

Conditionnement Aseptique

I. Introduction

Ce n'est **pas une méthode de stérilisation**, mais c'est le fait de garder l'état de stérilité même après certaines manipulations.

Définition : L'asepsie est l'ensemble des précautions prises pour empêcher tout apport exogène de micro-organismes (ex. bactéries, champignons, virus, parasites...).

La préparation aseptique a pour but de **maintenir la stérilité** d'un produit obtenu à partir de composants préalablement stérilisés.

Pour cela, différents paramètres doivent être contrôlés, tels que **l'environnement, le personnel et les surfaces critiques**.

Cela implique : +++

- **Flux laminaires** : atmosphère stérile, pas de particules
- **Locaux, atmosphère contrôlée** : salles propres, air filtré
- **Zones atmosphère contrôlée**

Les manipulations se feront à l'intérieur d'une enceinte avec un **flux d'air laminaire**, mais attention : celui-ci ne rend pas l'objet stérile et permet juste de garder son état stérile. Cela veut donc dire que l'objet doit **préalablement être stérilisé**. +++

Retenez qu'on ne stérilise pas avec cette méthode mais elle permet de garder les objets stériles !!

II. Les zones à atmosphère contrôlée

Les zones à atmosphère contrôlée ont un niveau de propreté **contrôlé**, une contamination microbienne et particulaire définie et maîtrisée, pour limiter le nombre de contaminants. Il y a **différentes classes** avec **différents niveaux de propreté**.

Il y a une régulation de certains paramètres dans ces **ZAC** :

- § **Taux de renouvellement de l'air**
- § **Nombre de particules et micro-organismes admis** (on ne peut pas avoir aucune bactérie dans l'air)
- § **Pression relative**
- § **Température**
- § **Humidité relative**

Cela donne alors différentes classes en fonction du risque :

- **Classe A** : haut risque ; remplissage, connexions aseptiques ; sous **flux d'air laminaire**.
- **Classe B** : **préparation** et **remplissage aseptique** ; **environnement immédiat de la zone A**.
- **Classes C et D** : zones à atmosphère contrôlée pour les étapes moins critiques de la fabrication.

Les **3 classes de ZAC** définissent des **niveaux de propreté** et en fonction de la manipulation que l'on veut réaliser il y a un seuil de **MO** à ne pas dépasser.

En gros dans la fiche de votre tutrice de pharmacie de l'année il y avait un tableau qui n'était pas à apprendre mais où l'on voyait le nombre de micro-organismes tolérés selon les différentes classes.

En gros plus on monte dans les classes (en partant des dernières classes C et D pour finir à la classe A) plus le nombre de micro-organismes acceptés est faible (il n'est jamais nul).

*Donc dans la **Classe A** on en accepte beaucoup moins de MO que pour la **Classe B** et ainsi de suite jusqu'aux classes **C** et **D**.*



Au-delà des locaux, l'air est un point très important. Il sera propre et filtré avec un **filtre HEPA++** (High Efficiency Particular Air filter), qui permet la rétention de plus de **99,997%** des particules de diamètre supérieur à **0,3µm**.
La circulation d'air doit être à vitesse constante.

III. Les conditions de travail

Mesures de protection	Conditions		
	Propres	Intermédiaires	Salles
Port de gants stériles	Oui	Oui	Non
Port de manchons stériles	Oui	Non	Non
Décontamination du flux	Oui	Oui	Non
Désinfection des gants	Oui	Oui	Non
Champ stérile	Oui	Oui	Non
Allumage du flux 15 minutes avant la 1 ^{ère} préparation	Oui	Oui	Non

En fonction de l'état de propreté défini en fonction des classes et des locaux, il faudra ou non porter des gants stériles, utiliser des champs stériles ou faire des décontaminations de flux.

IV. Le test de stérilité

Ce test s'effectue après la stérilisation du produit, lors de la production avec un remplissage aseptique. On vérifie la stérilité en **milieu liquide** et pendant **14 jours**. Ce test peut être réalisé sur une membrane par filtration en condition aseptique sur **membrane $\leq 0,45\mu\text{m}$** .

V. Les tests des endotoxines bactériennes

Les **endotoxines bactériennes** sont des **molécules pyrogènes** (qui entraînent une augmentation de la température quand elles sont injectées à un individu) issues des bactéries **Gram-**.

a. Ancien test

Le **test de limule** utilise le **lysate d'améboocyte de limule** (extrait de cellules sanguines de limule), qui a la propriété de coaguler en présence de quantité infimes d'endotoxines bactériennes. Il y a aussi des troubles ou des colorations.

b. Nouveau test

Une nouvelle méthode de **test in vivo** utilisant du **sang humain** ou une **lignée monocyttaire** (leucocytes permettant les défenses de l'organisme) a vu le jour.

Ce test reproduit la **réponse immunitaire innée chez l'humain** à la réaction fébrile causée par les pyrogènes.

Il inclut un **témoin positif** et un **témoin négatif**, est facile à réaliser et a un **haut niveau de sensibilité** (a peu de faux négatifs).

Il est **promu par la réglementation** depuis son introduction dans la Pharmacopée Européenne.

Ne confondez pas les deux test (ils sont tous les deux utilisés)

