

Conditionnement aseptique

I. Introduction

L'asepsie n'est **pas une méthode de stérilisation** : c'est le fait de garder l'état de stérilité même après certaines manipulations.

C'est l'ensemble des précautions prises pour empêcher tout apport exogène de micro-organismes et **maintenir la stérilité** d'un produit obtenu à partir de composants préalablement stérilisés.

Il y a un contrôle de différents paramètres comme **l'environnement, le personnel** et les **surfaces critiques** :

- Des **flux laminaires** pour une atmosphère stérile sans particules
- **Locaux, atmosphère contrôlée** (air propre filtré)
- **Zones à atmosphère contrôlée** (ZAC)

Les manipulations se feront à l'intérieur d'une enceinte avec un flux laminaire, 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**.

II. 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 **5 paramètres** dans les ZAC :

- Taux de renouvellement de l'air
- Nombre de particules et micro-organismes admis (c'est impossible d'avoir zéro bactérie dans l'air)
- Pression relative
- Température
- Humidité relative

Plusieurs classes sont définies en fonction du risque :

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

Ces classes définissent des niveaux de propreté croissants de D à A (A étant le plus propre) avec des nombres de micro-organismes admis de plus en plus faibles de D à A (*A admet beaucoup moins de micro-organismes que B, et ainsi de suite pour les classes C puis D*)

(le tableau avec les nombres de micro-organismes admis n'est pas à connaître, il est juste dans le cours à titre illustratif, donc je ne l'ai pas mis. Retenez juste que plus la classe est à risque élevé, plus on fait attention et moins on admet de micro-organismes)

En plus des locaux, l'air est très important : il doit être 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 de l'air doit être à vitesse constante.**

III. Les conditions de travail

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.

| Mesures de protection | Conditions | | |
|---|------------|----------------|-------|
| | Propres | Intermédiaires | Sales |
| 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 |

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 pendant **14 jours**. Ce test est réalisé sur une membrane par filtration en condition aseptique sur membrane par filtration en condition aseptique sur **membrane $\leq 0,45\mu\text{m}$**

test de stérilité \neq test d'endotoxines bactériennes

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- (*coucou la microbio*)

L'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 quantités infimes d'endotoxines bactériennes. Il y a aussi des troubles ou des colorations.



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.

Dédis :

- Aux limules pour ce qu'elles font pour la science, et parce qu'elles sont trop mignonnes
- Au concept « d'asepsie verbale » sur le rapport de stage infirmier
- A Charlotte, ma petite sœur, et à sa passion pour les ramen
- A Giliane, la plus stylée des futurs pilotes d'avion
- A Emma, et à son courage pour supporter le TER à chaque fois qu'elle vient sur Nice
- A Camilya, la plus gentille des CT !! Et qui lutte pour maintenir ce forum préhistorique
- A Yacine, qui m'a appris que « l'infarctus c'est la lutte contre le temps » j'en connais une qui serait fière de toi
- A Meyli, une belle personne, si stable, on dirait presque qu'elle est enracinée (trop vue cette blague ?)
- A Nahélé, et ses goûts musicaux de goat