

Utilisation sécuritaire des autoclaves



Introduction

- Cet atelier autoguidé est une introduction aux mesures générales de sécurité des autoclaves. Il sert de base à la formation spécifique à la tâche qui sera fournie par le superviseur ou un autre service de l'Université.
- Pour réussir le présent atelier de sensibilisation, vous devez répondre au questionnaire d'évaluation. Votre résultat sera enregistré dans le système une fois cette étape terminée.

Principaux sujets abordés

- But de la formation
- Principes de l'autoclavage
- Contrôle de la qualité des cycles d'autoclavage
- Préparation de l'autoclavage
 - Objets et matières **autoclavables** et **non autoclavables**

Responsabilités

- Au travail, chaque personne, peu importe son rôle, doit veiller à la sécurité :
 - de sa propre personne;
 - des autres;
 - de l'environnement.
- L'utilisation sécuritaire des autoclaves requiert une formation (en ligne et en laboratoire), de la supervision et une autorisation du personnel de supervision.



Quels sont les risques?

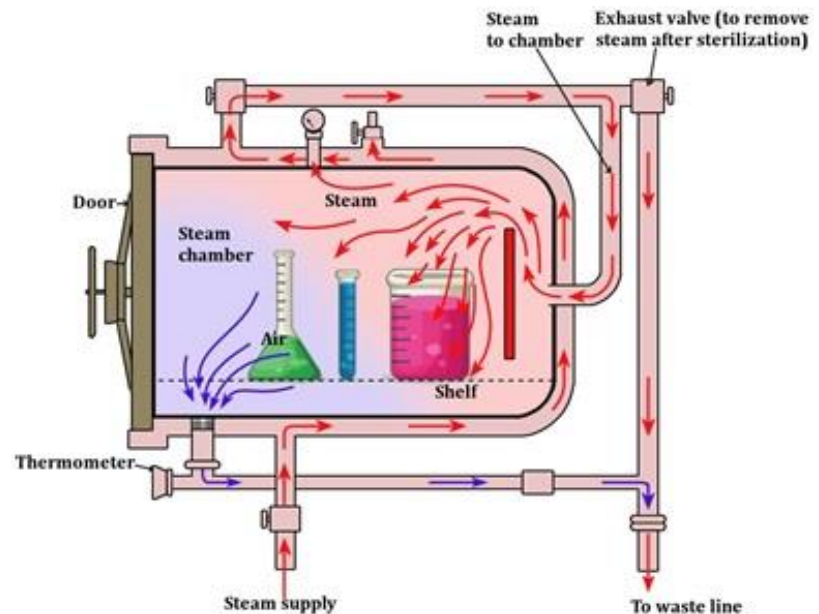
- La mauvaise manipulation de matières biologiques dangereuses et l'autoclavage d'échantillons interdits peuvent causer des blessures aux utilisateurs et au personnel, par exemple :
 - des lacérations causées par des objets acérés placés dans des sacs prévus pour les déchets biologiques dangereux;
 - une détresse respiratoire causée par les vapeurs toxiques émanant de l'autoclavage de substances interdites (p. ex., phénol ou formaldéhyde).
- L'autoclavage d'échantillons interdits peut endommager l'équipement.
 - Certaines substances, comme les agents de blanchiment, sont corrosives pour les parois internes de l'autoclave.

Principes de l'autoclavage

- Qu'est-ce que l'autoclavage?
- Comment fonctionne l'autoclave?

« Un autoclave est un appareil servant à éliminer les déchets biologiques dangereux à la surface d'outils ou d'instruments. Il a été inventé par Charles Chamberland en 1884. Les autoclaves effectuent une stérilisation ou désinfection physique grâce à la pression, à la chaleur et à la vapeur. On parle souvent d'appareils de stérilisation à la vapeur. »

www.scienceabc.com



Stérilisation ou décontamination

- Différences sur le plan sémantique
- Même chose sur le plan technique
- Les exigences légales dépendent de l'environnement de travail :
 - Hôpitaux
 - Secteur pharmaceutique
 - Universités

Quelle est la différence?

Stérilisation

- S'entend de la **destruction totale** des contaminants.
- L'absence de contaminant microbiologique potentiel est un critère essentiel de la préparation des protocoles expérimentaux.



Décontamination

- S'entend de la **réduction de la contamination** à un niveau qui élimine tout risque pour les gens et l'environnement.
- Technique de traitement des déchets



La chaleur humide est préférable à la chaleur sèche

Chaleur humide

- Température plus basse jumelée à une forte pression d'eau (vapeur)
- Coagulation ou dénaturation plus rapide des protéines
- ~~Même chose pour les membranes, ribosomes, ADN/ARN~~
- Pénétration et transfert d'énergie plus efficaces

Chaleur sèche

- Température plus élevée et durée prolongée
- Oxydation et déshydratation (protoplasme) : processus plus lent
- Protéines, ADN/ARN
- Plus grande stabilité des protéines

Autoclave à chaleur humide

- Récipient pressurisé permettant de dépasser les 100 °C (121 °C, 132 °C)
 - 15 psi permettent d'atteindre 121 °C.
 - La chaleur compte, pas la pression.
- **Facteurs importants**
 - Température et durée
 - Remplacement complet de l'air par de la vapeur
 - Tolérance des micro-organismes, des milieux et du matériel
 - Emballage qui maximise la pénétration de la chaleur en fonction des caractéristiques de charge (volume, densité). Exemple : La stérilisation de 1 L de milieu de culture dans un ballon de 2 L prendra plus de temps que la stérilisation de 4 milieux de 250 ml dans des ballons de 500 ml.



Cycles de l'autoclave

- Différents objets et différentes matières
- Différents cycles
- Différents temps de stérilisation

Cycle à vide partiel

- **Phase de montée en température** : Impulsions à vide (3 ou 4) en alternance avec des injections de vapeur pour évacuer les poches d'air.
- Pour le matériel tolérant à la chaleur et à la mise sous vide (p. ex., verrerie, pipettes en verre dans des boîtes métalliques, déchets dans des sacs pour autoclave) – températures plus élevées et processus plus rapide.
- Températures de stérilisation : 121 °C, 132 °C, 134 °C (100 °C à 141 °C)

Cycle à vide partiel (suite)

- Cycle accéléré (même à 121 °C) grâce à une meilleure pénétration de la vapeur.
- Comprend une phase de séchage, selon le réglage.
- Certains articles ne tolèrent pas la mise sous vide lorsqu'ils sont chauffés (p. ex., anneaux de plastique délicats).

Cycle par gravité

- Pour les articles de verre, de plastique ou de métal.
- L'air et la vapeur ne se mélangent pas facilement.
- L'air est plus lourd que la vapeur et est poussé vers le bas de la chambre et vers l'extérieur, par le drain (des poches d'air froid non saturées de vapeur demeurent).



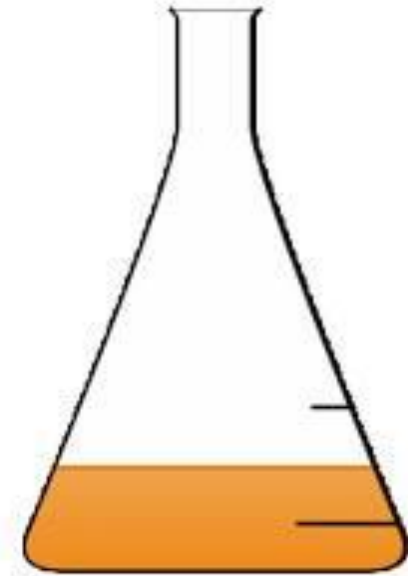
Cycle par gravité (suite)

- Ne convient pas aux liquides parce que l'évacuation est trop rapide.
- Température de stérilisation : 121 °C.
- Comprend une phase de séchage, selon le réglage.
- La stérilisation par gravité est plus lente que le cycle à vide partiel.



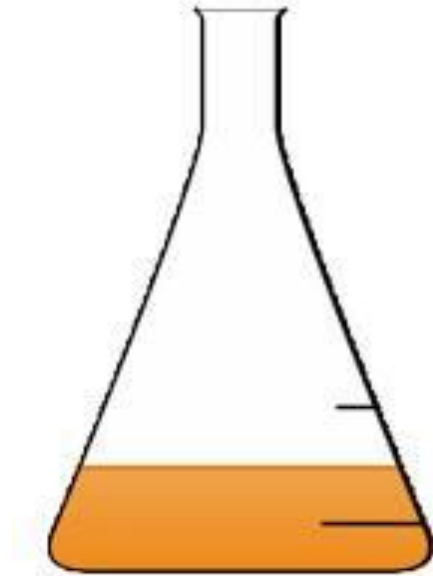
Cycle liquide

- Pour les liquides et les milieux contenus dans des boîtes métalliques ou des récipients de verre borosilicaté avec évent.
- Température de stérilisation : 121 °C.
- Comprend une **phase d'évacuation lente** qui prévient les renversements.
Éviter de trop remplir les ballons : volume maximal de 50-60%.



Cycle liquide (suite)

- Conditions plus douces pour les matières sensibles (et même solides).
- Produit plus de condensation à la fin parce qu'il n'y a pas de phase de séchage.



Préparation de l'autoclavage

Comment favoriser la pénétration de la chaleur

- Les récipients et les sacs de déchets biologiques dangereux doivent être fermés non hermétiquement.
- Le papier d'aluminium empêche la pénétration.
- Ne pas trop remplir les récipients et les sacs :
 - Faible densité : < 75 % de la capacité
 - Liquides ou haute densité : de 25 à 60 % de la capacité
- Suivre les procédures d'autoclavage de la faculté.

Validation des cycles

COMMENT?

- Ruban indicateur (sur chaque article)
- Indicateurs biologiques (une fois par semaine)
- Intégrateur de stérilisation (moniteur de lecture immédiate)
- Sonde de charge et sonde de chambre (pour la prise de température)

POURQUOI?

- Exigence légale de décontamination (réduction logarithmique de 6)
- Assurance qualité pour la stérilisation et la décontamination

QUAND?

- Chaque semaine
- Conservation des dossiers pendant deux ans (réglementation environnementale)

Ruban indicateur

- Doit être apposé sur les sacs et sur chaque article (p. ex., sacs de déchets biologiques dangereux, paniers, troussees chirurgicales).
- Utilisé pour indiquer que la température d'autoclavage est atteinte.
- La marque apparaît normalement à 121 °C – ***seulement un indicateur : ne prouve pas que le contenu est bien décontaminé ou stérilisé.***



Indicateur biologique

- Spores de *Geobacillus stearothermophilus* (bactérie à Gram positif thermophile)
- En raison de sa grande résistance à la chaleur, cette bactérie est un bon indicateur biologique de vie microbienne après un cycle de stérilisation.



Indicateur biologique (suite)



- Valeur de réduction logarithmique (réduction de 1 log = 90 % de réduction des unités formant colonie).
- $\geq 10^5$ à $\geq 10^6$ spores par ampoule
- Nous utilisons un niveau garanti de stérilité équivalant à une réduction de 6 logs (99,9999 %).
 - La réglementation environnementale concernant les déchets exige un niveau de $\geq 10^6$.
 - Obligation de tenir un registre hebdomadaire des déchets liquides et solides et de le conserver pendant deux ans.

Cycles de stérilisation

Comprend normalement ce qui suit :

- Eau
- Solutions de culture
- Solutions tampons pour la culture cellulaire
- Substances stables non volatiles
- Instruments chirurgicaux
- Objets en verre
- Acier inoxydable
- Boîtes pour culture et autres articles liés
- Embouts de pipette
- Tubes à essai

Cycles de décontamination

Comprend normalement ce qui suit :

- Déchets de milieux liquides (dans des ballons en verre ou en polypropylène autoclavables)
- Déchets solides contaminés de matières biologiques dangereuses (dans des sacs orange pour déchets biologiques dangereux)
 - Boîtes de Petri
 - Boîtes/plaques/flacons pour culture cellulaire
 - Microcentrifugeuse (p. ex., tubes Eppendorf)
 - Centrifugeuse (p. ex., tubes Falcon, FroggaBio)
 - Embouts de pipette
 - Gants
 - Essuie-tout
 - Aliments et literie pour animaux

La question à 64 000 \$

**Mon matériel et mes
déchets sont-ils
autoclavables?**

Objets et matières **AUTOCLAVABLES**

- Milieux de culture, solutions tampons pour la culture cellulaire et tissulaire, substances stables non volatiles
- Cultures et stocks de matières infectieuses
- Boîtes pour culture et autres articles liés
- Vaccins vivants et atténués rejetés
- Objets solides contaminés par des matières biologiques dangereuses (boîtes de Petri, tubes sans déchets chimiques, pipettes, embouts, gants, essuie-tout)



Objets et matières NON AUTOCLAVABLES

Ne pas placer les substances suivantes dans les sacs orange pour déchets biologiques dangereux :

- Hypochlorite de sodium (p. ex., **AGENT DE BLANCHIMENT, EAU DE JAVEL**) ou autres produits chlorés
- **SOLVANTS ORGANIQUES** ou autres matières organiques instables qui génèrent des vapeurs lorsqu'elles sont chauffées (p. ex., formaldéhyde, formamide, *b*-mercaptoethanol)



Objets et matières NON AUTOCLAVABLES

- **ACIDES** et **ALCALIS**
- **MATIÈRES INFLAMMABLES**
- **COMBURANTS**
- **PHÉNOL** ou **TRIZol** (thiocyanate-guanidinium phénol-chloroforme)

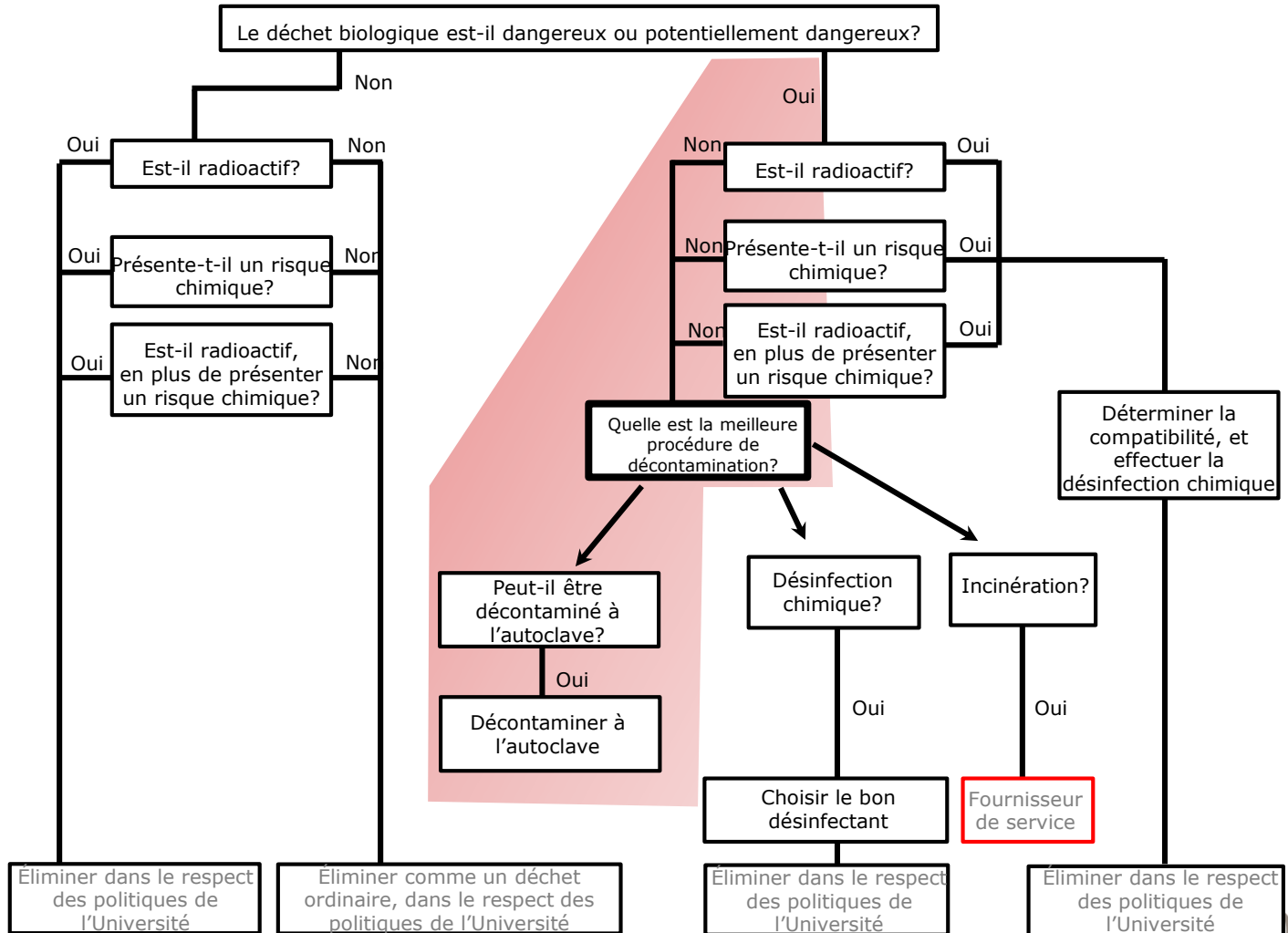


Objets et matières NON AUTOCLAVABLES

- MATIÈRES RADIOACTIVES
- MATIÈRES CONTAMINÉES PAR DES AGENTS CHIMIOTHÉRAPEUTIQUES
- Substances mutagènes (p. ex., bromure d'éthidium)
- Objets acérés



Organigramme



Réipients primaires et secondaires

- Les **réipients primaires** sont en contact direct avec le matériel à passer à l'autoclave. Ils peuvent être faits de verre borosilicaté ou de plastique (sacs ou autres contenants).
- Les **réipients secondaires** servent à contenir les éventuels dégâts qui pourraient survenir pendant le transfert ou le traitement.



Réipients primaires et secondaires

- Les réipients doivent être :
 - autoclavables;
 - résistants à la chaleur;
 - à l'épreuve des perforations;
 - à l'épreuve des fuites;
 - très thermoconducteurs.



Tout le matériel doit être autoclavable

Autoclavables

- **Plastiques** (polypropylène [PP] et polycarbonate [PC])
- **Verre** (verre borosilicaté de type I)
- **Acier inoxydable**



Non autoclavables

Ces matières vont fondre ou se briser :

- polystyrène (PS), polyéthylène (PE);
- plastique de polyéthylène haute densité (PEHD);
- verre de ménage.



Équipement de protection individuelle

- Sarrau
- Gants (en nitrile, thermorésistants)
 - *Les gants mouillés n'offrent **aucune** protection ou isolation.*
- Lunettes de protection et visière
- Tablier
- Chaussures fermées



Décontamination des déchets biologiques dangereux par autoclave

Réceptif primaire

Sac autoclavable

- Utiliser seulement des sacs dont l'utilisation est approuvée pour l'autoclave (pour utilisation à 134 °C, et non à 121 °C).
- Si l'extérieur du sac est contaminé, le doubler ou le décontaminer.
- Chaque sac **doit porter une étiquette de déchet biologique dangereux de l'Université d'Ottawa dûment remplie.**



ACCEL SURFACE CLEANER-DISINFECTANT

- > **Formats**
 - > Concentrate
- > **Active Chemistry**
 - > 7% AHP (Concentrate)
 - > 0.5% AHP In-Use
- > **Product Specifications**
 - > 24 month shelf life
 - > 30 days once diluted into an enclosed contain



DÉCHET DANGEREUX / HAZARDOUS WASTE	
Université d'Ottawa University of Ottawa	
PROFESSEUR/PROFESSOR	
ÉDIFICE/BUILDING	TEL/TEL
PIÈCE # / ROOM#	PERSONNE RESSOURCE
CONTENU/CONTENTS	
INFORMATION SPÉCIALE / SPECIAL INFORMATION	
EN CAS D'URGENCE, COMPOSEZ IN CASE OF EMERGENCY CALL	5411
DÉCHET DANGEREUX / HAZARDOUS WASTE	

Réceptier primaire (suite)

- **LA DÉCONTAMINATION À L'AUTOCLAVE CONVIENT SEULEMENT AUX DÉCHETS BIOLOGIQUES DANGEREUX SOLIDES, et à aucun autre type de déchets chimiques.**
- Les sacs orange pour déchets biologiques dangereux ne doivent **JAMAIS** servir de sacs poubelle ordinaires pour le labo.

Réceptif secondaire

- Les réceptifs secondaires servent à contenir les éventuels dégâts qui pourraient survenir pendant le transfert ou le traitement.
- Ils doivent avoir les mêmes caractéristiques que les réceptifs primaires (p. ex., être autoclavables).



Ce que doivent fournir les laboratoires

- Sac orange pour les déchets biologiques dangereux (p. ex., sacs orange pour autoclave de marque Fisherbrand™, 1815C [35 x 24 po]; une boîte de 100 coûte environ 110 \$).
- Étiquettes pour déchets biologiques dangereux de l'Université d'Ottawa (gratuites – faire une [demande de collecte régulière des Services techniques de gestion des matières dangereuses](#)).
- Plateau de stérilisation à l'autoclave (p. ex., plateaux de stérilisation en polypropylène Nalgene™ de Thermo Scientific™, de grande taille, 13-359-20B; une boîte de 6 coûte environ 400 \$).



Emballage

Sacs orange pour déchets biologiques dangereux

- Déchets à faible densité : **ne pas remplir à plus de 75 % de la capacité.**
- Déchets à densité plus élevée : limiter le volume de déchets par sac (p. ex., 25 à 60 % de la capacité).
- Ne pas trop remplir les sacs.
- **Ne pas fermer les sacs hermétiquement.**



Transport

- Utiliser un chariot muni de rebords ou un contenant pour éviter les dégâts.
- Les sacs pour autoclave, ballons et autres articles doivent être transportés dans des récipients secondaires en tout temps.
- Mettre un bouchon sur les ballons contenant du liquide, qu'il soit contaminé ou non.



Transport (suite)

- Mettre un couvercle sur les récipients primaires de déchets solides.
- Ne jamais transporter des déchets biologiques dangereux dans ses mains, et ne pas emprunter les escaliers.



Mise au rebut des déchets après l'autoclavage

Une fois passés à l'autoclave, les déchets biologiques ne sont plus considérés comme dangereux. On peut les jeter avec les déchets ordinaires, dans le respect de la politique d'étiquetage et des procédures de la faculté.

Procédure générale de mise au rebut

- Effacer les symboles de danger de contamination.
- Dater et apposer sur chaque sac une étiquette « Déchets biomédicaux autoclavés non dangereux » de l'Université d'Ottawa.
- Placer le tout dans des sacs à déchets ordinaires.

Dangers liés à l'autoclave

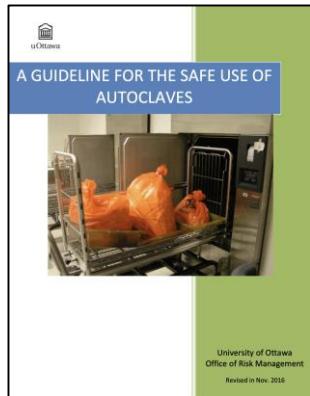
Autoclave

- **Chaleur** (température élevée de certaines parties)
- **Vapeur** s'échappant de la chambre
- **Contenu et système sous pression**

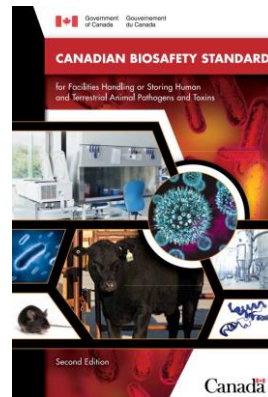
Objets et matières

- Matières biologiques potentiellement dangereuses
- Substances interdites (p. ex., produits chimiques, objets acérés)
- Objets en verre (qui peuvent éclater)
- Objets en plastique (qui peuvent fondre)
- Liquides chauds (qui peuvent se renverser)

Références



[Lignes directrices pour une utilisation sécuritaire de l'autoclave \(en anglais\)](#)



[Normes et lignes directrices canadiennes sur la biosécurité](#)



[Guide canadien sur la biosécurité](#)

Services de l'Université

- **Pour obtenir de l'aide**
 - Personnel de supervision
 - [Agent de gestion de la santé, de la sécurité et des risques](#) de la faculté
 - Bureau de la gestion du risque
 - Poste 5892 | safety@uOttawa.ca

Questionnaire

- Pour réussir le présent atelier de sensibilisation, vous devez [ouvrir une session et répondre au questionnaire d'évaluation](#). Votre résultat sera enregistré dans le système une fois cette étape terminée.
- Cette formation est la première étape du cycle de formation. Veuillez suivre vos règlements facultaires pour le processus d'autoclave, y compris la formation spécifique de l'appareil.