

MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE DE SIMULATION DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE PAR MEDIA FILL ET VALIDATION DES OPERATEURS DE PRODUCTION

Stucki Cyril, De Giorgi Isabella, Sadeghipour Farshid, Bonnabry Pascal
Pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), 1211 Genève 14, Suisse

INTRODUCTION

L'évolution de la notion de qualité en pharmacie hospitalière impose au pharmacien d'améliorer sans cesse la sécurité liée à la fabrication et au circuit du médicament. Cette sécurité est particulièrement critique lors de processus comme la production aseptique où une erreur d'asepsie peut avoir des conséquences désastreuses. Il est important, dans une optique d'assurance qualité, d'essayer de s'assurer des points les plus critiques de la production aseptique, en particulier les opérateurs et leurs manipulations.

Les tests de simulation de remplissage appelés media fill consistent en un remplissage d'unité avec du milieu de culture. Ils sont utilisés afin de rendre compte des éventuelles contaminations issues des manipulations des opérateurs. La validation par media fill est de 2 ordres : validation initiale et validation périodique. La validation initiale s'effectue en vue de valider un nouvel opérateur, un opérateur qui n'a pas produit depuis au moins 12 mois, un nouvel équipement, un changement majeur, ou pour revalider un procédé dont on a perdu la maîtrise. La validation périodique est faite 1 fois par année pour tous les opérateurs.

OBJECTIF

Mettre au point un protocole de media fill adapté aux opérations effectuées de routine à la Pharmacie des HUG et valider l'ensemble des opérateurs travaillant en zone aseptique.

METHODE

Le milieu de référence pour les media fills est le milieu à l'hydrolysate de caséine et de soja, certifié pour sa fertilité pour un large spectre de microorganismes, tant bactériens que fongiques.

L'élaboration des protocoles a pris en compte :

- une observation de l'ensemble des activités qui se déroulent dans l'unité de production, afin de sélectionner des opérations qui s'approchent le plus possible des conditions normales d'un remplissage aseptique, tout en tenant compte des conditions les plus défavorables rencontrées (« worst case »).
- la rédaction de protocoles pour les 4 types d'environnement de production aseptique présents (hotte à flux d'air horizontal, hotte à flux d'air vertical, isolateur à pression négative et hotte à flux d'air horizontal avec la pompe Baxa MM12) et les 2 types d'opérateurs (pharmaciens/préparateurs (PP) et garçons de pharmacie (GP)).
- la préparation du matériel, la création des feuilles de relevé, la gestion des résultats, et la planification de ces tests dans la routine des opérateurs.

Une validation initiale a été effectuée avec 11 PP et 3 GP. Les media fills étaient considérés comme valides si une absence absolue de contamination pour trois tests de remplissage consécutifs était constatée.

RESULTATS

Les tests élaborés comprenaient un total de 11 opérations par PP (10 flacons bruns de 100ml, 10 flacons collyres à 5ml, 6 poches en EVA de 250ml, 6 seringues de 5ml, 2 poches de 50ml, 1 cassette CADD de 50ml) et 4 par GP (10 flacons de 100ml, 10 flacons collyre à 5ml).

Aucune croissance microbiologique n'a été mise en évidence chez les 14 personnes dans les 5 protocoles de media fills réalisés (140 flacons bruns de 100ml, 140 flacons collyres à 5ml, 66 poches en EVA de 250ml, 22 poches de 50ml, 11 cassette CADD de 50ml). Ceci a permis de valider les opérateurs pour le travail aseptique dans les différents environnements. Le temps moyen de réalisation de l'ensemble des protocoles était en moyenne de 3 heures pour les PP et d'environ 1 heure pour les GP. Les opérations sélectionnées ont pu être effectuées sans difficultés particulières.

CONCLUSIONS

Il est important, dans le contexte d'une production répondant aux BPF, de pouvoir valider les opérateurs travaillant dans le domaine de l'aseptique. Ces exercices permettent en outre de sensibiliser ces derniers à l'importance de leurs manipulations et au risque de contamination. Le principal inconvénient de cette méthode est le manque de sensibilité, car elle ne met en évidence que la stérilité d'une seule série de préparation. Pour cette raison, la validation des opérateurs seule ne permet pas de s'assurer de la qualité des préparations, mais elle doit s'accompagner d'autres mesures d'assurance-qualité de la production, tels que le contrôle de l'environnement des zones à atmosphère contrôlées (salles blanches), ainsi que celui des opérateurs.

EXEMPLE DE PROTOCOLE

PROTOCOLE POUR LA VALIDATION ASEPTIQUE DES OPERATEURS SOUS FLUX LAMINAIRE HORIZONTALE PAR MEDIA-FILL

But :

Valider l'opérateur par le remplissage d'unité à l'aide d'un bouillon de culture (hydrolysate de caséine et de soja) sous flux laminaire horizontal.

Conditions générales :

La procédure de validation doit être programmée plutôt en fin de session de travail, en présence d'une personne qui contrôle l'ensemble des manipulations et le temps indiqué pour les effectuer.

Dans le cas où le temps imparti de 1 h. 10 au total pour l'ensemble de ces manipulations est dépassé, l'opérateur est tenu de recommencer tout le protocole.

Ne pas oublier à la fin de chaque remplissage de mettre l'étiquette intitulée « validation aseptiques des opérateurs-trices sous flux laminaire horizontal par média-fill (Code HUG : validifh) » et inscrire les initiales de l'opérateur et du contrôleur, la date, sur les endroits de l'étiquette prévus à cet effet.

Matériel à Prévoir :

10 flacons bruns de 100ml, 10 bouchons alpha, 1 cytosafe, 6 aiguille rose, 3 petits filtres 0,22 µm, 10 flacons collyre à 5ml avec l'embout, 3 poches en EVA de 250ml, 1 tubulure BAXA avec ou sans trocart, 1 tubulure de type Viggon, 1 pince stérile, 1 grand filtre 0,22 µm, 2 seringues de 5ml, 3 seringues de 1ml, 1 adaptateur bleu, 8 bouillons

Procédure :

1. Remplir à la main 6 flacons bruns de 100 ml avec environ 30 ml de bouillon de culture, dans un temps de 20 secondes. Bouchonner les flacons à l'aide des bouchons appropriés après avoir laissé les flacons ouverts au contact de l'air pendant 3 minutes.
2. Utiliser pour l'ensemble des opérations qui suivent la même seringue à 5ml, le même filtre et la même aiguille/cytosafe. Filtrer 5 ml de bouillon de culture dans 6 flacons à 5ml pour collyre à l'aide d'un filtre 0,22 µm, d'une seringue et d'une aiguille rose, dans un laps de temps de 15 minutes. Pendant la filtration, changer une fois de filtre 0,22 µm. Placer ensuite l'embout compte-goutte, à l'aide d'une pince stérile, dans le goulot du collyre. Pour finaliser l'opération, sceller le collyre avec le bouchon prévu à cet effet.
3. Préparer 3 poches en EVA de 250ml à l'aide de la petite pompe BAXA et de 30ml de bouillon de culture. Pour ce faire, étalonner à 30ml le volume de la BAXA, et mettre la vitesse de la pompe sur « Low ». Monter un dispositif avec une première tubulure qui passe dans la BAXA et qui se fixe au grand filtre 0,22 µm. Adapter l'autre bout de cette tubulure au flacon de bouillon, soit en le troquant, soit en plongeant directement le bout de la tubulure dans le bouillon (après avoir enlevé le bouchon du flacon). Faire la jonction entre la deuxième tubulure de type viggon, le grand filtre 0,22 µm et la poche EVA 250ml. Prévoir environ 60ml pour préremplir le volume des deux tubulures et du grand filtre.
4. Avec le même dispositif remplir 3 flacons bruns de 100ml avec 30ml de bouillon de culture. Répartir ensuite environ 20ml de bouillons dans 4 flacons collyres. De même que pour la poche, laisser les flacons en contact avec l'air libre pendant 3 minutes avant de les fermer. Ne pas dépasser 20 minutes pour l'ensemble de ces opérations.
5. L'opération suivante simule la fabrication de 3 seringues « ophtalmiques » de 1ml et doit être effectuée dans un intervalle de temps limité à 2 minutes. Pour ce faire, prélever à l'aide d'une seringue de 5ml, 5ml de bouillon de culture. Introduire de l'air dans la seringue, jouer avec le piston, et faire sortir l'air de la seringue. Ensuite, élaborer un montage pour une filtration directe de 1ml, avec un filtre « minisart » 0,22 µm et un adaptateur bleu, du contenu de la seringue de 5ml dans une seringue de 1ml. Enlever l'air dans la seringue de 1ml avant le remplissage. Remplir et adapter une fermeture inviolable à chacune des seringues de 1ml.

