appropriée d'inactivation dépend de plusieurs facteurs: le type et la nature du déchet, le danger représenté par les (micro-)organismes présents dans les déchets, l'efficacité des méthodes utilisées. Les méthodes d'inactivation des déchets les plus souvent utilisées sont la stérilisation par la vapeur d'eau, l'inactivation chimique et l'incinération. Dans

¹ La Directive 78/319/CEE relative aux déchets dangereux a été remplacée par la Directive 91/689/CEE et a été modifiée par la Directive 94/31/CE.

ce dernier cas, les conteneurs de déchets fermés hermétiquement sont généralement pris en charge par une société agréée de traitement des déchets pour être incinérés.

Ce document est consacré à l'inactivation des déchets issus d'utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes par la vapeur d'eau. Les normes existantes sur le procédé de stérilisation à la vapeur d'eau se réfèrent généralement à la stérilisation de dispositifs médicaux. Ces normes peuvent faire office de références pour la validation et le contrôle en routine du procédé d'inactivation des déchets biologiques. Néanmoins, il y a lieu de les adapter à cette utilisation spécifique.

3. La stérilisation à la vapeur d'eau

Généralement, les méthodes d'inactivation thermiques sont les plus simples à valider et à contrôler comparativement aux autres méthodes d'inactivation, notamment l'inactivation chimique (3). Elles sont aussi moins nocives pour l'environnement. La stérilisation à la vapeur d'eau est considérée comme un moyen de stérilisation fiable. Elle est la procédure de choix pour l'inactivation des déchets dangereux provenant d'utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes de classe de risque 2 et supérieures (3, 4).

La stérilisation est un procédé de décontamination qui permet la destruction complète de tout type de micro-organismes, y compris les spores. Dans la pratique, il n'est pas possible de garantir une stérilisation absolue. La plupart des installations pratiquant la stérilisation utilise le « Sterility Assurance Level » (SAL) dont la valeur représente la probabilité de persistance ou survie d'un micro-organisme après le procédé de stérilisation (5). Ce « degré » de stérilisation à atteindre est généralement fixé à 10^{-3} ou 10^{-6} ce qui veut dire que la probabilité de survie est inférieure à 1 micro-organisme sur 1000 ou sur 1 million après stérilisation. La décontamination par stérilisation peut dès lors être définie comme étant un procédé qui réduit la contamination biologique à un niveau ne présentant plus de risque (2). L'inactivation, elle, est définie comme étant la suppression de l'activité biologique des (micro-)organismes.

L'appareil utilisé pour la stérilisation à la vapeur d'eau assure l'inactivation de matières par **injection directe ou indirecte de vapeur d'eau à une pression supérieure à la pression atmosphérique**. Il existe plusieurs types d'autoclaves (6, 7, 8). L'autoclave consiste en une chambre métallique fermée hermétiquement et résistant à de hautes pressions, dans laquelle l'eau chauffe et la pression de la vapeur d'eau atteint une valeur supérieure à la pression atmosphérique.

L'évacuation de l'air hors de la chambre est essentielle pour le bon déroulement du processus car l'air restant peut faire diminuer la température et également empêcher la vapeur d'eau d'atteindre l'entièreté du volume de la chambre.

Il y a deux façons d'évacuer l'air hors de la chambre de l'autoclave ;

- par "**déplacement de la gravité**" : la vapeur d'eau est amenée sous pression dans la chambre. Comme l'air est plus lourd que la vapeur d'eau, l'air est poussé dans la partie basse de la chambre vers la sortie,
- par la **méthode de "pré-vide"** dans laquelle une pompe à vide évacue l'air avant que la vapeur d'eau n'entre dans la chambre. Ce système nécessite un temps d'exposition plus court car l'air est éliminé de manière efficace.

Un certain nombre d'appareils sont généralement intégrés à l'autoclave :

- un thermomètre mesurant la température de l'enceinte (ou chambre), il doit être visible et lisible ;
- un manomètre mesurant la pression dans l'enceinte ;
- un régulateur de température ;
- un manovacuomètre enregistreur : présent sur certains modèles d'autoclave, il enregistre et restitue sous la forme d'un tracé les différentes phases d'un cycle de stérilisation.

L'autoclave doit être placé dans un local bien ventilé et maintenu à une température et un taux d'humidité constants. Le produit à « autoclaver » (déchets, équipements, solutions, etc) doit faire l'objet d'un tri correct au préalable de manière à ce qu'aucun composé dangereux (formaldéhyde, phénols, mercure, radionucléides) ne soit évacué dans l'atmosphère (4).

4. Principe de stérilisation par la vapeur d'eau

A pression atmosphérique normale, l'eau bout à 100°C. A une pression de 2 atmosphères, l'eau bout à 121°C et à une pression supérieure à 3 atmosphères, l'eau bout à 134°C.

L'action conjuguée de la vapeur d'eau sous pression et de la température (supérieure à 120°C) provoque la dénaturation des protéines des microorganismes et la destruction de ceux-ci.

Un **cycle de stérilisation** est défini comme étant le temps écoulé entre le début et la fin du processus de stérilisation, depuis l'entrée de la charge, c'est-à-dire le produit (dans le cadre de ce document : le déchet) à stériliser et son emballage, jusqu'à sa sortie après stérilisation. Un cycle de stérilisation par la vapeur d'eau comporte 3 phases et les caractéristiques de chacune de ces phases sont définies par les paramètres suivants : la pression, la température, le temps et la concentration des gaz (vapeur d'eau saturée).

Un cycle de stérilisation par la vapeur d'eau comporte 3 phases :

La 1^{ère} phase est le prétraitement. Il s'agit de substituer entièrement l'air (purge) contenu dans la chambre et au cœur de la charge par de la vapeur d'eau et de créer ainsi les conditions d'humidité et de température optimales pour la phase de stérilisation. Dans le cas d'un autoclave utilisant la

méthode de pré-vidé, cette opération est réalisée par une succession de purge et d'injection de vapeur permettant d'obtenir dans la chambre de la vapeur d'eau de moins en moins mélangée à l'air résiduel jusqu'à atteindre 100% de vapeur à la fin du prétraitement.

L'air sortant est filtré sur un filtre microbiologique (HEPA, *High Efficiency Particulate Air* ou PTFE, *Polytétrafluoroéthylène*).

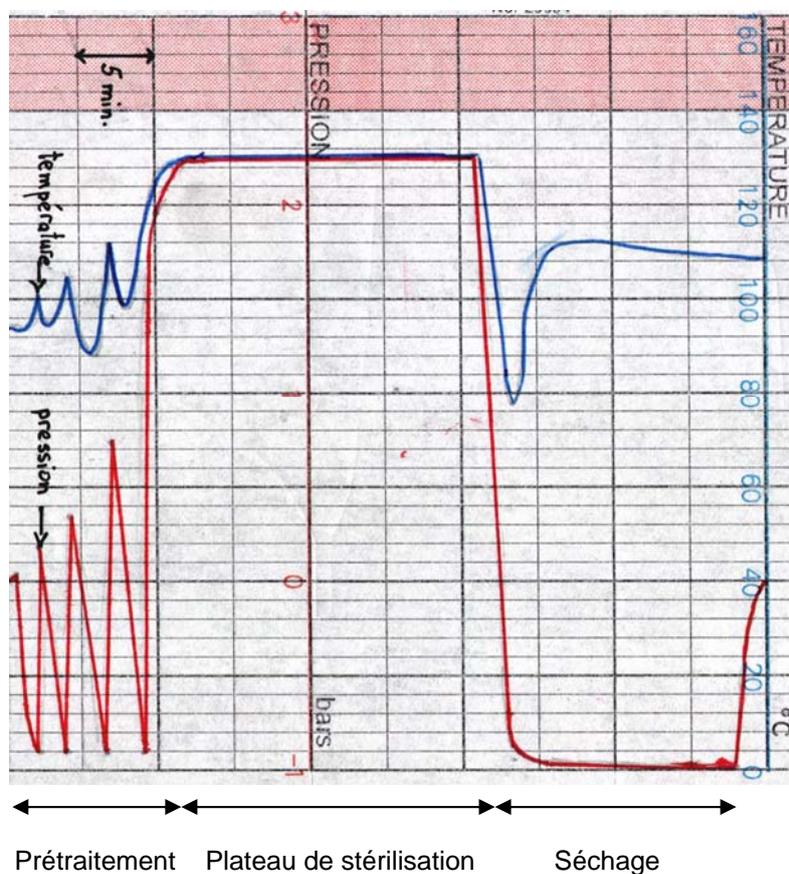
La 2^{ème} phase est le plateau de stérilisation qui tend vers la destruction des micro-organismes dans une atmosphère de vapeur saturée à une température définie. Le temps de stérilisation est le temps durant lequel la température de stérilisation est maintenue en tous points de la charge. A la fin du plateau, l'ouverture d'une vanne permet l'évacuation de la vapeur hors de la chambre : la courbe de pression chute rapidement. La température baisse également.

La 3^{ème} phase est le séchage. Au début du cycle de stérilisation, la vapeur se condense sur la charge froide et mouille le produit. A la fin du cycle, il est nécessaire de vaporiser à nouveau l'eau condensée dans la charge pour arriver à la siccité, c'est-à-dire à un état de sécheresse permettant de conserver l'état stérile. Lorsque la pression dans la chambre est revenue au voisinage de zéro, le dispositif de mise sous vide démarre afin d'évacuer la vapeur de la charge. Les calories nécessaires pour sécher la charge sont fournies par la chaleur accumulée dans la charge elle-même et dans les parois du stérilisateur.

Enfin, l'air entre dans la cuve (ou chambre) après passage sur un filtre microbiologique HEPA ou PTFE, ce qui évite la contamination de la charge. La filtration de l'air entrant est indispensable dans le cas de la stérilisation de dispositifs médicaux, il ne l'est pas dans le cas de l'inactivation de déchets biologiques.

En pratique, plusieurs cycles sont communément utilisés selon la nature de produit à stériliser: 125°C 20 minutes pour la verrerie ou le caoutchouc, 134°C 10 minutes pour le textile, 134°C 18 minutes pour les ATNC (Agents Transmissibles Non Conventionnels), 121°C 15 minutes pour des liquides ou des matériaux non-poreux, etc.

Figure 1 : Exemple d'un cycle de stérilisation à la vapeur d'eau utilisé pour du verre (9)



La stérilisation d'un même produit peut se faire à différentes températures (annexe 2). Plus la température est basse, plus long sera le temps nécessaire au cycle de stérilisation.

5. Validation de l'autoclave

La validation de l'autoclave doit être distinguée du suivi en routine du processus d'inactivation des déchets et des matières biologiques résiduelles par autoclavage. **La validation de l'autoclave est un ensemble d'opérations nécessaires pour prouver que la méthode utilisée fournit des résultats fiables et exacts, comme spécifiés par le constructeur, afin de garantir le pouvoir stérilisant de l'autoclave.** Le suivi en routine de la stérilisation par autoclave consiste en une série de tests ou contrôles à effectuer à chaque utilisation ou de façon régulière. La validation et le suivi en routine se font grâce à des tests utilisant des indicateurs mécaniques, physico-chimiques et biologiques. Tous les résultats sont enregistrés et conservés dans un « logbook » de façon à garantir la traçabilité des procédures de validation et de contrôle.

Trois étapes dans la validation de l'autoclave sont recommandées avant l'utilisation de l'appareil en routine : la mise en service de l'autoclave à la réception, la qualification opérationnelle et la qualification de performance. La validation de la stérilisation par la vapeur d'eau est décrite dans la norme ISO 17665 – 1 : 2006 (10), nous en reprenons ci-dessous les lignes principales.

5.1. Mise en service de l'autoclave

La validation de l'autoclave lors de sa mise en service sert à s'assurer que l'appareil fourni est installé et fonctionne à vide selon les spécifications du constructeur et du cahier des charges de l'appareil. Cette étape est réalisée par le technicien du fournisseur.

Les spécifications du cahier des charges concernent l'équipement utilisé et les limites de son utilisation, la procédure d'utilisation, les programmes préétablis, la calibration des instruments, l'entretien, etc. Tous les instruments de mesure, d'indication et d'enregistrement des paramètres sont calibrés de façon à assurer leur précision et leur reproductibilité. Les spécifications incluent également l'espace et l'environnement nécessaires à l'hébergement de l'autoclave. Ces conditions doivent assurer que la stérilisation est performante, reproductible et uniforme en tous points de la chambre de stérilisation.

5.2. Qualification opérationnelle

Cette opération se fait après l'installation de l'appareil par le technicien du fournisseur et/ou par le technicien responsable au laboratoire. Elle a pour but de vérifier que l'autoclave utilisé conformément aux spécifications fournit la stérilisation attendue du produit. La qualification opérationnelle s'effectue 3 fois de manière consécutive (3 cycles) pour s'assurer de la reproductibilité des résultats fournis.

5.3. Qualification de performance

La qualification de performance doit démontrer que la charge (c.-à-d. le produit, son emballage et son emplacement) à stériliser en routine a été effectivement exposée aux conditions de stérilisation spécifiées lors de la qualification opérationnelle. Si des conteneurs sont utilisés en routine (emballages, sacs) il faut s'assurer de leur perméabilité à la vapeur d'eau.

L'efficacité de la stérilisation au moyen de la vapeur d'eau dépend du facteur de charge qui influence la température et le temps de contact. Il est nécessaire de vérifier et valider la stérilisation par autoclave d'une charge représentative des charges qui seront stérilisées en routine. Le profil de température dans la chambre peut se faire grâce à des sondes de température distribuées dans toute la chambre et dans la charge. La pénétration de la chaleur doit être vérifiée par la mesure des températures dans des charges ou « paquets » de référence placés dans les endroits les plus froids de la chambre tels que déterminés par le fabricant et par les étapes précédentes de la validation.

La qualification de performance doit comprendre au moins trois cycles consécutifs démontrant à chaque fois que la procédure répond aux spécifications de stérilisation de la charge.

Il est préconisé de réaliser une qualification de performance également quand :

- une déviation est constatée en routine dans les valeurs définies ;
- après un temps de non-utilisation ;

- après un déplacement de l'appareil ;
- au moins 1 à 2 fois par an et par type de charge ;
- il faut stériliser de nouveaux produits ou emballages, une forme de charge différente.

5.4. La maintenance

La maintenance de l'appareil doit être planifiée, documentée et enregistrée. L'autoclave doit être entretenu de manière périodique selon les prescriptions du fabricant (fonctionnement des clapets de sécurité, la mesure de la température et les sondes de pression) afin de pouvoir garantir sa fiabilité à tout moment. La législation fédérale belge prévoit que l'autoclave, appareil fonctionnant sous pression, doit être contrôlé périodiquement par un Service Externe de Contrôle Technique, (SECT) pour s'assurer que tous les éléments de l'appareil disposent de la résistance indispensable, que les dispositifs de sécurité et les autres accessoires offrent toutes les garanties de bon fonctionnement (11). D'autre part, tout étalonnage ou ajustement des appareils de mesure de l'autoclave devrait être effectué exclusivement par des spécialistes, au moins avant toute requalification (10). Il est dès lors recommandé de conclure des contrats d'entretien annuel des autoclaves avec une firme spécialisée (12).

6. Le contrôle en routine

Le contrôle en routine se fait à chaque cycle de stérilisation et a pour but de contrôler, de façon plus ou moins précise, le fonctionnement de l'appareil et le cycle de stérilisation (ou traitement) de la charge. Il permet de vérifier que les paramètres définis lors de la validation sont rencontrés, dans des limites spécifiées, lors des processus de stérilisation en routine. Le contrôle en routine devrait vérifier, grâce à des tests spécifiques, tous ou certains des paramètres suivants :

- l'étanchéité de la chambre de stérilisation ;
- la qualité de la vapeur et de la chaleur ;
- la pénétration de la vapeur dans la charge ;
- le résultat de la stérilisation.

Le suivi en routine utilise les moniteurs physiques, des indicateurs physico-chimiques et des indicateurs biologiques. Les tests sont soit appliqués à chaque cycle de stérilisation (contrôles permanents), soit de manière périodique.

6.1. Les contrôles permanents

Les moniteurs physiques et les indicateurs physico-chimiques peuvent être utilisés comme contrôles permanents. Ils sont simples à mettre en place et fournissent un résultat immédiatement après le cycle de stérilisation. Ce type de contrôle démontre que la valeur (dans certaines limites) du ou des paramètres contrôlés a bien été atteinte pendant le cycle mais ne démontre pas que le contenu de la charge soit stérile. L'utilisation des indicateurs chimiques pour le contrôle du cycle de stérilisation permet, lorsque le cycle échoue, de déterminer le ou les paramètre(s) du cycle qui n'a (n'ont) pas atteint la valeur définie.

Les moniteurs physiques tels que le thermomètre, le manomètre et la minuterie permettent de contrôler que la température imposée, le vide et le temps requis ont été atteints et que la température et la pression sont restées constantes durant le cycle. L'enregistrement des paramètres de stérilisation peut se faire sous forme graphique à l'aide d'un diagramme et/ou sous forme numérique. Si le cycle échoue, cet enregistrement donne une indication sur le paramètre qui a fait défaut. Tous les autoclaves ne disposent pas de ce type d'enregistrement.

Les indicateurs physico-chimiques changent de couleur quand les valeurs des paramètres nécessaires au cycle de stérilisation ont bien été atteintes. Il existe plusieurs classes d'indicateurs physico-chimiques qui sont définies par la norme ISO 11140 (13, 14) et sont reprises dans le tableau 1 ci-dessous. Les indicateurs de procédé ou de passage utilisés à l'extérieur de chaque emballage permettent de différencier le matériel qui a subi un cycle de stérilisation de celui qui ne l'a pas encore subi. Les indicateurs multiparamétriques, les intégrateurs et les indicateurs d'émulation sont conçus pour être utilisés à l'intérieur des emballages. Ces indicateurs changent de couleur en fonction de la température, du temps d'exposition et de la saturation de vapeur. Ils ont des conditions de virage établies et sont choisis en fonction des paramètres du cycle à appliquer.

Tableau 1 : Types d'indicateurs physico-chimiques définis par la norme ISO 11140-1 et leur utilité

Type d'indicateur	Classe	Utilité
Indicateurs de procédé ou de passage	1	Différencier le matériel autoclavé de celui non-autoclavé, placés en surface sur l'emballage de chaque produit
Indicateurs pour essais spécifiques Exemple : Bowie & Dick	2	Démontrer la bonne pénétration de vapeur d'eau dans une charge poreuse
Indicateurs de paramètre individuel ou à paramètre unique	3	Contrôler la valeur d'un des paramètres critiques (temps, température, humidité)
Indicateurs multiparamétriques	4	Contrôler au moins deux paramètres critiques du cycle de stérilisation. A placer à l'intérieur de la charge
Indicateurs intégrateurs et d'émulation	5 et 6	Contrôler tous les paramètres critiques sur une gamme spécifiée de cycles de stérilisation. A placer à l'intérieur de la charge

6.2. Les contrôles périodiques

Les contrôles sont dit périodiques parce qu'ils ne sont pas appliqués à chaque utilisation de l'autoclave. La périodicité de leur application va dépendre du degré d'exigence requis pour la stérilisation des produits provenant d'une installation spécifique.

Généralement, les tests suivants sont appliqués régulièrement :

- **Le test du vide** permet d'évaluer l'étanchéité de l'autoclave. Le test est effectué grâce à un cycle généralement préprogrammé ou de manière manuelle.
- **Le test de Bowie-Dick**, (BD de classe 2, ISO 11140) consiste en un indicateur colorimétrique papier placé au centre d'une pile de serviettes en coton dans l'autoclave vide et subissant un cycle de stérilisation. Ce test démontre l'absence d'air et permet de vérifier la pénétration rapide et complète de la vapeur dans une charge poreuse et l'élimination de l'air (donc indirectement le fonctionnement du circuit de vide). Le virage de l'encre après exposition doit être homogène sur toute la surface pour que le test soit « conforme ». Ce test ne constitue pas un test de stérilité.
- **Le test Helix** (de classe 6, ISO 11140) consiste en un long et fin tube creux au bout duquel se trouve un indicateur colorimétrique. Ce test, s'il est « conforme » après le cycle de stérilisation, démontre la capacité de l'autoclave à stériliser des corps creux ou des objets à cavités profondes et étroites.
- **Les indicateurs biologiques** (ISO 11138-1, 15, 16) sont le meilleur moyen de contrôle de l'efficacité de stérilisation d'une charge. Il consiste à vérifier qu'une certaine quantité de micro-organismes, les plus résistants à la stérilisation par la chaleur, qui ont été introduits à l'endroit de l'appareil le plus difficile à stériliser (en tenant compte des spécificités de l'appareil), ont été détruits suite au cycle de stérilisation. Les deux principales caractéristiques d'un indicateur biologique sont la population nominale des micro-organismes et la résistance spécifique de l'indicateur biologique au procédé de stérilisation (exprimée par sa valeur de DT, voir annexe 2). Traditionnellement, ce sont des spores bactériennes dérivées des espèces *Bacillus atrophaeus* et *Geobacillus stearothermophilus* qui constituent l'indicateur biologique.

Le test conventionnel est une petite bande de papier filtre sur lequel sont placées et séchées des spores de *G. stearothermophilus* (l'étalon-or), le tout contenu dans une enveloppe (16, 17). Après le cycle de stérilisation, la bande de papier est transférée sur un milieu de culture et mise à incuber. La deuxième génération d'indicateurs biologiques dits autonomes (« self-contained ») est constituée d'un support couvert de spores contenu dans un tube en plastique à côté d'une ampoule en verre contenant le milieu de culture. Après le cycle de stérilisation, l'ampoule est brisée pour que les spores ayant éventuellement persistées soient en contact avec le milieu de culture et puissent s'y développer. L'inconvénient de l'utilisation de ces indicateurs biologiques est le délai long pour obtenir les résultats (48h à 7 jours). Aujourd'hui, la troisième génération d'indicateurs biologiques (« Rapid Readout Biological Indicators ») révèle l'efficacité du cycle de stérilisation en une heure. Le principe du test repose sur la détection d'un produit fluorescent issu de l'activité d'une enzyme de *G. stearothermophilus*.

7. Inactivation des déchets contaminés issus des utilisations confinées d'organismes GM et/ou pathogènes

Dans les hôpitaux ou les laboratoires pharmaceutiques où une stérilisation rigoureuse des dispositifs médicaux, des médicaments ou autres préparations est requise pour la sécurité des patients et pour lesquels des systèmes de qualité spécifiques sont en place, les exigences de stérilisation décrites dans les normes propres à leur activité sont strictement suivies. En ce qui concerne l'inactivation des déchets infectieux issus de ces activités, des activités de laboratoires de microbiologie, biomédicaux, de production ou de recherche manipulant des OGM et/ou pathogènes, il n'existe pas de normes ni de standards reconnus pour la validation de l'inactivation de ces déchets. Néanmoins, des propositions ont été émises, basées essentiellement sur les normes existantes pour la stérilisation de dispositifs médicaux et sur le « bon sens », ce dernier reposant sur une connaissance approfondie de la biosécurité (18, 19).

Pour élaborer les recommandations décrites dans ce document, nous nous sommes inspirés essentiellement des normes de stérilisation existantes ainsi que de ces propositions dont celle de l'Association de Biosécurité Asie-Pacifique qui propose une procédure de validation et de suivi en routine des procédés de décontamination par l'autoclave des déchets issus de laboratoires biomédicaux et microbiologiques (18). Les propositions formulées dans le projet « Global Healthcare Waste Project » de l'UNDP (United Nations Development Program, Global Environment Facility) sur la gestion des déchets médicaux reposent sur un système de classification des niveaux d'inactivation microbienne spécifiquement pour le traitement de déchets biomédicaux (STAATT², 19). Le niveau de performance exigé pour les technologies de traitement des déchets (l'autoclavage) a été fixé à un niveau correspondant à une réduction d'au moins 6 logarithmes des bactéries végétatives, des champignons, des virus lipophiles et hydrophiles, des parasites et des mycobactéries et à une réduction de 4 logarithmes ou plus des indicateurs biologiques (spores de *G. stearothermophilus* et de *B. atrophaeus*). La norme AFNOR concernant les appareils de prétraitements par désinfection des déchets à risques infectieux établit, elle, un niveau de réduction nécessaire de la charge microbienne de 5 logarithmes pour des souches bactériennes et fongiques types et de 4 logarithmes pour des virus types (20).

Dans certaines installations, les autoclaves sont aussi utilisés pour stériliser le matériel réutilisable. Dans ce cas, la fréquence et le nombre des tests pour le contrôle de la stérilisation devraient être élevés car le bon déroulement des activités utilisant ce matériel en dépend. Les recommandations décrites dans ce document ne sont pas à appliquer à ce type d'utilisation de l'autoclave, elles ne visent qu'une utilisation de l'autoclave pour l'inactivation des déchets issus des utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes. De même, elles ne sont pas applicables aux systèmes d'inactivation thermique utilisés souvent par les installations de production à grande échelle pour inactiver leurs déchets liquides (effluents).

² State and Territorial Association on Alternate Treatment Technologies

L'autoclavage des déchets est une étape de la procédure d'élimination qui vise la réduction du risque pour la santé des travailleurs, des patients, de la communauté et pour la protection de l'environnement. Nous proposons ci-dessous quelques critères qui devraient permettre de mettre en place une validation de l'autoclave adaptée à son usage spécifique. Nous étendons ici la validation de l'autoclave aux contrôles permanents et périodiques des procédures d'inactivation.

Recommandations en vue de l'élaboration d'un plan de validation et de contrôle de l'inactivation des déchets par autoclavage

Typiquement, les déchets produits par les utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes et à inactiver par l'autoclave sont constitués de:

- Solides contaminés : milieux de culture solides, litières provenant des animaleries, etc. ;
- Liquides contaminés : milieux de cultures liquides, cultures cellulaires, fluides corporels, etc. ;
- Matériel contaminé : verreries, cages, etc. ;
- Matériel contaminé à usage unique : vêtements en plastique, boîtes, tubes, sacs, etc.

L'annexe 3 reprend à titre d'exemple les procédures d'élimination des déchets issus des utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes en Région de Bruxelles-Capitale (21). Ces procédures sont, dans les grandes lignes, celles appliquées dans les deux autres Régions de Belgique.

Dans la plupart des cas, la stérilisation par autoclavage réalise une diminution de la charge microbienne de 6 sur une échelle logarithmique (SAL fixé à 10^{-6}). Pour la stérilisation des dispositifs médicaux ou de milieux de culture à ensemercer dont la charge microbienne de départ n'est pas très élevée, une valeur du SAL de 10^{-6} représente une exigence de décontamination par stérilisation très élevée qui garantit que le produit stérilisé sera exempt de tout organisme viable. Dans le cas des déchets contaminés issus d'activités de cultures microbiologiques par exemple, la charge initiale microbienne (OGM et/ou pathogène) est souvent nettement plus élevée et un SAL de 10^{-6} ne garantit pas que les déchets soient stériles après un cycle d'autoclave. Cette procédure de traitement des déchets contaminés assure dans ce cas, une réduction significative du nombre d'organismes viables et une réduction du risque pour la santé publique et pour l'environnement.

Suite à l'autoclavage, plusieurs filières d'élimination finale des déchets peuvent être empruntées :

- les déchets sont transportés vers l'incinérateur dans des poubelles spéciales scellées pour déchets infectieux.
- les déchets sont transportés vers l'incinérateur en tant que déchets non-dangereux. Les déchets liquides inactivés à l'autoclave, quant à eux, peuvent être éliminés dans le réseau public des eaux usées (égouts).

En pratique en Belgique, la filière des déchets infectieux est utilisée pour les déchets biologiques inactivés provenant des activités d'installations de niveaux de confinement 3. Ces déchets

« autoclavés » ont en effet une probabilité non nulle d'être encore contaminés par des micro-organismes pouvant présenter un risque pour la santé publique et/ou l'environnement. Les déchets inactivés provenant des installations de niveau 1 et 2 peuvent également utiliser cette filière, mais aussi celle des déchets non-dangereux.

En attendant le transport vers l'incinérateur, les poubelles sont stockées dans un local adapté à cette fonction. **Le risque que représentent les déchets inactivés par stérilisation à la vapeur d'eau est très fortement diminué, tant par le procédé de stérilisation et que par le confinement des poubelles** (poubelles scellées et local de stockage dont l'accès est réservé au personnel autorisé).

Validation de l'autoclave :

Une validation de l'autoclave lors de l'installation (mise en service et qualification opérationnelle) et une validation de charge (qualification de performance) devraient être effectuées dans toute installation où l'inactivation des déchets par la vapeur d'eau fait partie de la procédure d'élimination des déchets et ce indépendamment du niveau de confinement. La validation de l'autoclave à l'installation assure que l'autoclave fonctionne selon les spécifications du fabricant et que les programmes sont fiables et reproductibles. Une validation de charge (déchets d'animalerie, déchets de laboratoire, matière sèche et humide, etc.) assure la validation des programmes pour l'inactivation des déchets spécifiques à l'activité.

Les validations à vide et avec charge devraient être effectuées une à deux fois par an, voire tous les deux ans. Une des façons de procéder par exemple, consiste à répartir dans le volume de la charge des sondes de température calibrées et certifiées et contrôler le profil temps-température (18). Différents types de charges standards (2 à 4 types) peuvent être utilisés dont un représentant une charge difficile à décontaminer. Lors de ces validations, des indicateurs biologiques seront aussi employés en parallèle. La validation est réussie si les valeurs attendues et l'inactivation de l'indicateur biologique se reproduisent lors de trois cycles consécutifs. L'utilisation uniquement de l'indicateur biologique (spores de *G. stearothermophilus*) en tant qu'étalon-or constitue une autre façon de procéder pour la validation du procédé d'inactivation des déchets hospitaliers : les spores doivent être inactivées lors de trois cycles consécutifs (19).

Contrôle en routine :

La procédure de contrôle en routine à mettre en place pour l'inactivation des déchets par l'autoclave devrait prendre en compte la fréquence d'utilisation de l'autoclave, le niveau de confinement de l'installation et la filière d'élimination finale.

Plus la fréquence d'utilisation de l'autoclave est élevée, plus le contrôle du cycle de stérilisation devrait être régulier. Il en est de même pour les niveaux de confinement des installations : la fréquence et le nombre de tests à appliquer pour le contrôle du processus d'inactivation des déchets devraient être élevées pour les déchets provenant d'activités de classe de risque 3.

Il y a lieu également de tenir compte du type de test effectué car l'utilisation de certains indicateurs plus précis ou de contrôles plus rigoureux (par exemple les indicateurs biologiques) entraîne que l'utilisation d'autres tests soit inutile.

De manière générale, le suivi minimal en routine de l'autoclave dans **tous les types d'installations et à chaque cycle de stérilisation** devrait comprendre si possible la **vérification du profil temps - température du cycle** (enregistré sur le diagramme ou le ticket si disponible). Certains autoclaves ont pour cela des thermocouples intégrés. L'utilisation des **indicateurs colorimétriques de classe 1** (indicateurs de passage, voir tableau 1) est particulièrement utile si la fréquence d'utilisation de l'autoclave est élevée. Ces enregistrements et toute information sur le cycle devraient être conservés dans un **logbook**.

Dans le cas de déchets provenant des activités d'une installation de niveau de confinement 2 et qui seront éliminés par incinération en tant que déchets dangereux, le contrôle minimal du procédé (vérification du profil température-temps si possible et utilisation d'indicateurs de classe 1) devrait suffire. Il en est de même pour les déchets provenant des activités d'une installation de niveau de confinement 1. Il est néanmoins conseillé de contrôler l'efficacité du procédé par des tests réguliers supplémentaires tels que ceux décrits ci-dessous.

L'utilisation de **sondes de température réparties dans les charges ou des indicateurs multiparamétriques** est utile pour contrôler que les déchets, aux points contrôlés, subissent effectivement le traitement de température et/ou de temps et/ou de vapeur d'eau (18). Elle peut **compléter le contrôle minimal** de l'autoclavage de façon régulière dans le cas des **déchets biologiques provenant des activités de classe de risque 2 et 3**. Néanmoins, il faut tenir compte du fait que leur bonne utilisation peut entraîner une augmentation du risque du fait que les sondes et les indicateurs de ce type doivent être placés à l'intérieur des charges à inactiver.

Si les déchets inactivés sont éliminés par la filière des déchets non dangereux et incinérés, l'efficacité de l'autoclavage devrait être vérifiée régulièrement en procédant à l'utilisation de tests supplémentaires comme ceux décrits ci-dessous.

Le contrôle périodique par des **tests de Bowie-Dick** (indicateur de classe 2) est important pour les charges poreuses (constituées d'équipements, matériaux perméables qui absorbent la vapeur d'eau et/ou l'air). Ceci s'applique tous les jours, une fois par jour, dans le cadre de la stérilisation de dispositifs médicaux et dans une utilisation quotidienne de l'autoclave. Ce contrôle est facile à mettre en place et donne une indication importante sur la pénétration efficace de la vapeur d'eau dans une charge. Pour certains utilisateurs, l'exigence de décontamination par la stérilisation dans le cadre de l'inactivation des déchets est trop faible pour mettre en place des tests de Bowie-Dick (18). Néanmoins, dans le cas d'une installation de niveau de confinement 2 dont les déchets sont éliminés

par la filière des déchets non-dangereux, ce test (ou un indicateur biologique, voir ci-dessous) pourrait être appliqué de manière régulière, la fréquence dépendant largement de la fréquence d'utilisation de l'autoclave.

Les indicateurs de classe 5 et 6 (intégrateurs et émulateurs) sont utiles pour le contrôle du profil du cycle de stérilisation spécifique choisi. Si les contrôles décrits précédemment et des indicateurs biologiques sont appliqués régulièrement, ce type d'indicateurs peut devenir moins utile.

Les indicateurs biologiques, et particulièrement ceux constitués de spores de *G. stearothermophilus*, constituent le meilleur moyen de contrôle de l'efficacité du cycle d'inactivation des micro-organismes présents dans les déchets. L'utilisation des indicateurs physico-chimiques en plus des indicateurs biologiques permettra de mieux cibler la nature de la défaillance du cycle d'autoclave dans le cas d'un échec de l'inactivation de l'indicateur biologique : la température, la durée ou la vapeur d'eau. Pour les installations de niveau de confinement 3 ou si la charge à « autoclaver » est très différente de celle de la routine, les indicateurs biologiques devraient être utilisés généralement une fois par mois dans le cas d'une utilisation fréquente de l'autoclave, voire à chaque cycle de stérilisation. Ces indicateurs devraient également être utilisés régulièrement dans les installations de niveau de confinement 2 dont les déchets « autoclavés » suivront la filière des déchets non-dangereux.

Enfin, certains utilisateurs préconisent un contrôle du procédé très régulier au début de l'utilisation de l'autoclave (et après la validation), par exemple une fois par semaine, en utilisant des indicateurs biologiques. Si après plusieurs contrôles, les résultats sont ceux attendus (pas de croissance de spores), les contrôles peuvent s'espacer dans le temps et se faire une fois par mois par exemple.

Le **tableau 2** ci-dessous reprend des indications en vue de mettre en place une validation et les contrôles utiles en fonction de la classe de risque de l'activité dont proviennent les déchets à inactiver, en se limitant à l'exemple des laboratoires.

Tableau 2 : Propositions de modalité de validation et contrôles en routine de l'autoclave

Type de test	Niveau de confinement de l'installation			
	L1	L2		L3
	<u>Filière déchets non-dangereux ou dangereux</u>	<u>Filière déchets dangereux</u>	<u>Filière déchets non-dangereux</u>	<u>Filière déchets dangereux</u>
<u>Validation de l'autoclave + maintenance</u> ³	Oui, une fois par an ou tous les 2 ans	Oui, une fois par an ou tous les 2 ans	Oui, une fois par an	Oui, une fois par an
<u>Contrôle de routine</u>				
<u>Logbook (traçabilité)</u>	Oui, pour chaque utilisation	Oui, pour chaque utilisation	Oui, pour chaque utilisation	Oui, pour chaque utilisation
<u>Vérification du ticket / diagramme si disponible</u>	Oui, à chaque cycle	Oui, à chaque cycle	Oui, à chaque cycle	Oui, à chaque cycle
<u>Indicateur classe 1</u>	Oui, à chaque cycle	Oui, à chaque cycle	Oui, à chaque cycle	Oui, à chaque cycle
<u>Indicateur classe 2 (Bowie et Dick)</u>	Non mais recommandé	Non mais recommandé	Oui, De 1 fois par mois à 1 fois tous les 6 mois*	Oui, de 1 fois par semaine à 1 fois par mois*
<u>Indicateur classe 4 (multiparamétrique)</u>	Non	Non	Non mais recommandé	Oui, de 1 fois par mois à 1 fois tous les 6 mois*
<u>Indicateur classe 5 et 6</u>	Non	Non	Non	Non**
<u>Indicateur biologique</u>	Non mais recommandé	Non mais recommandé	Oui, de 1 fois par mois à 1 fois tous les 6 mois	Oui, à chaque cycle ou 1 fois par semaine ou 1 fois par mois

* en tenant compte de la fréquence de contrôle à l'aide des indicateurs biologiques.

** en tenant compte du type de charge.

³ La procédure est brièvement décrite dans ce document au chapitre 5. Les détails se trouvent dans la norme ISO 17665 – 1 : 2006 (10),

8. Conclusion

La validation de l'autoclave et le contrôle de l'inactivation des déchets biologiques ne sont pas des procédés standardisés et plusieurs critères devraient entrer en ligne de compte pour mettre en place une validation et un contrôle spécifiques du procédé d'inactivation. Cette procédure sera donc à concevoir au cas-par-cas. Ce document se base sur des normes qui concernent la validation et le contrôle de la stérilisation de dispositifs médicaux par la vapeur d'eau. Les tests proposés sont donc à adapter à la procédure d'inactivation des déchets biologiques issus des activités d'utilisation confinée d'OGM et/ou pathogènes. Pour établir une procédure adaptée, ce document prend en compte les critères suivants:

- La filière d'élimination des déchets autoclavés : déchets dangereux ou non. Ceci concerne généralement les installations de niveau de confinement 2;
- Le niveau de confinement de l'installation concernée ;
- La fréquence d'utilisation de l'autoclave.

Les critères pris en considération ici ne sont pas exclusifs et d'autres critères pourraient intervenir et influencer le choix de la procédure de validation de l'inactivation de déchets par l'autoclave. Par exemple, dans une gestion centralisée de déchets issus de diverses activités de différentes classes de risque, la procédure de validation et de contrôle de l'inactivation par l'autoclave sera généralement la même pour tous ces déchets. Les critères de rationalisation et d'économie seront dans ce cas prioritaires et la procédure d'inactivation de tous les déchets par l'autoclave sera celle qui correspondra aux déchets présentant le plus de risques.

9. Annexes

Annexe 1 : Gestion des déchets et/ou matières biologiques issus des activités d'utilisations confinées d'organismes GM et/ou pathogènes.

La gestion des déchets et/ou matières biologiques résiduelles satisfait aux conditions stipulées dans les Arrêtés régionaux relatifs aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes. Aucune installation de niveau de confinement 4 n'existe actuellement en Belgique et ce niveau n'est donc pas repris dans les tableaux ci-dessous.

Ces conditions sont les suivantes :

Laboratoires

L1:

- Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée.
- Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets sont résistants, étanches et fermés avant de quitter le laboratoire.
- Avant lavage, réemploi et/ou destruction le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.
- Autoclave présent sur le site

L2:

- Les conditions L1
- Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont marqués du pictogramme "Danger biologique" et fermés avant de quitter le laboratoire.
- Autoclave présent dans le bâtiment

L3 :

- Les conditions L2
- Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont fermés et désinfectés avant de quitter la zone confinée.
- Les effluents des éviers et des douches sont de préférence inactivés par un procédé approprié et validé avant l'évacuation finale.
- Autoclave dans le laboratoire ou annexes avec des procédures validées permettant de transférer sans danger le matériel vers un autoclave situé dehors du laboratoire et offrant un niveau de protection équivalent.

Animaleries

A1 :

- Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés (cadavres, excréments, litières contaminées, etc.) et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets contaminés sont résistants, étanches, et fermés avant de quitter la zone confinée.
- Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, cages, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.
- Autoclave présent sur le site

A2 :

- Les conditions A1
- Autoclave présent dans le bâtiment

A3 :

- Les conditions A2
- Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont fermés et désinfectés avant de quitter la zone confinée.
- Les effluents des éviers et des douches sont inactivés par un procédé approprié et validé avant l'évacuation finale.
- Autoclave présent dans le laboratoire ou annexes avec des procédures validées permettant de transférer sans danger le matériel vers un autoclave situé dehors du laboratoire et offrant un niveau de protection équivalent.

Serres (« Greenhouse »)

G1

- Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés (plantes, substrats, ...) et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets sont résistants, étanches et fermés avant de quitter le laboratoire.
- Avant lavage, réemploi et/ou destruction le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.
- Autoclave présent sur le site.

G2

- Les conditions G1
- Autoclave présent dans le bâtiment.

G2Q

- Les conditions G2
- un autoclave est disponible dans la serre ou le local de culture. A défaut, des procédures validées permettent de transférer sans danger le matériel vers un autoclave situé en dehors de la serre ou du local de culture.
- Si la transmission se fait par le sol, il faut empêcher l'écoulement des eaux contaminées. Dans ce cas, les eaux d'écoulement sont collectées et inactivées.
- Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont fermés hermétiquement et désinfectés avant de quitter la zone confinée.

Procédés à grande échelle (« Large-scale »)

LS1

- Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets contaminés sont résistants, étanches et fermés avant de quitter l'installation.
- Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé
- Autoclave présent sur le site.

LS2

- Les conditions LS1
- Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont marqués du pictogramme "Danger biologique" et fermés avant de quitter l'installation.
- Les équipements de production sont dotés de ou raccordés directement à un système d'inactivation du matériel biologique (par exemple raccordés à une station de décontamination).
- Autoclave présent dans le bâtiment.

LS3

- Les conditions LS2
- Les effluents des éviers et des douches sont de préférence inactivés par un procédé approprié et validé avant l'évacuation finale.
- Un autoclave à double entrée est accessible dans l'installation. Les portes de l'autoclave doivent être asservies pour empêcher leur ouverture simultanée.

Annexe 2 : Pour en savoir plus sur la stérilisation à la vapeur d'eau.

1. Voici quelques notions importantes dans le cadre de l'inactivation de micro-organismes par la chaleur :
 - La valeur **D** ou **temps de réduction décimal** (figure 1, table 1) est une caractéristique de résistance thermique du micro-organisme. Il représente le temps nécessaire, à une température donnée, à la réduction de 90% de la population bactérienne (ou la réduction d'1 logarithme). Pour *G. stearothermophilus*, le temps de réduction D à 121° C est de 1,5 minutes.
 - La valeur **Z** ou **valeur d'inactivation thermique** est le changement de température nécessaire pour la réduction d'un logarithme de la valeur D. Pour *G. stearothermophilus* la valeur d'inactivation thermique Z est de 10°C.
 - La valeur **F₀** ou "**valeur stérilisatrice**" est le nombre de minutes nécessaire pour tuer un nombre déterminé de micro-organismes dont la valeur Z est 10°C à une température de 121,1°C.
 - La valeur **F** est le nombre de minutes nécessaire pour tuer un nombre déterminé de micro-organismes avec une certaine valeur Z à une certaine température.

Figure 1 : Courbe de survie d'un micro-organisme à température constante

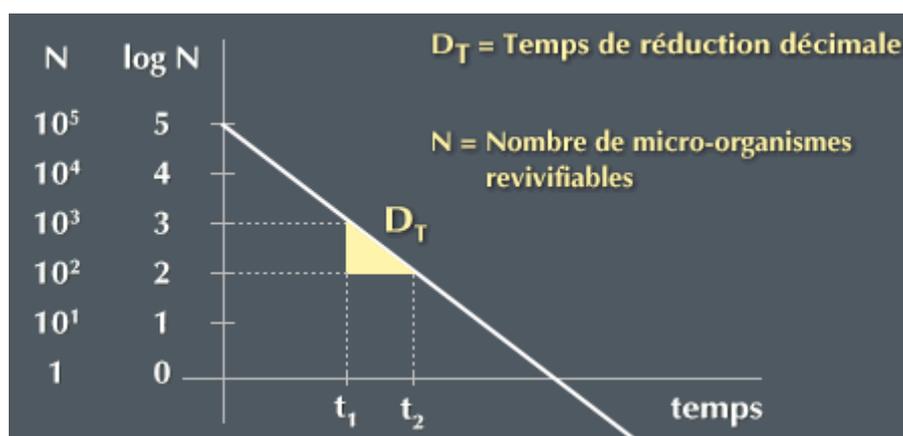


Table 1 : Temps de réduction décimal pour quelques bactéries :

Organism	Temp, T °C	D-value, D _T
<i>Campylobacter jejuni</i>	55	1 min
<i>Salmonella spp</i>	60	0.98 min
<i>Listeria monocytogenes</i>	71.7	3.3 sec
<i>Escherichia coli</i>	71.7	1 sec
<i>Staphylococcus aureus</i>	71.7	4.1 sec
<i>Clostridium perfringens</i>	90	145 min
<i>Clostridium botulinum</i>	121.1	12 sec
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	121.1	5.0 min

2. Pour déterminer le cycle de stérilisation idéal, trois paramètres sont pris en compte :

- Le nombre et le type de micro-organismes contaminant un objet ("bioburden");
- La valeur D, caractéristique de résistance thermique du micro-organisme contaminant ;
- Le SAL requis, généralement = 10^{-6} ou 10^{-3} .

Lorsque la charge microbienne à inactiver est inconnue ou complexe, l' « Overkill approach » est utilisé. Il s'agit de choisir une souche bactérienne (spores) très résistante à la chaleur, à une charge de 10^6 et dont la valeur D à 121.1°C est de 2 minutes. Pour une plus grande sécurité, la valeur de D est montée à 2.5 minutes :

« Bioburden » = 10^6

SAL = 10^{-6}

La réduction requise équivaut à $(6+6)\log = 12\log$

$$\Rightarrow (12\log) (2.5\text{min}/\log) = 30 \text{ minutes}$$

A $121,1^\circ\text{C}$, il faudra donc 30 minutes pour stériliser une charge avec 10^6 micro-organismes avec une probabilité de persistance d'un micro-organisme sur un million après le cycle de stérilisation.

Annexe 3 : Gestion des Déchets biologiquement contaminés, lignes directrices et filières d'élimination en Région de Bruxelles-Capitale

Tableau 1 : niveau de confinement L1

Type de déchet	Méthode d'inactivation à la source	Conditionnement	Voie d'élimination	Destination finale ou méthode d'inactivation finale
Déchets liquides	Thermique, par autoclavage	Récipient/ contenant quelconque	Éviers	Égout public
	Aucune (ou autoclavage optionnel)	Poubelles jaunes rigides biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération
Déchets solides	Thermique, par autoclavage	Poubelles assimilées aux déchets non-dangereux d'entreprise, sacs plastiques double emballage Ou Poubelles confinées distinctes des déchets ménagers, container-compacteur, disposés dans une aire de dépôt affectée à cet usage au sein de l'entreprise	Collecteur de déchets ménagers Collecteur déchets non inertes non dangereux	Incinération
	Aucune (ou autoclavage optionnel)	Poubelles jaunes rigides biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération
	Aucune ou autoclavage optionnel	Poubelles jaunes cartons biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération

Tableau 2 : niveau de confinement L2

Type de déchet	Méthode d'inactivation à la source	Conditionnement	Voie d'élimination	Destination finale ou méthode d'inactivation finale
Déchets liquides	Thermique, par autoclavage	Récipient/ contenant quelconque	Éviers	Égout public
	Aucune (ou autoclavage optionnel)	Poubelles jaunes rigides biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération
Déchets solides	Thermique, par autoclavage	Poubelles assimilées aux déchets non-dangereux d'entreprise, sacs plastique double emballage Ou Poubelles confinées distinctes des déchets ménagers, container-compacteur, disposés dans une aire de dépôt affectée à cet usage au sein de l'entreprise	Collecteur de déchets ménagers Collecteur déchets non inertes non dangereux	Incinération
	Aucune (ou autoclavage optionnel)	Poubelles jaunes rigides biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération
	Aucune ou autoclavage optionnel	Poubelles jaunes cartons biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération

Tableau 3 : niveau de confinement L3

Type de déchet	Méthode d'inactivation à la source	Conditionnement	Voie d'élimination	Destination finale ou méthode d'inactivation finale
Déchets liquides	Thermique, par autoclavage	Poubelles jaunes rigides biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération
Déchets solides	Thermique, par autoclavage	Poubelles jaunes rigides biohazard	Collecteur agréé déchets dangereux	Incinération

Tableau 4 : niveau de confinement A1

Type de déchet	Méthode d'inactivation à la source	Conditionnement	voie d'élimination	Destination finale ou méthode d'inactivation finale
Litières souillées et excréments	Thermique, par autoclavage	Poubelles assimilées aux déchets non-dangereux d'entreprise, sacs plastiques double emballage Ou Poubelles confinées distinctes des déchets ménagers, container-compacteur, disposés dans une aire de dépôt affectée à cet usage au sein de l'entreprise	Collecteur enregistré en tant que collecteur de sous-produits animaux de catégorie 2 (Collecteur de déchets ménagers Collecteur déchets non inertes non dangereux)	Incinération

Tableau 5 : niveau de confinement A2

Type de déchet	Méthode d'inactivation à la source	Conditionnement	voie d'élimination	Destination finale ou méthode d'inactivation finale
Litières souillées et excréments	Thermique, par autoclavage	Poubelles assimilées aux déchets non-dangereux d'entreprise, sacs plastiques double emballage Ou Poubelles confinées distinctes des déchets ménagers, container-compacteur, disposés dans une aire de dépôt affectée à cet usage au sein de l'entreprise	Collecteur enregistré en tant que collecteur de sous-produits animaux de catégorie 2 (Collecteur de déchets ménagers Collecteur déchets non inertes non dangereux)	Incinération

Tableau 6 : niveau de confinement A3

Type de déchet	Méthode d'inactivation à la source	Conditionnement	voie d'élimination	Destination finale ou méthode d'inactivation finale
Litières souillées et excréments	Thermique, par autoclavage	Poubelles jaunes rigides biohazard, containers, fûts... hermétiques et identifiés	Collecteur agréé déchets dangereux + enregistré en tant que collecteur de sous-produits animaux de catégorie 2	Incinération
	Alternative à l'autoclavage (inactivation chimique et thermique en container spécialisé,...)	Poubelles jaunes rigides biohazard, containers, fûts... hermétiques et identifiés	Collecteur agréé déchets dangereux + enregistré en tant que collecteur de sous-produits animaux de catégorie 2	Incinération

10. Références

1 : Directive 91/689/CEE du Conseil du 12 décembre 1991 relative aux déchets dangereux, modifiée en dernier lieu par la Directive 94/31/CE et remplaçant la Directive 78/319/CEE du Conseil relative aux déchets toxiques et dangereux.

2 : Arrêtés des gouvernements régionaux

- Arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes, modifié par l'Arrêté du Gouvernement wallon du 5 juin 2008 modifiant l'arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 *déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes*.
- Arrêté du Gouvernement de la Région de Bruxelles-Capitale du 8 novembre 2001 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes et au classement des installations concernées.
- Arrêté du Gouvernement flamand du 6 février 2004 modifiant l'arrêté du Gouvernement flamand du 6 février 1991 fixant le règlement flamand relatif à l'autorisation écologique et modifiant l'arrêté du Gouvernement flamand du 1er juin 1995 fixant les dispositions générales et sectorielles en matière d'hygiène de l'environnement.

3 : NF EN 12740 : 1999 : Biotechnologie – Laboratoires de recherche, développement et analyse – guide pour la manipulation, l'inactivation et le contrôle des déchets.

4 : Recommandations de biosécurité relatives au traitement et aux méthodes d'inactivation des déchets biologiques contaminés. L. Berghmans, K. Pauwels, B. Van Vaerenbergh, C. Do Thi, P. Herman, 2006. Bibliothèque Royale de Belgique n° D/2006/2505/33.

5 : ISO 11139 : 2006 : Stérilisation des produits de santé – Vocabulaire.

6 : NBN EN 285 : 1996 : Stérilisation - Stérilisateurs à la vapeur d'eau - Grands stérilisateurs

7 : NBN EN 13060 : 2004 : Petits stérilisateurs à la vapeur d'eau.

8 : NBN EN 12347 : 1998 : Biotechnologie - Équipement - Critères de performance pour les stérilisateurs à la vapeur d'eau et les autoclaves.

9 : " Un service de Stérilisation à l'hôpital" 2002. Fiche d'exercice : interpréter un diagramme de stérilisation, définir les différentes étapes d'un cycle de stérilisation, mettre en relation étapes et comportement des emballages. CRDP du Nord – Pas-de-Calais

10 : NBN EN 554, remplacée par la norme NBN EN ISO 17665 – 1 : 2006 : Stérilisation des produits de santé – Chaleur humide – Partie1 : Exigences pour le développement, la validation et le contrôle de routine d'un procédé de stérilisation des dispositifs médicaux.

11 : Arrêté Royal du 18 octobre 1991 relatif aux appareils à vapeur transposant la Directive 87/404/CEE du Conseil du 25 juin 1987 concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux récipients à pression simples.

12 : Assurance de la qualité dans le laboratoire d'analyse microbiologique des aliments. 1992, Volume 12, Food and Agriculture Organization, Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

- 13 : EN 867-1, remplacée par la norme NBN EN ISO 11140-1 : 2005 : Stérilisation des produits de santé – Indicateurs chimiques – Partie 1 : Exigences générales.
- 14 : EN 867-5, remplacée par la norme NBN EN ISO 11140-5 : 2007 : Stérilisation des produits de santé – Indicateurs chimiques – Partie 5 : indicateurs de classe 2 pour le test d'élimination d'air de Bowie and Dick.
- 15 : NBN EN ISO 11138-1 : 2006 : Stérilisation des produits de santé – Indicateurs biologiques – Partie 1 : Exigences générales
- 16 : NBN EN ISO 11138-3 : 2006 : Stérilisation des produits de santé – Indicateurs biologiques – Partie 3 – Indicateurs biologiques pour la stérilisation à la chaleur humide.
- 17 : EN 866-3 :1997 : Systèmes biologiques pour l'essai des stérilisateur et les procédés de stérilisation – Partie 3 : Systèmes destinés à être utilisés dans les stérilisateur à la chaleur humide.
- 18 : Autoclave validation for microbiological and biomedical laboratories. F. Gmuender. Asia-Pacific Biosafety Association Newsletter, Jan 2010, Vol3, N°1.
- 19 : Guide de test de provocation microbiologique des autoclaves de traitement de déchets médicaux. J. Emmanuel et E. Krisiunas. United Nations Development Programme, GEF Global Healthcare Waste Project. Novembre 2010.
- 20: NF X 30-503, Juin 2004: Réduction des risques microbiologiques et mécaniques par les appareils de prétraitement par désinfection des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés.
- 21 : Gestion des Déchets biologiquement contaminés et lignes directrices et filières d'élimination en Région de Bruxelles-Capitale. Tableaux récapitulatifs élaborés à l'IBGE par Mme C. Jasinski en collaboration avec les services Autorisation, Inspection et le SBB.