



Prévenir plutôt que décontaminer : un contrôle qualité microbiologique sûr, de la filtration à l'incubation - Dr Jasmin Grigat – Product Manager Microbiology

Lab Products & Services

Sartorius Stedim Biotech GmbH

Tél. : +49 551 308 3326 - www.sartorius.com

Pour qu'un produit soit d'une qualité optimale et réponde à toutes les prescriptions et réglementations, il est essentiel que l'assurance qualité ne se limite pas uniquement au contrôle du produit final. Il faut plutôt soumettre les matières premières utilisées, mais aussi l'ensemble du processus de fabrication, à un contrôle continu. Dans l'industrie pharmaceutique, il est donc habituel de réaliser une analyse des risques des différentes étapes de production afin de définir les contrôles à effectuer

au cours du processus. Cela permet de détecter à temps des variations et surtout des augmentations de la charge microbiologique pendant la production et de prendre les mesures qui s'imposent. Même si le risque de contamination a nettement diminué depuis que les produits finaux sont produits, décontaminés et stérilisés conformément aux BPF et qu'on applique des règles d'hygiène adaptées, le contrôle qualité du produit final joue un rôle toujours aussi important.

Dénombrement des germes

Le dénombrement des germes est une analyse quantitative des microorganismes. Il peut aussi bien s'agir du nombre total de germes que de certaines espèces de microorganismes pertinentes pour le produit. Pour des produits de différents secteurs industriels (industrie pharmaceutique, des boissons, des eaux usées, etc.), on a ainsi défini des valeurs limites à ne pas dépasser pour les microorganismes. Que ce soit pour le contrôle d'eau potable ou de produits pharmaceutiques, il est essentiel que les résultats des tests soumis à validation soient précis et fiables, en raison des conséquences que des germes pathogènes peuvent avoir sur la santé des consommateurs.

Filtration sur membrane

La filtration sur membrane est encore la

méthode de choix pour dénombrer les germes, car elle permet de quantifier des microorganismes de manière fiable dans des échantillons liquides. Cette méthode consiste à concentrer les germes d'échantillons d'un volume relativement important sur la surface d'une membrane filtrante et ensuite à les cultiver en mettant le filtre contenant les germes retenus sur un milieu de culture.

À la différence de l'incubation directe d'un échantillon, la filtration sur membrane permet de tester de grands volumes d'échantillon et ainsi de détecter même des microorganismes en petit nombre. De plus, en rinçant la membrane avec des tampons, il est possible d'éliminer des inhibiteurs, tels que des antibiotiques ou des conservateurs, afin d'éviter que la croissance de certains germes ne soit inhibée.

Tests microbiologiques dans l'industrie pharmaceutique

D'un point de vue microbiologique, les produits pharmaceutiques peuvent être divisés en deux catégories : les produits non stériles et les produits stériles. Pour ces deux catégories, il est primordial d'éliminer ou de réduire le risque potentiel que représentent les microorganismes et leurs toxines pour la santé des patients tout en préservant la qualité et les effets du produit.

Il faut contrôler que les produits définis comme stériles (collyres, eau physiologique, antibiotiques, etc.) sont effectivement stériles (USP chapitre 71 et PE chapitre 2.6.1), et ensuite confirmer par un test de stérilité qu'ils ne contiennent effectivement pas de germes. En revanche pour les produits finaux non stériles, on analyse le nombre de germes conformément au Test de limite microbienne (Microbial Limit Test, USP chapitre 61 et PE chapitre 2.6.12). De plus, l'industrie pharmaceutique effectue bien entendu également des contrôles de la qualité microbiologique de la matière première (la plupart du temps l'eau) et des analyses de la charge microbienne au cours du processus de fabrication.

Étapes critiques lors du dénombrement des germes

Le dispositif classique pour effectuer une filtration sur membrane comprend une pompe à vide, une rampe de filtration, des membranes filtrantes, des entonnoirs ou des unités de filtration, des milieux de culture et des pinces.

Cette méthode consiste habituellement à poser une membrane filtrante sur le support fritté préalablement stérilisé à la flamme ou désinfecté, à fixer ensuite un entonnoir sur le support et enfin à verser l'échantillon et à le filtrer en créant le vide. Ensuite, avec les pinces, on pose la membrane filtrante sur un milieu gélosé et on la met à incuber un certain temps dans un incubateur à une température définie. Une fois l'incubation terminée, on peut alors compter les unités formant colonies (UFC) et comparer leur nombre aux valeurs limites autorisées pour l'échantillon correspondant.

La stérilisation à la flamme et la désinfection du support fritté représentent un risque de ►►►



Instruments pour:

- Mesure de masse volumique et concentration Science des colloïdes
- Rhéométrie et viscosimétrie Préparation d'échantillons par micro-ondes
- Analyse de structure par rayons X Mesure de CO₂
- Mesure de température haute précision
- Refractométrie Polarimétrie
- Essais pétroliers

Anton Paar France
Tél.: 01.69.18.11.88
Fax: 01.69.07.06.11
info.fr@anton-paar.com

Anton Paar Switzerland
Tél.: 062.74.51.680
Fax: 062.74.51.681
info.ch@anton-paar.com

www.anton-paar.com



supplémentaire, si la procédure n'est pas réalisée avec précision. Il est en effet primordial de respecter la durée d'incubation du désinfectant pour pouvoir garantir une efficacité maximale, de choisir un désinfectant adapté (pas seulement bactéricide, mais aussi sporicide) et de changer régulièrement le désinfectant. En plus d'être dangereuse pour le personnel de laboratoire, la stérilisation à la flamme comporte également le risque que tous les endroits potentiellement contaminés ne soient pas exposés assez longtemps à la flamme ni au point le plus chaud de la flamme.

Réduction des contaminations secondaires



L'utilisation d'une unité de filtration à usage unique permet de totalement supprimer ces étapes propices aux contaminations, puisqu'on utilise un support de base à usage unique. Ainsi, le transfert de la membrane filtrante sur le milieu gélosé est la seule étape particulièrement critique susceptible d'augmenter le risque de contamination secondaire et d'entraîner des résultats faussement positifs. Ce risque vient des pinces utilisées pour transférer la membrane. Elles sont certes également stérilisées à la flamme ou désinfectées avant utilisation, mais leur emploi reste quand même critique, car il n'exclut pas une transmission potentielle de germes et par conséquent une contamination de la membrane filtrante.

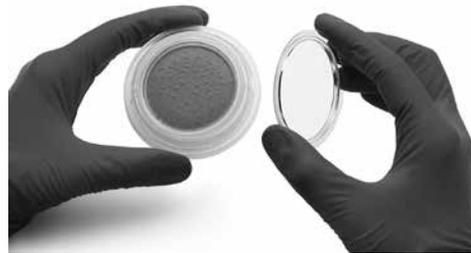
Les produits de la gamme Microsart de Sartorius augmentent la sécurité et l'efficacité du contrôle qualité microbiologique, puisqu'il n'est pas nécessaire de désinfecter le support fritté ou de le stériliser à la flamme ni d'utiliser des pinces pour transférer la membrane sur le milieu de culture.

Les unités de filtration Microsart @filter ainsi que les boîtes de milieux de culture Microsart @media font également partie de cette gamme. Microsart @filter est une unité stérile prête à l'emploi composée

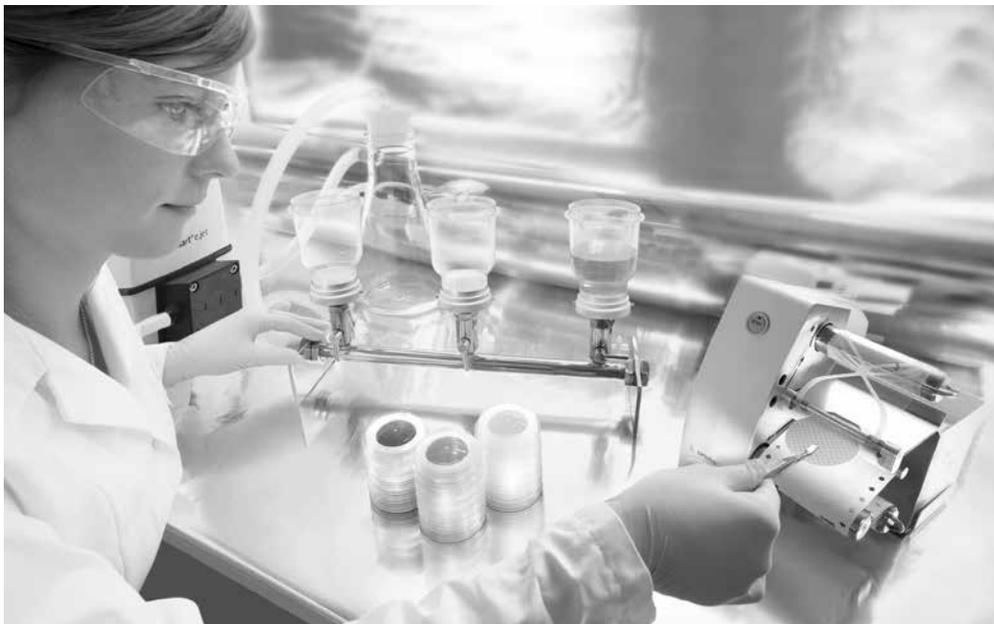
d'un entonnoir, d'un support de filtration et d'une membrane filtrante. Il suffit de poser l'unité de filtration sur la rampe en acier inoxydable pour filtrer l'échantillon directement. Ensuite, l'entonnoir s'enlève très facilement du support de base grâce à une fermeture Klick-Fit. Cette unité de filtration évite l'étape critique qui consiste à décontaminer le support en acier inoxydable.

Les boîtes Microsart @media sont des boîtes en emballage stérile remplies de différents milieux gélosés et prêtes à l'emploi avec les unités de filtration Microsart @filter. On les utilise pour réaliser le « Microbial Limit Test » qui sert à déterminer la valeur limite microbienne. Elles sont caractérisées par un couvercle innovant breveté qui permet de transférer la membrane sur le milieu gélosé sans contact et sans utiliser des pinces. Il suffit en effet d'enlever la membrane filtrante du support de l'unité de filtration à l'aide du couvercle et ensuite de la poser sur le milieu gélosé. L'incubation peut commencer dès qu'on ferme la boîte de milieu gélosé.

Une solution parfaite pour transférer les membranes en toute sécurité



La combinaison des boîtes de milieu gélosé Microsart @media et des unités de filtration Microsart @filter représente un tout nouveau concept pour le transfert de milieux gélosés et de membranes. Lors de leur développement, ces deux produits ont été parfaitement adaptés l'un à l'autre afin que le couvercle actif de Microsart @media s'adapte exactement sur la base de Microsart @filter. Ce nouveau système permet un travail plus ergonomique et plus rapide étant donné qu'il réduit considérablement le nombre des étapes entre le prélèvement d'un échantillon et son incubation. Par ailleurs, le transfert sans contact de la membrane permet d'obtenir des résultats d'analyse encore plus fiables et de réduire au minimum les risques de contamination secondaire.



Expérimenter l'excellence.

LAUDA Proline Edition X:
X-trêmement fiable.
Des fonctionnalités eX-clusives.



Aujourd'hui, jusqu'à
25% d'avantages
client* !

Inclus dans le
pack Edition X:

Commande à
distance

Logiciel
Wintherm Plus

36 mois de
garantie

Maitrisez plus sereinement encore
les tâches de thermorégulation les plus
exigeantes. De -90 °C à 300 °C.

Depuis dix ans, les thermostats et cryothermostats LAUDA Proline sont réputés pour leur fiabilité dans le contrôle de la température, pour l'aspect intuitif de leurs commandes, et pour leur grande flexibilité à l'usage. Aujourd'hui, ces classiques se surpassent ! Nouveaux appareils Proline Edition X: Nouveau design, performances d'eX-ception et jusqu'à 25 % d'avantages client*.

*par rapport au tarif maximum recommandé des appareils de la gamme actuelle Proline thermostats et cryothermostats en version Command

