MISE EN PLACE D'UN TEST DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE ADAPTE A LA PREPARATION SOUS ISOLATEUR

A Savry[1], Y Bennis[1], S Roubaud[2], L Gauthier-Villano[1], P Pisano[1], B Pourroy[1]
[1]Oncopharma Timone, 264 rue St Pierre 13005 Marseille, [2]Clinique Plein ciel - 122 Av du Dr Donat 06250 Mougins

INTRODUCTION:

La préparation des cytotoxiques doit répondre aux exigences des Bonnes Pratiques de Préparation (BPP). Les chimiothérapies ne pouvant subir une stérilisation sur conditionnement final, la méthode de choix est la préparation aseptique en isolateur. Le recours à cette méthode impose une validation des procédés de préparation aseptique par la réalisation de tests de remplissage aseptique (TRA). Ce test consiste à remplacer les matières premières habituelles par un milieu de culture et vérifier sa stérilité après une incubation de 14 jours à une température de 30 à 35°C. Le TRA a donc été adapté à la préparation sous isolateur, en tenant compte des pratiques quotidiennes du service. L'objectif de ce travail est d'une part de démontrer que notre procédé de fabrication permet de garantir la stérilité du produit fini et d'autre part de valider nos manipulateurs.

MATERIELS ET METHODES

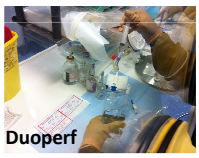
• MATERIEL UTILISE :

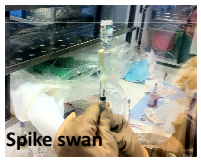
•1 Kit KLERKIT® (Shield Medicare) contenant:
- 1 poche stérile de tryptone soja 100ml
- 1 flacon stérile de tryptone soja 50ml
- 1 ampoule stérile de tryptone soja 100ml
- 3 flacons stériles

- Contenants représentatifs de la production habituelle
- **Milieu Tryptone Soja:** recommandé par Ph.Européenne

- 17 seringues 5 ml avec bouchons
- 1 aiguille
- 1 duoperf
- 4 Spikes swan
- Etiquettes

Adaptation aux dispositifs de routine





• TEST DE FERTILITE : OBLIGATOIRE

Kit livrés avec certificats de fertilité MAIS
décontamination de surface par acide peracétique

⇒ Contrôle post-décontamination
⇒Par ensemencement d'une souche ATCC6633 (***Bacillus subtilis spizizenii)***

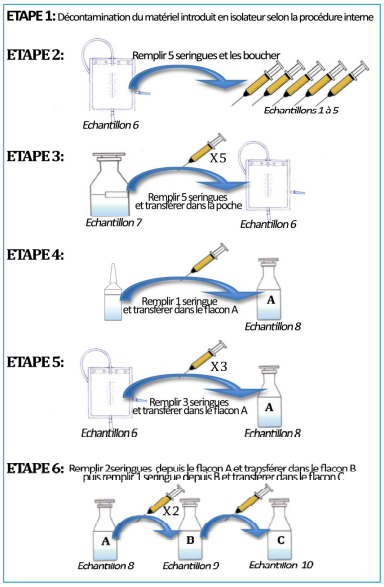
• **1 EZ accu-shot =** kit contenant:
- 5 pastilles lyophilisées de *Bacillus subtilis sp*
- 5 flacons contenant chacun 1,2 ml de tampon

Charge microbienne à inoculer: < 100 UFC (Ph Eur)
=> Titre du kit: 450 UFC/ml d'ou
- flacon de 50ml => inoculum de **0,1 ml** ⇔ 45 UFC
- poche de 100ml => inoculum de **0,2 ml** ⇔ 90 UFC

1ère Validation: Ensemencement de 3 kits
- **1 contrôle positif** –> kit ensemencé directement
- **1Test de fertilité** –> 1 kit stérilisé puis ensemencé
- **1 contrôle négatif** –> 1 kit témoin non ensemencé

Test de fertilité en routine : pour chaque nouveau lot

• MODE OPERATOIRE :



• CONDITIONS DE REALISATION

WORST CASE: conditions jugées les plus défavorables :
- Contamination de l'isolateur potentiellement la plus importante, juste avant son nettoyage mensuel
- Contrainte de temps: 45 min au maximum pour les 3 TRAs (1,6 min/unité)

- 3 TRA/PPH
- 8 PPH dans les 5 isolateurs de l'unité

• **14 jours** d'incubation entre **30 et 35°C**
• Contrôle visuel quotidien
• Identification des microorganismes en cas de contamination

• PRELEVEMENTS de SURFACE et D'AIR

• dans isolateur (classe A), avant et après chaque TRA

• avec contrôle + non décontaminé (C+) et décontaminé (Cd+)

• air: aérobiocollecteur Check'air®G11

• surfaces:
- gélose contact: 3 surfaces planes
- écouvillon + tube de milieu nutritif: 5 surfaces non planes

• CRITERES D'ACCEPTATION

• **Test de fertilité : croissance positive** sur le kit ensemencé
• **TRA** :
- Analyse après **14 jours** d'incubation
- entre **30 à 35°C**
- Contrôle visuel quotidien
- Si contamination : identification des microorganismes
- **Niveau cible = croissance nulle**
• **Prélèvements isolateur selon BPP :**
- air : **< 1 UFC/m³**
- surfaces : **< 1UFC/gélose**

RESULTATS :

Test de fertilité :
- 2 kits ensemencés: **croissance positive**
- Kit témoin: **croissance nulle**

La décontamination par l'acide peracétique n'altère pas la fertilité du milieu de culture

Prélèvements :
- Contrôle C+ et Cd+ OK
- air => **aucune croissance bactérienne**
- surfaces => **aucune croissance bactérienne**

Conformité aux BPP

TRA : 8 préparateurs testés => **croissance nulle** sur tous les résultats

DISCUSSION/CONCLUSION:

La mise en place du TRA s'est faite étape par étape en tenant compte de la règlementation en vigueur, d'une bibliographie pertinente et des procédures de routine du service. Les modalités de réalisation du test de fertilité et TRA ont été testées pour s'assurer qu'elles pourront être utilisées en routine. Un test de fertilité comprenant 2 kits ensemencés et un témoin a été mis au point pour vérifier que la décontamination par l'acide peracétique n'altérait pas la qualité du milieu de culture.

Huit préparateurs ont été testés par TRA. Lors de la réalisation du TRA selon les modalités décrites, aucun problème majeur n'est survenu. Tous les préparateurs testés ainsi que notre procédé de fabrication ont été validés.

Pour compléter, des tests à la fluorescéine et des dosages d'anticancéreux dans les isolateurs vont être réalisés afin de valider notre procédé de fabrication et nos manipulateurs sur le plan de la contamination chimique. Enfin, les anticancéreux seront dosés dans les poches fabriquées permettant de vérifier la conformité des préparations vis-à-vis des prescriptions.