

UTILISATION D'UN ISOLATEUR POUR PRODUIRE DES AEROSOLS MICROBIENS EN VUE DE LA VALIDATION DES PROPRIETES DE BARRIERE MICROBIENNE DES EMBALLAGES DE DISPOSITIFS MEDICAUX CONFORMEMENT AUX EXIGENCES DE LA NORME NF EN ISO 11607-1:2009

A-L. DA COSTA¹, S. ITIER¹, D. POY¹, C. POINSOT¹,

¹ ICARE, Biopôle Clermont-Limagne, 63360 Saint Beauzire, France

Pour assurer la sécurité du patient et des utilisateurs, les fabricants de dispositifs médicaux stériles, les entreprises de stérilisation et les services de stérilisation hospitaliers doivent respecter les exigences précisées dans l'annexe 1 paragraphe 8.3 des directives européennes Dispositifs Médicaux, notamment la directive 93/42. Pour démontrer la sécurité et les performances du système d'emballage choisi, les entreprises ont à leur disposition un outil privilégié, la norme NF EN ISO 11607-1:2009 qui vaut présomption de conformité aux exigences des directives dispositifs médicaux. Cette norme définit la démarche à appliquer pour valider le système d'emballage. Cependant, les donneurs d'ordre sont confrontés à l'absence de méthode universelle pour démontrer les propriétés de barrière microbienne d'un matériau. Le sujet de cet article est de présenter une méthode d'estimation microbiologique validée par le laboratoire Icare en vue de la détermination des propriétés de barrière microbienne des emballages de dispositifs médicaux.

1. CONTEXTE

La Norme internationale NF EN ISO 11607-1:2009 spécifie les exigences requises pour les matériaux à usage unique et les conteneurs réutilisables utilisés pour l'emballage des dispositifs médicaux stérilisés au stade terminal. Le but d'un système d'emballage de dispositifs médicaux est de permettre la stérilisation, la protection physique, le maintien de la stérilité jusqu'à l'utilisation du dispositif et de garantir la présentation aseptique de ce dernier. Le choix du type d'emballage utilisé pour un dispositif médical dépend du type d'agent stérilisant prévu par le fabricant du dispositif, de l'usage prévu du dispositif, de sa date d'expiration prévue, de son transport et de son stockage.

La notion de barrière stérile a été introduite afin de décrire l'emballage minimal nécessaire pour la fonction unique de l'emballage médical : permettre la stérilisation, apporter une barrière microbienne acceptable et permettre une présentation aseptique. Les propriétés de barrière microbienne des matériaux utilisés dans la construction des systèmes de barrière stérile sont déterminantes pour garantir l'intégrité et la sécurité du produit. Des méthodes physiques ou microbiologiques permettent d'évaluer ces propriétés. Une comparaison de l'ampleur de la pénétration des bactéries ou des particules dans le matériau avec un échantillon de référence est considérée comme acceptable pour la détermination de propriétés de barrière microbienne selon la norme NF EN ISO 11607-1:2009. Cette détermination prend en compte des paramètres physiques tel que le débit d'air à travers le matériau, la résistance microbienne de l'échantillon et la durée de l'essai. Selon l'ISO 11607-1:2009, l'imperméabilité du matériau peut être démontrée par un test de perméabilité à l'air selon la méthode de référence de ISO 5636-5, d'autres méthodes

peuvent être utilisées si elles sont validées par rapport à la méthode de référence. Cette méthode est applicable aux papiers et aux cartons ayant une certaine perméabilité à l'air mais ne convient pas aux matériaux à surface rugueuse, qui ne peuvent pas être convenablement fixés pour éviter les fuites. Les tests d'étanchéité ne mesurent pas l'entrée des microorganismes, mais plutôt une propriété physique de fuite qui pourrait être liée à l'échec de l'intégrité microbiologique. Cependant, les méthodes physiques de détermination des fuites peuvent ne pas être une alternative aux tests microbiologiques. En effet si l'absence de pénétration microbienne aéroportée est basée sur un chemin tortueux, ou si le design de l'emballage est inadapté aux variations physiques, une méthode physique ne permettra pas une démonstration fiable.

2. ELEMENTS BIBLIOGRAPHIQUES DE DEVELOPPEMENT DE LA METHODE

2.1. Norme ISO 14698-1:2003

La norme ISO 14698-1 :2003, première norme internationale relative à la maîtrise de la biocontamination, présente une méthode pour la validation des échantillonneurs d'air sur laquelle le Laboratoire Icare s'est basé pour développer une méthode de validation des propriétés de barrière microbienne des emballages de dispositifs médicaux répondant aux exigences de la norme NF EN ISO 11607-1:2009. Cette méthode valide l'efficacité physique et l'efficacité biologique de l'échantillonneur d'air.

Les essais doivent être effectués à l'intérieur d'une enceinte, présentant des conditions de turbulence d'air analogues à celles d'une salle propre, dans laquelle est généré un aérosol d'essai avec une souche d'essai sous forme de suspension de spores lavées qui survit dans les conditions de prélèvement. Il convient de maintenir la température et l'humidité relative à respectivement $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ et $(50 \pm 10)\%$. L'appareil se trouvant dans la zone d'essai doit pouvoir être manipulé de l'extérieur de l'enceinte, par exemple en utilisant des manchettes ou des demi-scaphandres. Des aérosols dont la taille des particules est bien maîtrisée sont produits dans un appareil tel que le générateur d'aérosol à disque rotatif ou à tête rotative. Le disque ou la tête est mis en rotation à grande vitesse et il est alimenté par une suspension liquide de microorganismes sous forme d'une fine nébulisation homogène. En modifiant la vitesse, il est possible de faire varier la taille des gouttelettes. Ces dernières sèchent rapidement et il est possible de produire diverses tailles de petites particules sèches en fonction de la quantité de matière insoluble dans le liquide. L'échantillonneur à soumettre aux essais et un support de membrane filtrante contenant un filtre de $0,45\ \mu\text{m}$ sont placés à proximité l'un de l'autre, mais suffisamment loin du générateur d'aérosol pour garantir que les particules sont sèches lors du prélèvement (1 m environ). L'utilisation d'un compteur de particules permet de vérifier que la concentration en particules est identique au niveau de l'échantillonneur et au niveau du support de la membrane filtrante. Il convient que l'échantillonneur à membrane, fonctionnant à un débit d'environ 5 l/min, ne soit pas dirigé vers le haut mais latéralement ou vers le bas, empêchant ainsi un dépôt de particules par gravité sur la membrane. Les deux échantillonneurs doivent être mis en marche ensemble. La durée de prélèvement dépendra de la concentration de l'air en particules portant des microorganismes, mais quelques minutes suffisent.

À l'issue de l'essai, la membrane est placée sur une boîte contenant une gélose aux peptones de soja et de caséine, ou un milieu validé équivalent. Les colonies sont comptées après incubation des deux ensembles d'échantillons pendant deux jours à 37°C . Avant d'être utilisée pour l'essai, la suspension de spores lavées, à une concentration maximale comprise entre $10^6/\text{ml}$ et $10^7/\text{ml}$, dans une solution d'éthanol à 80 %, garantira

l'obtention de spores isolées dans la plupart des particules. La quantité nécessaire d'aérosol produite dépendra des dimensions de l'enceinte et de la quantité d'air soufflée et extraite. Toutefois, il convient que la concentration en aérosol ne prolonge pas la durée de prélèvement et qu'il n'y ait pas de coïncidence ou de recouvrement de colonies de bactéries sur le milieu de prélèvement.

2.2. Parenteral Drug Association Technical Report 27 (1998)

Le Parenteral Drug Association Technical Report 27 (1998) préconise un challenge microbiologique par immersion liquide qui consiste à mettre l'emballage au contact d'une culture de microorganismes de petite taille et de vérifier la pénétration. Le test doit comporter un contrôle positif à partir d'un emballage rendu défectueux. Ce test peut être utilisé uniquement pour les matériaux imperméables.

Pour les matériaux poreux, un test de contamination aéroportée peut être mis en place. Les facteurs influençant le résultat du test sont la localisation et la position de la source de contaminants aéroportés par rapport aux emballages testés, la méthodologie utilisée pour nébuliser les microorganismes, la taille, la morphologie des microorganismes d'essai et la configuration de la chambre d'essai. Pour obtenir un test reproductible et fiable, il faut prendre en compte la conception du nébulisateur avec un système d'ajustement et de contrôle précis qui permet de minimiser les variations entre les séries d'essais et les opérateurs.

2.3. ASTM F1608 - 00(2009) Standard Test Method for Microbial Ranking of Porous Packaging Materials (Exposure Chamber Method)

Cette norme américaine présente un procédé d'exposition dans une enceinte pour estimer quantitativement les propriétés de barrière microbienne des matériaux poreux dans les conditions spécifiées par le test. Les données obtenues à partir de ce test sont utiles pour évaluer la relation entre un matériau poreux et la perte de stérilité du contenu de l'emballage. Cette méthode d'essai n'est pas destinée à prédire la performance d'un matériau pour une application donnée. Le maintien de la stérilité dépendra d'un certain nombre de facteurs :

- Le nombre et type de microorganismes que l'emballage va rencontrer lors de son utilisation. Cela peut être influencé par des facteurs tels que les méthodes de livraison, la durée de vie attendue, l'emplacement géographique et les conditions de stockage.
- La conception de l'emballage, y compris les facteurs tels que l'adhérence entre les matériaux, la présence ou l'absence d'emballage secondaire et tertiaire, ainsi que la nature du dispositif dans l'emballage.
- Le taux de renouvellement et le volume d'air que l'emballage poreux rencontre au cours de sa distribution et de sa durée de conservation. Cela peut être influencé par des facteurs dont le volume libre de l'air à l'intérieur du paquet et les changements de pression se produisant à la suite du transport, de la manipulation ou les influences mécaniques (telles que les fermetures de portes)
- La microstructure du matériau poreux qui influence la capacité des microorganismes à être adsorbés ou emprisonnés.

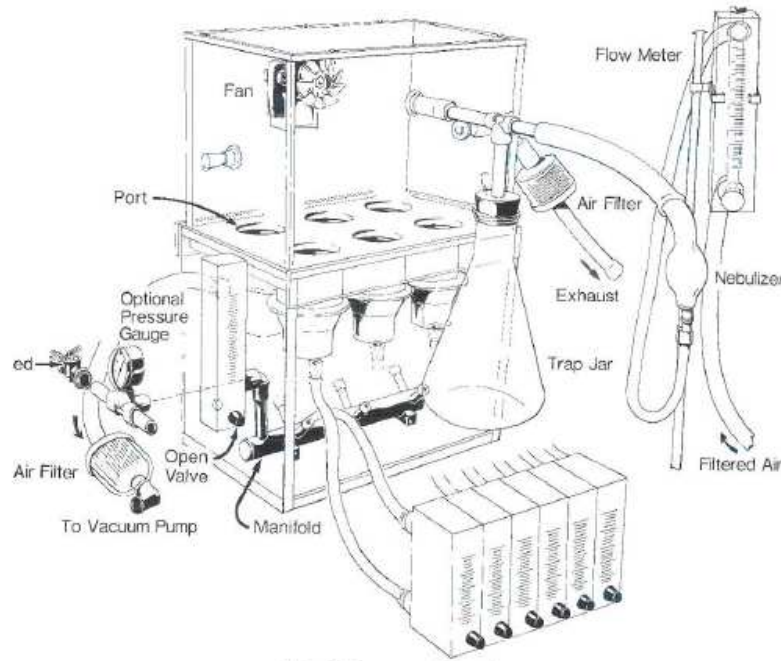


Figure 1 : Exemple d'une enceinte d'exposition (ASTM F1608 - 00(2009))

3. MISE EN PLACE DES ESSAIS

3.1. Matériel et Méthodes

3.1.1. Enceinte d'exposition

L'enceinte d'exposition est un isolateur constitué de deux chambres identiques et une chambre de transfert.



Figure 2 : Enceinte d'essai

3.1.2. Microorganisme d'essai

Le microorganisme utilisé comme référence doit être suffisamment petit pour simuler le plus petit microorganisme qui pourrait pénétrer dans le matériau poreux.

La souche *Brevundimonas diminuta* ATCC 19146 est utilisée pour les essais. Cette souche est recommandée par la Pharmacopée Européenne (7^{ème} Edition) en vigueur pour

la qualification des filtres stérilisants. Une suspension contenant au minimum 1.10^{10} CFU/ml est préparée dans un diluant.

3.1.3. Dispositifs d'essai

Les dispositifs sélectionnés sont des compresses non tissées 5 cm * 5 cm emballées par trois dispositifs dans un emballage papier :

- Témoin positif : séries de dispositifs exposés comportant des pores calibrés
- Essais : séries de dispositifs intacts exposés
- Témoin négatif : dispositif intact non exposé

3.1.4. Aérosol microbien d'essai

Un aérosol microbien de la souche *Brevundimonas diminuta* ATCC 19146, dont la concentration est bien maîtrisée, est produit par un générateur d'aérosol à tête rotative.

3.1.5. Système de nébulisation

Le système de nébulisation est un système de nébulisation continu pendant 30 minutes.

3.1.6. Contrôle de l'environnement d'essai

L'intérieur de l'enceinte d'essai est contrôlé, à intervalle de temps réguliers, pour permettre un suivi physique et microbiologique de l'environnement d'essai.

3.1.7. Temps d'exposition

Différents temps d'exposition à une contamination aéroportée sont testés.

3.2. **Résultats et conclusion**

Les dispositifs d'essai ainsi que les témoins sont soumis à un essai de stérilité selon la Pharmacopée européenne (7^{ème} Edition) sur 2 milieux de culture liquides, par inclusion, avec un temps d'incubation de 14 jours. Une lecture intermédiaire est effectuée.

Les résultats permettent la validation du système d'emballage des dispositifs médicaux d'essai pour le maintien de la stérilité jusqu'à l'utilisation du dispositif et de garantir la présentation aseptique de ce dernier.

Le protocole mis en place a permis de développer une méthode d'estimation microbiologique en vue de la détermination des propriétés de barrière microbienne des emballages de dispositifs médicaux.

4. **REFERENCES**

- ASTM F1608 - 00(2009) Standard Test Method for Microbial Ranking of Porous Packaging Materials (Exposure Chamber Method)
- NF EN ISO 11607-1 Août 2009 - Emballages des dispositifs médicaux stérilisés au stade terminal - Partie 1 : exigences relatives aux matériaux, aux systèmes de barrière stérile et aux systèmes d'emballage
- Pharmacopée Européenne 7ème édition

- ISO 14698-1:2003 Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - Maîtrise de la biocontamination - Partie 1: Principes généraux et méthodes
- Parenteral Drug Association Technical Report 27 (1998), Pharmaceutical Package Integrity