

**BPF pour les préparations
Radiopharmaceutiques**

Prof. Farshid Sadeghipour

Risque infectieux et Préparations stériles

31.03.2014



Nécessités du stérile

■ Médicaments stériles

- Médicaments parentéraux
- Médicaments non-parentéraux

■ Prévention de l'infection

- Dispositifs médicaux
- Interventions invasives
- Infections nosocomiales

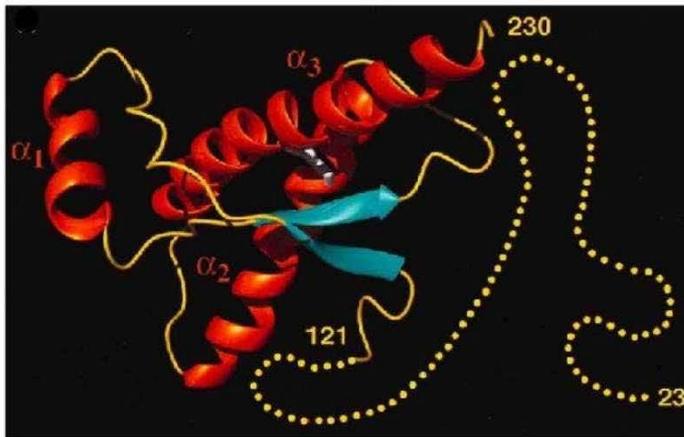
Sources de contamination

- **Contre quoi nous battons-nous pour obtenir l'asepsie?**
 - Contre les micro-organismes (viable)
(microbes : bactéries, champignons, virus, ...)
- **D'où viennent-il?**
 - De partout!
- **Fabrication aseptique**
 - le produit fini doit être stérile
 - il ne subit pas de stérilisation terminale

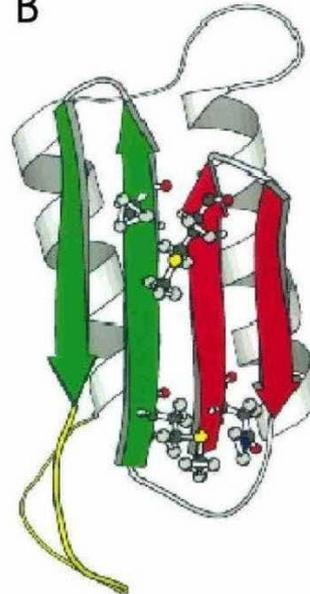
Prions

Les prions sont des petites particules PROtéiques INFECTIEUSES résistant à l'inactivation par toutes les méthodes qui permettent de modifier les acides nucléiques

A



B



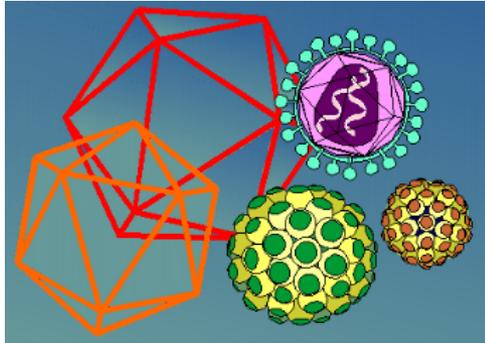
Taille

30-35 kDa

A: Structure tridimensionnelle de la protéine PrPC humaine (1)

B: Modèle probable de la structure tridimensionnelle de la protéine PrPSc (2)

Virus *signifie poison en latin !*



Taille

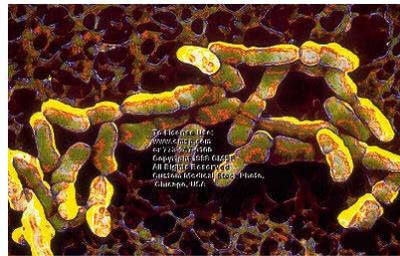
4 MDa - 0.02 μm (200 Å)

- il ne respire pas
- Il ne peut avoir de mouvement propre
- il ne grandit pas et ne peut se reproduire seul
- ils sont constitués d'un seul type d'acide nucléique
ARN ou ADN entouré d'une enveloppe
- Maladies:
 - ***Grippe (Influenza), Hépatites, SIDA, Polio, Fièvre jaune, Herpes, Rubéole, Rage, Variole, Varicelle***

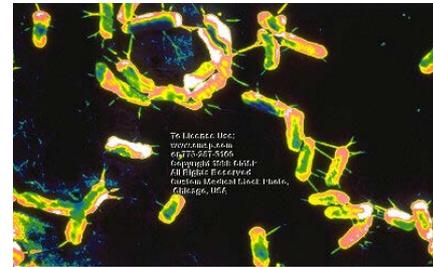
Bactéries



Staphylocoques



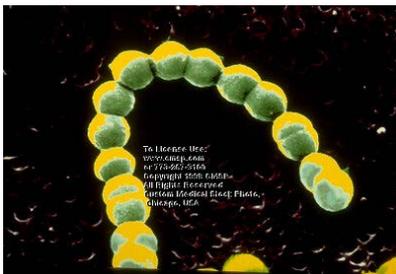
Clostridium Botulinum



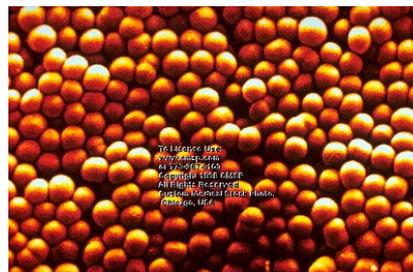
Salmonelles

Taille
1-10 μm

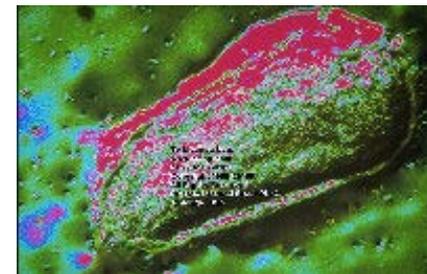
- Micro-organisme unicellulaire formant un règne autonome, ni animal, ni végétal. Cette cellule vivante ne possède pas de noyau, et son ADN s'y trouve diffus, à l'intérieur.
- Maladies : ***Pneumonies, Angine, Tuberculose, Cholera, Maladies sexuellement transmissibles (MST), Syphilis, Blennorragie, Conjonctivites, Panaris***



Streptocoques dorées



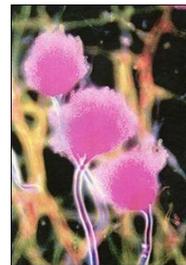
Méningocoques



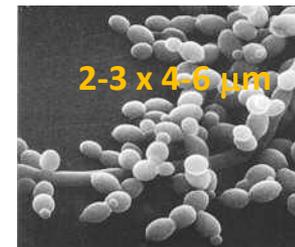
E. Coli (Entérobactérie)

Champignons

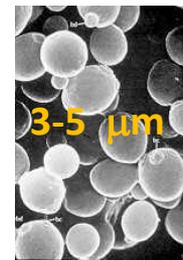
- Il existe plus de 200'000 espèces de champignons. Une petite centaine est impliquée dans des maladies humaines.
- Forme de levure : cellules isolées, croissance en général par bourgeonnement (exemple le plus connu est la levure boulangère)
- Forme de mycélium : cellules rattachées, formant des long filaments (hyphes); selon les champignons, les hyphes qui forment le mycélium ne sont pas segmenté (comme une grande cellule avec beaucoup de noyaux) ou portent des séparations.
- Maladies : ***Mycoses de la peau, Vaginites, Mycoses respiratoires, Histoplasmoses, Blastomycose***



Aspergillus



Candida
albicans



Candida
cerevisiae

Sources de contamination

- La stérilité repose sur l'absolu respect des règles imposées.
- L'opérateur ne peut pas vérifier la stérilité de la préparation.
- Mais il peut vérifier l'absence de contaminants dans l'environnement de production, sur ses gants, etc...

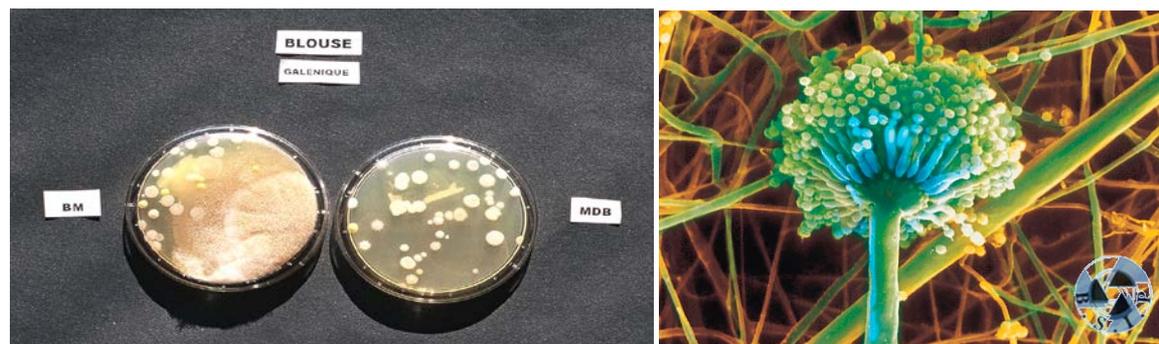
Sources de contamination

- **Le contrôle microbiologique régulier de l'opérateur et des installations est primordial car il permet de voir les micro-organismes habituellement invisibles**
- **Micro-organismes nosocomiaux**
 - Staphylococcus aureus et MRSA
 - Pseudomonas aeruginosa et sp.
 - Bâtonnets Gram -
 - Candida albicans (levure)...
- **Micro-organismes de l'extérieur**
 - Transportés par le personnel
 - Amenés par les visiteurs
 - Véhiculés par l'air (fenêtre, porte ouverte)

Sources de contamination

- VETEMENTS
 - de ville
 - de travail

- CHAUSSURES
 - Semelles



- Les micro-organismes peuvent rester fixés sur les tissus
- Ils viennent de l'air, des contacts avec les objets ou les parois
 - Une blouse propre n'est pas stérile!
 - Elle sert à faire écran entre l'opérateur et ce qu'il manipule. Pour qu'elle soit stérile, il faut la stériliser!



Sources de contamination

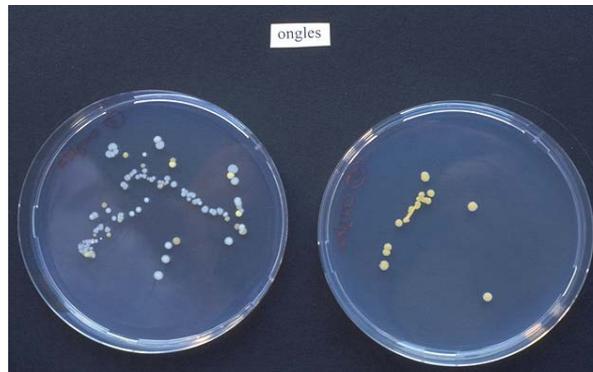
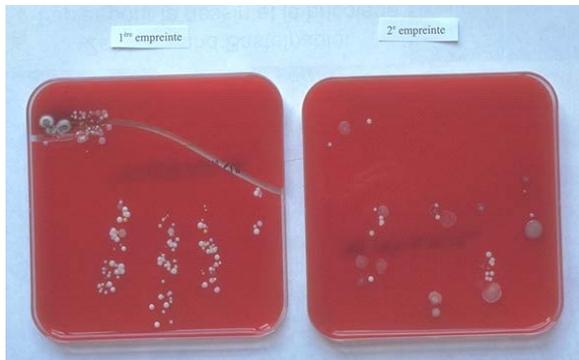
- Système pileux
 - cheveux: ils sont au contact de l'air et du cuir chevelu
 - barbe: au contact de la peau, de l'air, de la nourriture...
- La contamination des cheveux varie beaucoup d'un individu à l'autre
- C'est une source d'essaimage sur le plan de travail
- Les micro-organismes déposés sur les cheveux peuvent être distribués dans le local par l'air du flux laminaire



Dr. J. Favet

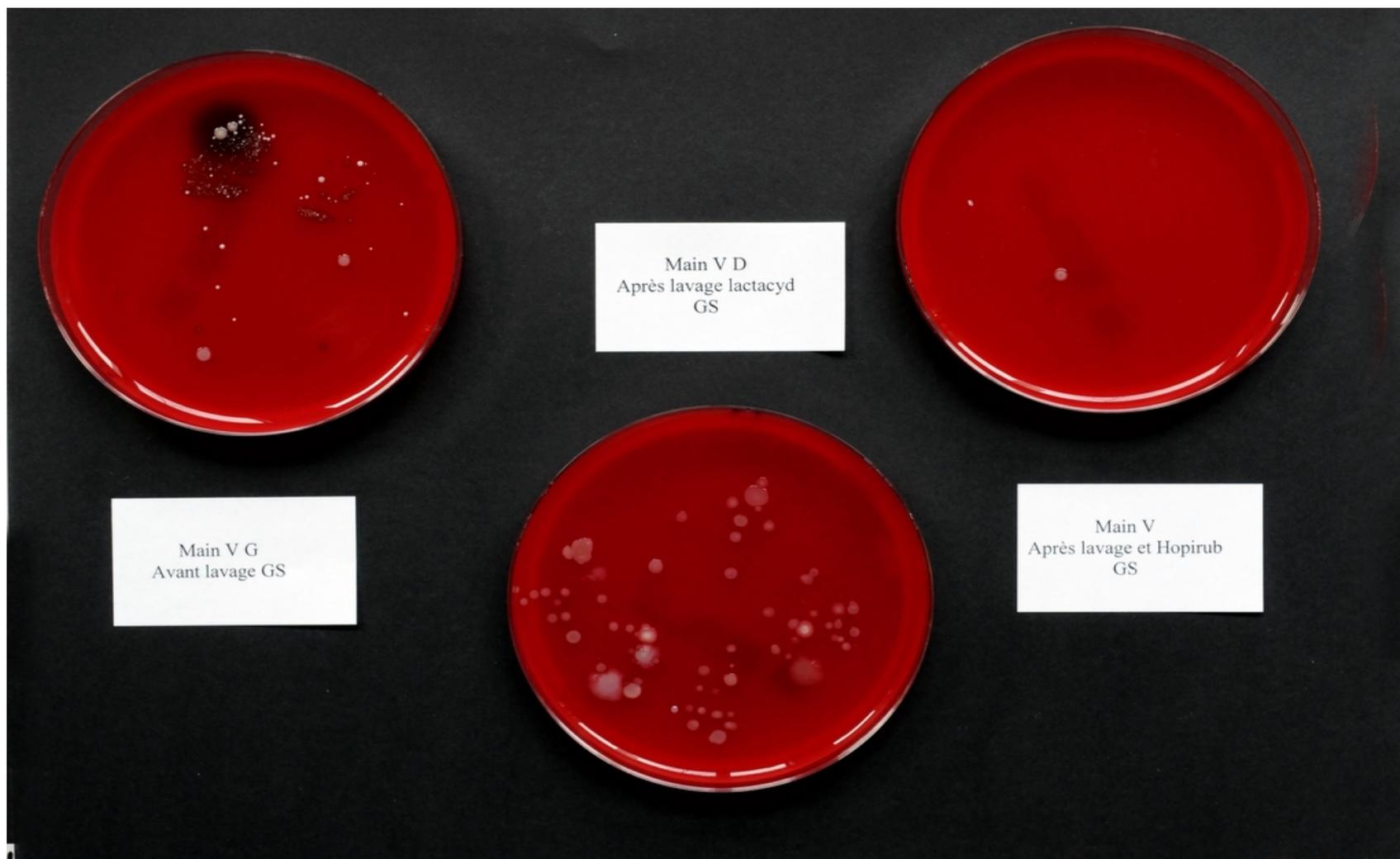
Sources de contamination

- La peau et ses « flores »
 - Flore endogène, protectrice
état dynamique, multiplication, élimination du surplus par contact donc dépôt sur le matériel !
 - Flore transitoire micro-organismes divers récoltés dans notre environnement déposés sur le matériel par contact
- Ongles
 - Cachette idéale pour tous les micro-organismes
- Bague
 - Maintient l'humidité d'où prolifération locale des bactéries de la flore



Dr. J. Favet

Lavage et désinfection de mains

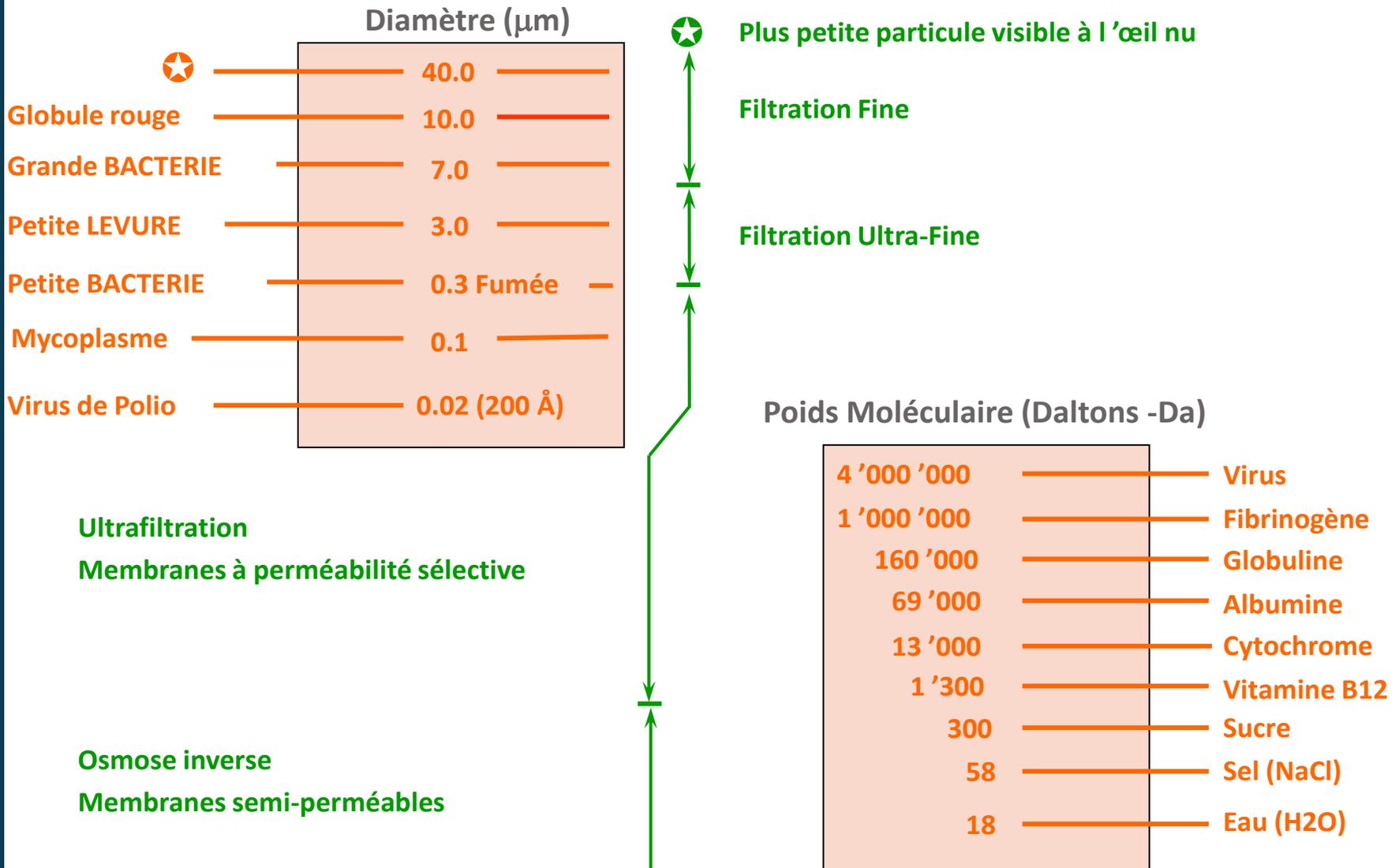


Dr. J. Favet

Sources de contamination

- Les micro-organismes sont envahissants!
- Beaucoup indispensables au maintien de la vie sur terre.
- Petite taille :
 - Propension de tout coloniser
 - Capacité de se multiplier pour pouvoir atteindre toute la matière à recycler
- Dans la nature, une niche écologique ne reste jamais vide!
 - Environnement aseptique : une niche écologique vide?
 - Les micro-organismes cherchent à la coloniser

Risque infectieux : taille des particules viables et non-viables



Particules Viables

- Diamètres des Particules Biologiques (μm)
 - Molécules gazeuses 0.001 - 0.005
 - Virus 0.002 - 0.1
 - Bactéries 0.2 - 10
 - Spores 1 - 12
 - Pollens 10 - 200
 - Acariens 100 - 1000

Particules non-Viables (l'air)

Sources de Contaminations

- Les particules qui nous entourent

(Nber de particules $\geq 0.5 \mu\text{m} / \text{m}^3$)

- *Industrie* 350 '000 '000
- *Milieus urbains* 175 '000 '000
- *Bureaux / Laboratoires* 15 - 25 '000 '000
- *Haute Montagne* 8 '750 '000
- *Flux Laminaire Classe A* 3 '500

Particules non-Viables

Sources de Contaminations

- Emission de particules (habits de ville)

(Nber de particules $\geq 0.5 \mu\text{m}$ / minute)

- *Marcher* 5 '000 '000
- *S'asseoir, se lever* 2 '500 '000
- *Mouvement des membres* 750 '000
- *Sans activité* 100 '000
- *Eternuer* 30 '000
- *Une minute de conversation* 15 - 20 '000

Particules non-Viables

Sources de Contaminations

- **Contamination véhiculée par l'Homme**
 - Front $10\,000 - 100\,000 / \text{cm}^2$
 - Cheveux $1\,000\,000 / \text{cm}^2$
 - Secrétions nasales $10\,000\,000 / \text{g}$
 - Salives $100\,000\,000 / \text{g}$
 - Mains $100 - 1000 / \text{cm}^2$
- ***Matières Fécales* $> 100\,000\,000 / \text{g}$**

Particules non-Viables

Sources de Contaminations

- Mouvements du Personnel
- Habillement inadéquat ou incomplet
- Matériels mal-décontaminés
- Matières Premières non-stériles
- Filtre défectueux
- Mauvaise décontamination ou désinfection
- Mauvaise conception ou finition des salles
- Sources d'humidité
- Maintenances et réparations externes

Risque infectieux

- **Risque de transmission croisée**
 - lié à des défauts d'hygiène des mains
 - L'utilisation de dispositifs médicaux non stériles ayant subi un niveau de désinfection insuffisant
 - Pathologie et le niveau de défenses immunitaires du patient
 - Type de soins.
- **Un maximum de précautions est requis pour :**
 - les soins de plaies
 - les actes invasifs (la pose et l'entretien des sondes urinaires, la pose et l'entretien de cathéters courts ou de sites implantables)

Risque infectieux

- **Le risque infectieux entre patients est lié :**
 - A la réalisation des soins pour plusieurs patients dans un même lieu et dans un temps différent.
 - A l'absence ou au défaut de nettoyage des surfaces de travail entre 2 patients.
 - A un défaut d'utilisation de dispositif médical réutilisable insuffisamment désinfecté ou pour lequel l'état stérile est nécessaire.



La prévention des risques liés à l'acte de soin

- **Pour les actes de soins à risque infectieux faible**
 - Un environnement propre,
 - Une désinfection de bas niveau concernant le matériel médico-chirurgical,
 - Une hygiène des mains (désinfection par friction ou lavage simple).



La prévention des risques liés à l'acte de soin

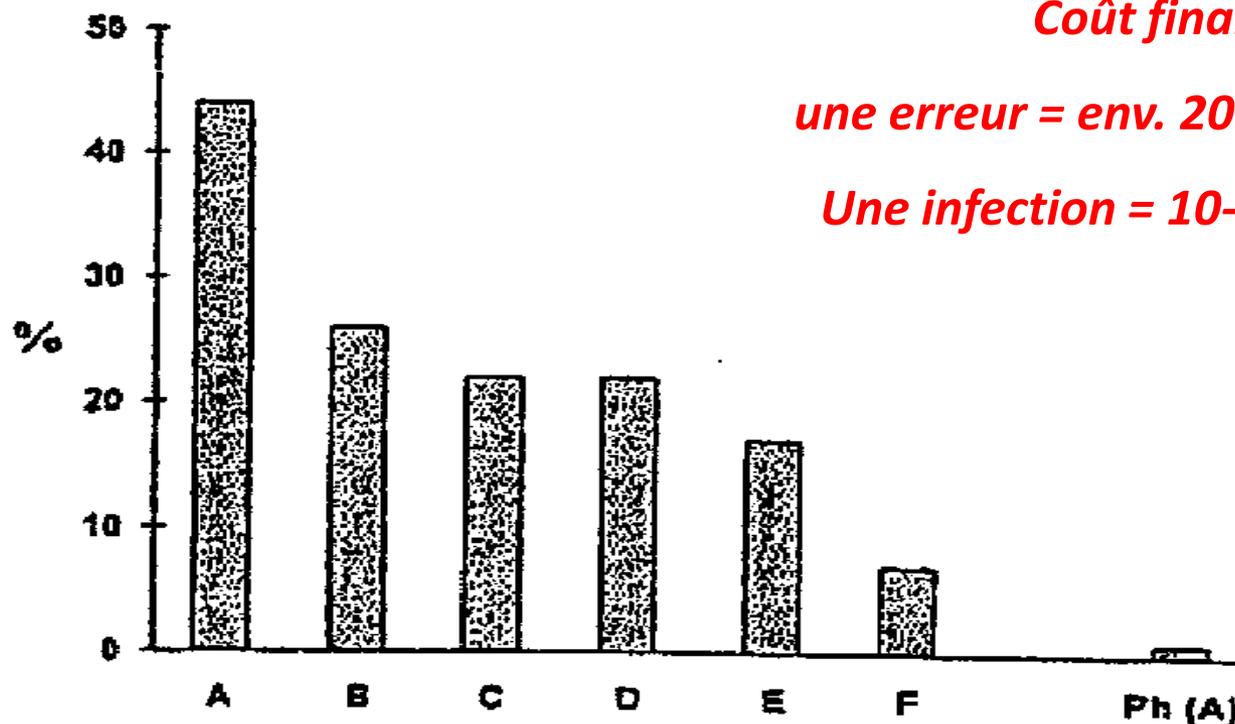
- **Pour les actes de soins à risque infectieux potentiel ou intermédiaire**
 - Un environnement propre et désinfecté avant le soins
 - Matériel à usage unique et stérile ou matériel recyclable stérile,
 - Une tenue adaptée de l'opérateur
 - Une hygiène des mains (désinfection par friction ou lavage simple).
 - Une technique de soin aseptique.



Erreurs d'asepsie

■ Contamination de seringues

- soins intensifs de 6 hôpitaux (A-F)
- unité aseptique en pharmacie (Ph(A))



Coût final :

une erreur = env. 2000-4000 CHF

Une infection = 10-20'000 CHF

Van Garfhorst J, Crit Care Med 2002;30:833-6

**BPF pour les préparations
Radiopharmaceutiques**

Prof. Farshid Sadeghipour

**Hygiène et
méthodes de travail
en salles blanches**

31.03.2014



Principes de la technique aseptique

- La technique aseptique est composée des différentes méthodes utilisées pour manipuler des produits déjà stériles et pour les maintenir stériles.
- Cette technique est un élément séparé de la préparation des produits stériles et indépendante de l'équipement et de l'environnement.
- L'adéquation de la technique n'exempte pas d'un équipement approprié et d'un environnement adapté. Réciproquement, un bon équipement et un environnement idéal ne contrevient pas à la nécessité d'une technique correcte

***Un flux laminaire ne rend rien stérile,
Mais il permet aux objets stériles de le rester***

Piliers

La technique aseptique est basée sur 3 piliers principaux :

- Lavage et désinfection des mains
- Le matériel stérile utilisé en cours de fabrication aseptique (seringues, tubulures, aiguilles, flacons, ampoules, etc.), mais surtout la technique de leur utilisation permettant le maintien de la stérilité du produit final
- Equipements et environnement

Gants

- **PSB II (Toxiques)**
 - *Epaisseur >0.2 mm, non poudré, nitrile ou latex*
 - Changer immédiatement en cas de giclures (Toxiques)
 - Changer après manipulations de produits lipophiles
 - Changer toutes les 30 minutes (SUVA: Cytostatiques)
- **PSB III (Toxiques)**
 - Changer les gants de l'isolateur 1x/jour
 - Changer les sous-gants à chaque entrée (1-1,5 heures)
- **Isolateurs**
 - Changement de sur-gants env. 1x/heure

Equipements principaux

- Postes de sécurité biologiques (II et III)



- Isolateurs



Environnement

- **Garantir une qualité d'air conforme aux exigences de la Classe BPF A**
 - Microbiologiques
 - <1 UFC/hotte
 - Particulaires :
 - 0,5 μ m 3500 part./m³
 - 5 μ m < 1 part./m³

Environnement

- Après nettoyage, manipulation dans un local **Classe D**
- Préparation de solution destinée à une filtration stérilisante dans un local **Classe C**
- Filtration stérilisante à un poste de travail **Classe A** dans un environnement **Classe B**
- Manipulation et remplissage aseptiques à un poste de travail **Classe A** dans un environnement **Classe B**
 - Sauf Isolateurs $\Delta P +$: **Classe A** dans environnement **Classe D** (au minimum)

Bonnes pratiques de manipulation

1. Rédaction de Standard ...SOP, Mode opératoire d'équipement (MOE), protocoles, etc.
2. Introduire une quantité minimale de matériel
3. Limiter les mouvements au maximum
4. Laisser les mains sous le flux
5. Importance de l'emplacement des objets sous le flux
6. Valider le processus de travail
7. Changement de gants au min. 1x/heure (GMP)

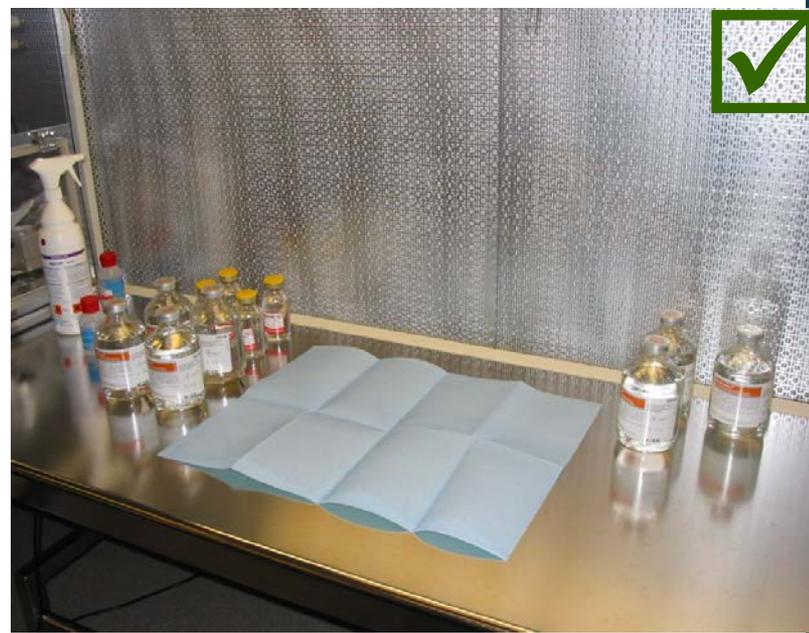
Bonnes pratiques de manipulation

■ Fonctionnement de l'équipement

- L'équipement doit fonctionner en permanence
- En cas d'arrêt, après remise en marche, attendre minimum 20 à 30 minutes (selon recommandations du fournisseur) avant de commencer à travailler
- Avant l'utilisation, toutes les surfaces internes doivent être nettoyées avec une solution alcoolique stérile et un chiffon ne libérant pas de particules
- Ne jamais toucher le filtre HEPA et ne pas vaporiser de solution désinfectante sur ces filtres :
 - **Filtre HEPA mouillé = Filtre inefficace**

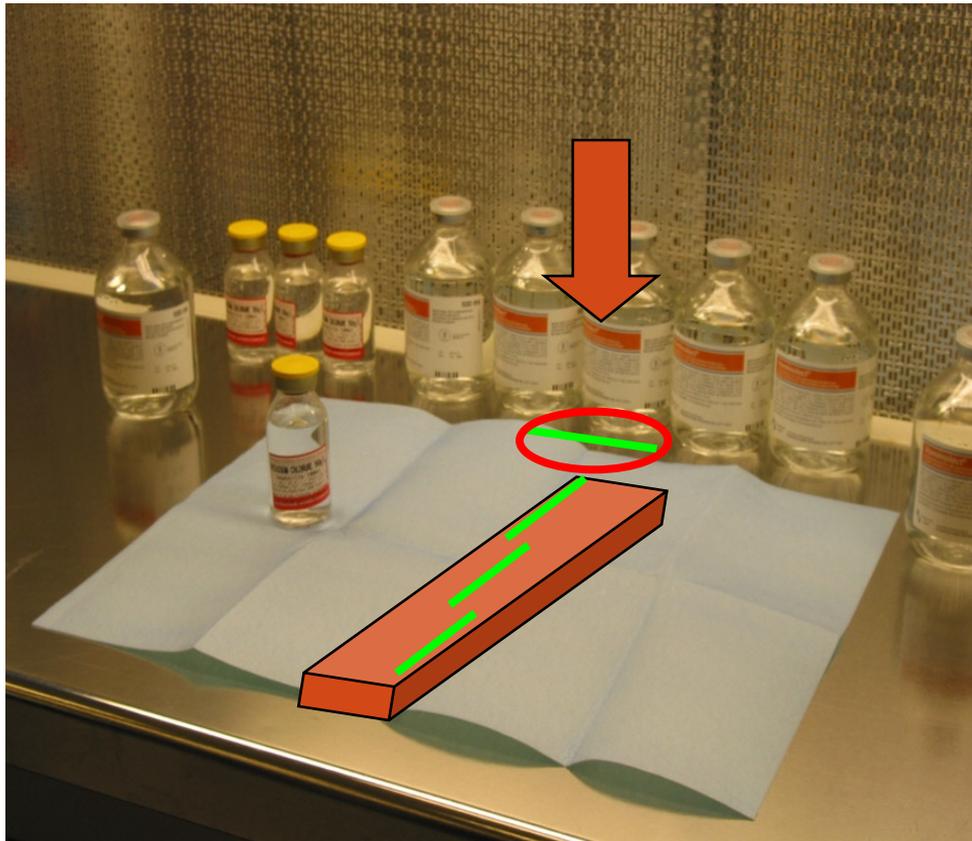
Bonnes pratiques de manipulation

- **Travailler dans la zone de protection optimale**
 - Eviter de travailler dans les 15 cm des bords
 - Placer les petits flacons côté filtre HEPA.
 - Répartir et espacer les flacons sur la largeur du flux.



Bonnes pratiques de manipulation

Quantité minimale de matériel : 3 d



Règles des 3 d

- Introduire une quantité minimale de matériel
 - Un objet perturbe le flux d'air sur une distance équivalente à 3 fois son diamètre
 - ↓ risque d'erreurs
- Minimiser les déchets
 - Risque de contamination
 - Perturbe le flux d'air

Bonnes pratiques de manipulation

Limiter les mouvements

- **Générer un minimum de particules**
 - Limiter les mouvements au maximum
 - Travailler lentement
 - Éviter tout autre mouvement abrupt dans la salle environnante
(idéal = 1 Flux / salle)

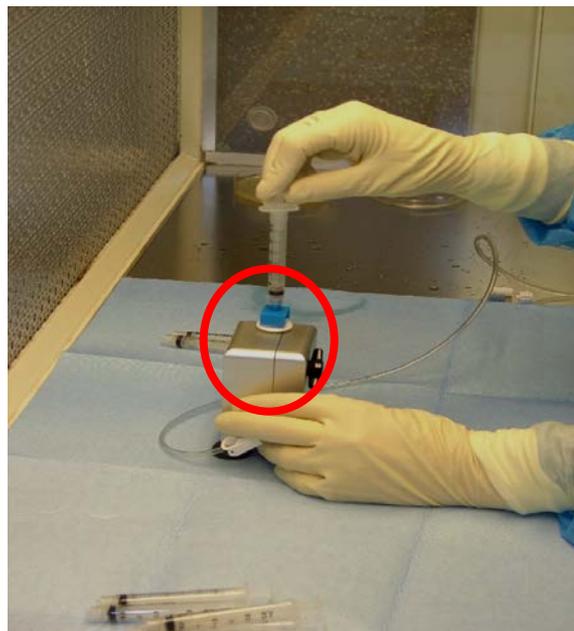
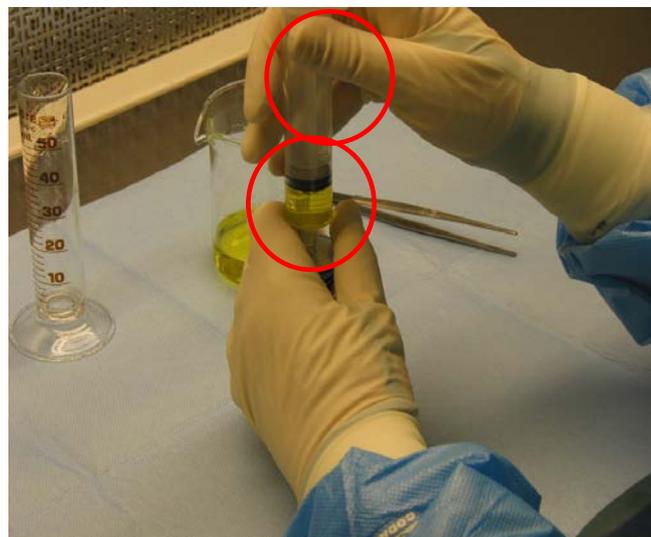
Bonnes pratiques de manipulation

Emplacement des objets sous Flux

- **Objectif : protéger la préparation contre une contamination extérieure**
- **Dans la mesure du possible, avoir la même technique de travail pour HFLA horizontal et vertical**

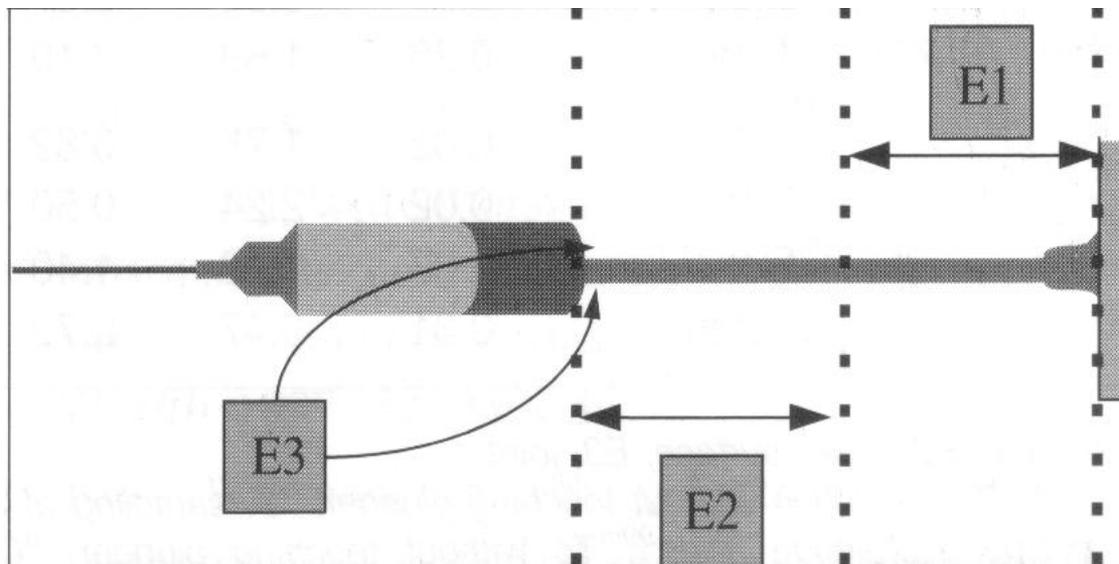
Bonnes pratiques de manipulation

- Ne pas mettre les mains entre le produit et l'origine du flux d'air
- Ne pas coller les bras sur le plan de travail du flux
- Ne pas toucher les zones critiques :
 - Travailler à distance



Contamination via le piston

- **Attention de ne pas toucher le piston**
 - Contamination chimique
 - Contamination microbiologique



Bonnes pratiques de manipulation

■ Propreté = Sécurité

- Équilibrer la pression, ex : aiguille, filtre hydrophobe (prise d'air).
- Utiliser une compresse pour retirer l'aiguille



Conclusions

Système d'Assurance Qualité

Malgré l'importance de la technique en elle-même, la fiabilité de la technique aseptique est principalement basée sur les contrôles et le système d'assurance de qualité (SAQ) construit dans chaque site :

▪ Locaux et Equipements :

- *Conception et classification des zones à environnement contrôlé*
- *Environnements de travail stériles*
- *Contrôles physiques et microbiologiques des salles*

Conclusions

Système d'Assurance Qualité

■ Processus de travail

- *Documentation et traçabilité*
- *Flux des personnes et du matériel*
- *Choix du matériel stérile et leur utilisation*
- *Désinfection*
- *Techniques de travail aseptique*
- *Validation de procédés aseptiques*
- *Sécurisation du processus aseptique*

■ Opérateurs

- *Formation initiale et continue*
- *Validation initiale et continue*

Conclusions

Technique et BPF

- **Respecter les principes de base de la technique aseptique**
- **Respecter les Bonnes pratiques de manipulation**
- **Manipulation par un personnel qualifié**
 - Formation de base
 - Formation continue
 - Validation
- **Standardiser autant que possible**

**BPF pour les préparations
Radiopharmaceutiques**

Prof. Farshid Sadeghipour

Classification des salles blanches et traitement de l'air

31.03.2014



Normes I

BPF Swissmedic et PIC/S

- La fabrication des médicaments stériles doit se faire dans des Zones à Atmosphère Contrôlé (**ZAC** ou *Salles blanches*)
 - Entrée par des sas réservés (personnel, matériel, substance)
 - ZAC maintenues à un niveau de propreté approprié
 - ZAC alimentées en air passé sur des filtres d'efficacité correspondant au niveau de propreté requis
 - Opérations de préparation (accessoires, produits) et de remplissage dans des locaux au sein des ZAC

Normes II

BPF Swissmedic et PIC/S

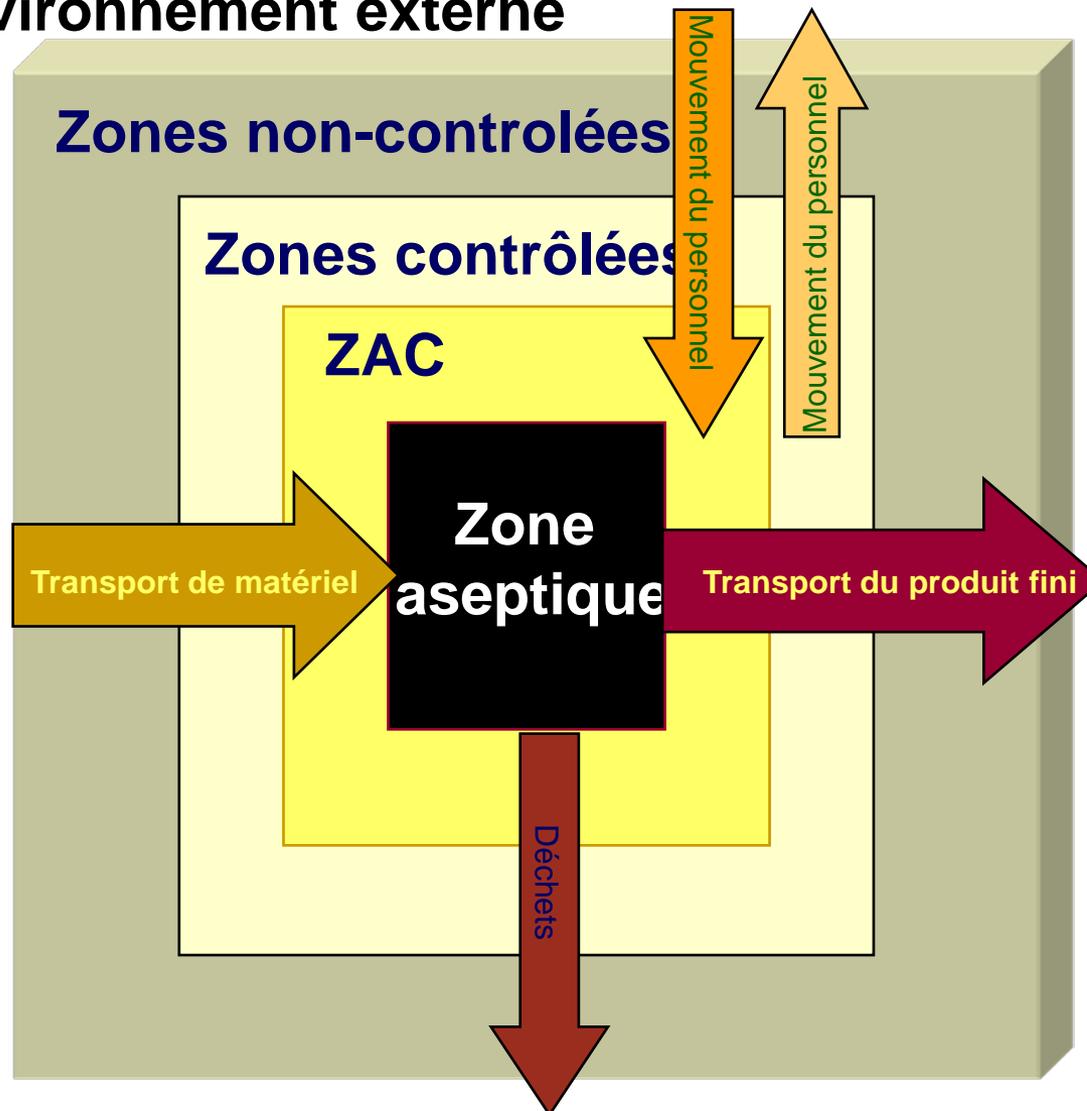
- Conception pour avoir un environnement adéquat pour chaque opération
 - Réduire le risque de contamination **Particulaire** ou **Microbienne** des produits ou des substances
 - Afin de satisfaire aux conditions requises «**en activité**» ⇒ conception de manière à atteindre des niveaux de propreté de l'air «**au repos**»

« **au repos** » : la situation où l'installation et le matériel de production en place **sans opérateurs**

« **en activité** » : les installations fonctionnent **en présence des opérateurs**

Conception des salles blanches I

Environnement externe



Traitement de l'Air I

Le traitement de l'air assure des conditions constantes d'environnement propices à réaliser des opérations définies, en tenant compte du :

- Type de protection recherchée
- Intervenants
- Flux de Matières

Les différentes protections recherchées

- Protection du Produit ou de la Manipulation,
- Protection des Opérateurs,
- Protection de l'Environnement.

Traitement de l'Air II

Éléments contrôlés

- **Charge Particulaire**
 - **Filtration graduelle de l'Air**
 - **Classe d'empoussièrement**
- **Pression Relative**
 - **Isoler la zone de travail de l'environnement adjacent**
 - **Orienter le sens de l'écoulement de l'air**
- **Humidité Relative**
- **Température**

Traitement de l'Air III

Système de ventilation : composants

- Filtration progressive : **importance des pré-filtres**
- Systèmes de chauffage et refroidissement
- Ventilateur (régulation de flux d'air)
- Humidificateur
- Séchage
- Atténuation du son
- Clapets de contrôle
- Diffuseurs d'air
- Retours

Filtres HEPA I

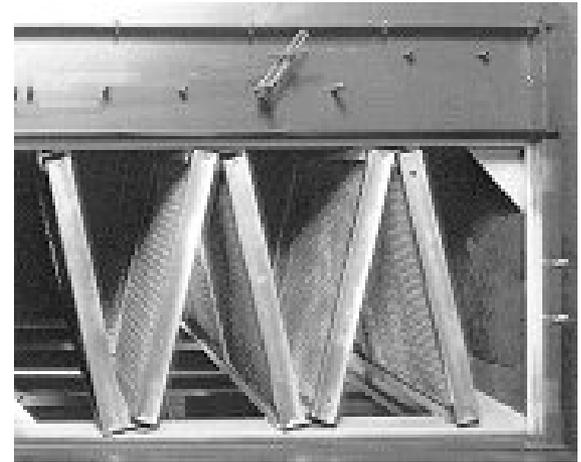
HEPA: Haute Efficacité pour les Particules d'Air

ou THE : Très Haute Efficacité

High Efficiency Particulate Arrestance (Air)

3 types de filtres

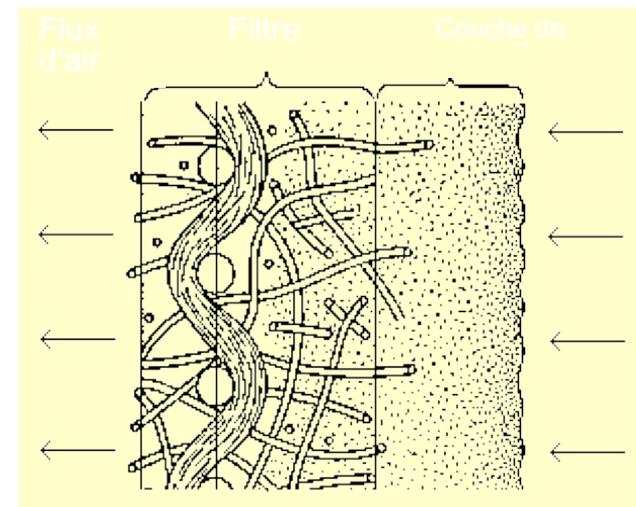
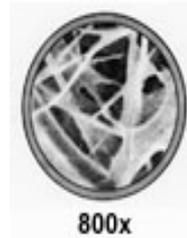
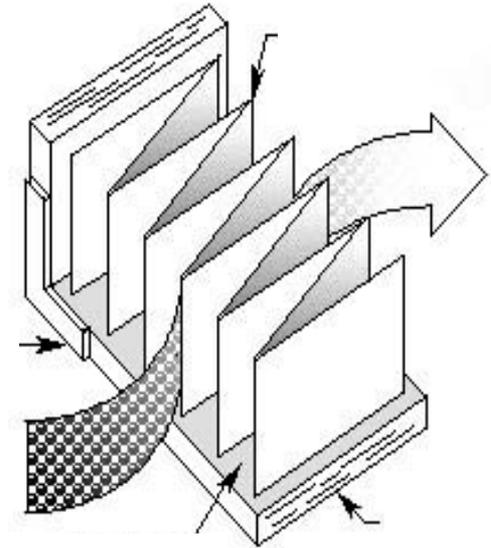
- Pré-filtre : efficacité \approx 70-90%
- Filtre HEPA : $0.3 \mu\text{m}$, efficacité \approx 99.97%
 - Très efficace contre les bactérie
 - Assez efficace contre les virus
- Filtre ULPA : $0.12 \mu\text{m}$, efficacité \approx 99.999%
(Ultra Low Penetration Air)



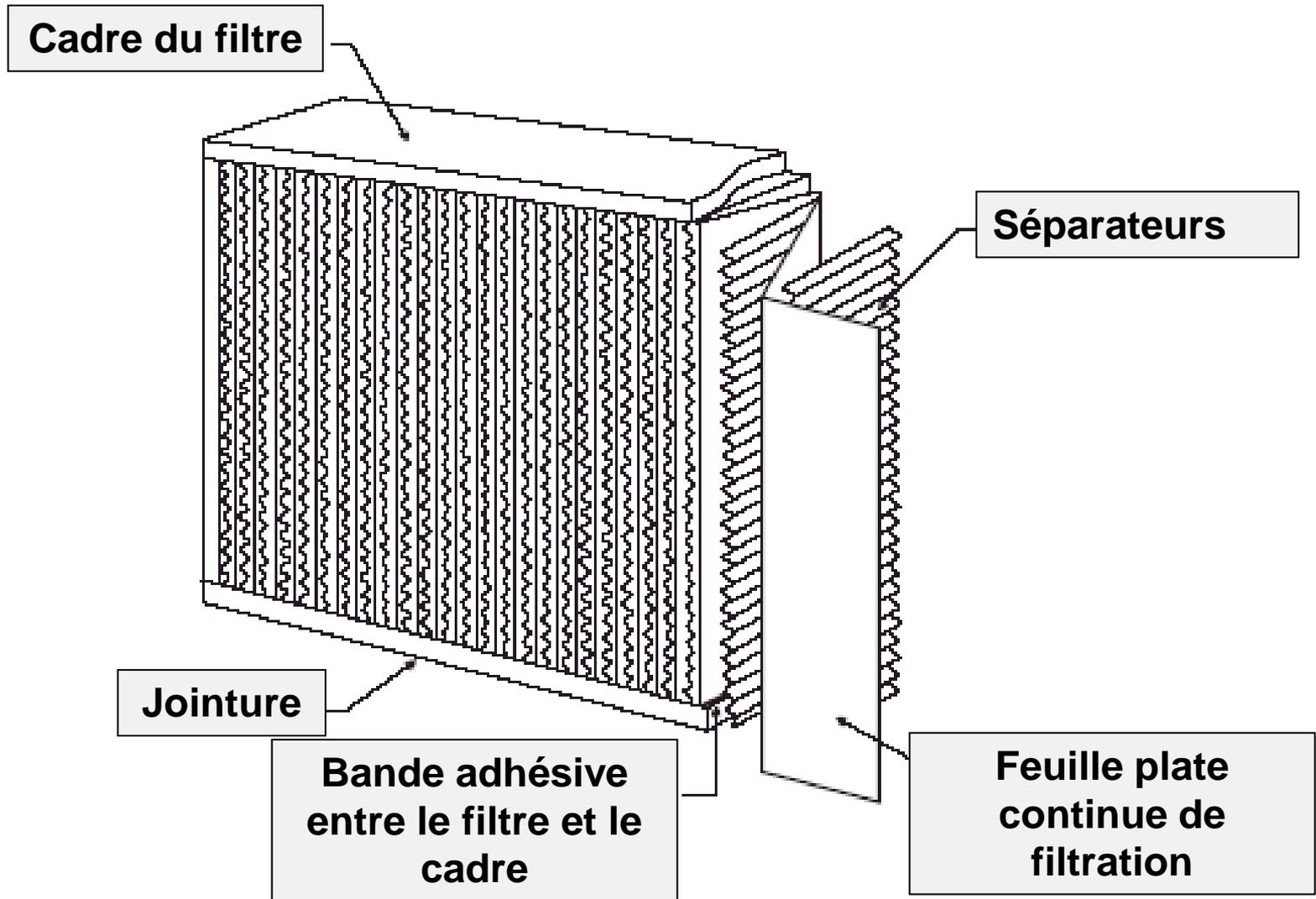
Filtres HEPA II

Construction

- Cadre rigide
- Collage d'une feuille filtrante continue
 - Papier en fibre de verre composé d'un très grand nombre de microfibrilles orientées de manière aléatoire
 - Pliage optimisé afin d'avoir la plus grande surface avec une résistance minimal au flux d'air
- Installation étanche

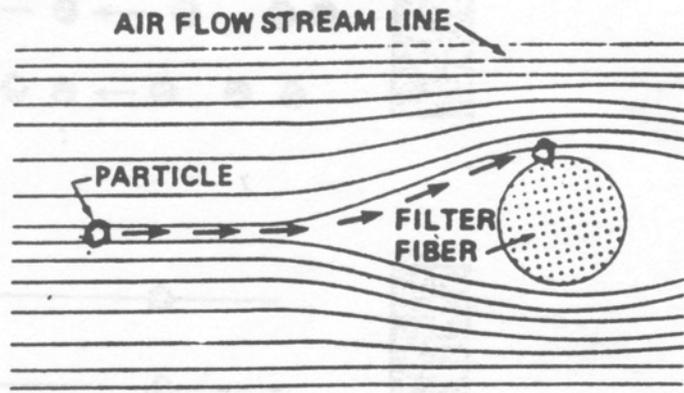


Filtres HEPA III



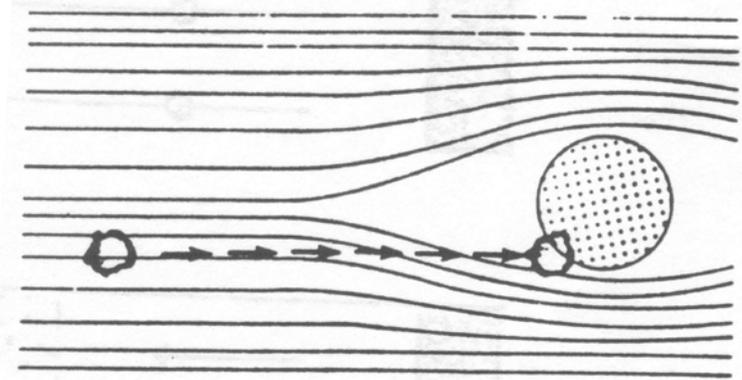
Filtres HEPA III

Mécanismes



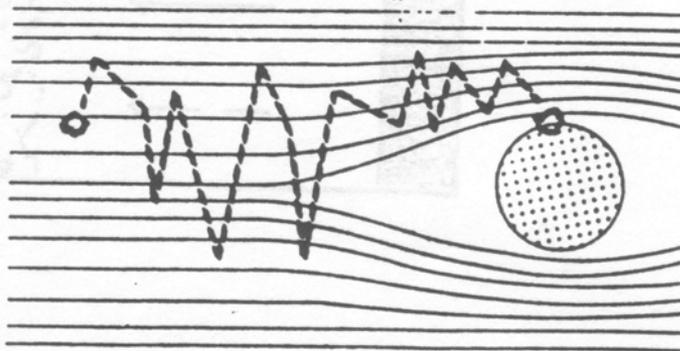
INTERCEPTION

Effet de balayage dépendant des tailles



IMPACT PAR INERTIE

Inertie de la particule la pousse à quitter les lignes de courant et percute le fibre du filtre



DIFFUSION

Mouvement brownien - la diffusion est due au bombardement moléculaire

Filtres HEPA IV

Filtres absolus à haute efficacité

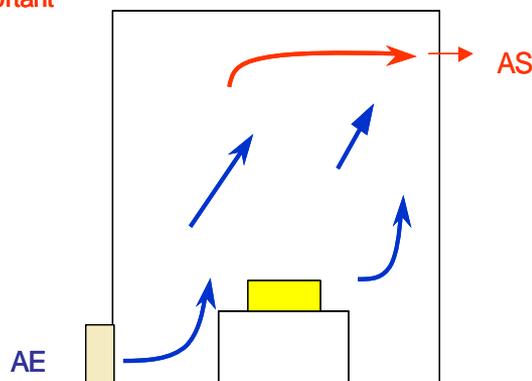
| Grade | Efficacité locale | Dénomination |
|-------|-------------------|--------------|
| H10 | - | HEPA |
| H11 | - | HEPA |
| H12 | 97.5 | HEPA |
| H13 | 99.75 | HEPA |
| H14 | 99.975 | HEPA |
| U15 | 99.9975 | ULPA |
| U16 | 99.99975 | ULPA |
| U17 | 99.9999 | ULPA |

Distribution Turbulente

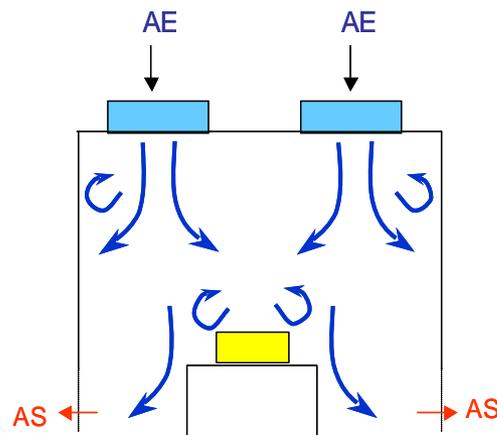
- Utilisée quand il est impossible de placer les filtres de soufflage au dessus ou sur toute la zone à protéger, elle permet une surpression d'air propre mais rarement une Classe A/B. Ce type de distribution est adapté aux salles de Classe C et D.
- Le taux de renouvellement horaire sera de :
 - Environ 30 pour une Classe C
 - Entre 15 et 20 pour une Classe D

AE : Air Entrant

AS : Air Sortant



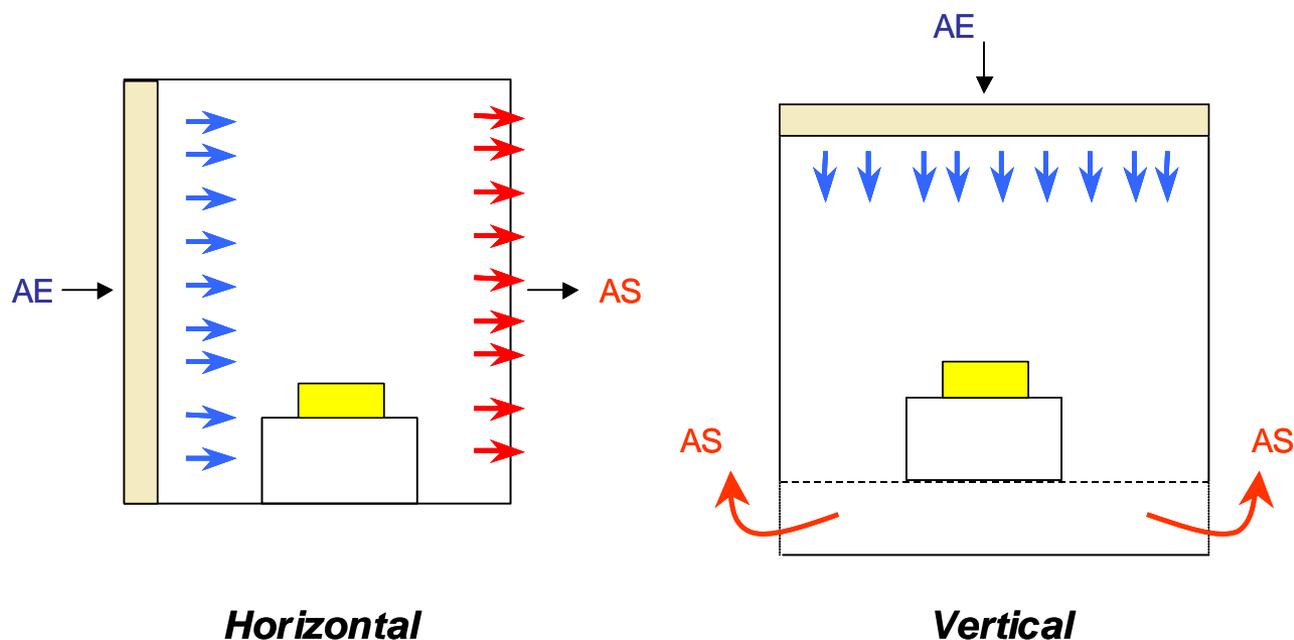
Déplacement



Turbulence

Distribution Laminaire (Unidirectionnel)

- L'air est distribué laminairement sur toute la surface protégée. Utilisée quand la classe d'empoussièremment correspond à A.
- Le débit horaire par m^2 est de $1.620 m^3/h$ pour une vitesse de $0.45 m/s$.



Postes de Sécurité Biologiques (PSB)

Biosafety cabinets (BSC)

- Enceinte ventilée destinée à assurer une protection du manipulateur et de l'environnement et le cas échéant du produit manipulé, vis-à-vis de substances biologiquement dangereuses.

Postes de Sécurité Biologiques (PSB)

| <i>Type BSC</i> | <i>Profile Aéraulique</i> |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| I | Entrée d'air frontale, Sortie d'air (Ext. / SB) par Filtre HEPA |
| IIA | 70% Recirculation Filtre HEPA Intérieur Hotte 30% Sorite d'air (Ext. / SB) par Filtre HEPA |
| IIB ₁ | Sortie d'air doit passer à l'Ext. par conduit dédié & Filtre HEPA |
| IIB ₂ | Aucune Recirculation Sortie d'air totalement à l'Ext. par conduit dédié fixe & Filtre HEPA |
| IIB ₃ | Idem IIA mais plénum en Dépression Sortie d'air à l'Ext. par conduit dédié & Filtre HEPA |
| III | Entrée & Sortie d'air (conduit dédié fixe à l'Ext.) par 2 Filtres HEPA en Série |

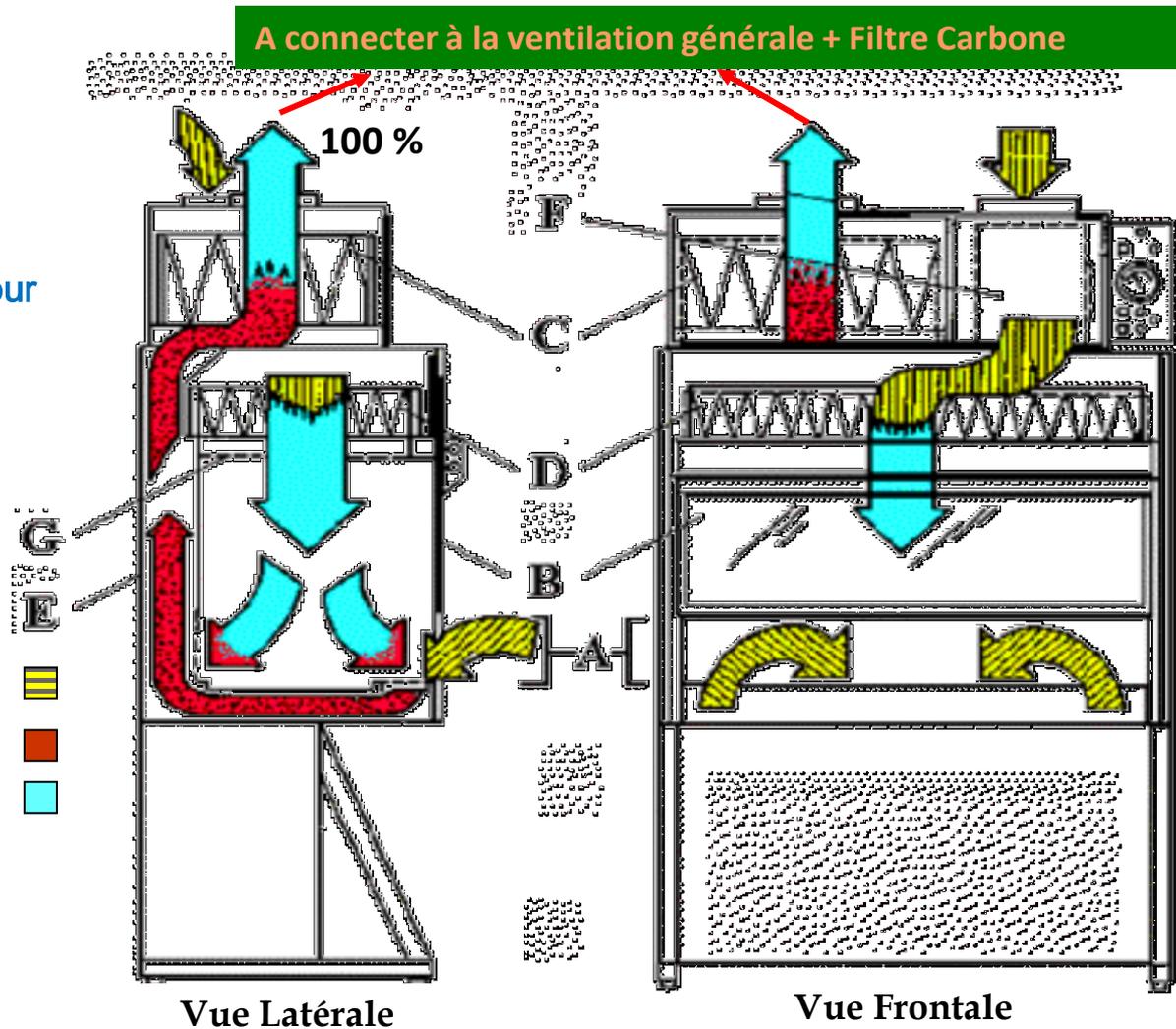
Postes de Sécurité Biologiques (PSB)

PSM Type IIB2

- A. Ouverture frontale
- B. Fenêtre
- C. Filtre HEPA de Sortie
- D. Filtre HEPA d'Entrée
- E. Plénum d'air de Sortie pour Dépression
- F. Souffleur d'Entrée
- G. Cache du Filtre

Aucune Recirculation de l'Air Sortant

Air de la Salle
Air Contaminé
Air HEPA-Filtré



Isolateurs : Définitions

- **Systeme destiné à séparer l'opérateur de l'environnement de préparation.**
- **Il peut servir à protéger :**
 - **l'opérateur**
 - **le produit**
 - **les deux**

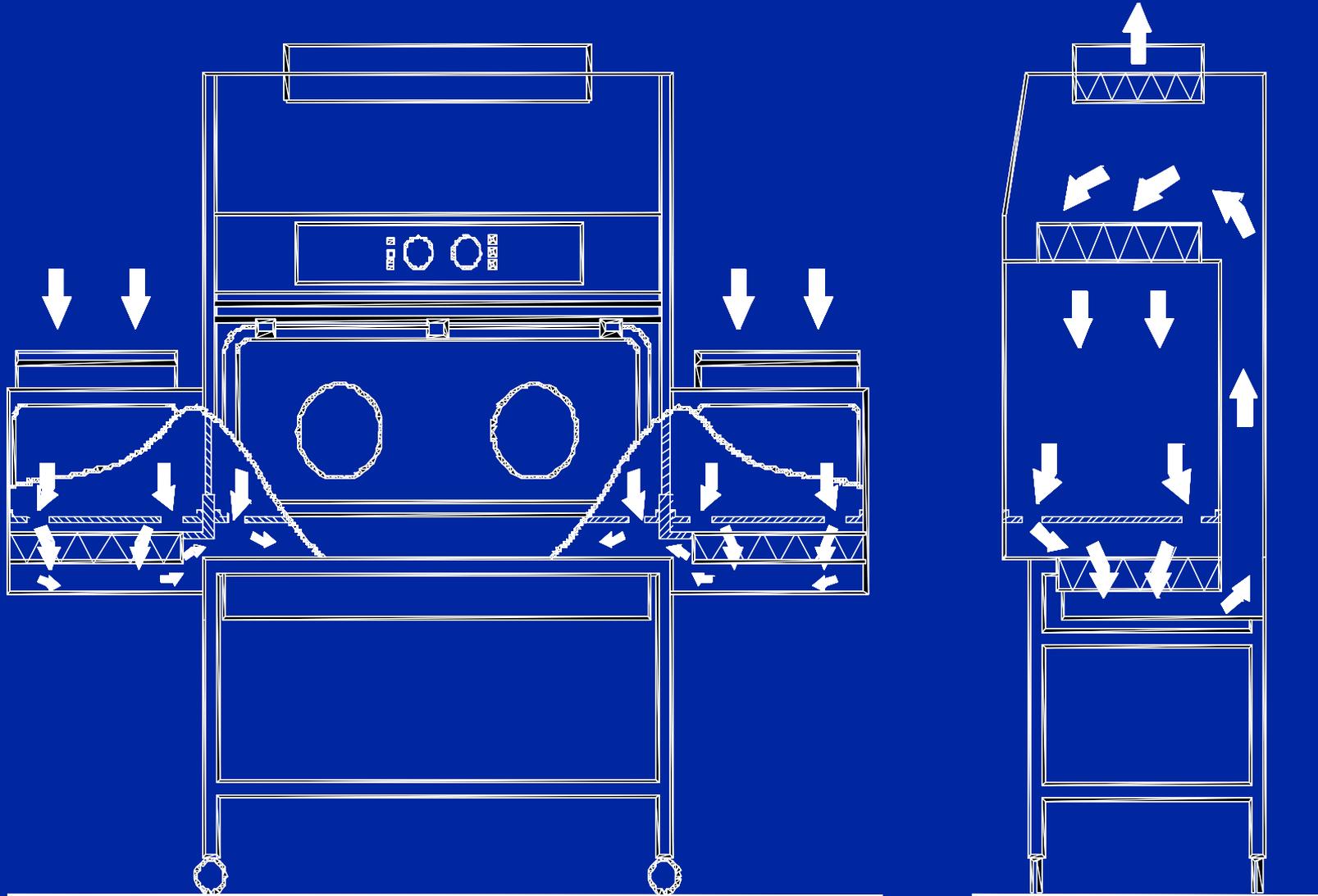
Isolateurs : Historique

- **Boîtes à gants (Glovebox) :**
 - Boîtes fermées et étanches sans ventilation
 - Préparation de produits stériles
 - Remplacées par les salles blanches
- **Isolateurs modernes :**
 - Dès 1983 pour les tests de stérilité
 - Dès 1988 pour les préparations aseptiques
 - Isolateurs « absolus » existent depuis 1960 et même avant

Isolateur à pression positive ou négative (PSB III)



Isolateur à pression positive ou négative (PSB III)



Isolateur à pression positive ou négative (PSB III)

Avantages

- Préparations individualisées
- Barrière physique totale
 - Pas sensible aux mouvements de l'air ambiant
- Confort du personnel « Vari-height »
- Rapidité du travail
- Environnement de la salle moins critique que HFLA
 - (Classe C si pression nég.)
 - (Classe D si pression pos.)

Désavantages

- Pas de stérilisation initiale
- Procédures plus rigoureuses qu'avec les modèles à concept « isotechnie »
- Possibilité d'ULD (Upper Limb Disease). Problèmes de dos ou d'épaules des opérateurs

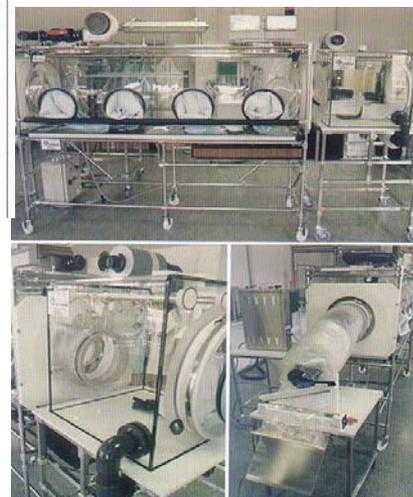
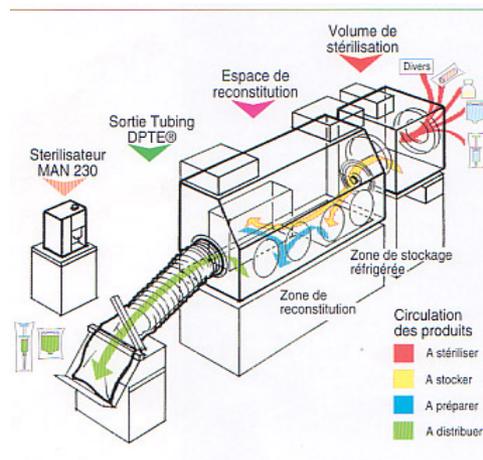
Isolateur : stérilisation initiale

Définition

- Un volume clos grâce à des parois matérialisant *stricto sensu* une séparation entre zone stérile et zone non stérile
- Le concept d'isotechnie associe les notions de confinement (étanchéité) de transfert (double porte à transfert étanche)
- Stérilisation de surface (nébulisation d'acide peracétique) ou H_2O_2

Avantage/Désavantage du H_2O_2

- Nécessite un générateur plus complexe
- Plus sûr et meilleure efficacité
- Cycle de stérilisation plus rapide



Exigences BPF I

Classification selon la qualité d'air requise

** (BPF PIC/S 2008 à venir)

| Classe | Nombre Max. de Particules/m ³ (de taille égale ou supérieure à) | | | |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| | <i>au Repos</i> | | <i>en Activité</i> | |
| | <i>0.5 µm</i> | <i>5 µm</i> | <i>0.5 µm</i> | <i>5 µm</i> |
| A | <i>3'500</i> | <i>0 (1)**</i> <i>ISO 4.8 = 20</i> | <i>3'500</i> | <i>-(1)</i> <i>ISO 4.8 = 20</i> |
| B | <i>3'500</i> | <i>0</i> <i>ISO 5 = 29</i> | <i>350'000</i> | <i>2'000</i> <i>ISO 7 = 2900</i> |
| C | <i>350'000</i> | <i>2'000</i> | <i>3'500'000</i> | <i>20'000</i> |
| D | <i>3'500'000</i> | <i>20'000</i> | <i>Non défini</i> | <i>Non défini</i> |

Exigences BPF II

Limites recommandées de contamination microbiologique en activité

| Classe | Microorganismes vivants (ufc)/m ³ | Boîtes de Pétri ufc / 4 h | Géloses de contact ufc / plaque | Empreinte de gants (5 doigts) ufc / gant |
|----------|----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|------------------------------------------|
| A | <i>< 1</i> | <i>< 1</i> | <i>< 1</i> | <i>< 1</i> |
| B | <i>10</i> | <i>5</i> | <i>5</i> | <i>5</i> |
| C | <i>100</i> | <i>50</i> | <i>25</i> | - |
| D | <i>200</i> | <i>100</i> | <i>50</i> | - |

Exigences BPF III

| Classe | Taux de Changement d'air | Différence de pressions > 10 Pa | | Température |
|--------|--------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------|
| | | Aseptique normale | Isolateur Toxique! | |
| A | > 50 | Flux laminaire ++++ | Isolateur + | A : 18 – 20 C : 21 - 23 |
| B | 40 – 50 | Salle environnant Flux turbulent +++ | / | Humidité Selon produit et procédé 30 – 65 % Acceptable |
| C | > 30 | Salle de préparation / Sas ++ | | |
| D | 15 - 20 | Opérations secondaires (Laverie, Mirage, etc.) + | Sas +++ | Lumière 300 Lux à 1 m |

**BPF pour les préparations
Radiopharmaceutiques**

Prof. Farshid Sadeghipour

**Tests de simulation
de remplissage
aseptique
(MediaFills)**

31.03.2014



Media-fill : Définition

Media Fill tests ou Test de Remplissage Aseptique (TRA)

- « Simulation des procédés aseptiques de mise en solution et de division où un **milieu de culture** substitue le produit stérile »

PDA Technical Report n°22, Process simulation testing for aseptically filled products, 1996

- « Méthode d'évaluation d'un procédé de remplissage aseptique, utilisant un **milieu de culture** »

ISO/DIS 13408-1, Traitement aseptique des produits de santé, 1996

- Simuler les phases d'un procédé aseptique par l'utilisation d'un **milieu de culture** dans des conditions proches de celles subies par le produit, en introduisant des conditions limites défavorables (worst case)

Validation de procédés aseptiques

■ But:

- valider l'asepsie du procédé
- évaluer le risque de produire des **unités non stériles**
- évaluer la **formation** du personnel



Validation de procédés aseptiques

- La validation par media-fill peut être de 2 ordres : validation **initiale** ou validation **périodique**.
- La **validation initiale** :
 - Un nouvel opérateur
 - Un opérateur/équipement qui n'a pas produit depuis au moins 12 mois
 - Un nouvel équipement
 - Une intervention/changement majeur
 - Une revalidation d'un procédé dont on a perdu la maîtrise

Worst- case

- L'introduction de cette notion dans les tests média-fill est de rendre compte de l'innocuité de conditions limites défavorables sur la stérilité d'une préparation aseptique
- Les protocoles doivent s'approcher le plus possible des conditions normales d'un remplissage aseptique tout en incluant les conditions les plus défavorables
- Ceci ne doit pas entrer en contradiction avec les BPF

Milieux de culture

- **Hydrolysate de caséine et de soja (TS ou TSB) pour micro-organismes aérobies (bactéries et champignons) et certains anaérobies**
- **Thioglycolate pour micro-organismes anaérobies et certains aérobies.**
- **Milieu: fertile, stérile, limpide**

Milieux de culture : incubation

Conditions d'incubation :

- **2 semaines** dont 1 semaine à température ambiante (champignons) et 1 semaine à 32°C (bactéries)
- conditions pouvant varier selon les microorganismes voulant être testés (environnement /biocharge)

*Sterile Drug Products for Home Use, The United States Pharmacopeial Convention, **USP 26** <1206>, 2003*

Media-fill : nombre d'unités

- Un minimum de 3 tests conformes consécutifs sont nécessaires pour que le procédé aseptique soit validé
- Nombre d'unité proportionnelle à la taille du lot (*ISO 13408-1*):
 - hôpital: le nombre d'unités doit être représentatif de la production quotidienne
 - nombre de media-fill = la taille du lot (à modérer : dépend de ce qu'on valide)
 - Critère d'acceptation hôpital= **0** positif !!

Milieux de culture : lecture

- Les unités sont lues individuellement
- En cas de conditionnement opaque transvaser au 14ème jours dans un conditionnement transparent
- La détection: face à une lumière électrique en transparence en comparant à deux témoins 1 négatif et 1 positif
- La présence d'un trouble ou d'un objet (filament, tache, paquet, etc...) est signe d'un media-fill positif
- Personnel de lecture : formation spécifique
- Chaque unité positive : identifier le germe

Validation pratique d'un opérateur

- Evaluer la **capacité de l'opérateur à maintenir la stérilité** durant la fabrication en milieu aseptique
- **Validation standardisée**
 - Initiale de chaque nouvel opérateur
 - Périodique de tous les opérateurs
 - Min 1x/an
- **Le test est validé si trois tests successifs sont conformes → au moins 3 unités à remplir à chaque fois**

Procédure de Mediafill en Suisse

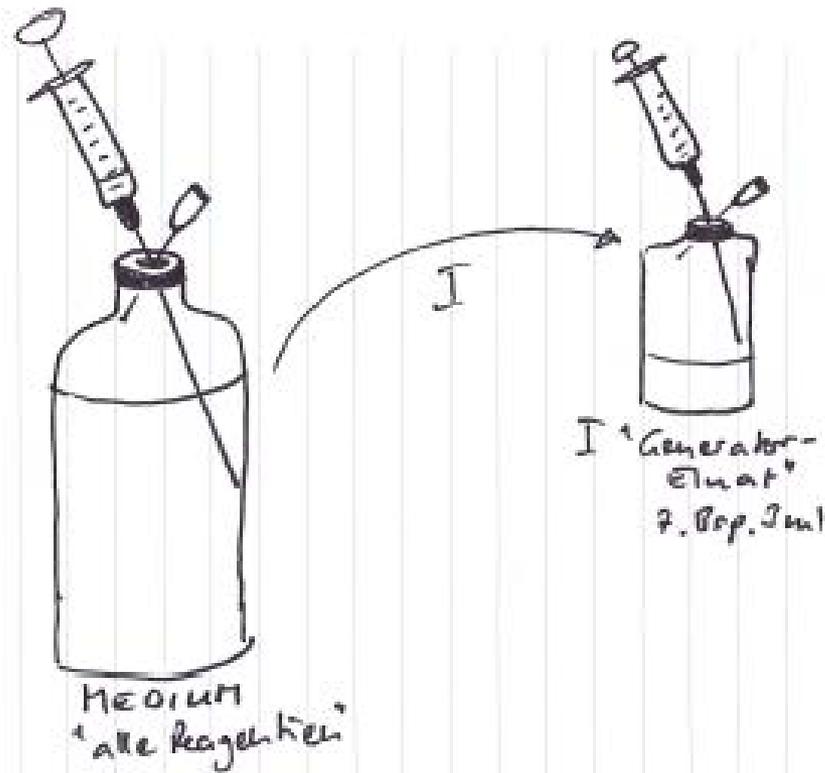


Protection de l'opérateur

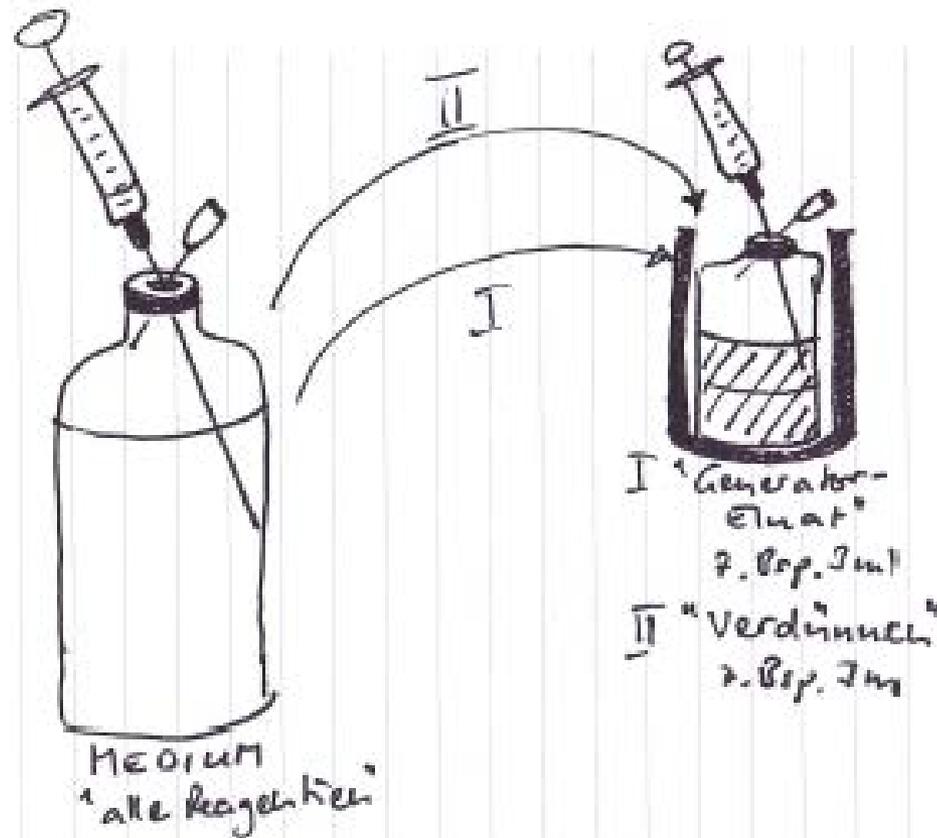


Matériel nécessaire pour le Mediafill

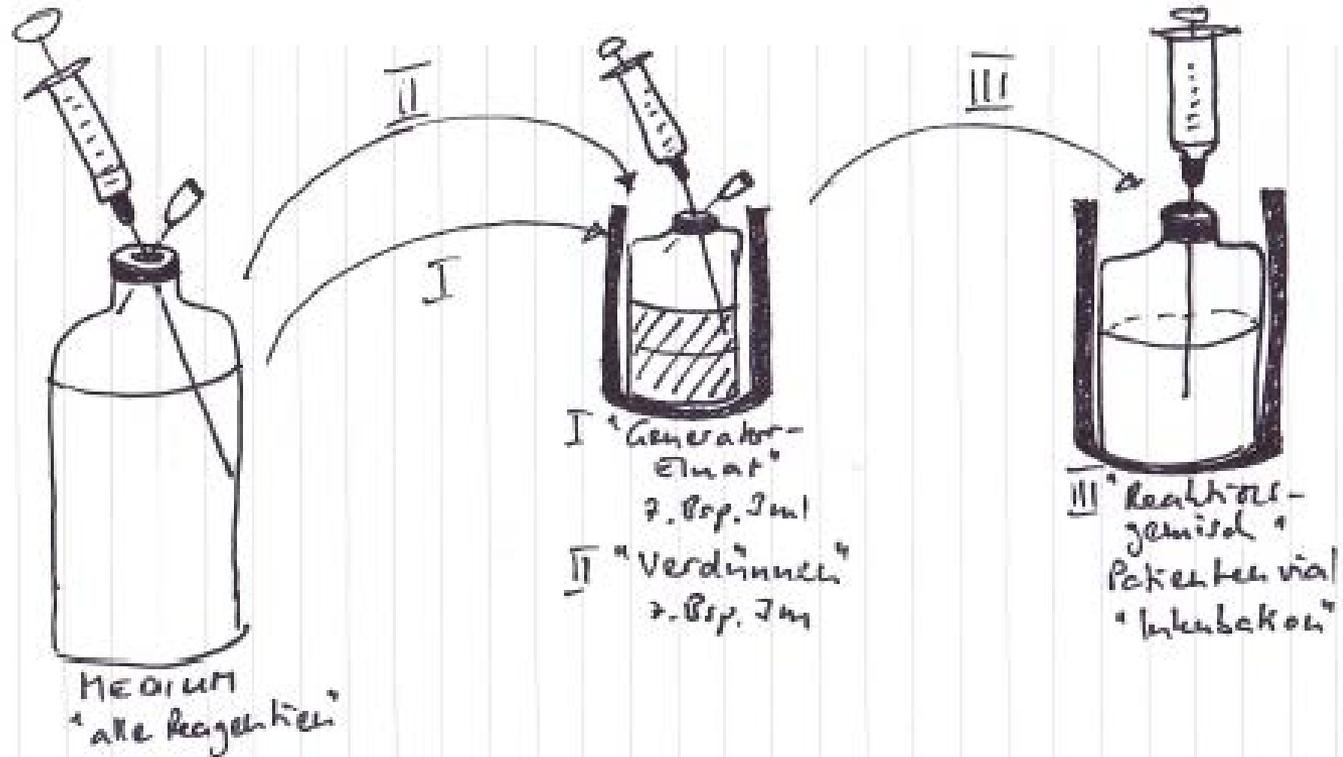
Exemple de Mediafill sur l'éluotion du générateur



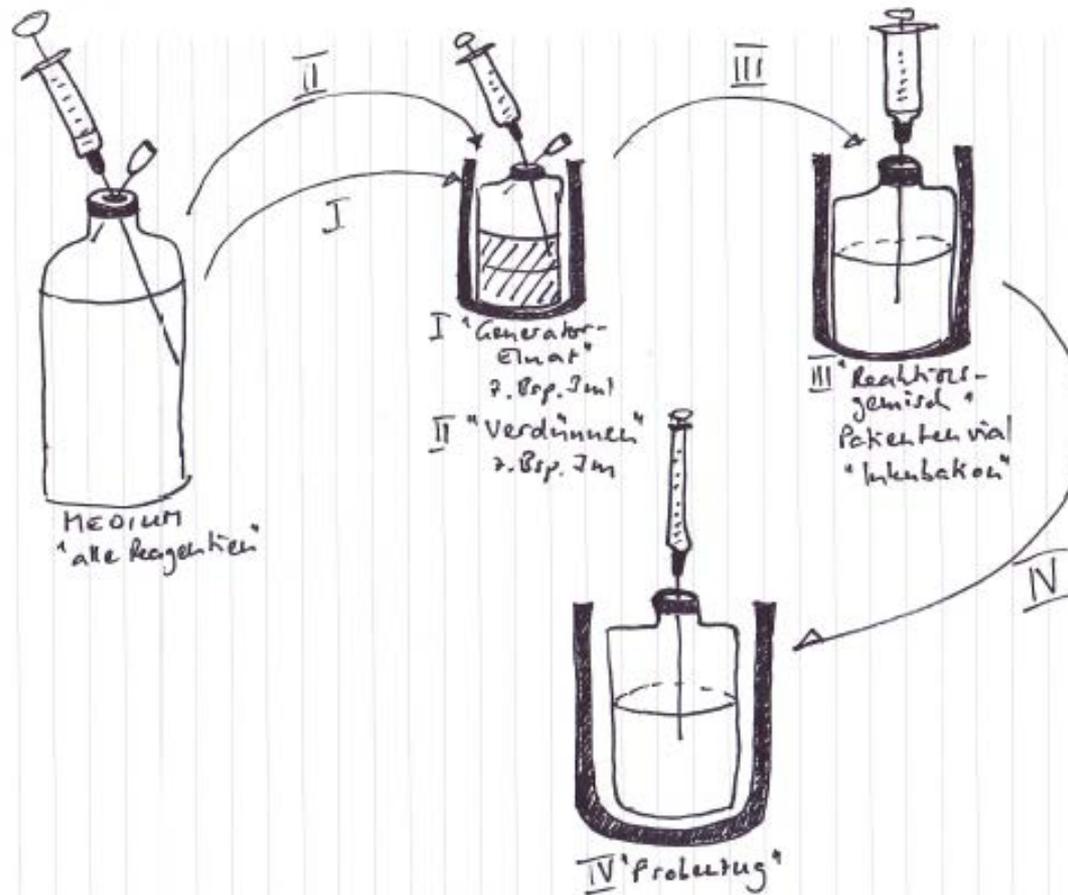
Dilution des éluats



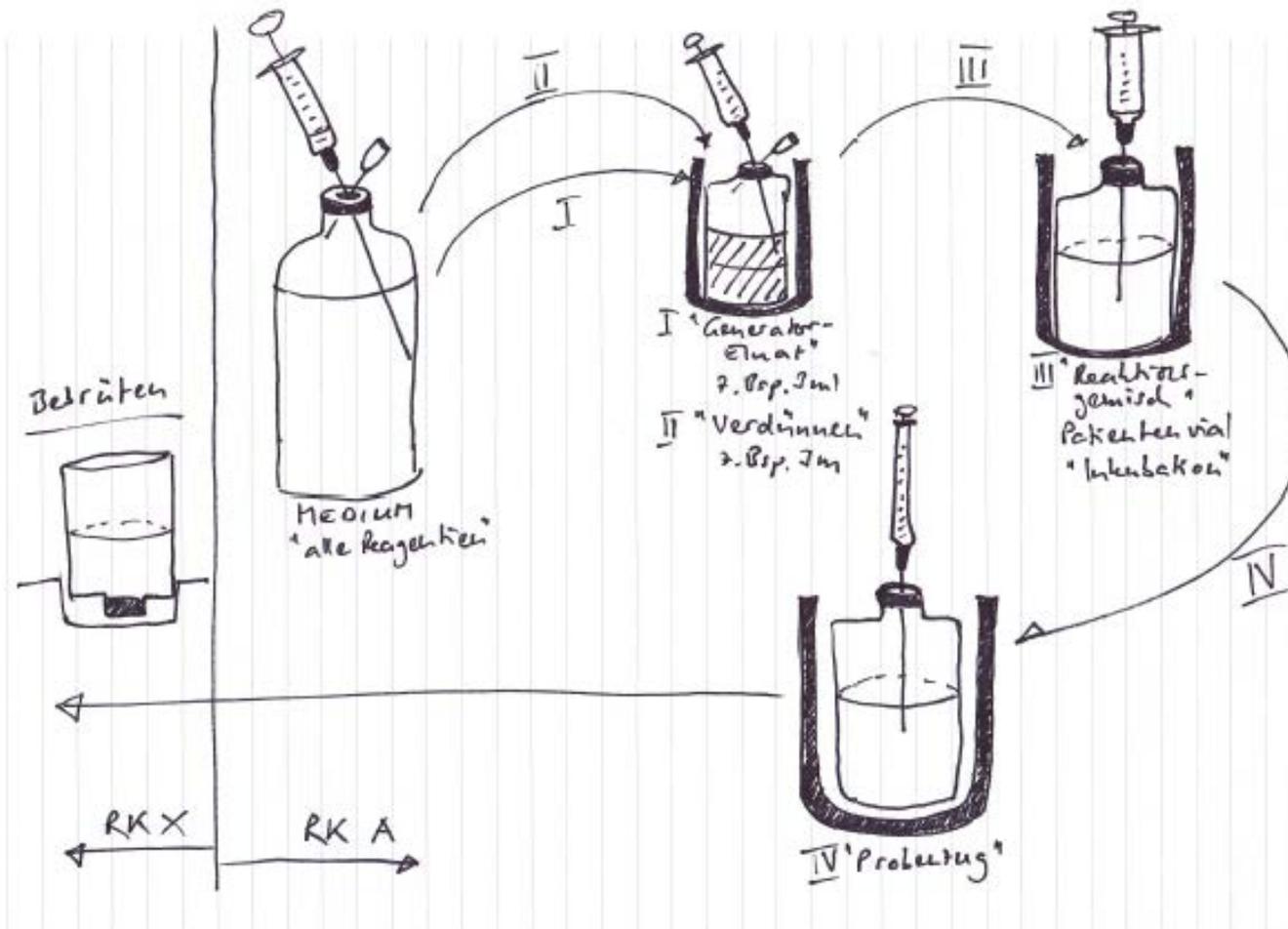
Transfert & Incubation



Echantillonnage : Simulation de la préparation de la dose



Incubation et lecture



**BPF pour les préparations
Radiopharmaceutiques**

Prof. Farshid Sadeghipour

**Synthèse
&
Conclusions**

31.03.2014



Synthèse

- **Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique**
- **Quelle est la réelle source de contamination?**
- **Comment réduire les risques?**
- **Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?**
- **Comment détruire les micro-organismes?**
- **Est-ce que l'on est efficace à 100%?**

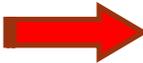
Conclusions

- Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique?
- **Tout ce vous introduisez est à risque :**
 - Particulièrement vous-mêmes :
gants, manches, espace de peau entre le gant et la manche, vos vêtements de l'extérieur (d'où proposition de survêtements..).
- Quelle est la réelle source de contamination?
- Comment réduire les risques?
- Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?
- Comment détruire les micro-organismes?
- Est-ce que l'on est efficace à 100%?

Conclusions

- Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique?
- Quelle est la réelle source de contamination?
- **L'environnement**
 - Comment réduire les risques?
 - Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?
 - Comment détruire les micro-organismes?
 - Est-ce que l'on est efficace à 100%?

Conclusions

- Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique?
 - Quelle est la réelle source de contamination?
 - Comment réduire les risques?
 - **Un local propre,**
 - **Matériel *dédié* à l'activité (flux laminaire + activimètre + générateur de Tc-99m),**
 - **Accès limité aux personnes impliquées (donc *formées*), en**
 - **Eviter les sources de contamination (objets inutiles comme emballages, mobilier,**
-  **toute chose inutile non impliquée dans les préparations**
- Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?
 - Comment détruire les micro-organismes?
 - Est-ce que l'on est efficace à 100%?

Conclusions

- Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique?
- Quelle est la réelle source de contamination?
- Comment réduire les risques?
- Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?
- **Entretenu et nettoyé régulièrement**
(au minimum chaque jour où il sera utilisé).
Conseil : local de taille réduite car plus facile à nettoyer et contrôler.
- Comment détruire les micro-organismes?
- Est-ce que l'on est efficace à 100%?

Conclusions

- Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique?
- Quelle est la réelle source de contamination?
- Comment réduire les risques?
- Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?
- Comment détruire les micro-organismes?
- **Sprayer/nébuliser une solution hydro-alcoolique (eau/isopropanol) stérile**
Klercide (Ecolab), Anios Alcool isopropylique stérile, VWR® Sterile 70% Isopropanol, ...
- Est-ce que l'on est efficace à 100%?

Conclusions

- Quels sont les risques aseptiques de travail en poste de sécurité biologique?
- Quelle est la réelle source de contamination?
- Comment réduire les risques?
- Qu'est-ce qu'un local propre en environnement contrôlé?
- Comment détruire les micro-organismes?
- Est-ce que l'on est efficace à 100%?
- **NON (virus, ...)**

Ne pas oublier :

***« il est plus facile d'éviter d'introduire
que d'essayer de détruire »***