



EFFICACITE D'UN CYCLE DE STERILISATION SUR DEUX GERMES ENVIRONNEMENTAUX LORS DE LA FABRICATION D'AMPOULES D'ATROPINE.



A-C OUSTRIC*, F CAIRE-MAURISIER**, L. VENARD*, E BRENOT*.

* Pharmacie Centrale des Armées BP 04 45 998 Orléans Armées.

** Hôpital d'Instruction des Armées du Val de Grâce Service Pharmacie 75 005 PARIS.

→ Objectif :

Le sulfate d'atropine à 0,2% (m/m) en ampoule bouteille de 5 mL, 10 mL et 20 mL est produit afin de proposer une thérapeutique aux personnels exposés aux agents chimiques de guerre tels le sarin. La solution de sulfate d'atropine est répartie dans des ampoules qui subissent ensuite un autoclavage. L'eau pour préparation injectable (EPI) produite sur le site, utilisée pour la fabrication est conforme à la Pharmacopée Européenne. La biocharge avant filtration de la solution de sulfate d'atropine destinée à être conditionnée en ampoules injectables est toujours maîtrisée. L'identification microbienne de cette biocharge indique la présence de deux germes gram négatifs dont les fragments sont de nature endotoxinique et donc détectables par le test LAL. Les deux germes identifiés présents dans la biocharge sont *Bulkoderia Cepacia* et *Ralstonia Picketti*.

La courbe de survie microbienne est décrite dans la norme ISO 14 937, cette norme est ici détournée au profit de la fabrication de soluté injectable. Il s'agit de prouver que le cycle utilisé est sécurisé au regard de ces deux germes systématiquement rencontrés lors des biocharges. Le temps permettant la destruction totale d'une population connue des deux germes est connu puis doublé aboutissant un cycle de stérilisation sécurisé.

→ Matériels et méthodes :

Les souches de *Ralstonia Picketti* et de *Bulkoderia Cepacia* sont issues d'une banque fille. Après décongélation et pool des aliquots, trois mL sont transférés dans 27 mL de diluant Pharmacopée en flacon stérile. Un calibrage de chaque souche est réalisé afin d'évaluer la population initiale. Le transfert dans des ampoules de verre de type I de 5 mL est réalisé de façon manuelle, les ampoules sont ensuite scellées. Les ampoules vides ont été préalablement autoclavées afin d'éviter toute contamination.

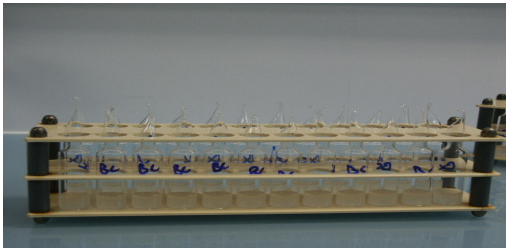


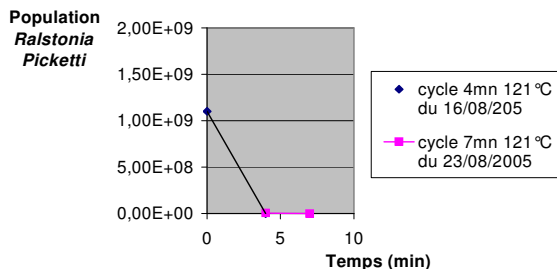
Photo : Ampoules bouteilles scellées manuellement.

Les ampoules ainsi préparées sont soumises à différents cycles de stérilisation de F0 croissantes au sein d'un autoclave Barriquand® à ruissellement. Le chargement de l'autoclave est prédéfini. Deux chariots possédant chacun cinq étagères sont chargés dans l'autoclave pour chaque lot d'ampoules produites. Les ampoules sont placées « tête en bas » pendant la stérilisation. Chaque indicateur biologique est identifié en fonction de sa place au sein de l'autoclave.

A l'issue de chaque stérilisation, le personnel du laboratoire récupère les ampoules afin de les mettre en culture (gélose trypticase soja et bouillon trypticase soja).

Le premier cycle possède un plateau de stérilisation de 4 minutes à 121 °C et le second cycle possède un plateau de 7 minutes à 121 °C. Le cycle définitif appliqué aux ampoules quels que soient le volume est un cycle avec un plateau de 14 minutes à 121 °C.

→ Résultats :



La destruction est totale pour les deux cycles appliqués. Dès quatre minutes de plateau de stérilisation, une population initiale *Ralstonia Picketti* de $1,1 \cdot 10^9$ est détruite ainsi que la population initiale *Bulkoderia Cepacia* ($1,3 \cdot 10^9$). La destruction totale des germes exposés ne permet donc pas d'élaborer une comparaison entre la courbe de survie et la fraction négative.

→ Discussion-conclusion :

Un cycle de 14 minutes à 121 °C entraîne une surdestruction pour ces deux micro-organismes identifiés dans la biocharge. Cette étude, centrée sur deux germes environnementaux, garantit l'efficacité spécifique de ce cycle.

La surdestruction par la stérilisation permettant de garantir un niveau d'assurance de stérilité optimum est prouvé.

→Bibliographie :

- [1] Pharmacopée Européenne 5^{ème} ed. (2005), Conseil de l'Europe, Strasbourg, France.
- [2] Norme ISO 14 937 , année 2000.