

Pratiques en alimentation et nutrition

Recommandations pour la préparation des mélanges
de nutrition parentérale

Recommendations for the preparation of parenteral nutrition mixtures

Odile Corriol ^{a,*}, Sylvie Crauste-Manciet ^b, Philippe Arnaud ^c, Françoise Brion ^d,
Denis Brossard ^b, Richard Causse ^e, Jean-Claude Chaumeil ^f, Rémi Collomp ^g, Luc Cynober ^f,
Jean-Christian Darbord ^f, Quiterie de Launet ^e, Michel Deprez ^h, Claudine Gard ⁱ,
Aline Lagarde ^j, Joaquin Mazère ^k, Philippe Meunier ^l, Dominique Navas ^m,
Sébastien Neuville ⁿ, Nicole Préaux ^o, Stéphanie Provot ^l, Patrick Rambourg ^p,
Jean-Louis Saubion ^k, Yen Thu Yona ^q

^a Service de pharmacie, hôpital Necker-Enfant-Malades, 75015 Paris, France

^b Service de pharmacie, CHI Saint-Germain-en-Laye, 78100 Saint Germain en Laye, France

^c Service de pharmacie, CHU de Rouen, 76000 Rouen, France

^d Service de pharmacie, hôpital Robert-Debré, 75019 Paris, France

^e Service de pharmacie, CHI de Créteil, 94000 Créteil, France

^f Faculté de pharmacie Paris 5, 75006 Paris, France

^g Pharmacie, pharmacie centrale, 06000 Nice, France

^h Service de pharmacie, centre hospitalier Sart-Tilman, Liège, Belgique

ⁱ AGEPS, 75005 Paris, France

^j Service de pharmacie, hôpital Dupuytren, 87000 Limoges, France

^k UFCH, 33500 Libourne, France

^l Service de pharmacie, hôpital Clocheville, 37000 Tours, France

^m Service de pharmacie, CHU Hôtel-Dieu-HME, 44000 Nantes, France

ⁿ Pharmacie, pharmacie centrale, 59000 Lille, France

^o Service de pharmacie, hôpital Antoine-Béclère, 92140 Clamart, France

^p Service de pharmacie, hôpital Saint-Éloi, 34000 Montpellier, France

^q Service de pharmacie, hôpital Louis Mourier, 92700 Colombes, France

Résumé

Le Club des pharmaciens de la Société francophone de nutrition entérale et parentérale (SFNEP) a souhaité émettre des recommandations en matière de préparation des mélanges pour nutrition parentérale. Ces recommandations ont été écrites sur la base du projet de texte des Bonnes pratiques de préparation à l'hôpital (BPPrH) rédigé par un groupe d'experts coordonné par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Le texte des BPPrH a été analysé et des recommandations applicables aux préparations de nutrition parentérale ont été écrites. Les principales recommandations en matière de préparation de la NP sont regroupées en huit chapitres ou *références* composées au total de 126 critères de qualité touchant tous les aspects pratiques des préparations de nutrition parentérale en pharmacie hospitalières : 1) les principes généraux concernant l'élaboration et le maintien de la qualité. 2) la description du système documentaire. 3) le personnel et particulièrement sa formation. 4) les locaux et équipements : aspects réglementaires et pratiques. 5) les matières premières utilisées pour les préparations et leurs spécifications. 6) la préparation à proprement parler. 7) les contrôles à mettre en place. 8) la gestion des anomalies. Cinq annexes ont été rédigées sur des points particulièrement importants concernant le système documentaire et les contrôles microbiologiques. © 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : odile.corriol@nck.ap-hop-paris.fr (O. Corriol).

Abstract

The pharmacists of the French Society of Enteral and Parenteral Nutrition (SFNEP) issued recommendations concerning the preparation of parenteral nutrition (PN) mixtures in order to facilitate and rationalise the professional practices. These recommendations were written according to the text of the *Bonnes pratiques de préparation à l'hôpital (BPPrH)* written by a group of experts coordinated by the *Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps)*. The aim of this work is to promote the quality of the parenteral nutrition by establishing a reference manual listing the quality criteria that each unit in charge of preparing the PN should respect. The reference manual contains eight chapters containing 126 quality criteria. Explications and remarks are provided with some of these criteria. The main recommendations concerning the preparation of the PN are the following: 1) General principles on the elaboration and the upholding of the quality. 2) The description of the documentary system. 3) The staff and its formation. 4) The buildings and equipments: statutory and practical aspects. 5) The raw materials used in the preparations and their specifications. 6) The preparation itself. 7) The controls that have to be put in place. 8) The management of the anomalies. Five appendices were written up on particularly important items concerning the documentary system and the microbiological controls.

© 2005 Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Assurance qualité ; Nutrition parentérale ; Pharmacie ; Préparations stériles

Keywords: Parenteral nutrition; Pharmacy; Quality insurance; Sterile manufacturing

1. Introduction

Le Club des Pharmaciens de la Société francophone de nutrition entérale et parentérale (SFNEP) a souhaité émettre des recommandations en matière de préparation des mélanges pour nutrition parentérale (NP) afin de faciliter et rationaliser les pratiques professionnelles. Ces recommandations ont été écrites sur la base du projet de texte des Bonnes pratiques de préparation à l'hôpital (BPPrH) rédigé par un groupe d'experts coordonné par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) et soumis à enquête publique en juillet 2002. Ce texte encore provisoire pourrait faire l'objet de modifications lors de sa publication officielle ; une mise à jour des présentes recommandations serait alors à prendre en compte.

L'objectif du travail est de promouvoir la qualité de la nutrition parentérale en élaborant, à partir du projet des BPPrH, un référentiel de NP composé d'une suite de critères de qualité que toute unité de préparation de NP doit respecter ou tendre à respecter.

2. Méthode

Le texte des BPPrH a été analysé et des recommandations applicables aux préparations de nutrition parentérale ont pu ainsi être écrites.

Le référentiel est composé de huit chapitres ou *références*, composés au total 126 critères de qualité. Ceux-ci ont été extraits du texte des BPPrH. Un certain nombre de ces critères de qualité sont accompagnés d'explications et de commentaires faits par le groupe de travail. Ceux-ci doivent permettre de définir les mesures à prendre pour satisfaire les critères de qualité.

Ce référentiel pourra permettre l'élaboration d'une grille d'autoévaluation.

3. Résultats

Les principales recommandations en matière de préparation de la NP sont les suivantes : 1) des principes généraux concernant l'élaboration et le maintien de la qualité (10 critères). 2) la description du système documentaire (11 critères). 3) le personnel et particulièrement sa formation (4 critères). 4) les locaux et équipements : aspects réglementaires et pratiques (35 critères). 5) les matières premières utilisées pour les préparations et leurs spécifications (7 critères). 6) la préparation à proprement parler (32 critères). 7) les contrôles à mettre en place (21 critères). 8) la gestion des anomalies (6 critères).

Cinq annexes ont été rédigées sur des points particulièrement importants concernant le système documentaire et les contrôles microbiologiques.

3.1. Référence 1 : principes généraux (10 critères)

1. Les préparations de NP réalisées dans une Pharmacie à usage intérieur (PUI) doivent obéir aux règles régissant les PUI et s'appliquant à la préparation des médicaments stériles. Celles-ci imposent des exigences particulières en vue de garantir la stérilité des préparations terminées.

2. Quelle que soit la taille du lot, la garantie de stérilité est assurée par le respect d'un ensemble de conditions et de paramètres couvrant en particulier la qualification des installations et des équipements, la qualité des matières premières et articles de conditionnement, la validation et la maîtrise des procédés de préparation et de stérilisation, les contrôles microbiologiques et particuliers de l'environnement et la formation initiale et continue du personnel.

3. Les préparations de NP sont de deux catégories : magistrales et hospitalières ;

- l'activité de préparations magistrales est une activité obligatoire au sein de toute PUI ;
- l'activité de préparations hospitalières est une activité dite optionnelle. La PUI doit donc avoir obtenu une autorisation préalable pour la réaliser.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 3

Préparation magistrale: tout médicament préparé extemporanément en pharmacie selon une prescription destinée à un malade déterminé.

Préparation hospitalière: tout médicament préparé en conformité avec les bonnes pratiques en raison de l'absence de spécialité pharmaceutique disponible ou adaptée. Elle fait l'objet d'une déclaration à l'Afssaps.

Chez l'adulte, seuls les patients dont les besoins nutritionnels sont spécifiques en raison de leur pathologie ou de leurs besoins métaboliques sont susceptibles de bénéficier de préparations magistrales ou hospitalières. Les autres patients, dont l'équilibre nutritionnel est stable et les besoins nutritionnels standard, peuvent recevoir les mélanges nutritifs ayant une AMM.

En pédiatrie et néonatalogie, en raison de l'absence de spécialité industrielle de composition adaptée aux besoins de l'enfant, la NP est réalisée au moyen de préparations magistrales le plus souvent et/ou hospitalières définies dans certains hôpitaux.

4. Les préparations de NP doivent respecter les BPPrH et s'inscrire dans un système de gestion et d'amélioration continue de la qualité. La garantie de la stérilité et des autres aspects qualitatifs ne dépend pas uniquement de contrôles réalisés en fin de préparation ou sur les préparations terminées.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 4

Système qualité : ensemble de l'organisation, des procédures, des processus et des moyens nécessaires pour mettre en œuvre la gestion de la qualité.

5. Les opérations de préparations et de contrôle de NP suivent des procédures et des instructions.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 5

Procédure : manière spécifiée d'accomplir une activité. Lorsqu'une procédure est exprimée dans un document, il est préférable d'utiliser le terme « procédure écrite ».

La procédure peut être complétée par des instructions de travail détaillant les actions à accomplir.

Instruction : document qui décrit la manière dont une opération doit être faite ainsi que les moyens nécessaires pour la mener à bien. Elle concerne en général une opération précise, un service, une machine ou une personne.

6. Toute méthode de préparation, de stérilisation, de contrôle est validée ainsi que toute modification apportée ultérieurement.

7. Des contrôles adaptés garantissent que toutes les matières premières, tous les articles de conditionnement, toutes les préparations sont conformes aux spécifications.

8. Les préparations sont réalisées sous la responsabilité du pharmacien par des personnes compétentes, qualifiées et régulièrement formées.

9. Les dispositions relatives à la protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales s'appliquent aux préparations de NP.

10. Les dispositions relatives aux vigilances, notamment à la pharmacovigilance et à la matériovigilance, s'appliquent aux préparations de NP.

3.2. Référence 2 : système documentaire (11 critères)

Un système documentaire adapté est constitué : il est essentiel dans la gestion de la qualité. Les documents doivent être clairs, utiles, exploitables et bien gérés.

3.2.1. Référence 2-a : la documentation

1. Elle doit contenir les documents nécessaires pour valider la faisabilité de la préparation.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 1

Un certain nombre d'ouvrages, de références, de normes, de recommandations, de travaux scientifiques doivent pouvoir être consultés dans toute unité de préparation : se reporter à l'Annexe A.

2. Les documents doivent permettre d'apprécier la compatibilité des nutriments et la stabilité physicochimique de la préparation de NP.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 2

La préparation doit pouvoir être réalisée selon la formule prescrite par le médecin sans risque pour la compatibilité et la stabilité des nutriments : risque de précipitation (phosphocalcique par exemple), de déstabilisation de l'émulsion dans le cas des mélanges ternaires ou tout autre processus de dégradation : se reporter à l'Annexe B.

3. Les documents doivent permettre d'apprécier la sécurité de la préparation de NP et l'absence de risque pour la santé du patient à qui elle sera administrée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 3

La préparation doit pouvoir être réalisée selon la formule prescrite par le médecin sans risque clinique lors de la perfusion ou consécutif à celle-ci : se reporter à l'Annexe C.

3.2.2. Référence 2-b : les documents nécessaires au management de la qualité

4. Le système doit contenir des documents relatifs aux opérations de préparation et de contrôle :

- les procédures générales décrivant les différents processus notamment : l'organisation générale des préparations, l'analyse des prescriptions, l'habillage et l'hygiène du personnel, le nettoyage et l'entretien des locaux, les contrôles de l'environnement, la gestion des déchets... ;
- les instructions de travail décrivant précisément chaque opération de préparation, d'étiquetage, d'échantillonnage et de contrôle... ;
- les spécifications de chaque matière première et articles de conditionnement ;
- les cahiers de suivi et de maintenance pour les équipements et matériels (hotte à flux d'air laminaire, isolateurs, balances...) ;
- Les fiches d'amélioration de la qualité.

3.2.3. Référence 2-c : le dossier de lot

5. Un dossier doit être constitué pour chaque lot préparé

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 6

Dossier de lot : élément essentiel en terme d'assurance de la qualité et de traçabilité. Le dossier de lot contient toutes les informations et documents relatifs à la préparation, à son étiquetage, à son contrôle, à sa conservation, à sa dispensation, aux anomalies et à sa destruction éventuelle.

Lot : quantité définie d'une matière première, d'un article de conditionnement ou d'une préparation terminée, telle qu'elle puisse être considérée comme homogène.

La définition du lot interviendra à plusieurs niveaux du référentiel, notamment :

- au niveau de l'échantillonnage pour les contrôles (physicochimiques et contrôle de stérilité) ;
- au niveau de l'échantillonnage ;
- au niveau de l'archivage des documents.

Plusieurs notions interviennent dans la définition du lot :

- Le lot est défini par le type de préparation :

Ainsi, un lot est constitué de plusieurs poches de même composition, issues d'un même mélange initial (une même préparation répartie en plusieurs poches destinées à un ou plusieurs patients). Un lot peut aussi être constitué d'une seule poche de NP si sa composition est spécifique et si elle est destinée à un seul patient.

Cette définition du lot doit être retenue pour les contrôles physicochimiques.

- Le lot est défini par le mode de préparation :

Un lot est constitué de plusieurs poches fabriquées dans des conditions homogènes (préparations magistrales et hospitalières peuvent coexister) : le procédé, les conditions et le personnel de fabrication sont identiques pour toutes les poches. Cette définition du lot permet, par exemple, de réaliser un contrôle global de la stérilité.

6. Le dossier de lot renferme les différents enregistrements relatifs à la préparation, à l'étiquetage, au contrôle, à la conservation, à la dispensation, aux anomalies ou destructions éventuelles.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 7

Le dossier de lot permet d'assurer la traçabilité des préparations. Il doit contenir tous les documents permettant d'attester, a posteriori, la qualité de la préparation. Doivent notamment y figurer les éléments suivants :

- les prescriptions médicales : a priori pour les préparations magistrales et a posteriori pour les préparations hospitalières. Dans ce dernier cas, le ou les médecins doivent s'être engagés préalablement sur leurs besoins ;
- les numéros de lot des matières premières et si possible des dispositifs médicaux ;
- les fiches de préparation ;
- les feuilles de contrôles, les enregistrements de mesures et de suivi des opérations ;
- les étiquettes ;
- les documents assurant la traçabilité des dispensations ;
- les documents de conformité ou de non conformité le cas échéant ;
- les documents de libération de lot.

7. Les données peuvent être enregistrées par des systèmes de traitement informatisé.

8. Le dossier de lot est archivé pendant au moins d'un an après la date de péremption du lot concerné puis devrait être transféré aux archives de l'hôpital pendant 20 ans. Les cahiers de laboratoire sont archivés pendant au minimum cinq ans.

3.2.4. Référence 2-d : la maîtrise des documents

9. La documentation est gérée par une procédure de maîtrise des documents.

10. Les documents doivent être : créés, approuvés, validés, datés, signés, référencés, indexés, mis à jour et archivés par des personnes compétentes et autorisées.

11. Les documents doivent être : diffusés, connus et compris des utilisateurs.

3.3. Référence 3 : personnel (4 critères)

1. Les préparations de NP ne doivent être réalisées que si la pharmacie possède des moyens appropriés en personnel, sous la responsabilité d'un pharmacien.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 1

La préparation proprement dite ne peut être assurée que par des pharmaciens (y compris les internes en pharmacie) ou des préparateurs, sous la responsabilité effective du pharmacien. Les activités de contrôle, entretien des locaux et du matériel sont confiées à du personnel habilité : pharmacien, préparateur, technicien de laboratoire, agents... sous la responsabilité effective d'un pharmacien.

2. Le personnel effectuant des opérations liées à la NP doit recevoir une formation (initiale et continue) adaptée à son travail. Celle-ci concerne les différents aspects de la NP.

3. La formation de tout personnel doit être régulièrement évaluée et validée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 3

Validation : confirmation par examen et apport de preuves tangibles que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés.

4. La formation à l'hygiène fait l'objet d'une attention particulière ; l'observation des règles d'hygiène est surveillée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 2 à 4

La réussite d'une formation repose sur les critères suivants :

- compétence du formateur (technique et pédagogique) ;
- adaptation au nombre de personnes à former ;
- adaptation au niveau de connaissances des personnels formés ;
- prise en compte du niveau de connaissances à atteindre.

L'organisation d'une formation comprend :

- des plannings de formation avec une gradation dans l'apprentissage des connaissances
- la rédaction de protocoles de formation avec la description des thèmes à aborder ;
- la mise à jour des contenus en fonction des évolutions techniques et scientifiques.

Toute formation doit être évaluée afin de vérifier sa qualité et son efficacité.

Les outils pour réaliser cette évaluation sont :

- des contrôles des connaissances acquises par les personnels formés ;
- des audits de pratiques au cours des fabrications ;
- l'analyse des non-conformités.

Des mesures correctives sont à prendre si les objectifs pédagogiques ne sont pas atteints.

La formation spécifique à la fabrication des mélanges de NP doit comporter une formation initiale et une formation continue.

1. formation initiale : elle doit comprendre un volet théorique (aspects cliniques et pharmaceutiques de la NP) et un volet pratique.

Formation théorique :

Parmi les aspects cliniques, il faudra définir notamment

- les objectifs de la NP ;
- les indications de la NP dans le cadre de la population traitée dans l'établissement ;
- les nutriments (macronutriments et micronutriments) et les mélanges nutritionnels (binaires, ternaires) ;
- les besoins nutritionnels ;
- les voies d'abord ;
- le matériel d'administration ;
- les complications.

Parmi les aspects pharmaceutiques, il faudra définir notamment :

- les mélanges nutritifs ;
 - analyse et validation de la prescription ;
 - composition, interactions, stabilité de la préparation.
- la préparation :
 - les zones d'atmosphère contrôlée (ZAC) : caractéristiques, suivi de la qualité, maintenance ;
 - les procédés de fabrication : préparation aseptique (système clos, système ouvert), technique manuelle ou automatisée ;
 - le contrôle du produit fini et sa libération ;
 - le personnel : habillage, lavage des mains, hygiène ;
 - le système d'assurance qualité : procédures, documents, contrôle de qualité.

Un outil conventionnel (tableau, transparents...) ou audiovisuel (photo, diaporama, film, CD ROM, DVD) permet d'améliorer la formation.

Une validation des connaissances théoriques par interrogation orale ou écrite des formés permet d'évaluer l'acquisition des connaissances théoriques. Un relevé de l'évaluation individuelle réalisée par le formateur doit être archivé.

Formation pratique : elle intervient à l'issue de la formation théorique et est réalisée en deux phases : une phase de simulation avec apprentissage des gestes en dehors de la ZAC et une phase opérationnelle à l'intérieur de celle-ci, en présence du formateur.

- Formation pratique en dehors de la ZAC :
 - lavage et désinfection des mains ;
 - habillage ;
 - tenue vestimentaire sous flux ou en isolateur ;
 - préparation (mise en solution, prélèvement, transferts, manipulations des automates...) ;
 - nettoyage et entretien de la zone ;
 - contrôle et maintenance de la zone.

Le formateur valide l'acquisition des gestes par observation, il consigne par écrit le résultat de l'évaluation individuelle.

- Formation pratique dans la zone : elle intervient sous le contrôle du formateur, elle vise à réaliser la fabrication dans les conditions réelles. Les connaissances précédemment acquises à l'extérieur de la zone sont mises en application. Le formateur s'assure par observation de l'acquisition des connaissances pratiques. En fin de formation, le formateur valide la capacité du formé à réaliser la fabrication en routine, il consigne le résultat de son évaluation finale dans le dossier individuel du formé.

2. formation continue : elle est indispensable afin de réévaluer périodiquement le maintien du respect des procédures et de l'absence de dérives. L'analyse des non conformités est un des outils d'évaluation de la formation.

- La formation continue doit intégrer tout changement de procédure, équipement, processus.
- Toutes les actions de formation sont consignées par écrit dans un dossier de formation.
- La formation est adaptée en fonction du type de personnel concerné (pharmacien, préparateur, agent...).

3.4. Référence 4 : locaux, équipements (35 critères)

3.4.1. Référence 4-a : principes applicables à toutes les installations

1. Des préparations de NP ne doivent être entreprises que si la pharmacie possède des moyens appropriés en locaux et équipements.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 1

- Les locaux doivent comprendre une zone adaptée à la préparation, des sas d'accès, des locaux de stockage, des bureaux et locaux pour l'informatique, des locaux pour l'entretien, des locaux pour la conservation des préparations terminées et des locaux de contrôle.
- Les équipements doivent être adaptés aux opérations de préparation et de contrôle.

2. Toutes les préparations de NP sont réalisées dans une zone d'atmosphère contrôlée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 2

Zone d'atmosphère contrôlée (ZAC): elle est constituée de locaux et/ou d'équipements dont les qualités microbiologiques et particulières sont maîtrisées.

Les locaux comprennent les sols, cloisons, plafonds, mobilier, l'éclairage, la ventilation, les traitements d'air, le réglage de la température et de l'humidité.

La terminologie utilisée pour qualifier une zone dont la contamination est maîtrisée est variée ; Les termes suivants sont fréquemment utilisés : salle blanche, salle propre, salle stérile, salle microbiologiquement maîtrisée (SMM), zone à contamination contrôlée (ZCC), zone à empoussièrement contrôlé (ZEC). Il s'agit toujours d'un environnement ayant un niveau de propreté connu et maîtrisé qui nécessite une délimitation de l'espace et la maîtrise du nombre et de la qualité des contaminants dans cet espace, quels que soient l'environnement extérieur et l'activité réalisée à l'intérieur de l'espace. Le terme de ZAC est retenu dans ce document.

La ZAC est indispensable à la préparation des mélanges de NP. Elle ne doit pas être utilisée pour la préparation de produits à risque (anticancéreux, antiviraux...).

3. Quel que soit le procédé de préparation utilisé, la préparation proprement dite est réalisée dans une zone de classe A.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 2 et 3

Les différentes classes sont définies par la qualité particulaire et microbiologique de l'air de la zone ([Tableau 1](#)).

Les classes A/B correspondent, sur le plan particulaire, approximativement à la Classe ISO 5, la classe C à la classe ISO 7 et la classe D à la classe ISO 8 ([Tableaux 1 et 2](#)).

Une pièce à environnement non classé ne répond pas aux spécifications de la ZAC.

4. Deux types d'équipement permettent l'obtention d'une classe A et conviennent pour la préparation de NP :

- un flux d'air laminaire (unidirectionnel) ou un poste à sécurité microbiologique (PSM) dans une salle d'atmosphère contrôlée ;
- un isolateur en surpression.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 4

Une salle d'atmosphère contrôlée, appelée aussi salle propre, est caractérisée par un nombre maximum de particules en suspension dans l'air. Elle est construite et utilisée de manière à limiter au maximum l'introduction, la production et la rétention de particules à l'intérieur de la pièce. Pour obtenir ces caractéristiques, l'air doit être filtré sur des filtres appropriés, renouvelé avec un taux de brassage suffisant (écoulement turbulent). La pièce doit être en surpression, la température et l'humidité doivent y être maîtrisées.

La propreté microbiologique de l'air est également maîtrisée ; elle est fortement liée à la contamination particulaire.

L'écoulement laminaire — ou unidirectionnel — de l'air est une condition nécessaire pour une protection contre la contamination microbiologique : ce type d'écoulement évite le dépôt de particules contaminées sur l'objet à protéger. Il peut être horizontal ou vertical. Il s'écoule à une vitesse de : 0,3 à 0,5 m/sec pour la classe ISO 5 — 0,25 à 0,15 m/sec pour les classes ISO 6 à ISO 7.

Cet écoulement laminaire peut être créé à l'intérieur d'une hotte ou bien dans un espace plus large (mur à mur, plafond à sol).

Le poste de sécurité microbiologique (PSM) assure la même protection du produit stérile que la hotte à flux d'air laminaire puisque l'air est également filtré et s'écoule à 0,45 m/sec. Le PSM assure de plus la protection du personnel et de l'environnement (non nécessaire dans le cas de la NP).

L'isolateur est une barrière physique étanche effectuant une séparation entre une ambiance interne (stérile) et une ambiance environnante. Les parois peuvent être rigides ou souples. Dans le cas de la NP, l'isolateur est en surpression par rapport à l'environnement immédiat. L'air y est généralement turbulent. Les systèmes de transfert doivent être validés. Les manipulateurs interviennent par l'intermédiaire d'hémiscaphandres ou de manchettes équipées de gants.

La qualité de l'air environnant la zone de classe A peut varier en fonction de l'équipement choisi (hotte à flux d'air laminaire ou isolateur) et du procédé de fabrication (répartition aseptique en système ouvert ou répartition aseptique en système clos).

Le [Tableau 3](#) fournit des exemples d'opérations réalisées dans différentes classes en fonction des équipements et du niveau de risque de contamination.

Tableau 1
Caractéristiques particulières des ZAC au repos et en activité

Classe	au repos					en activité	
	nombre maximal autorisé de particules par m ³ de taille égale ou supérieure à						
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
Classe A				3500	0	3500	0
ISO 5	100 000	23 700	10 200	3520	29	ND	ND
Classe B				3500	0	350 000	2000
ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	293	ND	ND
Classe C				350 000	2000	3 500 000	20 000
ISO 7				352 000	2930		ND
Classe D				3 500 000	20 000		
ISO 8				3 520 000	29 300	ND	ND

ND : non défini (norme NF EN ISO 14644-1).

Tableau 2
Recommandations pour la surveillance microbiologique des ZAC en activité

Classe	valeurs limites recommandées de contamination microbiologique			
	échantillon d'air UFC/m ³	boîte de Pétri (diamètre 90 mm) UFC/4 heures	gélose contact (diamètre 55 mm) UFC/plaque	empreinte de gant (5doigts) UFC/gant
Classe A	< 1	< 1	< 1	< 1
Classe B	10	5	5	5
Classe C	100	50	25	–
Classe D	200	100	50	–

Tableau 3
Exemples d'opérations réalisées dans les différentes classes

	hotte à flux d'air laminaire PSM		isolateur en surpression	
	zone de préparation	environnement immédiat	zone de préparation	environnement immédiat
préparation aseptique en milieu ouvert	A	B	A	non classé ^a
préparation aseptique en système clos	A	C	A	non classé ^a

^a local réservé à cet usage (non considéré comme une ZAC), à accès contrôlé, à température ambiante maîtrisée (état actuel de rédaction des BPPrH). Ce local doit faire l'objet d'une vigilance toute particulière, notamment pour son nettoyage et son entretien.

5. L'air des ZAC de classe A, B ou C est filtré sur des filtres HEPA (à haute efficacité pour les particules de l'air).

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 5

L'air doit être filtré au minimum sur un filtre HEPA ayant une efficacité de rétention de 99,97 % des particules de 0,3 µm de diamètre.

6. Le taux de renouvellement de l'air est approprié.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 6

L'air doit être constamment renouvelé afin d'éliminer toute particule sans toutefois entraîner trop de turbulences qui remettraient en suspension des particules déposées. Le nombre de renouvellements d'air doit être supérieur ou égal à 25 volumes par heure (air turbulent) ou à 200 volumes par heure (air laminaire).

7. Les ZAC sont toujours en surpression par rapport à l'environnement extérieur.

8. Les pressions sont régulièrement relevées (ou enregistrées) et archivées.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 7 et 8

La surpression entre la salle propre équipée d'une hotte à flux d'air laminaire de classe A et l'extérieur de la salle d'atmosphère contrôlée doit être de 25 à 30 Pa. Cette surpression est obtenue par une cascade de pressions de 10 à 15 Pa entre les différentes pièces de la ZAC avoisinant le local de préparation. Les surpressions sont mesurées par des manomètres.

Dans le cas de l'isolateur, la surpression est comprise entre 30 et 60 Pa selon les opérations.

Les surpressions doivent être maintenues constantes tant en période d'activité qu'au repos. L'utilisation d'une alarme peut permettre de détecter une déficience du système.

Le contrôle et le relevé doivent être quotidiens. Un enregistrement en continu facilite le suivi du bon fonctionnement du système.

9. La température ambiante est maîtrisée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 9

La température recommandée est de 18 à 22 °C. Seule une climatisation peut permettre d'atteindre ce résultat. L'hygrométrie est, si possible, comprise entre 45 et 60 %.

10. L'accès à la ZAC est limité aux personnes habilitées par le pharmacien.

11. Les ZAC font l'objet d'un suivi régulier de la qualité microbiologique de l'air et des surfaces. Des taux maxima de contamination sont recommandés et doivent être respectés. Le suivi de la qualité microbiologique est effectué en activité.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 11

Dans les ZAC, les valeurs limites de contamination microbiologique figurent dans le [Tableau 2](#).

12. La surveillance microbiologique se fait par des méthodes utilisant des boîtes de Pétri, des échantillons volumétriques d'air, des contrôles de surface et des contrôles des gants des manipulateurs (géloses contact et/ou écouvillons).

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 12

Pour l'évaluation de la contamination microbiologique de l'air, la méthode par sédimentation est plus facile à mettre en œuvre mais moins sensible que la méthode utilisant le prélèvement d'air par un biocollecteur.

13. La périodicité des contrôles microbiologiques est définie.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 13

- Le contrôle de la contamination microbiologique de l'air (au moins par sédimentation), des surfaces et des gants est régulièrement effectué dans les ZAC, spécialement dans la zone A.

14. Dans les ZAC, des seuils d'alerte et d'action concernant la qualité particulière et microbiologique sont définis, sur la base des limites admises en fonction de chaque classe.

15. Les seuils doivent être régulièrement évalués et réajustés si nécessaire.

16. En cas de dépassement de ces limites, des mesures correctives sont prises selon des procédures préétablies.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 14 à 16

- Le niveau cible est le niveau de biocontamination qui doit être maintenu dans les différentes zones de la ZAC, dans les conditions normales de fonctionnement.
 - Le seuil d'alerte ou seuil de niveau 1, dit seuil sub-critique, est le niveau de biocontamination qui correspond à un niveau inhabituel de contamination par rapport aux données historiques. Il signale une dérive et réclame un renforcement de la surveillance, voire une action corrective en vue de prévenir le passage au seuil critique.
 - Le seuil d'action ou seuil de niveau 2, dit seuil critique, correspond au dépassement des valeurs maxima tolérées par les BPPrH en fonction des zones. Des mesures correctives immédiates sont nécessaires.
- Ces différents niveaux sont déterminés par chaque utilisateur.

18. Les ZAC et équipements font l'objet d'une qualification qui doit être renouvelée lors de toute modification.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 18

Qualification: opération destinée à démontrer qu'un système fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus.

La qualification de l'installation est nécessaire à la mise en route de toute unité de préparation ou lors de la réalisation de travaux majeurs. Elle comprend différentes étapes :

- Qualification de conception (QC), c'est la vérification des plans et des spécifications de l'installation par rapport au cahier des charges.
- Qualification d'installation (QI), c'est la vérification sur site de l'installation en général et du respect du cahier des charges.
- Qualification opérationnelle (QO), c'est la vérification que le système installé (isolateur, hotte à flux laminaire...) est performant c'est-à-dire que les conditions d'utilisation sont conformes à ce qui était prévu (hors activité).
- Qualification de performance (QP), c'est la vérification de tous les paramètres attestant du bon fonctionnement lors des conditions réelles d'utilisation.

À titre indicatif, une liste non exhaustive des tests à effectuer en QO (hors activité) et en QP (en activité) est proposée en fonction de la ZAC à qualifier dans le [Tableau 4](#).

17. Les résultats du suivi sont pris en compte pour la libération du lot.

Tableau 4

Tests de qualification des ZAC (la liste est indicative)

Tests	Isolateur	Salle à environnement contrôlé + flux d'air laminaire	QO	QP
Intégrité des filtres à haute efficacité (HEPA)	•	•	•	
Laminarité des flux d'air laminaire		•	•	•
Étanchéité de l'enceinte	•		•	•
Visualisation des schémas aérodynamiques	•	•	•	•
Taux horaire de renouvellement d'air	•	•	•	•
Comptage particulaire	•	•	•	•
Cinétique de décontamination particulaire	•	•	•	•
Niveau sonore (< 65 décibels : norme EN12469)	•	•	•	
Niveau d'éclairement (> 400 lux : norme EN12469)	•	•	•	
Essais du stérilisateur	•		•	
Stérilisation à vide	•		•	
Stérilisation en charge	•			•
Temps d'élimination de l'agent stérilisant de l'enceinte vide	•		•	
Temps d'élimination de l'agent stérilisant de l'enceinte en charge	•			•
Contrôle du taux résiduel d'agent stérilisant après stérilisation et rinçage	•			•
Contrôle de la fertilité des milieux de culture utilisés pour les contrôles de la ZAC, après stérilisation	•			•

QO : qualification opérationnelle QP : qualification de performance.

En qualification de performance, il est également nécessaire de valider le procédé aseptique par un test de remplissage aseptique (TRA) ou *media fill test* : *se reporter au chapitre « préparation » référence VI, critères 24 à 27 ainsi qu'à l'Annexe D.*

19. Le bionettoyage des ZAC se fait selon un programme écrit, les enregistrements doivent être établis et conservés.

20. Les ZAC font l'objet d'une désinfection et quand cela est applicable d'une stérilisation dont la périodicité et les modalités font l'objet d'une validation.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 19 et 20

La contamination microbiologique de l'air et des surfaces est contrôlée avant et après désinfection pour toutes les opérations devant être faites en classe A et B. La validation des cycles de stérilisation des isolateurs est faite avec des indicateurs biologiques.

21. Une maintenance préventive est réalisée dans les ZAC selon un plan défini.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 21

Il est nécessaire de réaliser une maintenance préventive des installations afin de prévenir tout risque de dysfonctionnement. Cette maintenance comprend le contrôle de conformité des différents éléments constitutifs de l'installation ; elle peut conduire au changement de pièces défectueuses. Cette maintenance peut être assurée en partie par l'utilisateur et/ou par un prestataire de service. Le [Tableau 5](#) donne, à titre indicatif, les contrôles à réaliser, leur fréquence et par qui ils peuvent être réalisés.

3.4.2. Référence 4-b : points spécifiques à la hotte à flux d'air laminaire en salle à environnement contrôlé

22. Dans les ZAC, il est nécessaire de respecter une cascade de surpression entre les différentes pièces (zones) et l'extérieur de la ZAC.

23. La zone présentant la plus haute surpression et la meilleure qualité particulaire et microbiologique est la zone de préparation du mélange de NP (classe A).

Tableau 5
Tests de maintenance des ZAC (la liste est indicative)

test	Fréquence (donnée à titre indicatif car très liée à l'utilisation)				par qui ?
	à réception et à chaque intervention	1 fois/ jour	1 fois/ 6 mois ou/an	autre	
1. Maintenance commune à toutes les ZAC :					
Température	•	•			utilisateur
Surpression	•	•			utilisateur
Préfiltres	•			vérification hebdomadaire et changement en fonction du colmatage	utilisateur ou prestataire
Propreté particulaire	•		•	en fonction de la disponibilité du matériel	utilisateur si matériel ou prestataire
Intégrité, efficacité des filtres et étanchéité des joints	•		•		prestataire
Climatisation	•		•		prestataire
2. Maintenance spécifique aux salles contrôlées + flux laminaire :					
Vitesse des flux d'air	•		•		prestataire
Laminarité de l'air	•		•	en fonction de la disponibilité du matériel	utilisateur si matériel ou prestataire
3. Maintenance spécifique aux isolateurs :					
Étanchéité des gants	•			en fonction de l'utilisation	utilisateur
Étanchéité des enveloppes et annexes	•		•	en fonction de l'utilisation	utilisateur si matériel ou prestataire
Contrôle du stérilisateur	•		•	en fonction de l'utilisation	utilisateur ou prestataire

24. Les différences de pression entre les différentes zones sont généralement de +10 à +15 Pa.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 22 à 24

Une différence de 25 à 30 Pa entre la pièce équipée du flux d'air de classe A et l'extérieur est recommandée ainsi qu'une différence de 10 à 15 Pa entre plusieurs pièces de la ZAC.

25. L'entrée dans ces zones se fait par des sas (sas personnel et sas matériel), si possible distincts.

26. Le sas personnel est conçu pour permettre au personnel de revêtir un habillement spécifique stérile et émettant peu de particules.

27. Des systèmes empêchent l'ouverture simultanée des portes des sas.

28. L'entrée du matériel dans la ZAC ne doit pas être source de contamination :

- tout matériel ou tout produit doit être stérile pour son entrée en classe A ; dans le cas contraire, une décontamination du produit doit être réalisée ;
- pour l'entrée en classe B ou C, préférer les produits en conditionnement primaire stérile.

3.4.3. Référence 4-c : points spécifiques à l'isolateur

29. L'isolateur est équipé d'un système de ventilation qui le met en surpression par rapport l'extérieur.

30. La stérilisation des isolateurs est obligatoire ; sa périodicité fait l'objet d'une validation.

31. Tous les produits (nutriments, conditionnements, matériels de fabrication) font l'objet d'une décontamination de surface avant l'entrée dans l'isolateur de production.

32. Le contrôle de l'étanchéité des enceintes et des gants est régulièrement réalisé.

33. Les transferts sont obligatoirement étanches afin de maintenir à tout moment le continuum stérile

34. Les sorties des préparations et des déchets sont, le plus souvent, réalisées en système clos.

35. Une surveillance est effectuée en routine ; elle comprend notamment des essais d'étanchéité de l'isolateur, de ses annexes et des gants.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 35

Se reporter au [Tableau 5](#) pour la maintenance et les contrôles à réaliser.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application de toute la référence

La salle à environnement contrôlé équipée d'un flux laminaire et l'isolateur sont deux systèmes performants. Le [Tableau 6](#) présente, à titre indicatif, quelques éléments de comparaison entre ces deux équipements.

3.5. Référence 5 : matières premières, dispositifs médicaux (DM) et articles de conditionnement (7 critères)

1. En NP, les matières premières utilisées sont des spécialités pharmaceutiques stériles présentées sous la forme injectable (solution, émulsion, lyophilisat, poudre...). Elles peuvent aussi parfois être des matières premières fournies par un établissement pharmaceutique, sans AMM.

2. Si une spécialité pharmaceutique est utilisée en tant que matière première, aucun contrôle spécifique à réception n'est exigé.

Dans le cas contraire, un bulletin d'analyse doit être demandé au fournisseur (établissement pharmaceutique).

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 1 et 2

- il faut utiliser les spécialités pharmaceutiques injectables : c'est le cas des solutions d'acides aminés, de certaines solutions de glucose, des émulsions lipidiques, de certaines solutions d'électrolytes, des solutions d'oligoéléments et de vitamines;
- en cas d'absence de spécialités pharmaceutiques adaptées, choisir également des matières premières stériles, sous forme de solutions injectables, fabriquées dans un établissement pharmaceutique.

Enfin, certains nutriments peuvent être utilisés dans le cadre de la loi relative à la protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales.

3. Le conditionnement des nutriments en flacons ou en poches munis de bouchon en élastomère percutable ou d'embout lier doit être privilégié.

4. Tous les numéros de lot des matières premières doivent être enregistrés.

5. À chaque livraison, l'intégrité des emballages et des conditionnements est vérifiée.

6. Les dispositifs médicaux (DM) utilisés pour la production sont préférentiellement stériles, à usage unique et apyrogènes.

Tableau 6

Éléments de comparaison entre la salle propre équipée d'un flux d'air laminaire et l'isolateur

	Flux laminaire en salle contrôlée	Isolateur
Qualité de l'environnement	A	A
Environnement immédiat	• C : fabrication système clos • B : fabrication système ouvert	non classé mais accès contrôlé (sas) et température maîtrisée (climatisation)
Qualification (se reporter au Tableau 3 tests de qualification des ZAC)	à effectuer à l'installation et après chaque intervention importante sur le matériel	à effectuer à l'installation et après chaque intervention importante sur le matériel
Traitement de la ZAC	• décontamination (éventuellement par des dérivés aldéhydiques)	stérilisation de surface par l'acide peracétique ou par le peroxyde d'hydrogène
Consommable pour le personnel	habillage spécifique : stérile et intégral ; gants stériles non poudrés	habillage non spécifique, hygiénique, gants stériles non poudrés à l'intérieur de l'isolateur
Entretien/nettoyage	grandes surfaces (hottes, murs, plafonds, sols...)	petites surfaces (plans de travail, enveloppes, hémiscaphandres, gants).
Contraintes de fonctionnement	• décontamination de tout matériel entrant dans la pièce • stockage facilité par l'espace disponible • étiquetage aisé	• décontamination de tout matériel entrant dans l'isolateur • stockage limité pouvant nécessiter plusieurs cycles de stérilisation • espace réduit • étiquetage moins aisé
Ergonomie/confort	• contraintes d'habillage • mouvements contrôlés • changements de personnel difficiles en cours de production • communication difficile avec les manipulateurs	• accessibilité permanente à la zone de préparation • dialogue et contacts avec les manipulateurs • accoutumance nécessaire à l'hémiscaphandre
Sécurité microbiologique	• nécessité d'un suivi strict des gestes du personnel pendant les manipulations et l'entretien	• enceinte close stérile réalisant une barrière physique entre le manipulateur et le produit • nécessité d'une bonne maîtrise des transferts étanches
Maintenance (se reporter au Tableau 4 maintenance des ZAC)	nécessité de faire des contrôles préétablis selon une fréquence déterminée	• nécessité de faire des contrôles préétablis selon une fréquence déterminée
Formation du personnel	formation rigoureuse aux gestes aseptiques, au lavage et désinfection des mains, à l'habillage	formation rigoureuse aux gestes liés au maintien de l'intégrité de la structure et des gants lors des manipulations et de l'étanchéité lors des transferts

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 6

Dans le cas contraire, ils doivent être stérilisés et le caractère apyrogène doit être suivi par la recherche des endotoxines : une détermination du taux d'endotoxines ou une détection « simple » au niveau 0,25 UI/ml (identique à celui de l'eau PPI) devra être réalisée, selon une périodicité à définir par l'utilisateur, lorsque la méthode expose la préparation à un risque de contamination : se reporter à l'Annexe E.

7. Le conditionnement final de la NP est exclusivement stérile à usage unique.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 6 et 7

La poche servant de contenant à la NP est un DM (marquage CE), supposé conforme à ses spécifications : aucun contrôle de stérilité ne doit être réalisé. Il en est de même pour les DM servant à la préparation : aiguilles, seringues, tubulures pour automate...

Seule la vérification de la conformité de chaque DM à ses spécificités (présentation, marquage CE, caractère stérile, caractéristiques des conditionnements, intégrité des emballages...) doit être réalisée.

3.6. Référence 6 : préparation (32 critères)

3.6.1. Référence 6-a : principes généraux

1. Les règles d'hygiène sont respectées. La propreté du matériel, de la zone de travail, de l'ensemble des locaux est assurée.

2. L'organisation de la préparation doit éviter toute contamination microbienne, particulaire ou pyrogène, toute erreur, toute confusion : tout produit et/ou document inutile est éliminé en début de fabrication.

3. À tout moment, les produits utilisés et les produits préparés sont identifiés ; sauf justification, la conservation d'un produit à un stade intermédiaire est exclue.

4. Le pharmacien a la responsabilité de décision de réalisation (ou de non réalisation) de la préparation ; il en apprécie la faisabilité, la conformité à l'état des connaissances scientifiques, médicales et techniques, l'innocuité.

5. La stabilité physicochimique de la préparation de NP est évaluée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 4 et 5

Si le pharmacien estime qu'une préparation est dangereuse, il informe le médecin et lui propose, si elle existe, une alternative.

6. Cette évaluation de la faisabilité doit être réalisée conformément à une procédure écrite.

7. La compatibilité du conditionnement final avec les mélanges préparés est documentée.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 7

Les contenants de référence des mélanges de NP sont les poches en copolymères d'éthylène et d'acétate de vinyle (EVA). Les poches en polychlorure de vinyle (PVC) sont à proscrire, notamment pour les mélanges ternaires, en raison du risque d'interaction avec les lipides conduisant au relargage de plastifiants (phtalates) dans le mélange. Les nouveaux contenants multicouches par exemple peuvent être compatibles et améliorer la stabilité des mélanges de NP. Les données du fournisseur doivent démontrer la compatibilité.

8. Les préparations magistrales ne peuvent être réalisées que sur prescription médicale.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 8

Conformément à l'arrêté du 31 mars 1999, la prescription de NP doit comporter notamment les mentions suivantes :

- identification du prescripteur (nom et qualité) et signature ;
- identification du patient (nom, prénom, âge, sexe, poids) ;
- date de prescription et si possible date d'administration ;
- prescription de chaque nutriment en g ou mg ou mmoles. La prescription en ml doit être évitée. Si les ml sont toutefois utilisés, le libellé complet exact du nutriment (nom et dosage) doit être précisé.

9. La préparation est réalisée en respectant les instructions de préparation écrites et validées.

10. Chaque fois que cela est nécessaire, un contrôle en cours permet de garantir le bon déroulement des opérations.

11. La reconstitution des spécialités pharmaceutiques est une opération de mélange simple réalisée extemporanément par le personnel soignant dans une unité de soins selon les indications mentionnées dans le résumé des caractéristiques du produit et ne constitue pas une préparation.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 11

Cette définition est applicable aux ajouts d'électrolytes, de vitamines et d'oligoéléments dans les poches industrielles de NP, à condition de respecter les quantités décrites dans les RCP : dans ces conditions de réalisation, il ne s'agit pas d'une préparation magistrale, ces ajouts ne sont pas sous la responsabilité du pharmacien.

3.6.2. Référence 6-b : le mesurage

12. La méthode de mesure des matières premières est choisie en fonction des volumes à mesurer.

13. Les mesures sont faites par du personnel qualifié selon des procédures documentées.

14. Le matériel utilisé pour les pesées subit un étalonnage régulier (en interne) et des contrôles périodiques (par un organisme agréé), au moins une fois par an.

15. Les matériels de mesure volumétrique sont également contrôlés.

16. Toutes les mesures de quantité et de volume sont enregistrées et reportées dans le dossier de lot.

3.6.3. Référence 6-c : la répartition aseptique

17. Les préparations de NP sont réalisées selon la technique de répartition aseptique

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 17

La préparation aseptique consiste à réaliser une préparation stérile à partir de matières premières stériles, dans un article de conditionnement stérile, en maintenant la stérilité tout au long de la fabrication.

18. Il existe deux méthodes de préparation de la NP : la répartition aseptique en système clos (associée à un risque faible de contamination dit risque de niveau 1) et la répartition aseptique en système ouvert (associée à un risque élevé de contamination dit risque de niveau 2)

19. La préparation aseptique en système clos est la méthode de choix pour les préparations de NP.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 19

La répartition aseptique est dite en système clos si le prélèvement et le transfert des matières premières vers le conditionnement final se fait sans aucun contact avec l'environnement extérieur :

Système permettant le prélèvement et le transfert d'un produit stérile vers le contenant final stérile (poche) dans lequel les systèmes de fermeture des contenants et le matériel de transfert restent en place pendant toute la durée du processus de transfert, uniquement assuré par une aiguille stérile, une tubulure stérile ou tout autre dispositif de transfert stérile. Le transfert de produit stérile est réalisé de telle manière qu'il ne soit jamais en contact avec l'environnement. Le prélèvement d'une solution stérile à partir d'une ampoule dans un environnement de classe A peut être considéré comme un transfert en système clos si celui-ci est immédiat. Cependant l'utilisation de flacons avec un bouchon en élastomère percutable doit être préférée.

20. La répartition aseptique en milieu ouvert doit être associée à une filtration stérilisante

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 20

La répartition aseptique est dite en système ouvert dès qu'une des étapes entraîne un contact avec l'environnement.

21. La filtration stérilisante est effectuée sur une membrane stérile, de porosité 0,22 µm, le plus près possible du lieu de remplissage de la poche.

22. Les filtres stérilisants utilisés sont à usage unique. La conformité de chaque lot est garantie par un certificat donné par le fournisseur.

23. Les contenants intermédiaires doivent être tout particulièrement surveillés sur le plan microbiologique et sur celui des endotoxines.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 23

L'utilisation de contenants intermédiaires, si elle s'avère indispensable, doit faire appel préférentiellement à des contenants à usage unique stériles et apyrogènes. Dans le cas contraire, leur utilisation doit être validée, notamment par la recherche des endotoxines : se reporter à l'Annexe E.

24. Le procédé aseptique fait l'objet d'une validation par simulation avec des milieux de culture. Ce test est appelé test de remplissage aseptique (TRA) ou *media fill* test.

25. Cet essai de simulation se rapproche le plus possible des procédés de préparation aseptique et en comprend toutes les étapes.

26. L'essai est répété après toute modification majeure de l'équipement et du procédé.

27. Le nombre de récipients contenant le milieu de culture est suffisant pour que l'évaluation soit fiable.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 24 à 27

La validation du procédé de fabrication par le test du *media fill* fait partie intégrante de la qualification de performance. L'objectif de ce test est de démontrer que le procédé de fabrication permet de garantir la stérilité du produit fini. Le test consiste à remplacer les matières premières habituelles par un milieu de culture et à en vérifier la stérilité après une incubation de 14 jours à une température adaptée.

Les principes généraux sont les suivants :

- l'ensemble des matières premières est substitué par le milieu de culture dont la fertilité a été préalablement vérifiée ;
- la présentation du milieu de culture et le procédé du test reproduisent le plus fidèlement possible les conditions habituelles de préparation ;
- tous les accessoires de préparation sont utilisés (tubulures de transfert, aiguilles, seringues pour les prélèvements éventuels de petits volumes, poche vide...) ;
- le nombre de poches remplies au cours du test de simulation est représentatif de l'activité quotidienne. La quantité moyenne reflète la production habituelle, la quantité maximale reflète une situation extrême pouvant se révéler plus intéressante en terme d'analyse de risques ;
- sur le plan qualitatif, il est utile de pouvoir réaliser le test lors de diverses situations rencontrées de façon habituelle ou inhabituelle (par exemple, gant percé, arrêt plus ou moins prolongé de la ventilation...).

Pour la réalisation du test media fill, se reporter à l'Annexe D.

La validation du procédé de préparation peut également comprendre la réalisation de l'essai de stérilité sur certains échantillons de préparations, en respectant l'ensemble de la procédure décrite par la pharmacopée européenne. Cet essai n'est pas réalisable dans la majorité des PUI (lourdeur de la technique et risque de contamination lié aux manipulations de souches bactériennes) et pourra être sous-traité dans un laboratoire de microbiologie.

3.6.4. Référence 6-d : étiquetage

28. L'étiquetage de la préparation est conforme à la réglementation en vigueur ; il doit comporter : l'identification de la pharmacie qui l'a réalisée, la dénomination, la forme pharmaceutique, le numéro de lot, la date limite d'utilisation, le numéro d'ordonnancier attribué lors de sa dispensation et toutes les mentions permettant les bonnes conditions d'utilisation : posologie, mode d'utilisation, voie d'administration, précautions d'emploi, mode de conservation. Les données manuscrites sont obligatoirement limitées.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 28

Les paramètres devant figurer sur l'étiquette des poches de NP sont :

- l'identification de la pharmacie ;
- le nom et le prénom du patient pour les préparations magistrales ;
- la composition quantitative complète du mélange ;
- le numéro de lot ;
- la voie d'administration ;
- le mode de conservation ;
- la date limite d'utilisation.
- éventuellement : le numéro de dispensation, la date d'administration, la durée de perfusion.

3.6.5. Référence 6-e : conservation, transport

29. Après libération, les préparations sont immédiatement stockées dans des conditions compatibles avec leur conservation.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 29

La conservation des préparations de NP doit se faire à 4 °C et à l'abri de la lumière.

30. La date limite d'utilisation des préparations terminées est justifiée sur la base d'essais de stabilité, d'études bibliographiques ou toute autre approche appropriée

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 30

Dans le cas des préparations hospitalières, la date limite d'utilisation est justifiée sur la base d'essais de stabilité des composants les plus fragiles : vitamine C par exemple, médicaments, oligoéléments, interactions contenant-contenu, stabilité des mélanges ternaires. Il faut prendre en compte la nature du conditionnement (poche en EVA, conditionnement multicouches barrière à l'O₂, emballage sous vide) qui conditionne la durée de la stabilité.

31. Le transport est réalisé dans des emballages adéquats, suffisamment solides pour exclure toute altération du contenant et du contenu de la préparation.

32. Le transport est réalisé de préférence dans un conteneur clos et dans le respect de la chaîne du froid sauf si la conservation à température ambiante a été vérifiée.

3.7. Référence 7 : contrôles des préparations terminées (21 critères)

3.7.1. Référence 7-a : principes généraux et organisation

1. L'activité de contrôle est séparée et indépendante de la préparation. Elle est placée sous l'autorité d'un pharmacien.
2. Les locaux de contrôle et les installations sont adaptés.
3. Le matériel de contrôle est qualifié et entretenu ; les méthodes sont validées.
4. Le personnel est formé au contrôle, qualifié et régulièrement évalué.
5. Les réactifs, substances de référence font l'objet d'analyses et de contrôles réguliers.
6. Aucune préparation n'est libérée avant que le contrôle n'ait été jugé conforme aux spécifications. Les préparations terminées en attente de contrôle, sont maintenues isolées des préparations acceptées et des préparations refusées.
7. Une sous-traitance de certaines analyses est possible si la pharmacie n'est pas dotée de tous les moyens adéquats.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 7

Les laboratoires de biochimie et/ou de microbiologie de l'hôpital peuvent être amenés à participer aux contrôles de NP. Il ne s'agit pas, dans ce cas, d'une sous-traitance devant faire l'objet d'un contrat de sous-traitance mais il faudra s'assurer de la validité des méthodes de contrôle utilisées pour leur application spécifique aux mélanges de NP.

3.7.2. Référence 7-b : lot et échantillonnage du lot ; échantillonnage

8. Le lot est défini comme une quantité définie d'une préparation terminée, telle qu'elle puisse être considérée comme homogène.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 8

- La notion de lot a été précédemment définie.
- Pour les contrôles physicochimiques : 1 lot = 1 poche si sa composition est spécifique ou bien 1 lot = plusieurs poches de même composition.
 - Pour les contrôles de stérilité : 1 lot = plusieurs poches dont les conditions de préparation sont homogènes.

9. L'échantillonnage est correctement effectué, il est représentatif du lot. Il est fait selon des procédures écrites précisant notamment le nombre d'échantillons à prélever et leur volume.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 9

- Pour les contrôles physicochimiques, prélever le volume nécessaire sur chaque poche (si 1 lot = 1 poche) ou sur la solution à répartir si 1 lot = plusieurs poches.
- Pour les contrôles de stérilité : l'échantillonnage dépend de la taille du lot préparé : se reporter à l'Annexe E.

10. Les échantillons de chaque lot sont conservés dans une échantillonneuse, en vue de contrôles éventuels ultérieurs. Les conditions de conservation sont celles qui sont préconisées pour la préparation de NP. Une zone de stockage est réservée.

11. La quantité conservée en échantillonneuse doit permettre de réaliser au moins une analyse complète.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 10 et 11

Pour des raisons de stabilité, il est difficile de prolonger la durée de conservation de l'échantillonneuse au-delà d'un mois après la date limite d'utilisation.

- Échantillonneuse physicochimique : conserver le volume nécessaire pour un contrôle chimique total. La congélation des échantillons peut être utilisée si elle a été validée.
- Échantillonneuse de stérilité : conserver si possible un échantillon de chaque poche ou au moins un échantillon représentatif des poches qui ont fait l'objet de la mise en culture : se reporter à l'Annexe E.

3.7.3. Référence 7- c : analyses sur les préparations terminées

Les contrôles garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont été réellement effectuées et que tous les produits ne sont pas libérés avant que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante.

12. L'examen de la préparation terminée est systématiquement fait.

13. Tous les calculs sont soigneusement vérifiés.

14. Les préparations font l'objet d'un contrôle physicochimique adapté, notamment contrôle de la masse et, chaque fois que possible, contrôle de teneur de certains composants représentatifs.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 14

La composition physicochimique des NP est vérifiée pour le contrôle de certains éléments, par exemple : le poids, le pH, l'osmolarité, la concentration en glucose, en électrolytes majeurs : sodium, potassium, calcium. Les valeurs mesurées doivent être comprises dans des fourchettes prédéfinies par chaque utilisateur, en fonction de la validation de la méthode.

Pour les mélanges ternaires dont la stabilité n'est pas connue, il est recommandé de faire (ou faire faire) un contrôle de la stabilité de l'émulsion par une étude granulométrique : se reporter à l'Annexe B.

15. Dans le cas de préparations dont la taille du lot ou dont le volume sont suffisants pour un prélèvement d'échantillon(s), l'essai de stérilité de la préparation terminée est le dernier contrôle permettant de garantir la stérilité.

16. Les échantillons prélevés pour l'essai de stérilité sont considérés comme représentatifs du lot.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 15 et 16

Le contrôle de stérilité des NP n'est pas un essai « bloquant » pour la libération du lot ; celui-ci est toujours libéré avant les résultats des contrôles microbiologiques, ce qui rend d'autant plus important le système Assurance-Qualité et les contrôles de l'environnement.

L'essai de stérilité tel qu'il est décrit dans la pharmacopée européenne n'est pas applicable en routine aux préparations de NP faites dans les PUI. Lors de la validation de la méthode de préparation, sa réalisation (ou sa sous-traitance) pourra permettre de compléter le test de remplissage aseptique. Le test de stérilité sera alors réalisé selon les spécifications de la pharmacopée ; il sera sous-traité auprès d'un laboratoire de microbiologie équipé pour manipuler des souches bactériennes et fongiques.

En routine, les contrôles effectués consistent à mettre en culture, dans des milieux appropriés, un échantillon du lot à contrôler. Deux méthodes sont applicables et au choix de l'utilisateur : l'ensemencement direct ou la filtration sur membrane : se reporter à l'Annexe E.

17. L'étiquetage est vérifié.

18. La date limite d'utilisation a été fixée à la suite d'études bibliographiques et/ou d'essais de stabilité.

3.7.4. Référence 7-d : libération du lot

19. La libération du lot est obligatoirement effectuée par un pharmacien, au vu des documents de préparation et de contrôle.

20. Dans le cas des préparations magistrales de NP, les produits sont souvent perfusés avant l'obtention des résultats du contrôle de stérilité.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application du critère 20

Dans ce cas, du fait des contraintes de prescription et de stabilité, le lot est souvent libéré avant les résultats des contrôles microbiologiques.

21. La conservation des documents est organisée ; tous les documents sont conservés dans le dossier de lot.

Explications et/ou commentaire pour la mise en application des critères 19 à 21

Le lot est libéré après examen des documents permettant d'attester la qualité de la fabrication, notamment : les documents de surveillance de l'environnement, les documents de suivi de la stérilité des équipements et du matériel concernés, les documents de suivi de la qualité de la préparation, les documents de contrôles du produit terminé.

3.8. Référence 8 : gestion des anomalies (6 critères)

1. Les déviations par rapport aux spécifications sont évaluées.

2. Toute non conformité fait l'objet d'un recueil et d'une analyse afin de mettre en place des mesures correctives.

3. Un système doit permettre l'enregistrement et le traitement des réclamations et, si nécessaire, le rappel des préparations concernées.

4. Des procédures décrivent ces opérations qui doivent être rapides et efficaces.

5. Ces mesures prises doivent être notées dans le dossier de lot.

6. En cas de non conformité d'un échantillon, il faut en rechercher la cause et prendre des mesures correctives.

4. Conclusion

Les préparations de nutrition parentérale magistrales et/ou hospitalière sont réalisées dans les pharmacies à usage intérieur, sous la responsabilité du pharmacien. Il est alors indispensable de mettre en place et de respecter un système d'assurance qualité. Le projet de texte des Bonnes pratiques de préparations à l'hôpital (BPPrH), rédigé par un groupe d'experts coordonné par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) a été la base de travail sur laquelle s'est appuyé le groupe des pharmaciens de la Société francophone de nutrition entérale et parentérale (SFNEP) pour rédiger des recommandations s'appliquant spécifiquement aux préparations de nutrition parentérale.

Il pourra aider chaque unité à progresser dans la démarche d'amélioration de la qualité et permettre l'élaboration d'une grille d'autoévaluation.

Annexe A

A.1. Référence 2 : le système documentaire

Un système documentaire adapté est constitué : il est essentiel dans la gestion de la qualité. Les documents doivent être clairs, utiles, exploitables et bien gérés.

Référence 2 a : la documentation :

« La documentation doit contenir les documents nécessaires pour valider la faisabilité de la préparation »

À titre indicatif :

Propositions d'ouvrages et de revues de référence concernant la NP, à introduire dans un système documentaire de préparation de NP :

3.8.1. Ouvrages

[1] Bernard P, Cabrit R, Demontrond D, Dramard M, Hermitte M, Jannet C, Lepetitcorps AM, Mann G, Steinmetz P, Thurninger O. Précis d'alimentation parentérale de l'adulte. Vincennes Éditions Hospitalières ; 1997.

[2] Leverve X, Cosnes J, Erny P, Hasselmann M. Traité de nutrition artificielle de l'adulte. SFNEP – Paris Springer ; 2001.

[3] Martin A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris TEC et DOC ; 2001.

[4] Nittenberg G, Chiolo R, Leverve X. Nutrition artificielle de l'adulte en réanimation. Paris Elsevier ; 2002.

[5] Pharmacopée Européenne en vigueur.

[6] Ricour C, Ghisolfi J, Putet G, Goulet O. Traité de nutrition pédiatrique. Paris Maloine ; 1993.

[7] Trissel LA. Handbook on injectable drugs 11e édition. Bethesda American Society of Health-System Pharmacists ; 2002.

[8] Whyte W. Les salles propres, seconde édition. Paris SB-Com ; 2001.

• Normes et recommandations

[1] Bonnes pratiques de préparation à l'hôpital. projet Agence

française de sécurité sanitaire des produits de santé. Paris juillet 2002.

[2] ASPEC. (Association pour la prévention et l'étude de la contamination). Traitement de l'air pour salle propre. Paris 2002.

[3] ASPEC. (Association pour la prévention et l'étude de la contamination). Contrôle de l'environnement dans les zones à haut et très haut risque infectieux. Paris 1999.

[4] ASPEC. (Association pour la prévention et l'étude de la contamination). Les isolateurs, qualification. Paris 2002.

[5] Suivi des zones à atmosphère contrôlée — guide technique — Monographie de la SFNEP, volume 1 ; Paris 1997.

[6] Contrôle de stérilité, application à la nutrition parentérale. Monographie de la SFNEP, volume 2 ; Paris 2000.

[7] Guide to good manufacturing practice, Annexe A: manufacture of sterile medicinal products; September 2003.

[8] Nutrition en situation palliative ou terminale de l'adulte porteur de cancer évolutif. Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer ; 2001.

Aucune norme n'est citée nominativement dans ce document : se reporter aux différents textes normatifs en vigueur.

• Revues de nutrition

[1] Nutrition clinique et métabolisme, journal de la Société francophone de nutrition entérale et parentérale (SFNEP).

[2] Clinical nutrition, journal de la Société européenne de nutrition entérale et parentérale (ESPEN).

[3] JPEN, journal de l'American Society of Enteral and Parenteral Nutrition (ASPEN).

Conférences de consensus

[1] Pancréatite aiguë ; janvier 2001.

[2] Nutrition de l'agressé. Anaes/SFNEP ; octobre 1997.

[3] Nutrition artificielle périopératoire en chirurgie programmée de l'adulte. Anaes ; 2003.

Sites WEB

[4] <http://www.afssaps.sante.fr>.

[5] <http://www.sfnep.org>.

[6] <http://www.espen.org>.

[7] <http://www.nutritioncare.org>.

[8] <http://www.bapen.org.uk>.

Annexe B

B.1. Référence 2 : le système documentaire

Un système documentaire adapté est constitué : il est essentiel dans la gestion de la qualité. Les documents doivent être clairs, utiles, exploitables et bien gérés.

Référence 2-a : la documentation :

« Les documents doivent permettre d'apprécier la compatibilité des nutriments et la stabilité physicochimique de la préparation de NP »

En NP, le mélange de nombreux constituants expose au risque d'interactions physicochimiques pouvant avoir deux conséquences néfastes pour la tolérance lors de la perfusion :

• la formation de précipités en cas d'incompatibilité entre deux nutriments. L'interaction entre les phosphates et le

calcium est l'exemple le plus fréquent qui continue à poser des questions dans les unités de préparation de néonatalogie et de pédiatrie ;

- la dégradation des éléments les plus fragiles aboutissant à une diminution de l'apport nutritionnel ou bien à la formation de produit de qualité dégradée. C'est le cas, par exemple, des mélanges ternaires dont la granulométrie peut, au cours du temps, évoluer voire mettre en danger la stabilité du mélange.

Lors de la validation de la prescription, le pharmacien doit être en mesure de juger de la faisabilité de la préparation qu'il va entreprendre : celle-ci ne doit pas être dangereuse pour le patient à qui elle est destinée.

L'objectif des informations fournies dans ce texte est d'aider le pharmacien à réaliser cette validation. Il ne s'agit que d'informations générales et obligatoirement schématiques qui doivent être adaptées à la situation de chaque unité.

1. Recommandations à propos du risque de précipité phosphocalcique

1.1. Introduction

Les besoins nutritionnels doivent être couverts par l'ajout dans la préparation de calcium et de phosphates en quantité adéquate. Le problème rencontré est dû à la faible solubilité des phosphates de calcium formés lors du mélange. Un précipité peut se former si les limites de solubilité sont dépassées. Ce précipité peut-être immédiat ou différé, visible à l'œil, sous forme de macroprécipité (risque d'obstruction du cathéter) [1] ou invisible sous forme de microprécipité (risque embolique) [2–4]. Les facteurs intervenant dans la formation du précipité sont multiples et interdépendants [5–7]. Ils sont résumés dans le [Tableau 7](#).

Quelles sont les concentrations de phosphates de calcium dans les préparations de NP ?

Les concentrations sont très variables en fonction des besoins nutritionnels et par conséquent de l'âge des patients (besoins phosphocalciques inversement proportionnels à l'âge) [8–10] mais aussi en fonction de l'apport hydrique. Le [Tableau 8](#) montre que les apports nutritionnels des adultes sont couverts par des solutions de NP dont les concentrations en calcium et en phosphates sont de l'ordre de 5 à 10 mmol/L. En revanche, chez l'enfant et le nouveau-né, les concentrations de calcium et de phosphates sont souvent de 10 à 15 mmol/L, voire d'avantage en cas de diminution de l'apport hydrique.

Comment détecter un précipité phosphocalcique ?

Dans les mélanges binaires, c'est-à-dire en l'absence de lipides, la détection des précipités peut être faite par des

Tableau 7

Facteurs de risque de précipitation phosphocalcique

↑ Concentration en calcium et phosphates	↑ risque
Nature du sel :	
• Chlorure de calcium	↑ risque
• Gluconate ou glucoheptonate de calcium	↓ risque
• Phosphates de sodium ou de potassium	↑ risque
• Glucose 1 phosphate	↓ risque
↑ Concentration en acides aminés	↓ risque
↑ pH	↑ risque
↑ Concentration en glucose	↓ risque
↑ Concentration en lipides	↑ risque
↑ température	↑ risque
Ordre de mélange : ajouter le calcium dans le plus grand volume possible	↓ risque
Agitation en cours de mélange	↓ risque

	Nouveau-né	Nourrisson	Enfant	Adulte
1. Besoins/kg/j				
Ca mmoles	1 à 2	0,5 à 1	0,3 à 0,8	0,1
P mmoles	2	0,5 à 1	0,5 à 0,8	0,2
Eau mL	150 à 180	100 à 120	60 à 80	25 à 35
AA g	3 à 4	2 à 3	2 à 3	1 à 1,5
2. Concentrations calculées en fonction des besoins				
Ca mmoles/L	7 à 14	5 à 10	5 à 13	3 à 4
P mmoles/L	11 à 13	5 à 10	8 à 13	6 à 8
AA %	1,5 à 3 %	1,5 à 3 %	2,5 à 3 %	3 %

moyens optiques ou électroniques, sur les solutions et les filtrats. Il s'agit de particules visibles ou non visibles à l'œil (c'est-à-dire de diamètre inférieur à 50 µm). Les exigences de la pharmacopée européenne en matière de contamination particulaire doivent être respectées.

En présence d'une émulsion lipidique, la détection des particules de phosphate dicalcique devient très difficile, même après un déphasage provoqué de l'émulsion. Un dosage de calcium à l'issue de la préparation ou après conservation pourrait permettre de repérer, en cas de chute importante de la concentration en calcium, une telle précipitation [11].

1.2. Recommandations

1.2.1. Recommandations faites à partir d'études expérimentales

Les études sont nombreuses mais les conditions opératoires sont variables, ce qui en rend la synthèse difficile. L'évaluation du risque de formation d'un précipité phosphocalcique en fonction des concentrations en gluconate de calcium et phosphates inorganiques figure dans le [Tableau 9](#).

L'utilisation de sels organiques de phosphore, spécialement le glucose-6-phosphate est un moyen pouvant permet-

Tableau 9

Évaluation du risque de précipité phosphocalcique en fonction des concentrations de calcium et de phosphates dans les préparations de NP [9,12–18]

	Nouveau-né	Nourrisson	Enfant	Adulte
Concentrations calculées en fonction des besoins (valeurs supérieures citées dans le Tableau 8)				
Ca mmoles/L	14	10	13	4
P mmoles/L	13	10	13	8
AA %	1,5 à 3 %	2 %	2 %	3,5 %
zone à risque en fonction du pH, de la concentration et de la nature des acides aminés ; attention au volume perfusé				zone sans risque

Tableau 10

Concentrations de phosphates inorganiques (mmoles/L) à haut risque de précipitation en fonction de différentes concentrations en calcium [12–18]

(Ca) mmol/L	AA 0 %	AA 1 %			AA 1,5 %	AA 2 %		AA 2,5 %	AA 4 %
		pH 5,5	pH 6,6	pH 7		pH 5	pH 6,4		
2 à 5	4 à 8	25 à 35	6 à 14	3	40	40 à 50	10 à 40	50	18 à 45
6 à 10	4	12 à 25	5	précipité immédiat	22 à 30	20 à 40	5 à 10	30 à 40	5 à 18
11 à 15	4	12	5	précipité immédiat	16 à 22	18 à 20	5	25 à 30	5
> 15	4	12	5	précipité immédiat	16	16 à 18	3	25	5

Conditions opératoires : Solutions de NP à 10 ou 20 % de glucose ; calcium sous forme de gluconate et phosphates sous formes de phosphates de potassium ; conservation 18 heures à température ambiante suivies de 30 minutes à 37°.

Les concentrations citées dans le tableau sont obtenues à partir des courbes de précipitation données par les auteurs. Il s'agit de zones à risque.

Tableau 11

Concentrations maximales de phosphates inorganiques (mmoles/L) avec des quantités croissantes de calcium [16]

Calcium (mmoles/L)	AA 0,4 %	AA 1 %	AA 2 %	AA 3 %
5	25	40	55	62
7,5	14	17	28	34
10	5,5	14	25	28
15	3	5,5	19	22

Conditions opératoires : Solutions de NP à 10 % de glucose ; solution d'acides aminés contenant de la cystéine ; conservation pendant 24 heures à 40°.

tre d'augmenter la solubilité des sels phosphocalciques. Bien qu'une seule étude montre de tels résultats [19], il faudra préférer l'utilisation de glucose-6-phosphate dans les situations à risque : nouveau-né et jeune enfant. Ces résultats devraient être confirmés par d'autres études.

1.2.2. Autre recommandation

L'élimination des précipités est théoriquement possible par filtration sur la ligne de perfusion. Les solutions peuvent être filtrées sur des filtres de porosité de 0,22 µm et les préparations contenant des émulsions sur des filtres de porosité 1,2 µm [20,1]. Si ces filtres sont effectivement capables de retenir la plus grande partie des particules, leur utilisation ne saurait en aucune façon dispenser d'une étude préliminaire du risque de précipitation phosphocalcique. Les particules peuvent colmater le filtre mais en cas d'apparition progressive du précipité, il pourrait se former ou se reformer en aval du filtre. Ces filtres, bien que nécessaires sur les lignes de perfusion, ne doivent être utilisés que comme éléments de sécurité pour éliminer des particules de formation non prévisibles [20].

1.3. Synthèse des études bibliographiques

1.3.1. Études réalisées avec du gluconate de calcium et des phosphates inorganiques (phosphates de potassium ou de sodium)

La synthèse des résultats exprimés en courbes de précipitation (6 études) [12–18] figure dans le **Tableau 10**.

La synthèse de deux études [9,16] exprimant les concentrations phosphocalciques compatibles figure dans les **Tableaux 11 et 12**.

1.3.2. Études réalisées avec du gluconate de calcium et des phosphates organiques (glycérophosphate ou glucose phosphate)

La seule étude utilisant des phosphates organiques est celle de Raupp [19]. Les résultats figurent dans le **Tableau 13**.

Tableau 12

Concentrations compatibles de deux types de phosphates avec 15 mmoles/L de calcium [9]

Calcium (mmol/L)	AA 0,5 %	AA 0,5 %
15	11	11
	phosphates inorganiques	phosphates organiques

Conditions opératoires.

Solutions de NP à 5 % de glucose ; solution d'acides aminés contenant de la cystéine ; pH 5,5 ; conservation trois jours à 4 °C puis 24 heures à température ambiante.

Tableau 13

concentrations de phosphates (mmoles/L) compatibles avec 56 mmoles/L de calcium [19]

Calcium mmol/L	AA 1,5 %	AA 2,5 %
56	48	48
	phosphore sous forme de glucose-phosphate	phosphore sous forme de glucose-phosphate ou glycérophosphate

Conditions opératoires : Solutions de NP à 10 % de glucose ; pH 6,6 à 7 ; conservation 48 heures à 24 °C puis 5 heures à 37 °C.

2. Recommandations à propos de la stabilité des mélanges ternaires

Les mélanges ternaires de nutrition parentérale sont des préparations complexes renfermant un grand nombre de composants mélangés à l'émulsion lipidique initiale. Le produit final est une émulsion submicronique lipophile-hydrophile (Huile dans Eau) dont la stabilité galénique est difficilement prévisible du fait d'un grand nombre d'interactions pouvant intervenir.

La stabilité galénique d'une émulsion pour nutrition parentérale repose essentiellement sur trois caractéristiques [21,22].

- La faible taille des globules huileux : diamètre moyen de l'ordre de 200 à 300 nm.
- La répulsion électrostatique entre les globules apportée par la charge négative des phospholipides de l'agent de surface : potentiel Zéta de l'ordre de –40 mVolts.
- Le pH neutre ou légèrement basique de la phase aqueuse. Tout ajout de composants modifiant ces caractéristiques peut entraîner une déstabilisation galénique de l'émulsion se traduisant par un grossissement globulaire non décelable visuellement mais qui peut engendrer des conséquences cliniques à type d'embolie lorsque le diamètre globulaire est supérieur à 5 µm.

Étudiés séparément, il a été montré que les électrolytes et le glucose ont un effet néfaste sur la stabilité de l'émulsion.

L'importance des interactions entre l'émulsion et les électrolytes varie selon la charge, la valeur et la quantité d'ions présents.

Ceci a été quantifié avec la notion de CAN (Critical Aggregation Number) [23,24].

$$\text{CAN} = a + 64b + 729c$$

a, b et c représentent les concentrations respectives (mmol/L) de cations mono-, di- et trivalents.

La valeur limite du CAN au-delà de laquelle le risque de déstabilisation devient important a été empiriquement fixé à 200 mmol/L, mais cette valeur limite n'est pas confirmée expérimentalement sur les mélanges. Les CAN calculés sur les mélanges commercialisés en poches tricompartimentées supplémentés en électrolytes sont supérieurs à cette valeur.

Du fait de la nature des apports, ce sont les cations divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}) qui sont responsables de la déstabilisation. Ainsi, une concentration en calcium comprise entre 3,5 et 7 mmol/L déstabilise l'émulsion par neutralisation du potentiel zéta [25]. En revanche, pour des concentrations plus élevées (> 13,5 mmol/L), l'instabilité moins marquée serait due à une inversion de la charge à la surface des globules lipidiques avec création d'une répulsion positive. Il existe donc un effet seuil [26].

Les solutions de glucose ont un pH acide qui entraîne la neutralisation du potentiel zéta des globules huileux et peut donc conduire à une déstabilisation de l'émulsion.

En mélange complet, d'autres interactions peuvent intervenir sur la stabilité de l'émulsion. Une trop grande dilution de l'émulsion peut entraîner une diminution de la répulsion électrostatique entre les globules les rendant plus vulnérables à l'action des cations. À l'inverse les solutions d'acides aminés de pH neutre jouent un rôle protecteur de l'émulsion vis-à-vis des cations par encombrement stérique et un rôle protecteur vis-à-vis du glucose par effet tampon [27].

Au total ce sont les proportions respectives d'émulsion lipidique, de cations, de glucose et d'acides aminés qui vont conditionner la stabilité du mélange.

La très grande hétérogénéité des compositions et la non connaissance des concentrations limites de chaque constituant rendent difficile la prédiction d'une instabilité.

Pour les formules adultes, la présence simultanée des trois critères suivants :

- une forte dilution de l'émulsion : < 10 % (pourcentage d'une émulsion à 20 % en volume dans le mélange) ;
- un CAN élevé : > 800 mmol/L ;
- un rapport glucose-acides aminés > 6 entraînera une déstabilisation galénique du mélange.

À l'inverse, les formules conjuguant un pourcentage élevé d'émulsion (> 17 %), un faible CAN (< 300) et un rapport glucose-acides aminés < 4,6 n'ont pas montré de signes d'instabilité. Toutefois ces critères prédictifs ne semblent pas applicables aux mélanges utilisés en néonatalogie, bien que présentant toutes les caractéristiques péjoratives déterminées pour les formules adultes [28,29].

En dehors des nutriments apportés dans le mélange, l'ajout de médicaments directement dans le mélange ou administrés

en « Y » du mélange peut être nécessaire. L'introduction d'un médicament dans le mélange doit être obligatoirement validée par des études de stabilité tant sur le plan physicochimique que galénique. Sur le plan galénique, le risque de l'introduction d'un médicament dans le mélange est, en plus d'un grossissement globulaire, la possibilité d'une microprécipitation non décelable visuellement (cas de l'aciclovir) [30,31].

En l'état actuel des connaissances, certains principes actifs peuvent entraîner un risque de déstabilisation par effet pH (acidification) ou par neutralisation des charges négatives (modification du potentiel zéta). Lorsqu'il existe une interaction entre le médicament et le mélange, le risque semble plus élevé lorsque le médicament est perfusé en « Y ».

Bibliographie de l'Annexe B

- [1] Lewis JD. Justification for use of 1.2 micron end-line filters on total nutrient admixtures. *Hosp Pharm* 1993; 7: 656–658.
- [2] Allwood MC. Calcium phosphate compatibility in 3-in-1 parenteral nutrient admixtures. *Am J Hosp Pharm*. 1994; 51:2602–2603.
- [3] Food and Drug Administration. Safety alert: hazards of precipitation associated with parenteral nutrition. *Am J Hosp Pharm*. 1994; 51: 1427–1428.
- [4] Hill SE, Heldman LS, Goo ED, Whippo PE. Fatal microvascular pulmonary emboli from precipitation of a total nutrient admixture solution. *J Psychiatry Neurosci*. 1996; 20: 81–87.
- [5] Driscoll D, Newton DW, Bistran BR. Precipitation of calcium phosphate from parenteral nutrient fluids. *Am J Hosp Pharm*. 1994; 51: 2834–2836.
- [6] Korrenhof MJ, Timmer JG. Stability of total parenteral nutrition supplied as all-in-one for children with chemotherapy-linked hyperhydration. *Pharm Weekl Sci*. 1992; 14: 50–54.
- [7] Maswoswe J, Okpara A, Hilliard M. An old nemesis: calcium and phosphate interaction in TPN admixtures. *Hosp Pharm*. 1995; 7: 579–586.
- [8] Colomb V, Goulet O, Corriol O, Ricour C. Nutrition parentérale du nourrisson. *Encycl Med Chir (Elsevier. Paris), Pédiatrie*, 04-002-J50, 1999, 5p.
- [9] Pereira-Da-Silva L, Nurmamodo A, Videira Amaral J, Rosa M, Ribeiro M. Compatibility of calcium and phosphate in four parenteral nutrition solutions for preterm neonates. *Am J Health Syst Pharm*. 2003; 60: 1041–1044.
- [10] Ricour C, Ghisolfi J, Putet G, Goulet O. *Traité de nutrition pédiatrique*. Paris Maloine 1993.
- [11] Gellis C, Arvouet A, Sautou-Miranda V, Exbrayat A, Tramier V, Corny-Peccoux, Chopineau J. Étude préliminaire de hautes concentrations calciques et phosphatées en mélanges ternaires pédiatriques de nutrition parentérale. *Nut Clin Metabol* 2000 ; 14 : 34–46.
- [12] Dunham B, Marcuard S, Khazanie PG, Meade G, Craft T, Nichols K. The solubility of calcium and phosphorus in neonatal total parenteral nutrition solutions. *J PE N* 1991; 15: 608–611.

[13] Eggert LD, Rusho WJ, MacKay MW, Chan GM. Calcium and phosphorus compatibility in parenteral nutrition solutions for neonates. *Am J Hosp Pharm.* 1982; 39: 49–53.

[14] Fitzgerald K, MacKay M. Calcium and phosphate solubility in neonatal parenteral nutrient solutions containing Trophamin. *Am J Hosp Pharm.* 1986; 43: 88–93.

[15] Lenz G, Mikrut B. Calcium and phosphate solubility in neonatal parenteral nutrient solutions containing Aminosyn and Trophamin. *Am J Hosp Pharm.* 1988; 45: 2367–2371.

[16] Shatsky F, Mc Feely E, Takahashi D. A table for estimating calcium and phosphorus compatibility in parenteral nutrition formulas that contain Trophamine (R) plus cysteine. *Hospital Pharmacy* 1995; 30, 8: 690–692.

[17] Trissel LA. Handbook on injectable drugs. 11th edition, American Society of Health-System Pharmacists, Bethesda, Maryland, USA, 2001.

[18] Venkataraman PS, Brissie EO, Tsang RC. Stability of calcium and phosphorus in neonatal parenteral nutrition solutions. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1983; 2: 640–643.

[19] Raupp P, Kries R, Pfahl H-G, Manz F. Glycero- vs glucose-phosphate in parenteral nutrition of premature infants: a comparative in vitro evaluation of calcium/phosphorus compatibility. *J Psychiatry Neurosci.* 1991; 15: 469–473.

[20] Allwood MC, Driscoll D, Sizer T, Ball P. Filtration of parenteral nutrition admixtures: friend or foe. *Nutrition* 1997; 936–37.

[21] Chaumeil JC, Brossard D. Stabilité des émulsions lipidiques utilisées en nutrition parentérale. *Nutr Clin Metab.* 1993 ;7 : 55–64.

[22] Washington C. The stability of intravenous fat emulsions in total parenteral nutrition mixtures. *Int J Pharm.* 1990; 66: 1–21.

[23] Allwood MC. Compatibility and stability of TPN mixtures in big bags. *J Clin Hosp Pharm.* 1984;9: 181–198.

[24] Burnham WR, Hansrani PK, Knott CE, Cook JA, Davis SS. Stability of fat emulsion based on intravenous feeding mixture. *Int J Pharm.* 1983; 13: 9–22.

[25] Washington C. The electrokinetic properties of phospholipid-stabilized fat emulsions. Droplet mobility in mixed electrolytes. *Int J Pharm.* 1990; 58: 13–17.

[26] Decieux B., Crauste-Manciet S., Brossard D. Influence de la dilution et de la concentration en calcium sur la stabilité galénique d'une émulsion lipidique injectable. *Nutr Clin Metab* 2000 ; 14 suppl 2: 167s.

[27] Washington C, Connolly MA, Manning R, Skerratt MCL. The electrokinetic properties of phospholipid stabilized fat emulsions. The effect of amino acids on emulsion stability. *Int J Pharm.* 1991; 77: 57–63.

[28] Decieux B, Crauste-Manciet S, Brossard D. Contribution à l'étude de la stabilité galénique de mélanges nutritifs pédiatriques. *Nutr Clin Metab.* 2000 ;14(suppl 2):144s.

[29] Driscoll DF, Nehne J, Peterss H, Klutsch K, Bristian BR, Niemann W. Physicochemical stability of intravenous lipid emulsions as all-in-one admixtures intended for the very young. *Clin. Nutr.* 2003; 22: 489–495.

[30] Husson E, Crauste-Manciet S, Hadj-Salah E, Segulier J-C, Brossard D. Stabilité galénique de mélanges de nutrition parentérale en présence de médicaments : I) médicaments dans le mélange. *Nutr Clin Metab.* 2003 ; 17: 8–14.

[31] Husson E, Crauste-Manciet S, Hadj-Salah E, Segulier J-C, Brossard D. Stabilité galénique de mélanges de nutrition parentérale en présence de médicaments : (II) médicaments perfusés en Y. *Nutr Clin Metab.* 2003 ; 17 : 72–79.

Annexe C

C.1. Référence 2 : le système documentaire

Un système documentaire adapté est constitué : il est essentiel dans la gestion de la qualité. Les documents doivent être clairs, utiles, exploitables et bien gérés.

Référence 2-a : la documentation :

« Les documents doivent permettre d'apprécier la sécurité de la préparation de NP et l'absence de risque pour la santé du patient à qui elle sera administrée »

Informations permettant de valider la prescription médicale et d'apprécier l'absence de risque clinique pour les patients recevant des préparations de NP :

Les besoins nutritionnels sont donnés à titre indicatif dans le [Tableau 14](#). Ils sont très variables en fonction de l'âge, de la situation physiopathologique.

Bibliographie de l'Annexe C

[1] Leverve X, Cosnes J, Erny P, Hasselmann M. Traité de nutrition artificielle de l'adulte. SFNEP – Paris Springer ; 2001.

[2] Ricour C, Ghisolfi J, Putet G, Goulet O. Traité de nutrition pédiatrique. Paris Maloine ; 1993.

[3] Colomb V, Goulet O, Corriol O, Ricour C. Nutrition parentérale du nourrisson. *Encycl Med Chir (Elsevier. Paris), Pédiatrie*, 04-002-J50, 1999, 5p.

Annexe D

D.1. Référence 6 : Préparation

Référence 6-c : la répartition aseptique :

« Le procédé aseptique fait l'objet d'une validation par simulation avec des milieux de culture. Ce test est appelé test de remplissage aseptique (TRA) ou test *media fill*. Cet essai de simulation se rapproche le plus possible des procédés de préparation aseptique et en comprend toutes les étapes. L'essai est répété après toute modification majeure de l'équipement et du procédé. Le nombre de récipients contenant le milieu de culture est suffisant pour que l'évaluation soit fiable ».

Informations nécessaires à la réalisation du test *media fill* selon la norme pr EN 13824 / CEN TC 204 : stérilisation des dispositifs médicaux — validation et contrôle de routine des procédés aseptiques — exigences et lignes directrices

Les opérations de préparation aseptique et le maintien de leur qualité nécessitent un personnel qualifié, des modes opératoires définis, des matériels et des installations adaptées.

Tableau 14

Besoins nutritionnels moyens en fonction de l'âge

	<i>Nouveau né à terme ou prématuré (hors phase aiguë)</i>	<i>Nourrisson</i>	<i>Enfant</i>	<i>Adolescent</i>	<i>Adulte</i>
Âge	0 à 28 jours	1 mois à 1 an	2 à 12 ans	12 à 15 ans	18 à 70 ans
Énergie (Kcal/kg /24 heures)	110–120	90–110	50–80	30	25–35
Glucose (g/kg/24 heures)	20–25	15–20	12–15	3–4	3–6
Lipides (g/kg/24 heures)	2–3	2–3	1,5–2,5	1,5–2	1–2
Acides aminés (g/kg/24 heures)	3–4	2–3	2–3	1–1,5	1–1,5
Eau (mL/kg/24 heures)	150–180	100–120	60–80	25–35	25–35
Electrolytes :	2–5	2–5	2–5	1–3	1–2
Na (mmol/kg/24 heures)	3–4	2–4	2–4	1–3	1–2
K (mmol/kg/24 heures)	1–2	0,5–1	0,3–0,8	0,3–0,8	0,1
Ca (mmol/kg/24 heures)	1,5–2	0,5–1	0,5–0,8	0,5–0,8	0,2
Ph (mmol/kg/24 heures)	0,5	0,2–0,5	0,2–0,5	0,2–0,5	0,1
Mg (mmol/kg/24 heures)					
Oligoéléments et vitamines	Apports obligatoires et quotidiens : à adapter en fonction du poids (pour l'enfant) et de l'âge				

La pratique du test *media fill* associée à une surveillance de l'environnement peut permettre de démontrer que le système de préparation fonctionne correctement.

Le test *media fill* est une image ponctuelle de la qualité de la préparation. Il inclut le contrôle de l'environnement, du matériel et du personnel.

La qualification de performance de toute préparation aseptique doit comprendre un test *media fill*. Une requalification doit être effectuée en cas de modification importante de l'installation et/ou du matériel, d'anomalie majeure dans le résultat des contrôles de l'environnement ou des essais portant sur la stérilité du produit final, d'arrêt prolongé des préparations.

Mode opératoire du test :

1. Nombre de cycles et nombre total d'unités remplies de milieu de culture :

- lors de la qualification de performance : il faut effectuer au moins trois cycles du test *media fill* sur une quantité de poches égale à la taille maximale des lots préparés ;
- requalification de performance : pratiquer alors un cycle du test *media fill* portant sur la taille maximale du lot.

2. Conditions de réalisation :

- les tests *media fill* doivent être réalisés dans les conditions jugées les plus défavorables, si celles-ci sont identifiables ;
- les cycles du test *media fill* doivent être d'une durée suffisante pour couvrir toutes les manipulations et les opérations normalement effectuées.

3. Choix des milieux de culture :

- une vérification de la possibilité de la croissance microbienne du milieu de culture utilisé pour les cycles du *media fill* doit être effectuée. Cet essai est réalisé sur les poches qui renferment les milieux de culture introduits lors du test *media fill* ;
- le milieu de culture choisi pour le test *media fill* doit pouvoir développer un spectre large de microorganismes et permettre la croissance d'une faible quantité de microorganismes, c'est-à-dire inférieure ou égale à 100 CFU/poche.

4. Incubation et contrôles des unités remplies de milieux de culture :

- la durée d'incubation est d'au moins 14 jours ;
- les températures d'incubation doivent être adaptées aux microorganismes de l'environnement : 30 à 35 °C selon la pharmacopée européenne ;
- lors de la période d'incubation, les poches remplies de milieux de culture doivent être soumises à un examen visuel quotidien pour détecter une trace éventuelle de croissance microbienne ;
- en cas de contamination, les microorganismes présents doivent être identifiés afin de déterminer la source probable de contamination.

5. Critères d'acceptation du test :

Le niveau cible doit être une croissance nulle. Toute unité contaminée doit être examinée pour déterminer la nature et l'origine des microorganismes et pour identifier la cause de la contamination : [Tableau 15](#).

6. Remarques à propos du test :

- avant toute fabrication, il est nécessaire de prendre toutes les mesures pour éliminer de la zone toute trace de milieu de culture ayant servi lors du test ;
- avant d'effectuer un test *media fill*, il convient de prendre toutes les mesures nécessaires pour garantir l'inactivation ou l'élimination des résidus antimicrobiens au niveau de la zone de préparation.

Annexe E

E.1. Référence 7 : contrôles des préparations terminées

Référence 7-b : lot et échantillonnage du lot ; échantillonnage

« L'échantillonnage est correctement effectué, il est représentatif du lot. Il est fait selon des procédures écrites préci-

Tableau 15

Contrôles microbiologiques des préparations de NP en période de validation et de routine

Contrôles de validation	Contrôles de routine
1. Locaux : • contrôle de la propreté microbiologique de l'air et des surfaces avant et après désinfection pour toutes les opérations devant être faites en classe A et B • validation des cycles de stérilisation des isolateurs par des indicateurs biologiques 2. Préparation terminée : Validation de la capacité à réaliser des préparations stériles : • par l'essai de stérilité conformément à la procédure de la pharmacopée européenne (2–6) • par le test du <i>media fill</i> selon la norme prEN 13824/CEN TC 204 • par le dosage des endotoxines bactériennes pour toutes les préparations effectuées en cours de validation : si préparation en milieu ouvert et/ou à risque de contamination pyrogène	• quotidiennement ou en fonction de l'utilisation : propreté microbiologique de l'air et des surfaces dans les zones de classes A. • mise en culture ou filtration (éventuellement en relation avec le laboratoire de bactériologie de l'hôpital) d'un échantillon du lot préparé, avec des temps d'incubation plus courts et un protocole à définir par chaque utilisateur. • dosage des endotoxines ou détection simple au niveau 0,25 UI/ml (comme eau PPI) selon une périodicité à définir si préparation en milieu ouvert et/ou à risque de contamination pyrogène.

sant notamment le nombre d'échantillons à prélever et leur volume. La quantité conservée en échantillonnage doit permettre de réaliser au moins une analyse complète ».

Référence 7-c : analyses sur les préparations terminées.

« Les contrôles garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont été réellement effectuées et que tous les produits ne sont pas libérés avant que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante. Dans le cas de préparations dont la taille du lot ou dont le volume sont suffisants pour un prélèvement d'échantillon(s), l'essai de stérilité de la préparation terminée est le dernier contrôle permettant de garantir la stérilité. Les échantillons prélevés pour l'essai de stérilité sont considérés comme représentatifs du lot ».

Informations nécessaires à la réalisation de l'essai de stérilité selon la pharmacopée européenne et des contrôles microbiologiques des préparations de NP :

Un essai de stérilité tel qu'il est décrit dans la Pharmacopée européenne en vigueur n'est pas applicable en routine aux préparations de NP.

Il pourra être effectué lors de la validation de la méthode, accompagné d'un test *media fill* (Annexe D), du contrôle de la propreté de l'environnement, de la validation des cycles de stérilisation, de la recherche des endotoxines en cas de méthode de préparation à risque de contamination pyrogène. L'essai de stérilité sera alors réalisé en respectant les différentes étapes décrites par la pharmacopée :

- essai de stérilité et test de croissance bactérienne et fongique des milieux de culture ;
- test de validation pour s'assurer que la préparation de NP (produit à contrôler) n'a pas d'effet inhibiteur sur la croissance bactérienne ;
- essai de stérilité proprement dit du produit.

L'essai de stérilité pourra être sous-traité auprès d'un laboratoire de microbiologie dans le cas où la pharmacie ne dispose pas de l'équipement permettant la manipulation de souches microbiennes.

Plusieurs résultats de conformité à l'essai de stérilité démontrent que l'unité de préparation est capable de produire des préparations de NP dans des conditions aseptiques permettant l'obtention de la stérilité.

Un contrôle microbiologique de routine peut s'effectuer par la mise en culture d'un échantillon du lot à contrôler. Le lot a été précédemment défini comme étant un ensemble de poches dont les conditions de préparation sont homogènes.

Les conditions opératoires de la mise en culture sont les mêmes que celles utilisées lors de la préparation (c'est-à-dire sous hotte à flux d'air laminaire ou en isolateur).

Les milieux de culture doivent être appropriés : la pharmacopée indique que

- le milieu liquide au thioglycolate est principalement destiné à la recherche des bactéries anaérobies, mais il permet également la détection des bactéries aérobies ;
- le milieu à l'hydrolysate de caséine et de soja est principalement destiné à la recherche des bactéries aérobies, mais il permet également la détection des levures et des moisissures ;
- d'autres milieux peuvent être utilisés, à condition que leur aptitude à assurer la croissance d'un large spectre de microorganismes ait été démontrée.

Il est aussi possible, après validation, d'utiliser, pour le contrôle des NP, des milieux pour hémocultures : ce sont des milieux enrichis par rapport aux milieux simples. Ils permettent la croissance de la plupart des bactéries rencontrées dans l'environnement hospitalier.

Choix de la méthode de mise en culture : une des deux techniques suivantes peut être choisie :

- la technique par ensemencement direct du milieu de culture avec le produit à examiner. Cette méthode est facilement applicable au contrôle des mélanges nutritifs hospitaliers quelle que soit la méthode de préparation et les équipements de l'unité (hotte à flux d'air laminaire ou isolateur). Sa limite principale est le faible volume ensemencé qui réduit sa sensibilité ;

Les systèmes utilisant les milieux pour hémocultures et équipés d'un système à lecture automatique, permettent un délai de réponse rapide car une réponse positive ne correspond pas à la mise en évidence des germes eux-mêmes mais à la détection d'un produit de leur métabolisme (le CO₂) qui se forme lors d'une contamination microbienne.

- la technique par filtration sur membrane du produit à tester puis incubation de celle-ci dans le milieu de culture

liquide choisi. Le système de filtration stérilisante sur membrane est reconnu pour sa fiabilité et est principalement utilisé dans les unités importantes de fabrication de produits injectables. Il s'agit d'un système totalement clos, réduisant donc les faux positifs. Le produit est prélevé par une pompe péristaltique et directement transféré dans les chambres de filtration. Après rinçage des membranes, les milieux de culture sont introduits dans les chambres respectives. Celles-ci sont alors mises à incuber. Ce système est recommandé chaque fois que l'investissement d'un tel système est possible. Il reste cependant difficile à mettre en œuvre dans les unités de préparation travaillant en isolateur.

Remarque à propos des mélanges ternaires :

La méthode par ensemencement direct dans les milieux nutritifs standard (trypticase soja, thioglycolate) ne peut être utilisée telle quelle car les lipides entraînent un trouble du milieu rendant indécélable, à l'examen visuel, la réalité d'une croissance bactérienne ou fongique. Il est nécessaire de faire plusieurs ensemencements successifs sur de nouveaux milieux en fin d'incubation. Ceci multiplie les manipulations et augmente donc le risque de contamination externe et le temps d'attente avant une réponse définitive. L'ensemencement des milieux pour hémoculture est en revanche applicable : ces systèmes présentent l'avantage de pouvoir tester la stérilité des mélanges binaires et ternaires :

- par examen visuel de la surface gélosée des milieux biphasiques. Une réaction est positive en cas de trouble de la phase liquide du milieu de culture et/ou apparition de colonies sur la phase solide. Ce système évite le repiquage et par conséquent les risques de contamination. Il réduit ainsi les temps de réponse ;
- par lecture du CO₂ formé pour les systèmes automatisés. Une réaction est positive en cas de variation de la coloration ou de l'intensité de fluorescence.

Échantillonnage : le nombre d'échantillons ne peut être représentatif du lot qui est toujours de petite taille. Pour les lots les plus importants, il est recommandé de prélever une poche en début, en milieu et en fin de préparation. Pour les plus petits lots, il faut prélever au moins une poche et pour cela, choisir la dernière poche préparée.

Volume à mettre en culture :

- technique par filtration : prélever 10 % du contenu de la poche mais pas moins de 20 ml ;
- technique par ensemencement direct : ne pas dépasser 10 % du volume du milieu de culture.

Conditions d'incubation : les températures idéales d'incubation sont les suivantes.

Température d'incubation	22,5 ± 2,5 °C	32,5 ± 2,5 °C
Nature des germes	Levures, Moisissures	Bactéries

En pratique, la majorité des germes recherchés se développent autour de 30 °C. Si une seule température est utilisée, il faudra régler l'étuve à 30 °C.

La durée d'incubation est de 14 jours pour l'essai de stérilité de la pharmacopée. Une durée d'observation et d'incubation de sept jours peut être recommandée pour le contrôle microbiologique de routine lorsque les deux températures (22 et 32 °C) sont utilisées. Dans le cas contraire, la croissance éventuelle de champignons n'est pas aussi rapide.

En résumé et à titre indicatif, le [Tableau 15](#) indique les contrôles microbiologiques à réaliser dans les ZAC, en période de validation et en période de routine.

Références

- [1] Bonnes Pratiques de Préparation à l'Hôpital. Projet Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Paris juillet 2002.
- [2] ASPEC. (Association pour la prévention et l'étude de la contamination). Traitement de l'air pour salle propre. Paris 2002.
- [3] ASPEC. (Association pour la prévention et l'étude de la contamination). Contrôle de l'environnement dans les zones à haut et très haut risque infectieux. Paris 1999.
- [4] ASPEC. (Association pour la prévention et l'étude de la contamination). Les isolateurs, qualification. Paris 2002.
- [5] Suivi des zones à atmosphère contrôlée — guide technique — Monographie de la SFNEP, volume 1 ; Paris 1997.
- [6] Contrôle de stérilité, application à la nutrition parentérale. Monographie de la SFNEP, volume 2 ; Paris 2000.
- [7] Whyte W. Les salles propres, seconde édition. Paris: SB-Com; 2001.
- [8] Pharmacopée Européenne en vigueur.