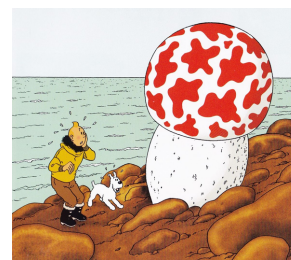


CONDITIONNEMENT ASEPTIQUE

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 (je cite le prof Piccerelle) : « 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.** »



Les aventures de Tintin et les micro-organismes

Cela implique :

- ✓ **Flux laminaire** : 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**.

A. LES ZONES A ATMOSPHERE CONTROLEE :

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.

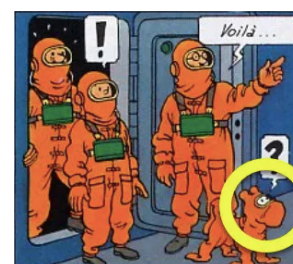
Classe	Nombre maximal autorisé de particules/m ³ de taille supérieure ou égale à			
	Au repos		En activité	
	0.5 µm	5 µm	0.5 µm	5 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352'000	2900
C	352'000	2900	3'520'000	29'000
D	3'520'000	29'000	Non défini	Non défini

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.

B. LES CONDITIONS DE TRAVAIL

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

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.



C. LE TEST DE STERILITE :

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 $\leq 0,45\mu\text{m}$.

D. LES TESTS DES ENDOTOXINES BACTERIENNES :

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 -**. 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.

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.