

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE**

ANNEE 1995



THESE N° 51

**RADIOSTERILISATION
DES MEDICAMENTS :
CAS DU METRONIDAZOLE**

**THESE
POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement le 27 novembre 1995

par

Stéphane GALY

né le 17/05/70 à Guéret

EXAMINATEURS DE LA THESE :

M.le Professeur BERNARD _____	Président
M. BASLY Jean-Phillipe _____	Juge
M. DUROUX Jean-Luc _____	Juge
M. AUXEMERY Charles _____	Juge

REMERCIEMENTS

A MONSIEUR BERNARD,

Professeur de Physique-Biophysique

Vous avez bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury. J'ai été votre élève, et je veux vous remercier très sincèrement d'avoir apporté à la Biophysique votre humour et votre bonne humeur.

Je vous prie de trouver ici, l'expression de tout mon respect et de ma reconnaissance.

A MONSIEUR BASLY ,

Maître de Conférences en Chimie Analytique

Vous m'avez accordé votre confiance avec beaucoup de
générosité; vos conseils et votre aide m'ont beaucoup apporté.

J'ai eu l'honneur d'être votre premier élève à présenter une thèse.

Je vous prie de trouver ici l'expression de tout mon
respect et de ma considération.

A MONSIEUR DUROUX ,

Maître de Conférences de Physique-Biophysique

Vous m'avez apporté tout au long de ces travaux une aide efficace, une écoute pleine d'attention et la considération que vous avez bien voulu donner à mon travail m'a aidé à surmonter bien des difficultés.

Soyez assuré de ma fidèle reconnaissance.

A MONSIEUR AUXEMERY ,

Docteur en Pharmacie, ancien interne des hôpitaux de Paris.

La considération que vous avez bien voulu apporter à mon travail, pourtant un peu différent de votre art: faire appliquer les Bonnes Pratiques de Fabrication, me touche profondément.

Guérétois d'origine, tout comme moi, vous m'avez fait l'extrême honneur d'accepter de juger ce travail.

Soyez assuré de toute ma gratitude.

A MES PARENTS,

A MON PERE,

Pour tes précieux conseils, et sans qui, je ne
serais pas en Pharmacie.

A MA MERE,

Pour ton amour et ta compréhension
de tous les instants.

Vous m'avez guidé, soutenu tout au long de mes études.

Veillez trouver ici le témoignage de ma profonde
reconnaissance pour ce confort de vie sans égal.

A AGATHE,

Ma belle étudiante en Pharmacie

Je te remercie de tes précieux conseils qui m'ont soulagé durant
mes études grâce à ton amour effervescent.

Sâches que tu pourras compter sur mon coeur à
libération prolongée tout au long de ta vie.

À MES GRANDS-PARENTS ;

À LA MÉMOIRE DE MON GRAND-PÈRE PIERRE ;

À NICOLE ET SOLANGE ;

À MES COUSINS ET À MANU.

À MICHEL ET ODETTE ,

Qui m'ont permis de découvrir la pharmacie industrielle.

AUX PARENTS D'AGATHE ;

À SYLVIE ;

À JACQUES ;

À CLÉMENT, ÉMILIE, OLIVIA ET PIERRE

A TOUS MES AMIS

ET A VOTRE SANTE.

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE

<u>DOYEN DE LA FACULTE:</u>	Monsieur le Professeur RABY Claude
<u>ASSESEURS:</u>	Monsieur le Professeur GHESTEM Axel Monsieur DREYFUSS Gilles - Maître de Conférences
<u>PROFESSEURS:</u>	
BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE
BERNARD Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE
LOUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE
RABY Claude	PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE

SECRETARE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

PLAN

INTRODUCTION

CHAPITRE I : LA STERILISATION

I-1 - HISTORIQUE

I-2 -GENERALITES

I-3 - LOIS ET PARAMETRES MESURABLES

I-4 - LES DIFFERENTES METHODES

CHAPITRE II : LA RADIOSTERILISATION PAR RAYONNEMENTS GAMMA

II-1- PRINCIPE

II-2 - DESCRIPTION D'UN CENTRE D'IONISATION AU COBALT 60

II-3 - PARAMETRES DE STERILISATION

II-4 - EFFETS DE LA RADIOSTERILISATION

II-5 - APPLICATIONS

II-6- AVANTAGES-INCONVENIENTS DE LA METHODE

CHAPITRE III : TEXTES EXISTANTS SUR LE CONTROLE DES PRODUITS IRRADIES

III-1 - INTRODUCTION

III-2 - PHARMACOPEE EUROPEENNE

III-3 - PHARMACOPEE AMERICAINE

III-4 - DIRECTIVE EUROPEENNE III/9009/90 EN

III-5 - NORME AFNOR

III-6 - LES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION

CHAPITRE IV: APPLICATION AU METRONIDAZOLE

IV-1 - PROPRIETES DU METRONIDAZOLE

IV-2 - CONTRÔLE PHARMACOPEE APRES IRRADIATION

IV-3 - DOSAGE DE NITRITES

**IV-4 - CONTRÔLE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE
HAUTE PERFORMANCE**

**IV-5 - CONTRÔLE PAR RESONANCE PARAMAGNETIQUE
ELECTRONIQUE**

CHAPITRE VI : CONCLUSION

. REFERENCES

1 - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

2 - BIBLIOGRAPHIE

. TABLE DES MATIERES

. ANNEXES

INTRODUCTION:

On observe aujourd'hui une utilisation croissante de la radiostérilisation par rayonnement gamma appliquée initialement à la conservation des aliments, elle s'étend aujourd'hui à la stérilisation des médicaments et du matériel médico-chirurgical.

Cette méthode présente un intérêt et devrait progressivement être utilisée pour:

- Les principes actifs thermolabiles car l'augmentation de température n'est que de quelques degrés.
- Les composés qui réagissent avec l'oxyde d'éthylène ou adsorbent ce gaz mutagène.

Elle présente aussi l'avantage de pouvoir stériliser un médicament dans son conditionnement définitif, ce qui induit une efficacité plus grande dans le temps.

La radiostérilisation est une méthode peu coûteuse en énergie, isotherme, efficace, sans additif chimique, mais la décontamination bactérienne préalable demeure indispensable.

Cette thèse se propose de faire mieux connaître la radiostérilisation.

Les contrôles Pharmacopée seront complétés par le dosage des nitrites et l'étude des produits secondaires formés au moyen de la Chromatographie Liquide Haute Performance (C.L.H.P) et de la Résonance Paramagnétique Electronique (R.P.E).

CHAPITRE I : LA STERILISATION

I-1 - HISTORIQUE (1)

L'origine de la stérilisation débute avec la conservation des aliments. Originellement, la préoccupation des hommes était principalement de conserver aux nutriments leur valeur alimentaire (nécessité d'apporter au corps humain en toute saison de l'énergie, des éléments de construction et des molécules indispensables à son fonctionnement : les acides aminés, les vitamines...).

Certains aliments se conservant par eux-mêmes ont été utilisés tels quels (céréales, fruits secs...); pour les autres, l'homme a mis au point diverses techniques:

- Le séchage: C'est l'un des plus anciens procédés, il est employé pour les fruits, les légumes, les viandes, les poissons...

Il permet une longue conservation en l'absence de l'eau indispensable au développement des micro-organismes qui altèrent l'aliment. Réalisé d'abord au soleil, puis au dessus du feu, le fumage est la technique la plus évoluée.

- Le fumage: Il conserve les aliments (viandes et poissons) par la synergie du séchage et des antiseptiques contenus dans la fumée. On peut donc stopper le traitement à une humidité résiduelle plus élevée.

Par ajout de sel (agissant comme un antiseptique) l'homme a pu obtenir des produits fumés peu séchés, et donc souples et agréables à consommer.

- Le salage: Il est utilisé isolément pour conserver certains poissons, des viandes ou des légumes. Protégé des altérations par le sel, l'aliment n'est pas consommable en l'état. Il est nécessaire de le dessaler avant usage.

- Le gras: Il permet de mettre le produit cuit, donc propre, à l'abri des microbes de l'air. (confits de viande d'animaux gras)

- Le sucre: C'est un excellent conservateur car il induit un milieu hypertonique et les micro-organismes n'ont alors plus assez d'eau libre et ne peuvent se développer.

Ce phénomène se retrouve aussi dans les milieux très sucrés. (confiture, sirop, fruits confits, pâtes de fruits).

- L'acidité: C'est un autre facteur qui empêche le développement des microbes. A l'origine, cette acidité se développait grâce à une fermentation microbienne adaptée (choucroute, yaourt..).

- L'alcool: C'est un désinfectant puissant qui conserve classiquement les fruits (cerises, raisins, pruneaux.....)

- La réfrigération: C'est une méthode très anciennement utilisée avec la glace disponible (en altitude ou dans les pays froids). Elle permet le ralentissement du développement des micro-organismes et permet une courte conservation des aliments.

Il a fallu attendre un fils d'aubergistes de Châlons sur Marne nommé Nicolas Appert (1749-1841) pour que la technique de conservation évolue:

Il quitte sa famille à 11 ans pour apprendre le confisage (art de conserver par l'acide, la graisse, le sucre ou le sel). En 1782, il met en bouteille des petits pois de façon hermétique, les traite par la chaleur, et les mange 18 mois plus tard. Il ne constate aucun trouble de sa personne.

En 1809, le conservatoire des arts et manufactures consacre les travaux d'Appert qui devient célèbre.

L'évolution des techniques de fabrication permet de passer de la bouteille champenoise à des bocaux à large col, dont les capacités atteignaient plusieurs litres. Parallèlement vers 1810, les Anglais chez qui la métallurgie était plus avancée, utilisaient des boîtes de fer recouvert d'étain pour éviter qu'elles ne rouillent (c'est ce qu'on appelle le fer blanc). On a ainsi pu éviter de nombreux cas de Scorbut (manque de vitamine C) notamment chez les marins (l'appertisation ne détruit pas totalement les vitamines).

Suite à l'ordonnance du roi du 29 octobre 1823, l'ingénieur Victor Regnault (1810-1878) fut chargé d'établir le règlement sur les machines à feu à haute pression. Ses résultats furent publiés en 1847 et permirent de mettre au point les appareils de mesure de la vapeur d'eau. Il a fallu attendre 1851 pour que l'autoclave apparaisse (récipient capable de maintenir la vapeur sous pression).

L'interprétation de l'excellente conservation des aliments ainsi traités devait être donnée par Louis Pasteur (1822-1895) lorsqu'il prouva en 1860, que la chaleur tuait les microbes. La stérilisation allait naître, et consistait à laisser le contenu du récipient pendant trois heures à 100 degrés ou pendant trente minutes à 120 degrés (sous pression). Pasteur fera progresser les notions de stérilisation de 1857 à 1880.

La pasteurisation, elle, est un traitement thermique limité, mis au point par Pasteur, et qui consiste à porter le coeur du produit à 80-85 degrés. Cette température tue seulement certains micro-organismes. D'autres microbes n'étant pas détruits, un lait pasteurisé par exemple se conserve (au froid) quelques jours, mais il n'est pas stérile.

Joseph Lister (1827-1912), chirurgien au King's College Hospital à Londres publie en 1867 son premier article intitulé: "Du principe d'antiseptie dans la pratique médicale".

Il expose dans son récit qu'il est souhaitable d'empêcher l'éventuelle supuration des plaies

à cause des risques qu'elle entraîne. On pensait qu'il fallait éliminer l'oxygène de l'air pour éviter la putréfaction or, comme l'a démontré Pasteur, il suffit de lutter contre les micro-organismes en suspension dans l'air.

C'est alors qu'il appliqua des pansements capables de détruire à vie des particules infectieuses et ceci sans exclure l'air. C'est ainsi que la décomposition de nombreux tissus lésés a pu être empêchée.

La désinfection pré-opératoire pratiquée par Lister dès 1870 devait être relayée par l'asepsie prônée par Pasteur en 1878. Lister se rallia d'ailleurs très vite aux progrès qui en résultèrent, d'où son statut de véritable fondateur de la chirurgie moderne.

I-2 - GENERALITES

La stérilisation consiste à mettre en oeuvre un ensemble de méthodes et de moyens afin de détruire tous les micro-organismes vivants qui souillent un objet ou un produit.

La responsabilité du Pharmacien est retenue en matière de contrôle de conformité de divers produits stériles aux normes de la Pharmacopée française, d'après la circulaire 788 du 19 mars 1979 (B.O.S.P 16-456). Donc les Pharmaciens ont la responsabilité de contrôler les fournitures stériles (matériel à usage unique, prothèse...). (2)

Dans les cahiers du Centre National de l'Équipement Hospitalier (CNEH) en mai 1978, une stérilisation à l'autoclave est considérée comme correcte s'il reste moins de un germe pour un milliard, soit une réduction de 9 unités logarithme, sans préciser la nature des germes, ni la forme végétative ou sporulée.

La fiche technique d'organisation hospitalière parue en 1982 préconise l'utilisation de témoins bactériologiques permettant "d'apprécier clairement la possibilité de réduire de 6 log". Cette recommandation est encore fréquemment citée en référence, avec parfois des erreurs d'interprétation. (3)

Enfin la norme AFNOR (4) parue en 1984 se contente de proposer des temps de stérilisation, qui sont encore appliqués, malgré leur caractère empirique et peu logique. Il convient donc de lire avec attention les monographies de janvier 1986 et suivantes sur les méthodes de stérilisation, ainsi que les Bonnes Pratiques de Fabrication et de Production Pharmaceutique.

Le taux limite de stérilité a été défini pour la première fois par la monographie de la Pharmacopée Européenne et Française en janvier 1986 (5), il est évalué à 10^{-6} , soit un germe sur un million de particules sur un objet pour être contaminé. Donc pour être stérile, la réduction du nombre de germes doit toujours être supérieure à 6 unités logarithme car le taux initial de contamination microbienne n'est jamais nul.

La tendance actuelle s'efforce d'aller vers un concept de stérilité basé sur l'assurance des procédés de stérilisation, ainsi, on pourra noter son intervention dans la conception et la

maintenance des locaux et des matériels. Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) devront être constamment employées par un personnel spécialement formé.

La stérilité est un état éphémère, qui n'est possible que dans le cadre de la protection de cet état.

I-3 - LOIS ET PARAMETRES MESURABLES DE LA STERILISATION

Les spores contaminant les objets sont de nature très diverse, elles sont définies par leur valeurs de D et de Z.

Le micro-organisme, dont les spores sont les plus résistantes à l'action de l'eau, est le *Bacillus stearothermophilus*. Cette souche utilisée comme référence internationale, est caractérisée par une valeur de D à 120 °c voisine de 1,5 minutes et une valeur de Z voisine de 9,5 °c.

Ces valeurs signifient qu'à température constante, chaque fois que l'on allonge le temps de traitement de 1,5 minutes (D), la contamination en *Bacillus stearothermophilus* est réduite dix fois (première loi).

La deuxième loi sur la stérilisation précise qu'à chaque fois que l'on double la température, la stérilisation est dix fois plus rapide.(6)

En augmentant la température de 19 °c (deux fois 9,5 °c), ce temps serait cent fois plus court, etc..

Dans un but de simplification, 9,5 °c étant très voisin de 10 °c, on a choisi comme référence un micro-organisme imaginaire un peu plus résistant, au delà de 120 °c.

Ce choix de simplification confère à la deuxième loi une conclusion particulièrement simple: chaque fois que l'on accroît la température de 10 °c, la stérilisation est dix fois plus rapide.

On a admis que 57 minutes à 120 °C, arrondies à 60 minutes, confèrent une marge suffisante de sécurité, qu'il n'est jamais justifiable théoriquement de dépasser (sauf dans le cas où l'on suspecte la présence de prions).

D'autres associations temps-températures procurent la même valeur stérilisatrice:

115 °c	120 °c	125 °c	130 °c	133 °c	134 °c	135 °c	140 °c
190'	60'	19'	6'	3'	2,4'	1,9'	0,6'

Tableau 1

Quelques paramètres mesurables sont souvent utilisés:

- Le taux initial de contamination microbienne :

Il représente, sauf indication du contraire, la totalité des germes décelés sur l'article et à l'intérieur de son emballage immédiat. (7) La contamination initiale microbienne doit être la plus faible possible avant la stérilisation pour augmenter les chances de stérilité après stérilisation. Sa connaissance évitera le blanchiment des produits (notamment des végétaux) soumis à un processus de conservation. Le blanchiment consiste en un traitement thermique à barème température-temps bien déterminé qui a pour but d'inactiver les enzymes, de réduire la flore végétative de surface, de désaérer les tissus et d'assouplir la texture.

Sa mesure se fait selon une technique inspirée de celle décrite par Hanania pour le matériel chirurgical à usage unique au laboratoire Vygon (7), elle comprend deux étapes:

- Mise en suspension des germes effectuée par immersion de l'article à contrôler dans un milieu adéquat et agitation manuelle ou aux ultrasons. Les milieux utilisés sont l'eau stérile, la solution isotonique de Na Cl, ou le milieu peptoné (8).
- Numération des germes: deux méthodes sont utilisées, les dilutions en cascades dans du trypticase soja, et la filtration stérilisante sur une membrane quadrillée de porosité 0,45 µm. La méthode de filtration est plus précise; lorsque la contamination initiale est plus faible, elle permet de concentrer une grande quantité de liquide.

- Le temps de réduction décimal D: (3)

$$N = N^0 \cdot e^{-kt}$$

N = nombre final de germe après la stérilisation

N^0 = nombre initial de germes

k = constante

t = temps de stérilisation

$$\frac{N}{N^0} = e^{-kD} = \frac{1}{10} \text{ d'où } -k \cdot D = \ln \frac{1}{10} \text{ d'où } D = \frac{2,303}{k}$$

Le temps de réduction décimal D est le temps nécessaire à la diminution d'une puissance de dix du nombre initial de germes.

- La valeur stérilisatrice : (3)

La définition est donnée par le guide des BPF (9) :

La valeur stérilisatrice F exprimée en minutes rend compte du taux de létalité L d'un traitement thermique défini par l'évolution de la température T en fonction du temps t.

Pour la température de référence $T = 121 \text{ }^\circ\text{C}$ et le micro-organisme *Bacillus stearothermophilus*, caractérisé par la valeur $Z = 10 \text{ }^\circ\text{C}$, la valeur stérilisatrice devient:

$$F^0 = \int_0^t L^0 dt \quad \text{avec} \quad L^0 = 10 \cdot \frac{(T - 121 \text{ }^\circ\text{C})}{10 \text{ }^\circ\text{C}}$$

Il existe des tables qui donnent les valeurs de L^0 pour la température de référence de $120 \text{ }^\circ\text{C}$.

- Le coefficient de réduction décimal n : (3)

Le calcul de F permet de déterminer le coefficient de réduction décimal n de la population microbienne :

$$n = \log \frac{N^0}{N} = \frac{F^0}{D}$$

Cette formule permet aussi de déterminer la valeur stérilisatrice à appliquer pour obtenir une réduction du nombre de germes donné.

$$F^0 = n \cdot D$$

Ainsi, par exemple pour obtenir une réduction n du nombre de spores de *Bacillus stearothermophilus* dont la valeur $D = 1,5$ minutes, il faut appliquer une valeur stérilisatrice :

$$F^0 = 1,5 n .$$

I-4 - LES DIFFERENTES METHODES DE STERILISATION (10)

La stérilisation est une opération qui a pour but de priver un objet ou un produit des micro-organismes qui le souillent.

Les produits sont stérilisés dans leur conditionnement définitif sauf dans le cas où le produit, en raison de sa nature, ne peut être soumis à un tel traitement.

I-4-1 - Produits stérilisés dans leur conditionnement définitif:

I-4-1-1 - La vapeur d'eau:

(4) Utilisée en vapeur d'eau saturée à 134° pendant une durée efficace de 10 minutes pour des textiles comme les champs opératoires, les champs de tables, les blouses et les casques. Ceux-ci représentent encore 35 à 45% du matériel à traiter en milieu hospitalier, mais l'arrivée de plus en plus grande des champs et des casques en non tissés à usage unique, a fait diminuer cette charge. L'instrumentation tout inox sera stérilisée à la vapeur d'eau non saturée à 134° pendant une durée efficace de 10 minutes. Le matériel en caoutchouc comme les gants en latex ou les sondes en PVC (de moins en moins stérilisé à cause des matériels à usage unique) est stérilisé à la vapeur d'eau saturée à 121° pendant une durée efficace de 20 minutes. Les compresses sont stérilisées en vapeur d'eau saturée à 134° pendant une durée efficace de 5 minutes.

L'agent stérilisant est la vapeur d'eau saturée à une température supérieure à 100 degrés et une pression supérieure à la pression atmosphérique. L'action conjuguée de l'humidité et de la chaleur permet la dénaturation des protéines bactériennes par hydrolyse partielle des liaisons peptidiques.

L'appareil industriel le plus utilisé est l'autoclave, le plus simple d'entre eux se compose d'une enceinte cylindrique de cuivre ou d'acier inoxydable munie d'un couvercle massif fixé par des boulons.

L'étanchéité est assurée par un joint en caoutchouc épais. Le couvercle comporte une soupape de sûreté pour éviter d'atteindre des surpressions dangereuses, un robinet d'évacuation ou d'échappement de l'air ou de la vapeur et un manomètre.

A l'intérieur se trouve un panier métallique dans lequel sont placés les objets à stériliser. Le niveau de l'eau ne doit pas atteindre le fond du panier mais être suffisant pour que la stérilisation se fasse en vapeur saturante.

Lors de l'utilisation, au moment de la fermeture du robinet d'échappement, le manomètre est au zéro, ce qui correspond à + 100 degrés. Ensuite, on a approximativement les correspondances suivantes:

à 0,5 atmosphère, on obtient + 110 degrés
 à 1 atmosphère, on obtient +121 degrés
 à 2 atmosphères, on obtient +134 degrés
 à 3 atmosphères, on obtient +144 degrés

En général, on stérilise 15 minutes à 121 degrés.

Avantages de la méthode:

- C'est un excellent fluide caloporteur: (1 kg = 540 kcal)
- Faible coût d'utilisation.
- Facile à obtenir, rapide et simple.
- Pas de résidu toxique.
- Bon contrôle de la méthode.

(11)- Méthode privilégiée pour la destruction des prions (cf II-6-2) avec un plateau thermique de 134°-138° pendant 18 minutes ou un plateau de 132° pendant une heure. On évite ainsi les contaminations sans pour autant garantir une stérilité totale.

Inconvénients de la méthode:

- Réalisation du procédé dépendant de plusieurs paramètres (p,T, t).
- Ne convient pas aux produits thermosensibles et hydrosolubles.

I-4-1-2 - La chaleur sèche:

L'agent stérilisant est l'oxygène de l'air à une certaine température. Quand cette température est atteinte, on observe une dénaturation des protéines bactériennes par coagulation (en général 30 minutes à 180 degrés).

Les appareils employés sont les fours ou étuves à air chaud, fours Pasteur ou stérilisateur Poupinel.

Avantage de la méthode:

- Elle était employée dans les unités de soins pour les objets résistants à la chaleur (verre, instrumentation ancienne ne pouvant être stérilisée qu'à la chaleur sèche...)

Inconvénients de la méthode:

- Répartition homogène de la température difficile à obtenir du fait de la faible conductivité thermique de l'air : on est amené à avoir de très fortes températures.
- On constate une oxydation des objets métalliques, une détérioration des matériaux (dilatation thermique), une altération des systèmes tranchants.
- Ne convient pas aux produits thermosensibles.
- Ne convient pas aux liquides, pansements, compresses, médicaments.
- mauvais contrôle de stérilisation.

(12) Cette instrumentation doit disparaître peu à peu et la suppression des stérilisateurs à chaleur sèche ou Poupinels devrait être effective dans les années à venir.

I-4-1-3 - Stérilisation par les gaz:

Il n'existe pas de gaz stérilisant idéal qui ait une activité intense et rapide contre les micro-organismes et qui soit dépourvu de toxicité pour l'homme.

Trois gaz sont actuellement utilisés, mais leur emploi est limité par leur toxicité.

I-4-1-3-1 - L'oxyde d'éthylène ou Oxyrane:

Son action stérilisante se réalise à basse température par un procédé d'alkylation très réactif: réaction avec les alcools, les thiols, les acides, les amines et avec lui-même, ceci en présence d'eau, d'HCl ou de chaleur. La vérification de l'efficacité de la stérilisation se fait avec des bandelettes contenant 10^6 spores de *Bacillus subtilis*.

Avantages de la méthode:

- (12)
- Elle convient aux produits thermosensibles comme le matériel médico-chirurgical (PVC, polyéthylène, certains caoutchoucs...), ceci en général avec un autoclave travaillant à basse température et utilisant un mélange gazeux à base d'oxyde d'éthylène (ETO).
 - Bactéricide, virucide, fongicide et sporicide.
 - Bloque de façon irréversible les réactions enzymatiques.
 - Grande diffusibilité.

Inconvénients de la méthode:

- Il explose dans l'air quand on dépasse 3% (on le stabilise avec le CO₂ ou le fréon).
- Il n'a pas d'odeur.
- Il est très toxique (Liste 1), le ministère du travail préconise 20 mg/m³ un quart d'heure par jour.
- Nécessité de désorber pendant 15 jours à peu près, car il est retenu dans les papiers, les plastiques...
- Les paramètres de stérilisation sont difficiles à valider.

I-4-1-3-2 - Le Formol:

Son action stérilisante est identique à l'oxyde d'éthylène. Il est très efficace en milieu humide, mais du fait de sa grande réactivité, il n'est utilisé que pour la stérilisation du matériel et des enceintes stériles. On l'emploie sous la forme de paraformaldéhyde solide qu'on transforme en formol par chauffage à 56 degrés environ dans l'enceinte où se trouve le matériel à stériliser.

Avantage de la méthode:

- Moins toxique que l'oxyde d'éthylène.
- Bactéricide, sporicide, fongicide, virucide.
- Formol résiduel non traité, car non prouvé.
- Convient aux produits thermosensibles.
- A une odeur particulière.

Inconvénients de la méthode:

- Carcinogène chez les animaux.
- Dangereux si ingestion.
- Irritation de la peau et phénomènes allergiques.
- Beaucoup de paramètres de stérilisation.
- Il est peu pénétrant.

I-4-1-3-3 - L'acide peracétique:

Celui-ci est parfois utilisé à la place de l'oxyde d'éthylène. Son action stérilisante s'explique par une oxydation très puissante sur la paroi cellulaire et sur les constituants cytoplasmiques des micro-organismes. Son efficacité est due à la libération d'oxygène sous

forme atomique. L'effet stérilisant dépend de l'hygrométrie (maximum pour 80% d'humidité relative).

Son utilisation est adaptée à la stérilisation des bulles ou isolateurs en matière plastique utilisés pour les fabrications stériles ou pour les contrôles microbiologiques.

Avantages de la méthode:

- Convient aux produits thermosensibles.
- Forte odeur
- Action stérilisante plus puissante que le formol en surface.

Inconvénients de la méthode:

- Odeur piquante.
- Lacrymogène, attaque la peau et les muqueuses.
- Grande toxicité.
- Provoque la corrosion des métaux.
- Peu pénétrant.

I-4-1-4 -Stérilisation par rayonnements:

I-4-1-4-1 - Le rayonnement Gamma:

Ils seront traités dans le Chapitre II

I-4-1-4-2 - Les rayonnements Béta:

Cette stérilisation n'est apparue qu'à la neuvième édition de la Pharmacopée.

Les électrons accélérés sont directement ionisants, leur énergie est importante: 4 à 10 Mev, ils sont émis par des accélérateurs.

Le temps de stérilisation est très court. Le faisceau d'électrons étant moins pénétrant que les rayonnements gamma, on ne pourra stériliser que de faibles épaisseurs.

Leur action stérilisante est identique aux rayonnements gamma.

Avantages de la méthode:

- Temps de stérilisation court.
- Il suffit théoriquement de débrancher le canon d'électrons du secteur pour arrêter la stérilisation.

Inconvénients de la méthode:

- Faible pouvoir pénétrant du rayon.
- Beaucoup de paramètres à prendre en compte pour le protocole, la reproductibilité est donc plus difficile à obtenir.

I-4-1-4-3 -Les rayonnements Ultra-Violets:

Ils sont utilisés pour éviter une contamination de l'atmosphère des enceintes stériles et aussi pour maintenir la stérilité de l'eau distillée conservée dans les cuves de stockage.

Avantage de la méthode:

- Pouvoir microbicide élevé.

Inconvénients de la méthode:

- Pouvoir microbicide élevé pour les courtes longueurs d'ondes (qui sont donc absorbées par la matière). Au dessus de 300 nm les rayons UV sont pénétrants mais ne sont pas microbicides.
- Ils provoquent des accidents oculaires très graves (port de lunettes protectrices).
- Il ne doit y avoir aucun obstacle entre les lampes et les germes à détruire (action en rayonnement direct).

I-4-5 - Stérilisation par plasma de peroxyde d'hydrogène (13)

Récemment apparu sur le marché français, le stérilisateur gaz plasma peroxyde d'hydrogène Sterrad 100 est actuellement implanté dans plus de quinze centres hospitaliers et cliniques. Il est indiqué pour tout objet devant être stérilisé à basse température:

- Soit en raison de leur thermosensibilité : endoscope, matériels en plastique.
- Soit par risque d'endommagement à la vapeur d'eau (instruments de micro-chirurgie).

Son principe : (Procédé Sterrad*)

Le cycle de fonctionnement comprend cinq phases:

- 1- Mise sous vide de la chambre de stérilisation : jusqu'à 0,2 Torr (vide très poussé).
- 2- Injection de 2,6 ml de peroxyde d'hydrogène à 58%, qui est un excellent précurseur de radicaux libres. La concentration du gaz dans l'enceinte est de 6 mg/l.
- 3- Phase de diffusion du peroxyde d'hydrogène (50 minutes).
- 4- Génération d'un plasma après obtention d'un vide à 0,2 Torr entre deux électrodes: l'une est la paroi de la chambre de stérilisation; l'autre est un cylindre de métal perforé. Durée : 15 minutes. Le gaz est donc activé à l'état de plasma par un champ électromagnétique induit par une onde radio basse fréquence de 13,6 MHz.
- 5- Retour à la pression atmosphérique par introduction d'air filtré.

Le cycle dure 75 minutes à la température de 45°.

Le mécanisme principal consiste en une capture des électrons sur les molécules ou les atomes présents qui, par des réactions en chaîne, produisent des ions, des électrons accélérés, des radicaux libres, etc...

Les composants ainsi formés agissent sur les fonctions vitales des micro-organismes, en particulier au niveau des acides nucléiques et des membranes cellulaires.

En fin de réaction, les agents actifs du plasma se recombinent entre eux pour former des composés simples: l'eau et l'oxygène. L'absence de résidus toxiques rend inutile toute désorption.

La stérilisation par plasma peroxyde d'hydrogène est bactéricide, sporicide, fongicide, et virucide.

Avantages de la méthode:

- Permet de stériliser à basse température.
- Utilisation simple.
- Cycle rapide.
- Ne nécessite pas de désorption.
- Ne provoque pas d'endommagement des matériaux.

Inconvénients de la méthode:

- Appareillage coûteux.
- Ne permet pas de traiter des objets contenant de la cellulose: les emballages devront être non pas en papier, mais en matière plastique ou non tissée (Tyvek*).
- Ne permet pas de traiter les instruments métalliques de masses importantes dans les conteneurs (instruments d'orthopédie).
- Ne permet pas de traiter les liquides.

I-4-2 - Produits ne pouvant être stérilisés dans leur conditionnement définitif:
filtration sur membrane et préparation dans des conditions aseptiques.

C'est une technique qui consiste à séparer par passage à travers un milieu poreux sous l'influence d'une différence de pression, des constituants solides contenus dans un liquide ou un gaz sans modifier la nature chimique des phases.

La filtration impose certaines conditions comme le travail aseptique après filtration et la stérilisation du matériel filtrant lui-même. On stérilise en éliminant bactéries, levures, spores. Selon la Pharmacopée, pour réaliser la filtration, il faut utiliser des filtres de porosité 0,22 micromètres. Les matériaux utilisés sont la porcelaine, le verre fritté (support), les dérivés de la cellulose, les matières plastiques (membranes filtrantes)...

Actuellement, on essaierait de mettre au point des filtres de porosité 15, 30 et 40 nanomètres plus ou moins 2. Ces filtres de fibres creuses laisseraient passer les protéines mais retiendraient les virus enveloppés ou non (notamment le VIH). C'est ce que l'on va appeler la nanofiltration.

Avantages de la méthode:

- Convient aux produits thermosensibles.

Inconvénients de la méthode:

- Pas possible dans l'emballage définitif.
- Beaucoup de paramètres de contrôle.

D'autres méthodes non décrites à la Pharmacopée existent :

- Flambage (cette méthode était valable pour les instruments):

Cette méthode utilise directement la flamme. Le produit est arrosé d'alcool puis enflammé. Bien entendu, ce procédé ne peut être utilisé que pour les objets résistants à de fortes températures. Il est encore d'usage dans les préparations galéniques pour chauffer le mortier (plus que pour le stériliser).

- Ebullition de l'eau (pas d'action sur les spores):

Le produit à traiter est immergé dans de l'eau à 100°C pendant 45 minutes (verreries, ampoules, seringues...). (4) A l'hôpital, il existe un procédé d'urgence qui consiste à immerger dans l'eau bouillante 15 à 20 minutes après addition de 3 à 5% de Bicarbonate de Soude qui porte à 104°C la température d'ébullition.

- La Tyndallisation:

C'est une stérilisation en discontinu. Elle met en oeuvre trois chauffages successifs à 70°C pendant une heure, espacés par 24 heures de repos. Le premier chauffage détruit les formes végétatives. Le premier repos permet la transformation des formes sporulées en formes végétatives. Le deuxième chauffage détruit les nouvelles formes végétatives. Le deuxième repos et le troisième chauffage sécurisent la méthode.

Ce procédé est utilisé quand les substances sont labiles à 100°C, notamment pour certains dérivés de morphine.

DEUXIEME PARTIE : LA RADIOSTERILISATION PAR RAYONNEMENT GAMMA

En dépit des inévitables préjugés contre les rayonnements, on a progressivement recouru à ces derniers pour stériliser les produits pharmaceutiques quand il n'existait pas d'autres solutions ou que celles qui existaient étaient trop onéreuses.

Ce mode de stérilisation ne peut être réalisé au sein des Laboratoires Pharmaceutiques qui doivent obligatoirement avoir recours à des centres spécialisés soumis à des dispositions législatives et réglementaires particulières.

Dans le cadre de cette Thèse, la source utilisée est celle du laboratoire de Biophysique de la Faculté de Pharmacie de Limoges (IBL 460).

II-1 - PRINCIPE :

Ce sont des rayonnements indirectement ionisants, très énergisants et très pénétrants, constitués de particules électriquement neutres: les photons.

Les photons agissent au niveau des électrons des atomes et à aucun moment au niveau des noyaux. Il n'y a donc ici pas de notion de radioactivité sur le produit à stériliser.

Deux types de corps radioactifs génèrent les rayonnements Gamma:

- Le Césium 137 ayant une période de vie de trente ans et un niveau énergétique de 0,66 Mev.

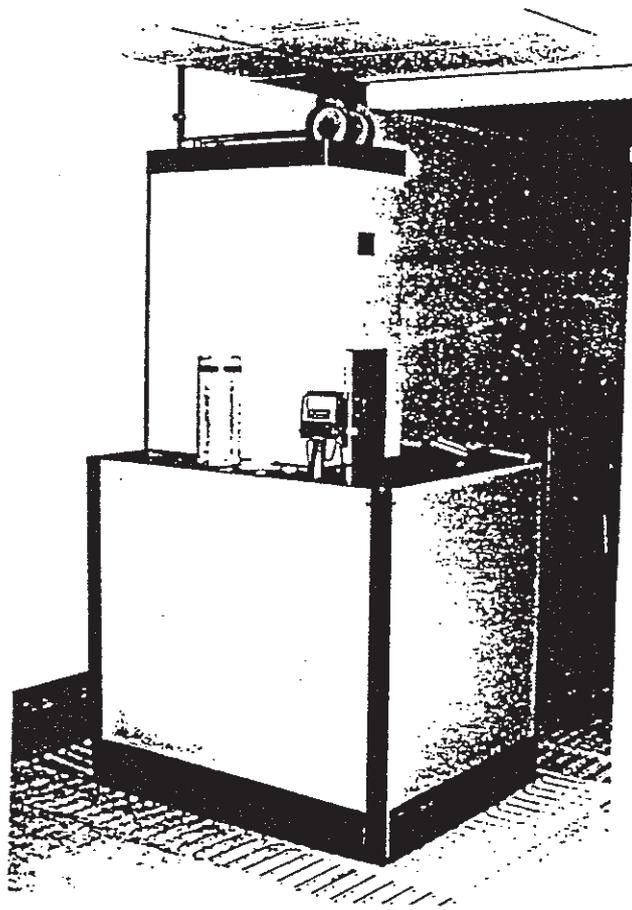
- Le Cobalt 60 (le plus utilisé):

Ce métal provient du Cobalt naturel (^{59}Co), auquel on a ajouté un neutron thermique. Cette opération a lieu dans un réacteur nucléaire. Le Cobalt 60 ainsi formé se désactive selon sa période, c'est à dire 5,27 ans en émettant un rayonnement électromagnétique ionisant et très pénétrant.

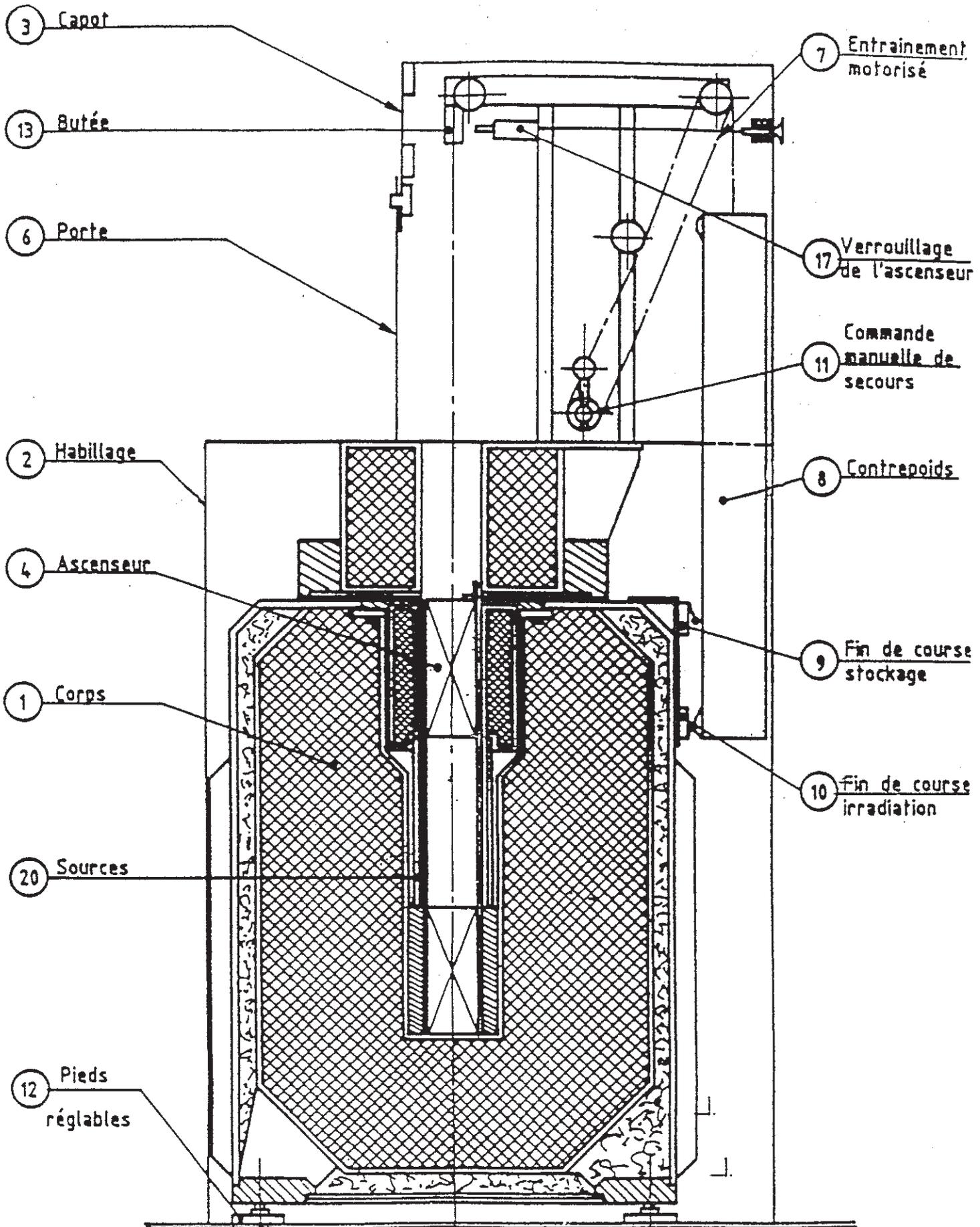
Ce rayonnement est constitué de deux Photons Gamma d'énergie 1,17 et 1,33 Mev.

Après production de rayonnements Gamma, le Cobalt se transformera en Nickel pour revenir à son état stable.

Pour être utilisables, les grains de Cobalt 60 sont enfermés dès que possible après la sortie du réacteur, dans une double enveloppe scellée en acier inoxydable. L'ensemble se présentant sous la forme d'un gros crayon qui agit à distance par l'émission des deux photons



L'ionisateur Biologique de Limoges (IBL 460)



Description de l'Ionisateur Biologique de Limoges.

précédemment mentionnés. Selon leur origine et leur conditionnement, chaque crayon industriel de Cobalt 60 renferme des activités de l'ordre de 1000 à 20 000 Curies.

II-2 - DESCRIPTION D'UN CENTRE D'IONISATION AU COBALT 60 : (10) (14)

La stérilisation par le rayonnement Gamma, tout comme celle par rayonnement Béta, nécessite une installation particulière d'un investissement important.

En France, on peut dénombrer cinq établissements spécialisés de radiostérilisation industrielle au Cobalt 60:

- Ionisos (anciennement Conservatome)
dont le siège social est à Lyon.

- Gammaster Provence
dont le siège social est à Marseille.

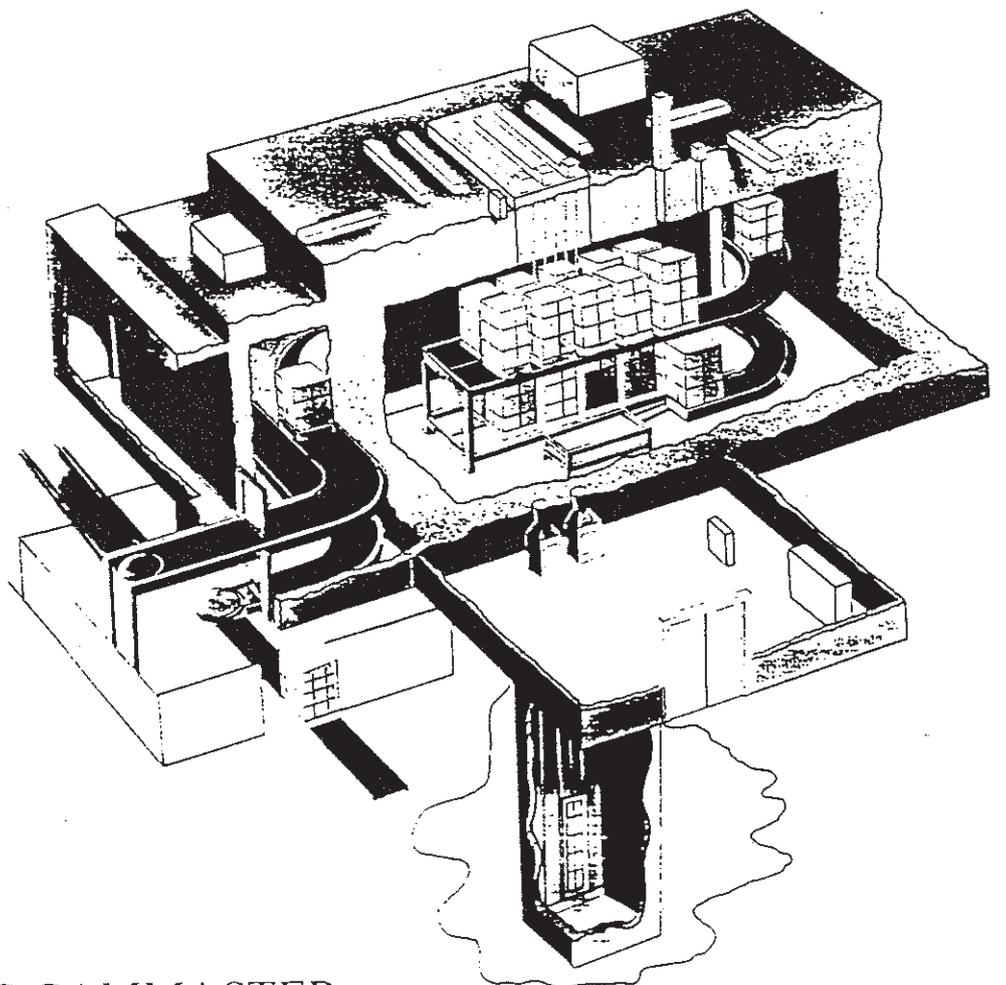
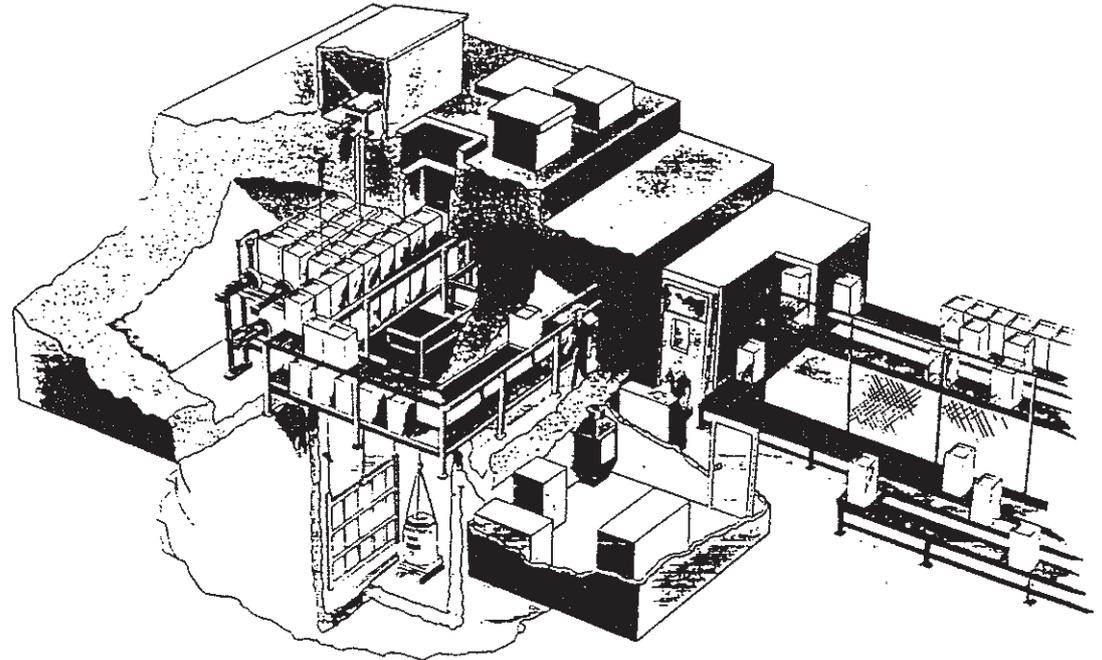
- Amphytrion
dont le siège social est à Pouzauges.

- Arkochim
dont le siège social est à Caros.

- SNCS à Isigny sur mer.

L'ionisateur Gamma est une vaste cellule blindée, éventuellement climatisée au centre de laquelle se trouvent des sources isotopiques appropriées, émettrices de radiations ionisantes et disposées sur un porte-source métallique.

Le principe de fonctionnement d'une installation industrielle est relativement simple: les produits à traiter sont mis sur des balances puis suivent un rail à travers la salle de stérilisation. Le produit est immobilisé devant la source de telle façon qu'il absorbe l'énergie électromagnétique émise.



INSTALLATIONS GAMMASTER

Un seul paramètre est donc à contrôler: le temps d'exposition.

A l'arrêt de l'installation, les sources sont stockées le plus souvent dans une piscine aménagée sous la casemate; l'épaisseur d'eau étant calculée pour absorber l'énergie émise par les sources placées en fond de piscine.

L'autre variante est le stockage sec: les sources sont placées soit dans leur conteneur de transport automatisé à cet effet, soit dans une petite cellule blindée sous la casemate (comme à la Faculté).

Dans la pratique industrielle, la plupart des centres d'ionisation optent pour le Cobalt 60, car celui-ci est insoluble et rend le stockage en piscine possible contrairement au sel de Césium. Les installations utilisant le Césium 137 fonctionnent d'ailleurs pour cette raison en stockage sec.

II-3 - LES PARAMETRES DE LA STERILISATION : (15)

II-3-1 - La dose absorbée :

C'est la quantité d'énergie directement absorbée par le produit lui-même.

L'unité de valeur est le GRAY (Gy).

1 Gy c'est la dose de radiations absorbées correspondant à 1 Joule/kg.

1Gy = 100 Rad

II-3-2 - La dose stérilisante :

La Pharmacopée ne recommande pas de dose mais la technique doit être validée.

La dose stérilisante (D) est celle nécessaire pour assurer la stérilité plus une marge de sécurité :

$$e^{-kD} = \frac{N}{N_0}$$

D: Dose stérilisante

k: Constante

N₀: Population microbienne initiale

N: Population microbienne survivante

Et on définit la dose de réduction décimale (D₁₀) en pratique par la dose nécessaire à la destruction de 90% des micro-organismes:

$$D = D_{10} \left(\log \frac{N_0}{N} - \log 10^{-6} \right)$$

D: Dose utilisée

D₁₀: Dose de réduction décimale

N₀: Population microbienne initiale

N: Population microbienne survivante

$$D = D_{10} \log \frac{N_0}{N}$$

$$D_2 = D_{10} \log 10^6 = 6 D_{10}$$

Pour chaque micro-organisme, la destruction obéit à une cinétique du premier ordre en fonction de la dose d'irradiation.

Si la dose D correspond à une réduction de 1/10 des micro-organismes, une dose "6.D" permet de réduire à 10^{-6} la contamination initiale. Cette dose "6.D" est souvent proposée pour les médicaments, la dose "12.D" étant réservée aux aliments pour les animaux de laboratoire. Cette simplification du calcul de la dose de stérilisation n'est valable que pour des médicaments propres.

Une dose doit être distribuée pour réduire la contamination initiale puis une nouvelle dose "6.D" permet d'atteindre un niveau de stérilité de 10^{-6} germes par objet.

En l'absence d'études bactériologiques, il n'est pas possible de calculer la dose nécessaire pour un échantillon. De nombreuses études ont été comparées en 1987 en Grande-Bretagne et les participants ont proposé d'imposer une dose minimale de 25 kGy pour la radiostérilisation dans le cas où le médicament a été préparé selon les Bonnes Pratiques de Fabrication. Cette dose double de celle nécessaire selon la plupart des études, peut être mesurée avec précision et est facilement contrôlée par les autorités compétentes.

La Radappertisation ou stérilisation des aliments s'effectue à 50 kGy (12.D) mais les contaminations initiales sont différentes.

II-3-3 - La durée d'exposition :

C'est le seul paramètre qui varie, en fonction de cette durée on peut calculer la dose absorbée par le produit.

Un seul paramètre de stérilisation assure une bonne reproductibilité.

II-4 - EFFETS DE LA RADIOSTERILISATION SUR LES PRODUITS :

II-4-1 - Introduction:

Si l'action de l'ionisation est très faible sur les protéines, glucides, lipides, elle s'attaque surtout aux acides nucléiques, qui, en raison de leur taille et de leur organisation complexe, constituent la cible moléculaire la plus sensible.

L'excitation des électrons constitutifs de l'atome par l'émission de rayonnements gamma va entraîner la formation de radicaux libres, la rupture de brins des acides-aminés. Ces ruptures simples peuvent se produire au niveau de la liaison entre la base et le sucre du nucléotide, ou entre le sucre et le phosphate. Une grande partie de ces ruptures simples est produite par l'intermédiaire des radicaux OH. Les doubles ruptures sont dix fois plus rares. Ces acides nucléiques peuvent aussi subir une hydroxylation des bases, une dégradation des

sucres et la formation de pontages illégitimes entre les bases d'un même brin.(19)
C'est par cette action que les acides nucléiques des bactéries, des levures, virus..., ne vont plus se répliquer et que petit à petit les protéines membranaires vont être détruites.

II-4-2 - Les radicaux libres (16) :

II-4-2-1 - Historique:

Si Fenton décrit en 1894 la production du radical hydroxyle en milieu organique, les premières études des réactions d'oxydo-réduction dans les milieux biologiques remontent à 1931 avec la mise en évidence par Haber et Willstatter de la production d'anion superoxyde lors de la réduction monovalente de l'oxygène.

Ultérieurement Haber-Weiss décrit en 1934 la réaction de production du radical hydroxyle dans un milieu biologique en présence de fer.

II-4-2-2 - Définition:

Les radicaux libres sont des molécules (ou atomes) possédant un électron célibataire non apparié sur sa couche externe, et qui cherche à tout prix une union pour ne pas rester dans cette situation.

Arrachant un électron célibataire à une autre molécule, celle-ci devient à son tour radical libre, avec la possibilité de réactions en cascade.

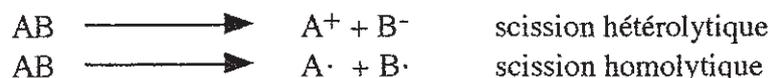
II-4-2-3 Mécanismes d'action :

Une structure chimique stable possède sur ses couches orbitales externes des électrons appariés par paires. C'est la présence d'un électron célibataire sur la couche externe qui définit le radical libre et lui confère son extrême réactivité.

La notation d'un radical libre se fait par convention par un point à côté du sigle chimique.

Un radical libre peut naître à partir de tout atome par gain d'un électron générant un radical négativement chargé, ou perte d'un de ses électrons avec création d'un radical à charge positive. Une réduction consiste en un gain d'électrons, une oxydation en leur perte.

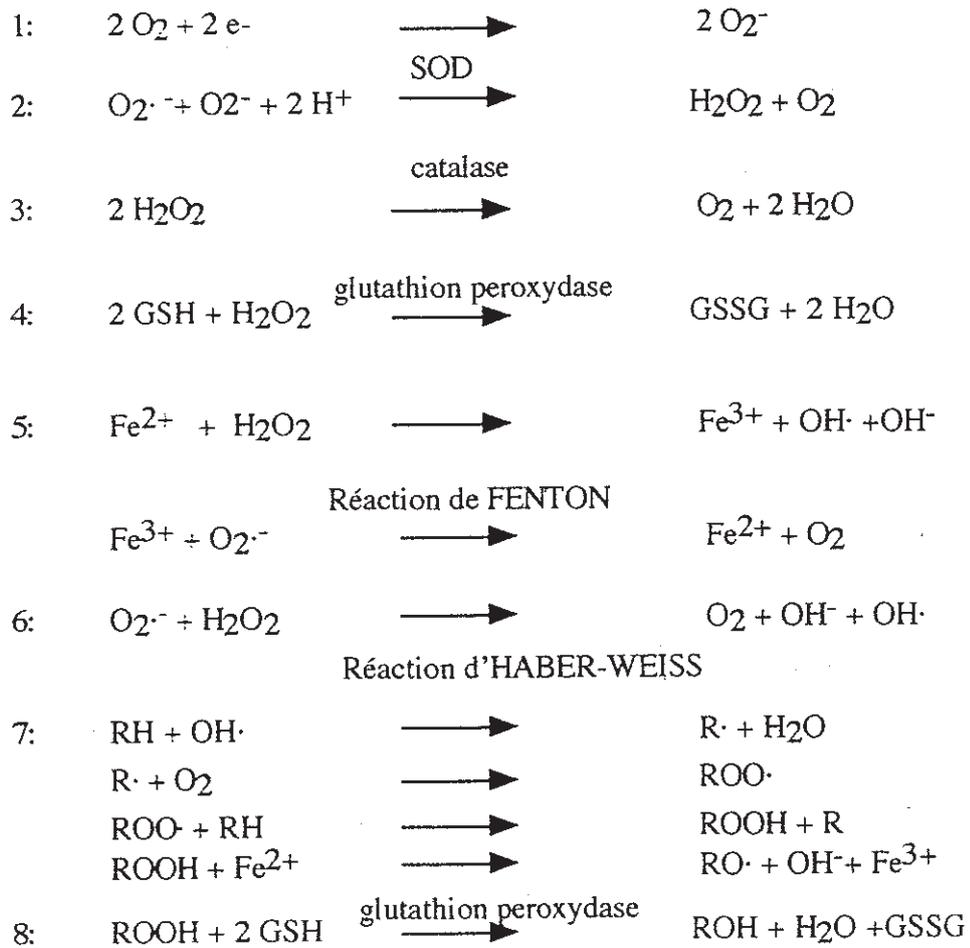
Une molécule peut également générer des radicaux libres à l'occasion de sa dissociation, par scission homolytique d'une liaison covalente. Cette dissociation diffère de la scission hétérolytique classique qui produit deux substrats anioniques.



Les liaisons de type covalentes unissant les molécules sont établies par mise en commun par les atomes unis, de deux électrons à spins anti-parallèles.

Le radical produit va alors interagir avec son environnement pour générer de nouveaux radicaux, qui eux-mêmes vont réagir sur leur entourage, induisant une réaction en chaîne :

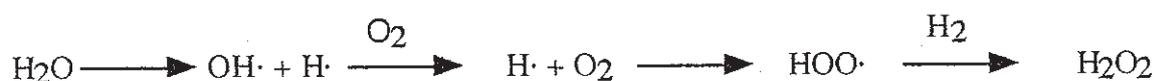
Exemple dans l'organisme :



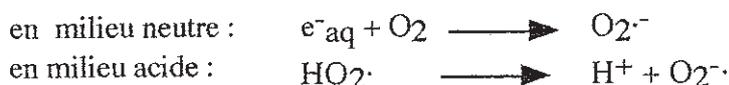
Dans les conditions normales, l'organisme dégrade 95% de l'oxygène par réduction tétravalente au niveau des mitochondries par la chaîne des enzymes respiratoires. Par contre 5% environ vont passer par une réduction univalente générant des radicaux libres. La création des radicaux libres est donc un phénomène "physiologique", et c'est la brusque augmentation de la quantité libérée, dépassant les mécanismes de protection, qui les rend pathologiques.

Exemple au niveau de l'eau (notamment contenue dans les micro-organismes):

Après radiostérilisation de l'eau, on peut constater la radiolyse suivante:



En présence d'oxygène, les molécules forment l'ion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot -}$:



$\text{O}_2^{\cdot -}$: radical superoxyde

$\text{HO}_2\cdot$: radical perhydroxyle

Le rendement en radicaux perhydroxyl libres est de l'ordre de 3 à 5 radicaux par 100 eV d'énergie absorbée.

(17) La plupart des bactéries sont détruites pour des doses d'irradiation de 1 à 10 kGy.

Les solides sont plus radio-résistants que les solutions aqueuses. L'énergie est en effet cédée aux molécules d'eau avec formation subséquente d'espèces réactives qui attaquent les molécules dissoutes.

Par exemple, le rendement radiolytique est de 2,7 radicaux hydroxyle ($\text{OH}\cdot$) par 100 eV.

En présence d'oxygène, ceux-ci forment l'ion superoxyde en milieu neutre et le radical perhydroxyle en milieu acide.

En présence de formiate de sodium, toutes les espèces réactives sont transformées en $\text{HO}_2\cdot$; le rendement de transformation de l'acide ascorbique dissous en solution aqueuse irradiée atteint 6 molécules de vitamine par 100 eV d'énergie absorbée par les molécules de solvant.

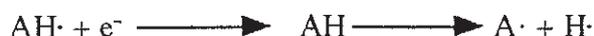
irradiée atteint 6 molécules de vitamine par 100 eV d'énergie absorbée par les molécules de solvant.

Lors de l'irradiation d'un solide moléculaire, les transformations sont aussi dues aux radicaux libres formés:

- soit par une réaction ion-molécule:



- soit par une rupture homolytique de la molécule excitée formée par la neutralisation géminée du radical cation:



Le rendement en radicaux libres est de l'ordre de 3 à 5 radicaux par 100 eV d'énergie absorbée par le solide irradié. Les radicaux ainsi formés sont immobilisés dans le réseau cristallin (piégeage) et sont, comme des électrons ou des cations piégés, observables longtemps après l'irradiation. Une autre particularité de l'irradiation d'un solide est liée à l'organisation régulière des molécules; l'énergie cédée à une molécule peut migrer à une certaine distance et servir à l'activation chimique de molécules d'impuretés qui servent ainsi de radioprotecteurs.

La radiostérilisation de solution aqueuse s'accompagne d'une transformation chimique importante du composé dissous déjà détectable pour des doses de 0,1 kGy par résonance paramagnétique électronique. Par contre, en phase solide, les traces de produits secondaires sont difficiles à détecter même après la réaction des radicaux piégés. Pour réduire l'attaque du soluté en solution aqueuse, on peut irradier à basse température.

II-4-3 - Effets sur les matériaux : (18)

Les polymères sont constitués de macromolécules que l'on peut considérer schématiquement comme de longs filaments formés d'un motif répétitif : le monomère.

L'effet le plus évident observé lors de l'action des rayonnements sur les polymères porte sur la modification de la masse moléculaire.

Ces macromolécules sont soit "dégradées" (coupées au hasard) par l'irradiation, soit soudées entre elles (réticulées).

L'un ou l'autre de ces processus domine selon la nature chimique du motif monomère. Les branches latérales, présentes dans le motif, constituent des points de fragilité vis à vis du rayonnement.

Les polymères à squelette carboné, dont tous les atomes de la chaîne principale portent au moins un atome d'hydrogène, sont réticulés par l'irradiation, tandis que ceux qui renferment

un carbone tétrasubstitué dans leur motif monomère sont dégradés.

On observe en outre dans les polymères irradiés un dégagement de gaz et la formation de doubles liaisons.

POLYMÈRES RÉTICULÉS	POLYMÈRES DÉGRADÉS
Polyéthylène $\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$	Polyisobutylène $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{—CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—C—CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$
Polypropylène $\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	Poly α -méthylstyrène $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—C—} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_5 \quad \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$
Polystyrène : $\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_5 \quad \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	Polyméthacrylates : $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{—CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{COOR} \quad \text{COOR} \end{array}$
Polyacrylates : $\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{COOR} \quad \text{COOR} \end{array}$	Polyméthacrylamide : $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{—CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{CONH}_2 \quad \text{CONH}_2 \end{array}$
Polyacrylamide : $\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{CONH}_2 \quad \text{CONH}_2 \end{array}$	Chlorure de polyvinylidène : $\begin{array}{c} \text{Cl} \quad \text{Cl} \\ \quad \\ \text{CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—C—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{Cl} \quad \text{Cl} \end{array}$
Chlorure de polyvinyle : $\begin{array}{c} \text{—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—CH—CH}_2\text{—} \\ \quad \\ \text{Cl} \quad \text{Cl} \end{array}$	Cellulose et dérivés Polymères fluorés
Alcool polyvinylique Nylon Polyesters Polyvinylpyrrolidone Caoutchoucs (naturel et artificiels) Polysiloxanes	

Tableau I :
Polymères dégradés et
réticulés

Les gaz résultent principalement de la coupure des branches latérales du motif monomère, comme cela apparaît clairement d'après les données suivantes:

Polymère	Motif monomère	Nature des gaz formés
Polyéthylène	-CH ₂ -CH ₂ -	H ₂
Polypropylène	-CH ₂ -CH- CH ₃	H ₂ , CH ₄
Polyisobutylène	-CH ₂ -C- CH ₃	H ₂ , CH ₄
Poly(acrylate de méthyle)	-CH ₂ -CH- COOCH ₃	H ₂ , CO, CO ₂ , CH ₄
Poly(méthacrylate de méthyle)	-CH ₂ -C- CH ₃ COOCH ₃	H ₂ , CO, CO ₂ , CH ₄
Poly(chlorure de vinyle)	-CH ₂ -CH- Cl	HCl

Tableau II : Nature des gaz formés en fonction des monomères

Il faut signaler que dans les polymères vitreux ou cristallisés, les gaz formés s'accumulent et, à forte dose, la pression de ces gaz peut engendrer des tensions suffisamment élevées pour provoquer la rupture de l'échantillon.

La radiolyse du PVC (polychlorure de vinyle) constitue un cas particulier, la radiolyse de ce composé conduit à un important dégagement d'acide chlorhydrique.

L'action de l'oxygène de l'air lors de l'irradiation provoque une série de réactions supplémentaires en raison de sa forte réactivité vis à vis des radicaux libres. Comme l'oxygène possède deux électrons orbitaux non couplés, il peut se comporter comme un biradical et peut s'ajouter sur un radical libre.

Les radicaux libres se forment lors de la rupture d'une liaison covalente. Ils apparaissent toujours par paire. Dans un liquide mobile, la durée de vie de toutes ces espèces réactives est très brève. Cependant au sein d'un polymère, ces processus sont fortement ralentis car le milieu réactionnel est très visqueux ou même solide.

On observe ainsi, après irradiation dans les polymères "vitreux" ou "cristallisés", des radicaux à très grande durée de vie (jours, semaines, mois, voire années) qu'on met en évidence par résonance paramagnétique électronique. La présence de ces derniers se manifeste par ailleurs, par une coloration dans le visible (si le polymère est transparent).

Les espèces réactives piégées dans les polymères cristallisés ou vitreux ayant subi une irradiation disparaissent si ce polymère est chauffé après l'irradiation. Ce traitement est parfois nécessaire dans la pratique si l'on veut éviter un vieillissement prématuré du matériau.

On a pu trouver des applications industrielles au phénomène de réticulation. En effet, des produits soumis aux rayonnements de grande énergie offre une meilleure résistance aux solvants. Ces modifications ont trouvé leurs principales applications dans le domaine des isolants électriques pour fils et câbles et dans la fabrication de tubes destinés à véhiculer l'eau chaude ou des liquides corrosifs.

II-5 - APPLICATIONS

II-5-1 - Les aliments (19)

Dans le domaine de l'ionisation des produits alimentaires, des études ont été menées sur les doses optimales à appliquer sur les produits de la pêche, afin de provoquer une destruction bactérienne satisfaisante, tout en maintenant, dans les meilleures conditions possibles, les caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles de l'aliment. Avec une dose moyenne de 5 kGy, on élimine le risque dû à *Salmonella* et aux autres bactéries contaminantes contenues sur les cuisses de grenouilles contaminées naturellement et artificiellement.

d	Dose kGy	Témoin	2,8	5,6	6,9
a	Micro-organismes à 30° C	241 000	300	20	10
n	Coliformes fécaux	10	10	10	10
s	<i>Clostridium Perfringens</i>	-	-	-	-
l	<i>Staphylococcus Aureus</i>	30	10	10	10
g	<i>Salmonella</i> dans 25 g	Présence	Absence	Absence	Absence

(source : C.N.F.T.S.V. (Centre National de Formation des Techniciens des Services Vétérinaires)).

Tableau III : Présence de bactéries en fonction de la dose d'irradiation

Les courbes de réduction des micro-organismes, établies par différents travaux et par l'expérimentation du CNFTSV ont montré qu'une dose de 5 kGy était satisfaisante pour la réduction de *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*.

Le traitement de 1 kGy sur des poissons entiers ou en filets conservés sous glace de fraîcheur initiale excellente permet de réduire de façon importante la flore totale (la dégradation du poisson frais provient de l'activité enzymatique tissulaire et de l'altération d'origine bactérienne de *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*...).

Ainsi les qualités microbiologiques sont maintenues jusqu'à 10 à 12 jours environ.

Sur les viandes de volailles, l'ionisation apparaît comme une méthode de pasteurisation à "froid", particulièrement efficace. Cet effet réducteur de la population microbienne s'exerce sur les viandes surgelées sans entraîner de modification de leur valeur nutritionnelle, ni de leur qualité organoleptique. Seule une sensibilité de la vitamine E rappelle qu'aucun traitement n'est totalement anodin. En effet, la pasteurisation par la chaleur aurait, elle aussi, provoqué une perte partielle de vitamines.

Autorisations accordées en France

Produit	Dose	Objectif	Date (*)
Décret général	kGy		S 5, 70-12 5 70 S, 11, 72 12, 12 72
Aliments pour animaux de laboratoire	10-30 30-60	S S	17, 10/75-2, 12/75 16/4/81-20/5/81
Emballages... Nettoyage	- 10, > 10		12/2/73-15, 2/75 12/8/86-20/8/86
Pomme de terre	0,075-0,15	G	8/11/72-2/12/72 (provisoire : 5 ans)
Oignon, ail, échalotte	0,075-0,15	G	9/8/77-31/8/77 21/6/84-12/7/84
72 épices dont oignon et ail en poudre	- 11	D	6/ 2/85-16/ 2/85
VVSM - 18°C	- 5	D CM	6/2/85-16/2/85 5/3/85-12/3/85
Gomme arabique	- 9	D	17/5/85-16/6/85
Céréale, « Mueli », Flocon & Germe	- 10	D	17/5/85-16/6/85
Légume déshydraté	- 10	D	17/5/85-16/6/85
Vanilles...	- 11	D	6/1/86-28/1/86
Sang, plasma, cruor D. Sang animal boucherie	10	D	19/11/86-4/12/86 18/2/87- 6/3/87
Légume & Fruits secs	1	I	6/1/88-13/1/88
Cuisse grenouille cong.	4-8	D	3/5/88-8/5/88
Farine Riz & composants	- 5	D	4/11/88-13/11/88
Fraise (emballée)	- 3	C	29/12/88-6/1/89
Herbe aromatique, surgelée : ail, ciboulette, cresson, estragon, persil...	- 10	D	15/5/90-22/5/90
Viande volaille hachée ou broyée	- 5	D	7/8/90-1/9/90
Crevette décortiquée, étiérée, surgelée	- 5	D	2/10/90-10/10/90
Blanc d'œuf liquide, deshydrat. ou cong.	- 4	CM	1/10/90-17/11/90
Caséine, protéine lait	- 4	CM	17/7/91-21/7/91
Fruit sec	- 6	D	17/7/91-25/7/91
Colostrum, C. bovin	- 10	CM	9/1/92-16/1/92
Fromage au lait cru, camembert	2,25-3,5	CM	10/3/93-27/3/93

G : inhibition germination
C : augmentation conservation
CM : critère microbiologique

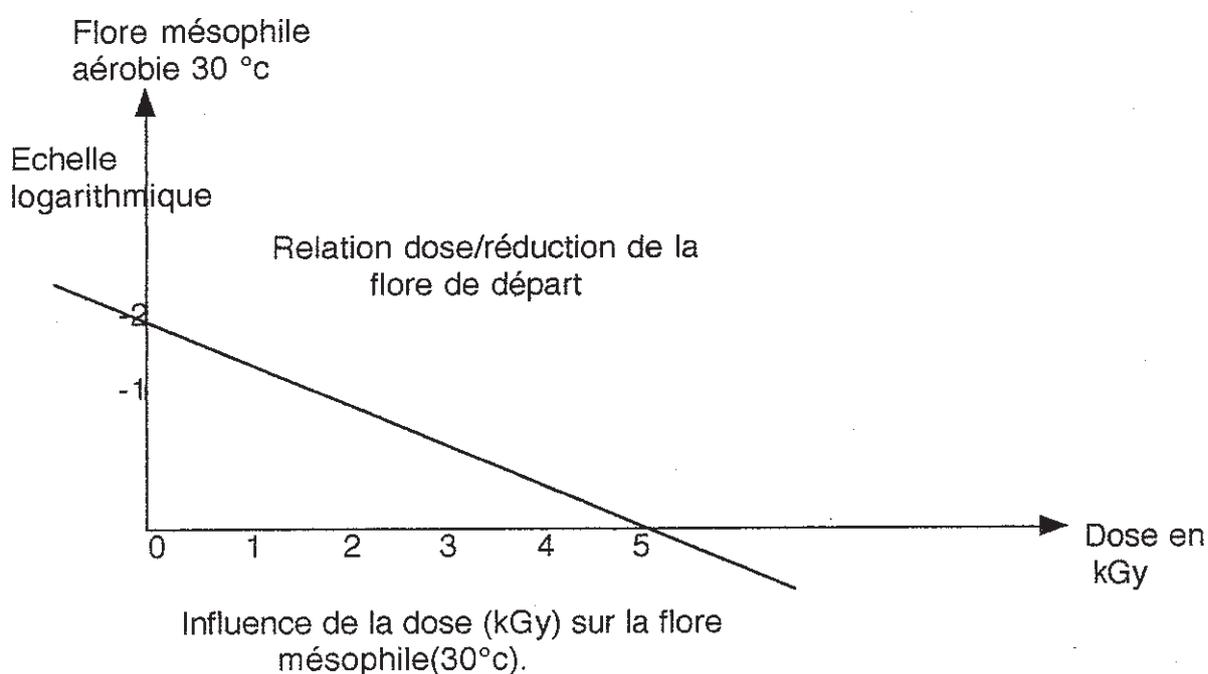
I : désinfectisation
D : décontamination
S : stérilisation

(*) La première date est celle du décret d'autorisation, la seconde celle du Journal Officiel où paraît le texte de l'autorisation

LISTE DES EPICES ET AROMATES RADIOSTERILISÉS

Nom botanique	Partie utilisée	Nom de l'épice
<i>Acorus Calamus</i> L.	Rhizome	Acore en poudre
<i>Aframomum angustifolium</i> (Sonnerat) K. Schum	Fruit et graine	Cardamome de Madagascar
<i>Aframomum Koranina</i> Pereira	Fruit et graine	Aframome d'Ethiopie
<i>Aframomum Hanburyi</i> , K. Schum	Fruit et graine	Cardamome du Cameroun
<i>Aframomum Melegueta</i> , K. Schum	Fruit et graine	Maniguette ou graine de paradis
<i>Allium ascalonicum</i> L.	Bulbe	Echalote en poudre
<i>Allium Cepa</i> L.	Bulbe	Oignon en poudre
<i>Allium Fistulosum</i> L.	Feuille	Ciboule
<i>Allium Sativum</i> L.	Bulbe	Ail en poudre
<i>Allium Schoenoprasum</i> L.	Feuille	Ciboulette ou civette
<i>Alpinia Galanga</i> (L.), Willd	Rhizome	Galanga en poudre
<i>Amomum aromaticum</i> Roxb	Fruit et graine	Cardamome du Bengale
<i>Amomum Kepulaga</i> , Sprague et Burkill, synonyme <i>Amomum Cardamum</i> Roxb	Fruit et graine	Cardamome rond
<i>Amomum Krervanh</i> , Pierre	Fruit et graine	Cardamome Kravanh ou Krervanh
<i>Amomum subulatum</i> Roxb	Fruit et graine	Cardamome d'Indochine
<i>Anethum graveolens</i> L.	Fruit	Cardamome du Népal
<i>Anethum Soiva</i> Roxb ex. Flem	Fruit	Aneth
<i>Angelica Archangelica</i> L.	Fruit, tige très jeune	Aneth de l'Inde
<i>Anthriscus Cerefolium</i> , Hoffmann	Feuille	Angélique
<i>Apium graveolens</i> L.	Fruit	Cerfeuil
<i>Artemisa Dracunculus</i>	Feuille et sommité florale	Céleri ou Ache des marais
<i>Brassica juncea</i> (L.), Coss et Czern.	Graine	Estragon
<i>Brassica nigra</i> (L.), Koch	Graine	Moutarde brune ou moutarde de l'Inde
<i>Capparis spinosa</i> L.	Bouton floral clos	Moutarde noire
<i>Capsicum annuum</i> L.	Fruit	Câpre
<i>Capsicum frutescens</i> , Linné	Fruit	Piment doux ou poivron
<i>Carum Carvi</i> L.	Fruit	Piment enragé
<i>Cinnamomum burmanni</i> , Blume	Ecorce	Carvi
<i>Cinnamomum Cassia</i> , Nees et Ebern	Ecorce	Cannelle de Padang
<i>Cinnamomum Loureiri</i> , Nees	Ecorce	Cannelle de Chine
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> , Blume	Ecorce	Cannelle de Saïgon
<i>Cochlearia Armoracia</i> L.	Racine	Cannelle de Ceylan
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Feuille et graine	Raifort (rai fort sauvage)
<i>Crocus sativus</i> L.	Stigmate	Coriandre
<i>Cuminum Cyminum</i> L.	Fruit	Safran
<i>Curcuma Longa</i> L.	Rhizome	Cumin
<i>Elettaria Cardamomum</i> Maton, variété <i>minuscula</i> , Burckill	Fruit et graine	Curcuma
<i>Elettaria Cardamomum</i> Matton, variété <i>major</i> Thwaites	Fruit et graine	Cardamome de Malabar
<i>Eugenia Caryophyllus</i> (Spreng), Bullock et Harrison	Bouton floral clos séché	Cardamome sauvage de Ceylan
<i>Ferula Asafoetida</i> L.	Racine	Clou de girofle
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill, synonyme <i>Foeniculum officinale</i>	Fruit et graine	Ase fétide
<i>All</i>	Fruit	Fénoûil
<i>Illicium verum</i> , Hooker f.	Fruit	Badiane de Chine ou anis étoilé
<i>Juniperus communis</i> L.	Feuille	Genièvre
<i>Laurus nobilis</i> L.	Feuille	Laurier-sauce
<i>Majorana hortensis</i> , Moench	Feuille et sommité florale	Laurier noble
<i>Mangifera indica</i> L.	Fruit non mur (tranche séchée)	Laurier d'Apollon
<i>Mellisa Officinalis</i> L.	Feuille	Marjolaine
<i>Mentha arvensis</i> L.	Feuille	Mangue
<i>Mentha piperita</i> L.	Feuille	Mélisse
<i>Mentha spicata</i> L.	Feuille	Menthe type japonaise
<i>Murraya Koenigii</i> (L.), Spreng	Feuille	Menthe poivrée
<i>Myristica fragrans</i> , Houtt	Arille	Menthe verte ou menthe crépue
<i>Nigella sativa</i> L.	Amande	Feuille de Murraya
<i>Ocimum Basilicum</i> L.	Fruit	Macis
<i>Origanum vulgare</i> L.	Feuille	Noix muscade
<i>Petroselinum crispum</i> (Miller), A.W.	Feuille et sommité florale	Nigelle
<i>Pimenta Dioica</i> (L.), Merr	Feuille et graine	Basilic
<i>Pimpinella Anisum</i> L.	Fruit et feuille	Origan
<i>Piper guineense</i> , Schum. et Thonn	Fruit	Persil
<i>Piper nigrum</i> L.	Fruit	Piment de la Jamaïque
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Feuille	Anis vert
<i>Salvia officinalis</i> L.	Feuille	Poivre des Achantis
<i>Salvia Sclarea</i> L.	Feuille	Poivre
<i>Satureia hortensis</i> L.	Feuille et sommité florale	Romarin
<i>Sinapis alba</i> L.	Graine	Sauge officinale
<i>Tamarindus indica</i> L.	Fruit	Sauge sclérée
<i>Thymus Serpyllum</i> L.	Feuille et sommité florale	Sarriette
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Feuille et sommité florale	Moutarde blanche
<i>Trachyspermum ammi</i> (L.), Sprague	Fruit	Tamarin
<i>Trigonella Foenum-Graecum</i> L.	Graine	Seroclet
<i>Xylopia aethiopica</i> (Dunal), A. Richard	Fruit	Thym
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Rhizome	Ajowan
		Fenugrec
		Kari
		Gingembre

On peut radiostériliser plusieurs autres matériaux épaississants, notamment la carboxyméthylcellulose-sodium, la gélatine, l'amidon, la paraffine molle blanche, sans entraîner de modifications notables de leur composition chimique, si l'on choisit la dose appropriée.



II-5-2 - Les pansements (19)

Les cicatrisants des plaies à base d'hydrate de carbone sont couramment radiostérilisés. L'un des plus connus est le Débrisan, une forme réticulée du Dextran. Il se présente sous forme de billes poreuses sèches extrêmement hydrophiles. Versé sur une blessure purulente, il gonfle et scelle la plaie. L'exsudat contenant des bactéries passe dans le réseau macromoléculaire à trois dimensions, et la plaie est ainsi nettoyée.

Le Débrisan peut être également préparé sous forme de pâte à base d'alcools organiques qui restent stables sous l'effet des rayonnements.

II-5-3 - Les matières premières(19)

Le rayonnement Gamma est largement utilisé pour la décontamination.

Ainsi, le produit naturel, de la gomme arabique par exemple, doit être décontaminé par le fabricant sans qu'il y ait dégradation ou perte des propriétés de la viscosité. Sa stérilisation par rayonnement Gamma est maintenant très bien acceptée par l'industrie pharmaceutique, mais pas encore totalement par l'industrie agro-alimentaire, qui utilise souvent cette gomme comme ingrédient et additif.

De nos jours, on a de plus en plus recours à l'irradiation pour réduire à un niveau acceptable le nombre de microbes dans des produits naturels en vrac.

II-5-4 - Les produits médicamenteux(20)

La plupart des produits pharmaceutiques solides ne présentent pas de perte d'activité significative quant ils sont irradiés à l'état sec à 25 kGy, dose qui doit constituer le point de départ de toute évaluation des possibilités d'application de la technologie.

	Dose (kGy)	Perte de puissance
chlortétracycline	17,9-100	0
oxytétracycline	17,9-100	0
chloraminophénicol	17,9	0
chlorhydrate de tétracycline	80	0
chlorhydrate de streptomycine	25	0
sodium-benzylpénicilline	25	0
phénoxyéthylpénicilline	25	0
benzamine-pénicilline	25	0
dihydrostreptomycine	25	0
potassium-benzylpénicilline	17,9	0
sulfate de polymyxine	25	0
polymyxine	jusqu'à 80	0
colimycine	jusqu'à 80	0
nystatine	jusqu'à 80	0
sulfapyridine	25	0
sulfathiazole	25	0
sulfate de streptomycine	25	3
dihydrostreptomycine	250	5
sulfate de néomycine	25	4
sodium-benzylpénicilline	250	-3
benzathine-pénicilline	250	-3
phénoxyéthylpénicilline	250	-3
bacitracine de zinc	25	7,1
bacitracine de zinc	250	26,7

Tableau V : Produits médicamenteux radiostérilisés

D'ailleurs des produits sont depuis longtemps couramment radiostérilisés (page 37)

Liste des produits dont la radiostérilisation a été autorisée (37)

Australia

Gaviscon
 Ispaghula husk
 Lubricating cream
 Lyophilised reagent kits of Ca-glucenate and DTPA for preparing technetium-99m radiopharmaceuticals
 Neomycin, polymyxin and bacitracin (separately or combined as a dusting powder)
 Normal saline (for perfusing kidney transplants)
 Ophthalmic oil suspension of physostigmine salicylate
 Ophthalmic ointment of
 Mercuric oxide
 Sodium sulphacetamide
 Sutures

Chlortetracycline ophthalmic ointment 1%
 Eye drops
 Eye ointments
 Injectables
 Pigments
 Steroids
 Sulfalains ointment USP
 Talc
 Tetracycline ophthalmic ointment 1%
 Veterinary products

Europe

Atropine sulphate eye ointment 6% (U.K.)
 Chloramphenicol eye ointment (U.K.)
 Chloramphenicol ear ointment (U.K.)
 Chloramphenicol ointment 1% (Norway)
 Chlorhexidine burn dressing (U.K.)
 Chlortetracycline eye ointment 1% (U.K.)
 Contact lens saline aerosol (U.K.)
 Corticosteroid ophthalmic ointment
 Debrisan (U.K.)
 Neomycin ophthalmic ointment
 Sulphacetamide sodium eye ointment 6% (U.K.)
 Tetracycline eye ointment 1% (U.K.)
 Tetracycline ophthalmic oily suspension 1% (U.K.)
 Tetracycline powder for i.m. injection (U.K.)
 Tetracycline powder for i.v. injection (U.K.)
 Tetracycline topical ointment 3% (U.K.)
 Veterinary products (U.K.)

India

Absorbable gelatin sponge
 Catalin sodium tablets
 Debrisan
 Fluorescein sodium strips
 Normal saline (for kidney perfusion)
 Ophthalmic ointment in paraffin base
 —In collapsible aluminium tubes:
 Atropine sulphate
 Chloramphenicol
 Gentamycine sulphate
 Hydrocortisone and neomycin
 Tetracycline hydrochloride
 —In soft gelatin capsules:
 Chloramphenicol
 Gentamycine sulphate
 Prickly heat powder (antifungal containing boric and salicylic acids)
 Raw materials
 bella donna dry extract
 ergot powder
 papain
 rawolfia serpentina powder
 Ringer's lactate solution (for kidney perfusion)
 Silver sulphadiazine (for burn dressing)
 Skin ointment in PEG base:
 Neomycine sulphate, hydrocortisone acetate,
 α -chymotrypsin
 Sutures (absorbable, non-absorbable)
 Veterinary product
 Quinapyramine proslut

II-5-5 - En chirurgie (20)

Les rayonnements gamma ont leur place aussi dans la stérilisation des tissus non viables (différents des organismes vivants). Ainsi l'AIEA (Association Internationale pour l'Energie Atomique) s'intéresse en particulier, notamment avec l'association américaine, européenne, asiatique et celle du pacifique des banques de tissus pour la chirurgie, à la production de tissus les plus utiles aux pays en développement. Ainsi, ces derniers pourront réduire leur dépendance à l'égard des prothèses, peaux artificielles et pansements importés et onéreux (os, peaux, membranes amniotiques, tendons et cartilages notamment). Les exemples qui vont suivre sont interdits en France à cause des prions (sauf autorisation spécifique). cf II-6-2.

Exemple de l'os :

En premier lieu, l'os est stérilisé à 56° pendant trois heures. Ce traitement permet d'inactiver le virus HIV en 20 minutes, ainsi que les enzymes qui ne résistent pas à la chaleur et pourraient digérer des composants intercellulaires, et de tuer les micro-organismes sensibles à la chaleur. Toutefois à cette température, la protéine morphogénique des os (BMP), qui contribue à la repousse des os après l'implantation, n'est pas inactivée. On gèle ensuite les os pendant toute une nuit (-20°) et on les découpe à l'aide d'une scie à ruban électrique. Les morceaux d'os sont continuellement soumis à des jets d'eau froide et d'eau chaude (à 50°) pour enlever la moelle et les graisses. Après avoir été soumis à une température de -20° pendant 4 à 5 jours, ils sont lyophilisés. Les os de différentes formes, tailles et types sont enveloppés dans une double épaisseur de film en polyester ou en polyéthylène résistant aux rayonnements et dans du papier kraft quadrillé à usage médical. Les paquets sont ensuite enveloppés dans une troisième couche de film en polyéthylène et scellés à la chaleur, avant d'être finalement stérilisés aux rayons Gamma.

Les rayonnements pénètrent complètement les os les plus compacts et deviennent ainsi une méthode de choix par rapport à la stérilisation à l'oxyde d'éthylène employé précédemment qui provoquait des intoxications par les allogreffons d'os lyophilisés.

Quant l'os allogreffé radiostérilisé remplace un os manquant, il sert d'échafaudage biocompatible. Si des critères adéquats sont appliqués, l'os du patient, souvent en quelques semaines, repousse et intègre l'allogreffon. La nouvelle structure est donc en fait le propre os du patient.

Exemple de la peau ou de l'amnios :

Les plaies ouvertes provoquées par des brûlures ou par des ulcérations sont des sources d'infection et de perte du liquide. Les désordres métaboliques qui en résultent peuvent s'avérer mortels. Dans ces cas, il faut donc transformer dans les meilleurs délais une plaie

ouverte et éventuellement contaminée en une plaie fermée et propre. Un fragment de peau ou d'amnios radiostérilisé et lyophilisé peut servir de pansement de sauvetage.

Dans le cas de l'amnios, les propriétés antigéniques de la membrane traitée qui ont nourri le fœtus dans la matrice peuvent également contribuer, quand il est utilisé comme pansement, à faciliter la granulation des tissus et la repousse de la peau.

II-5-6 - En médecine (19)

C'est en particulier une méthode de choix pour la stérilisation du matériel médical (seringues, gants, champs opératoires,...). Les conditions de traitement sont voisines de celles des aliments, avec cependant une dose notablement plus élevée.

L'emploi des rayonnements ionisants est aussi très efficace dans le traitement de certaines formes de cancers, seul ou souvent en association avec d'autres traitements (chirurgie, chimiothérapie, hyperthermie,...). Cette méthode est appelée radiothérapie quand le patient reçoit le rayonnement d'un accélérateur ou d'une source de cobalt 60, il est appelé curiethérapie quand un isotope radioactif est introduit tout près de, ou dans la tumeur à soigner. Les doses usuelles sont de quelques dizaines de Grays.

II-5-7 - Les déchets (19)

Il peut s'agir de déchets peu abondants mais hautement pollués, comme les poubelles des hôpitaux ou les toilettes d'avions. Ce peut aussi être des déchets moins dangereux mais très abondants, comme les boues des stations de traitement des eaux usées, ou les lisiers de porcheries industrielles. L'ionisation de ces déchets est peu pratiquée car elle coûte nettement plus cher que les méthodes actuellement utilisées (incinération, épandage,...). La stérilisation par ionisation serait une solution plus écologique.

II-5-8 - Coloration de pierres (19)

Des pierres précieuses peuvent ainsi changer de couleur par ionisation. Par exemple, les topazes bleues naturelles sont très rares, mais des topazes jaunes usuelles deviennent bleues après ionisation. Elles sont alors vendues avec le label "colorée par un procédé physique."

II-5-9 - Chimie des plastiques (19)

C'est l'usage le plus important en volume traité. Les applications sont la polymérisation des peintures et vernis, la polymérisation des matériaux composites, l'amélioration des propriétés textiles, isolants des câbles électriques, films thermorétractables, collage de certains plastiques, amélioration du bois.

II-6 - AVANTAGES - INCONVENIENTS DE LA METHODE

II-6-1 - Avantages (22)

- Le procédé permet de stériliser à froid, même les produits congelés. L'augmentation de température des produits traités est minime.
- C'est un procédé continu, permettant d'éviter de multiplier des lots.
- Le procédé est parfaitement reproductible et fiable.
- Le traitement des objets se fait directement dans leur emballage définitif, prêts à être expédiés. L'emballage peut être parfaitement étanche, ce qui garantit la stérilité dans le temps.
- Pas de produits nocifs engendrés, donc pas de désorption nécessaire. Le Cobalt 60 ne peut induire de radioactivité secondaire ou rémanente.

II-6-2 - Inconvénients (22)

- Les installations sont très lourdes, très coûteuses de fonctionnement, donc peu répandues. Elles nécessitent la présence obligatoire d'un radiophysicien pour la dosimétrie de radioprotection. Il n'existe pas d'installation en milieu hospitalier actuellement.

- Il existe de nombreuses incompatibilités de biomatériaux : des modifications peuvent se produire immédiatement ou parfois longtemps après:

- Variations des propriétés chimiques;
- Formations de doubles liaisons dans les polymères;
- Dégagement gazeux : le PVC donne un dégagement d' H Cl;
- Colorations (PVC , verre...)
- Odeur (Polyéthylène..)
- Réticulations par pontage des chaînes principales du polymère entre elles.
Le polymère est rigidifié.

- Variations des propriétés mécaniques : diminution ou amélioration des propriétés mécaniques de certains polymères. Certains matériaux sont proscrits (PTFE), d'autres nécessitent des formulations spéciales pour irradiation (PVC).

-(23) Les rayons gamma à dose massive sont sans action sur les prions, comme toutes les méthodes classiquement utilisées en stérilisation.

Le prion est un agent pathogène identifié comme seul responsable ou toujours lié à la transmission des maladies neurologiques regroupées sous le terme d'Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST) toujours mortelles, et touchant aussi bien l'homme que l'animal.



Les pathologies de cette nature rencontrées chez l'homme sont au nombre de 5:

- . Le Kuru, qui a disparu avec le cannibalisme qui en était l'origine.
- . La Maladie d'Alpers.
- . L'Insomnie Familiale Fatale.
- . Le Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Sheinker.
- . Et surtout la maladie de Creutzfeld-Jakob.

Des faits récents ont attiré l'attention des autorités sanitaires: la déclaration de la maladie de Creutzfeld-Jakob chez les enfants traités pour nanisme par des hormones hypophysaires d'origine extractive, le développement en Grande-Bretagne de l'encéphalopathie bovine spongiforme, liée à la consommation par les vaches de protéines issues de moutons atteints de Tremblante.

Le prion serait une protéine PRP anormale capable de dénaturer la protéine PRP normale humaine ou animale, qui dès lors n'assurerait qu'une descendance atypique. Ce genre d'infection non conventionnelle, sans acide nucléique remettrait en cause le dogme de la biochimie ainsi que le principe général des stérilisations (qui s'attaquent le plus souvent à l'ADN ou à l'ARN bactérien ou viral).

A ce jour, peu de méthodes de stérilisation assurent l'inactivation des prions :

- L'urée 8 M;
- le phénol;
- un pH alcalin (Na OH 1 N) à une heure à 20°C);
- la chaleur humide à une température supérieure ou égale à 134°C pendant 30 minutes : la durée de vie des autoclaves devient alors plus courte;
- l'eau de Javel à 12° diluée extemporanément au 1/2 avec un temps de contact d'une heure à 20°C;
- la calcination !

CHAPITRE III : TEXTES EXISTANTS SUR LE CONTROLE DES PRODUITS IRRADIES

III-1 - INTRODUCTION (20)

Quel que soit le procédé de stérilisation ou de traitement choisi, le produit final doit être conforme aux normes de sûreté, de qualité et d'efficacité définies par l'organisme de réglementation national. D'une manière générale cela signifie que le producteur doit convaincre cet organisme que le traitement n'a pas modifié la puissance du médicament ni introduit de dégradation nocive.

Fabriquer des produits en milieu stérile coûte cher. C'est pourquoi, on a souvent considéré l'irradiation comme une solution ingénieuse, que l'on a appliqué au départ sans discernement. Mais la composition chimique des produits pharmaceutiques et de leurs adjuvants, comme celles de toutes les substances chimiques, peut se modifier sous l'effet des rayonnements.

Il faut donc étudier scrupuleusement chaque système pour déterminer les modifications chimiques induites et la dose maximale tolérée. Il peut ensuite être nécessaire de procéder à d'autres essais pour vérifier la stabilité à long terme et pour s'assurer que la dose choisie n'amoindrit pas la puissance du médicament et n'a pas d'effet pharmacologique nocif.

Quelques pays européens ont bien voulu communiquer leur législation ou leurs règles d'utilisation (bibliographie) ; les principaux documents sont les suivants:

III-2 - LA PHARMACOPEE EUROPEENNE (25)

Sa deuxième édition, chapitre IX.1 : Méthodes de stérilisation, fait actuellement référence en France et dans la plupart des pays européens:

“Les produits présentés comme étant stériles doivent satisfaire à l'essai de stérilité (V.2.1.1). Ils sont stérilisés dans leur conditionnement définitif, sauf dans le cas où le produit, en raison de sa nature, ne peut être soumis à un tel traitement. Les produits qui ne peuvent pas être stérilisés dans leur conditionnement définitif sont préparés par des méthodes et dans des conditions conçues pour éviter toute contamination microbienne après que leurs récipients et fermetures et, si possible, leurs composants ont été soumis à une stérilisation appropriée.”

L'efficacité de tous les procédés de stérilisation étant fortement influencée par le degré initial de contamination microbienne, les précautions suivantes doivent être observées:

- Les conditions de travail doivent être contrôlées de manière appropriée et doivent permettre d'éviter l'introduction et la croissance des micro-organismes.
- Le niveau de contamination microbienne des matières premières, de

l'équipement et de tout le matériel utilisé doit être aussi faible que possible avant la stérilisation.

- Un contrôle microbiologique doit être effectué sur les matières premières susceptibles de présenter un niveau élevé de contamination en raison de leur nature ou de leur mode de préparation.

Chaque procédé de stérilisation doit être validé.

La stérilisation par irradiation à une dose absorbée suffisante qui permet d'atteindre le degré de sécurité prescrit pour le produit à stériliser. Pendant le procédé de stérilisation, la dose d'irradiation doit être contrôlée régulièrement. Ce contrôle implique des procédés dosimétriques (cf bibliographie), indépendants du taux d'irradiation, permettant une mesure quantitative de la dose d'irradiation appliquée. Celle-ci, doit être efficace et adaptée à la nature du produit à stériliser et à celle de son emballage.

L'efficacité du procédé peut être confirmée par l'utilisation d'indicateurs biologiques appropriés : ce sont des micro-organismes témoins qui doivent être déposés aux emplacements considérés comme les plus faciles à stériliser.

Le choix des micro-organismes témoins est basé sur les critères suivants:

- La résistance de la souche témoin à la méthode particulière de stérilisation doit être importante, comparée à la résistance de tous les micro-organismes pathogènes et à la contamination microbienne dans le produit.
- La souche témoin doit être non pathogène.
- La souche témoin doit se développer facilement.

L'indicateur biologique est caractérisé par la souche du micro-organisme témoin, le nombre de colonies formées par unité d'indicateur, la valeur D (valeur d'un paramètre de la stérilisation), ainsi que la date de péremption. Seuls les micro-organismes indiqués doivent être présents. Des renseignements concernant le milieu de culture et les conditions d'incubation doivent être précisés.

Pour la stérilisation par irradiation, les spores de *Bacillus Pumilus* ATCC (American Time Cultur Collection) 27.142 ou CIP (Collection Institut Pasteur) 77.25 sont recommandées pour une dose minimale de 25 kGy.

Le nombre de spores doit être de 1×10^7 à 1×10^8 par unité d'indicateur, et la valeur D doit être de 3 kGy environ.

III-3 - LA PHARMACOPEE AMERICAINE (26)

L'USP XXII édition souligne entre autre dans son passage sur "Sterilization and sterility assurance" que pour être validée, la procédure de radiostérilisation doit :

- Montrer les compatibilités entre les différents matériaux.
- Connaître la dose absorbée du produit et celle de son emballage.
- Connaître le temps d'exposition.
- Démontrer que la dose stérilisante a bien été employée.
- Evaluer la résistance de la population microbienne du produit à stériliser.
- Déterminer la dose minimum efficace et la confirmer par des méthodes chimiques et/ou physiques et/ou biologiques.
- S'assurer de la non- dégradation du produit.

De plus, elle préconise une dose de 25 kGy comme dose stérilisante car celle-ci n'engendrerait pas de dommage.

III-4 - DIRECTIVE EUROPEENNE III/9009/90 EN (27)

Elle est notamment suivie par la France, l'Angleterre et la Suisse. Elle s'intitule : "The use of ionizing radiation in the radiation in the manufacture of medicinal products". On peut noter cinq points importants de la validation de la qualité du produit:

- On doit connaître les changements qualitatifs et quantitatifs du produit dans son emballage ayant été radiostérilisé.
- On doit connaître les mécanismes de radiolyse, de dégradation et les interactions du produit.
- On doit déterminer les doses maximales.
- Les estimations significatives des changements observés doivent être incluses.
- La stabilité des produits ayant reçus la dose maximum doit être assurée.

Cette directive propose en outre une quantité minimum de 25 kGy pour la stérilisation.

III-5 - LA NORME AFNOR (28)

L'association française pour la Normalisation a édité la norme ISO 11137 en 1994: "Stérilisation de dispositifs médicaux. Validation et contrôle de routine pour la stérilisation par irradiation".

Elle en décrit le domaine d'application, les références normatives, la validation du procédé, les qualifications du dispositif et des matériaux d'emballage, les méthodes de sélection de dose pour la stérilisation par irradiation, les dosimètres, la dosimétrie et le matériel associé.

De plus, le contrôle du procédé de stérilisation par irradiation doit faire l'objet d'une large documentation et doit être géré conformément à l'ISO 9001 (Modèle pour l'assurance Qualité en conception/développement, production, installation et soutien après la vente) et/ou 9002 (Modèle pour l'assurance de la Qualité en production et installation).

III-6 - LES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION

(BPF) (29)

La cinquième édition de ce guide datant de 1995 s'attache à l'assurance de la qualité qui peut se définir comme "un ensemble approprié de dispositions pré-établies et systématiques, destinées à donner confiance en la qualité requise." La qualité étant définie comme "l'aptitude d'un produit à satisfaire les besoins des utilisateurs".

Il faut tout d'abord qualifier le matériel, c'est-à-dire apporter la démonstration qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus. Puis, il faut valider, c'est-à-dire établir la preuve que l'on est en conformité avec les BPF, lors de la mise en oeuvre ou lors de l'utilisation de processus, de procédure, de matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système. Et ceci pour permettre réellement d'atteindre les résultats escomptés.

On peut noter quelques points intéressants :

- Dans les modes de traitement en continu, les dosimètres doivent être placés de telle sorte qu'au moins deux d'entre eux soient exposés à tout moment à l'irradiation.
- Dans les modes de traitement par lots, deux dosimètres doivent au moins être exposés à des emplacements proches du point de dose minimale.
- Dans les modes de traitement en continu, il faut indiquer la position correcte de la source et un dispositif de verrouillage doit être placé entre

la position et la source et le mécanisme du convoyeur. La vitesse du convoyeur doit être continuellement contrôlée et enregistrée.

- Dans les modes de traitement par lots, les déplacements de la source et les temps d'exposition doivent être contrôlés et enregistrés pour chaque lot.

- Pour une dose spécifique voulue, le réglage de minuterie ou la vitesse du convoyeur doivent pouvoir s'adapter à une décroissance ou à une croissance de la source. La période de validité de ce réglage ou de cette vitesse doit être enregistrée et respectée.

- Le contrôle microbiologique doit être assuré sous la responsabilité du fabricant "pharmaceutique". Il peut inclure un contrôle de l'environnement dans lequel le produit est fabriqué et un contrôle du produit avant irradiation comme indiqué dans l'autorisation de mise sur le marché.

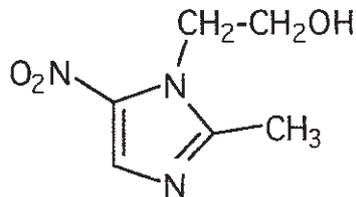
CHAPITRE IV : ETUDE DU METRONIDAZOLE

IV-1 - PRESENTATION DU METRONIDAZOLE (30)(31)

IV-1-1 - Formule brute et développée



(Méthyl-2-Nitro-5 imidazolyl-1) - 2 Ethanol



IV-1-2 - Classe thérapeutique

C'est un anti-infectieux de la classe des nitro-5 imidazolés.

IV-1-3 - Spectre d'action

C'est un parasiticide à l'égard de : *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis*.

C'est un antibactérien actif (CMI < 4 µg/ml) seulement sur les bactéries anaérobies strictes, notamment : *Bacteroides* sp (notamment *fragilis*), *Clostridium* sp, *Megasphaera*, *Fusobacterium* sp; et des espèces inconstamment sensibles comme *Peptococcus*, *peptostreptococcus*, *Veillonella*.

IV-1-4 - Mécanisme d'action

Le métronidazole franchit rapidement la membrane cellulaire sous forme inchangée. Dans les micro-organismes anaérobies qui disposent de systèmes de transport d'électrons à faible potentiel redox (type ferredoxine ou flavodoxine), le groupe nitro du métronidazole joue le rôle d'accepteur d'électrons préférentiel et subit une réduction suivant un mécanisme à quatre électrons. Le dérivé intermédiaire qui en résulte (probablement une hydroxylamine) interfère avec l'ADN de la bactérie soit pour former un complexe, soit pour induire des ruptures de brins. L'ADN ne peut ainsi plus jouer le rôle de matrice pour l'ADN polymérase et

l'ARN polymérase. La réduction du principe actif et sa réaction avec l'ADN après pénétration dans le micro-organisme anaérobie permettent de maintenir un gradient de diffusion favorable et de faciliter la contamination de la pénétration du principe actif.

IV-1-5 -Indications thérapeutiques

A titre curatif, dans le traitement des infections à bactéries anaérobies sensibles au métronidazole:

- Septicémiques
- ou de localisation diverses: infections du thorax, infections abdominales, infections de l'appareil génito-urinaire de la femme, abcès cérébraux et méningites, infections des os, des articulations, endocardites, et particulièrement les infections à *Bactéroïde fragilis* résistant habituellement aux pénicillines, aux céphalosporines et aux aminosides.

A titre prophylactique, chez les malades à haut risque infectieux (en particulier immunodéprimés, sujets ayant subi ou devant subir une réanimation prolongée, sujets ayant subi des gestes chirurgicaux itératifs ou ayant reçu une polyantibiothérapie), dans les circonstances suivantes:

- Chirurgie digestive majeure.
- Chirurgie gynécologique septique.
- Chirurgie thoraco-abdominale.
- Polytraumatismes ouverts
- Chirurgie vasculaire ou osseuse avec menace de gangrène gazeuse.
- Lors de la découverte, au court d'une intervention chirurgicale, de lésions gangréneuses, nécrosées ou perforées.

IV-1-6 - Le métronidazole dans le Monde

Le métronidazole est disponible dans 23 pays et présent en Europe sous les dénominations suivantes:

FLAGYL* France, Royaume-Uni, Irlande, Grèce, Espagne, Portugal, Pays Bas, Belgique, Danemark

DEFLAMON* Italie

METRONIDAZOLE* RFA, France, Royaume-uni

IV-2 - CONTRÔLE PHARMACOPÉE APRES IRRADIATION (annexe 1)

IV-2-1 - Identification

IV-2-1-1 - Produit non irradié

CONTRÔLES EFFECTUES	SPECIFICATIONS		RESULTATS TROUVES	CONCLUSIONS
	MINI	MAXI		
CARACTERES	Poudre cristalline, blanche peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.		Poudre cristalline, blanche peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.	CONFORME
POINT DE FUSION	159°	163°	161°	CONFORME
ABSORBANCE SPECIFIQUE (annexe 2)	365	395	383	CONFORME
INFRA-ROUGE (annexe 5)	Conforme au spectre référence		Conforme au spectre référence	CONFORME
REACTION DES AMINES PRIMAIRES AROMATIQUES (annexe 10)	Apparition d'un précipité et d'une intense coloration orangée		Apparition d'un précipité et d'une intense coloration orangée	CONFORME

Tableau VI : Identification du produit non irradié

IV-2-1-2 - Produit irradié à 10 kGy

CONTRÔLES EFFECTUES	SPECIFICATIONS		RESULTATS TROUVES	CONCLUSIONS
	MINI	MAXI		
CARACTERES	Poudre cristalline, blanche peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.		Poudre cristalline, blanche peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.	CONFORME
POINT DE FUSION	159°	163°	160°	CONFORME
ABSORBANCE SPECIFIQUE (annexe 3)	365	395	359	NON CONFORME
INFRA-ROUGE (annexe 6)	Conforme au spectre référence		Conforme au spectre référence	CONFORME
REACTION DES AMINES PRIMAIRES AROMATIQUES (annexe 10)	Apparition d'un précipité et d'une intense coloration orangée		Apparition d'un précipité et d'une intense coloration orangée	CONFORME

Tableau VII : Identification du produit irradié à 10 kGy

IV-2-1-3 - Produit irradié à 25 kGy

CONTRÔLES EFFECTUES	SPECIFICATIONS		RESULTATS TROUVES	CONCLUSIONS
	MINI	MAXI		
CARACTERES	Poudre cristalline, blanche peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.		Poudre cristalline, blanche peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.	CONFORME
POINT DE FUSION	159°	163°	160°	CONFORME
ABSORBANCE SPECIFIQUE (annexe 4)	365	395	365	CONFORME
INFRA-ROUGE (annexe 7)	Conforme au spectre référence		Conforme au spectre référence	CONFORME
REACTION DES AMINES PRIMAIRES AROMATIQUES (annexe 10)	Apparition d'un précipité et d'une intense coloration orangée		Apparition d'un précipité et d'une intense coloration orangée	CONFORME

Tableau VIII : Identification du produit irradié à 25 kGy

IV-2-2 -Essai

IV-2-2-1 - Produit non irradié

CONTRÔLES EFFECTUES	SPECIFICATIONS		RESULTATS TROUVES	CONCLUSIONS
	MINI	MAXI		
ASPECT DE LA SOLUTION	La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin.		La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin.	CONFORME
SUBSTANCES APPARENTEES	S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que celle obtenu avec la solution témoin.		S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que celle obtenu avec la solution témoin.	CONFORME
METAUX LOURDS (annexe 9)	1 gramme de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds		1 gramme de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds	CONFORME
PERTE A LA DESSICATION	La perte ne doit pas être supérieure à 0,5%		0,1%	CONFORME
CENDRES SULFURIQUES (annexe 10)	Le taux de cendres sulfuriques ne doit pas être supérieur à 0,1%		0,06%	CONFORME

Tableau IX : Essai du produit non irradié

IV-2-2-2 -Produit irradié à 10 kGy

CONTRÔLES EFFECTUES	SPECIFICATIONS		RESULTATS TROUVES	CONCLUSIONS
	MINI	MAXI		
ASPECT DE LA SOLUTION	La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin.		La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin.	CONFORME
SUBSTANCES APPARENTEES	S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que celle obtenu avec la solution témoin.		S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que celle obtenu avec la solution témoin.	CONFORME
METAUX LOURDS (annexe 9)	1 gramme de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds		1 gramme de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds	CONFORME
PERTE A LA DESSICATION	La perte ne doit pas être supérieure à 0,5%		0,1%	CONFORME
CENDRES SULFURIQUES (annexe 10)	Le taux de cendres sulfuriques ne doit pas être supérieur à 0,1%		0,05%	CONFORME

Tableau X : Essai du produit irradié à 10 kGy

IV-2-2-3 -Produit irradié à 25 kGy

CONTRÔLES EFFECTUES	SPECIFICATIONS		RESULTATS TROUVES	CONCLUSIONS
	MINI	MAXI		
ASPECT DE LA SOLUTION	La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin.		La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin.	CONFORME
SUBSTANCES APPARENTEES	S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que celle obtenu avec la solution témoin.		S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que celle obtenu avec la solution témoin.	CONFORME
METAUX LOURDS (annexe 9)	1 gramme de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds		1 gramme de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds	CONFORME
PERTE A LA DESSICATION	La perte ne doit pas être supérieure à 0,5%		0,1%	CONFORME
CENDRES SULFURIQUES (annexe 10)	Le taux de cendres sulfuriques ne doit pas être supérieur à 0,1%		0,07%	CONFORME

Tableau XI : Essai du produit irradié à 25 kGy

IV-2-3 -Dosage

La solution d'acide perchlorique a un titre de 0,09985 N.

solution de métronidazole	pureté (3 essais)	Moyenne
non irradié	99,1%; 99,3%; 98,6%	99%
10 kGy	98,9%; 98,2%; 99,4%	98,9%
25 kGy	99,7%; 99,1%; 99,0%	99,3%

tableau 12

Les solutions de métronidazole sont donc conformes au dosage Pharmacopée.

IV-3 - DOSAGE DES NITRITES

Ce dosage est effectué pour se rendre compte de la dégradation du métronidazole. L'augmentation du taux de nitrites induit une dégradation du produit, et donc une diminution de l'efficacité du métronidazole à poids constant .

Nous utiliserons la méthode de Griess. Les réactifs titrants sont obtenus extemporanément par le mélange des deux solutions suivantes:

Le réactif A : 0,5 g d'acide sulfanilique dissous dans 30 ml d'acide acétique et 100 ml d'eau.

Le réactif B : 0,1 g d'alpha naphtylamine dissous dans 120 ml d'eau et 30 ml d'acide acétique.

On prépare une gamme étalon de cinq tubes à essais avec cinq dilutions du réactif (correspondant à cinq dilutions des nitrites):

On fait la lecture au spectromètre UV, et on lit l'absorbance de nos échantillons irradiés :

- 0 kGy : 0,31 $\mu\text{mol/l}$ soit 14 ppm/l
- 10 kGy : 1,48 $\mu\text{mol/l}$ soit 68 ppm/l
- 25 kGy : 1,89 $\mu\text{mol/l}$ soit 87 ppm/l

IV-4- CONTRÔLE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

IV-4-1 - Théorie chromatographique (33)

IV-4-1-1 - Définition

En chromatographie liquide haute performance, comme dans toute méthode chromatographique, les séparations sont fondées sur les différences de distribution des espèces entre deux phases non miscibles:

- La phase stationnaire: liquide ou solide

-La phase mobile: qui dans le cas présent est un liquide. L'équilibre établi peut être décrit au moyen d'une constante dépendant de la température, qui est le coefficient de partition ou de distribution:

$$K = \frac{C_s}{C_m}$$

C_s et C_m désignant respectivement la concentration du soluté dans la phase stationnaire et la phase mobile. K peut être défini pour les différentes modalités chromatographiques (adsorption, partage, échanges d'ions, perméation de gel).

IV-4-1-2 - Répartition des substances au cours de la migration

Des différences d'affinité des divers constituants d'un mélange pour chacune des deux phases, il résulte des différences de vitesse de migration des composés et donc une possibilité de les séparer. En chromatographie liquide haute performance, on n'opère pratiquement que par élution dans des conditions de distribution régulière, c'est à dire pour des faibles concentrations de solutés à séparer. Dans ce type de migration, chaque substance du mélange, après avoir été déposée au sommet de la colonne, est entraînée par la phase mobile hors de la phase stationnaire pour être identifiée dans l'éluat.

IV-4-1-3 - La théorie des plateaux

Martin et Synge sont à l'origine de cette théorie. La colonne chromatographique est composée d'une série de couches horizontales continues et étroites appelées plateaux théoriques. Dans chaque plateau s'établit un équilibre du soluté entre la phase stationnaire et la phase mobile qui vérifie la loi de la conservation de la matière. La migration du soluté et du solvant est donc réalisé par une suite d'équilibres d'un plateau à l'autre. L'efficacité de la séparation chromatographique augmente avec le nombre de plateaux théoriques (N).

Si L la longueur de la colonne utilisée, un deuxième paramètre peut décrire l'efficacité de la séparation et donc de la colonne, c'est la hauteur équivalente à un plateau théorique: $H_{EPT} = H$ et :

$$H = \frac{L}{N}$$

H et N varient en sens inverse, ils caractérisent la colonne et dépendent non seulement de la nature des phases et de la géométrie de la colonne mais également de tous les facteurs qui influencent les équilibres.

En additionnant de manière continue la phase mobile, le soluté migre le long de la colonne par des équilibres successifs entre phase stationnaire et phase mobile et finalement sort de la colonne puis est mis en évidence par un détecteur qui transmet un signal enregistré dont le tracé constitue le chromatogramme.

Si la quantité d'échantillon injectée est suffisamment petite, et la distribution régulière, on obtient pour chaque composé élué un pic symétrique et gaussien. On appelle temps de rétention t_r le temps d'éluion au maximum du pic mesuré à partir de l'injection. Connaissant le débit D de la phase mobile qui est maintenu constant, on définit le volume de rétention v_r :

$$D = u \cdot S$$

u = Vitesse linéaire de la phase mobile

S = Section de colonne

$$v_r = t_r \times D = t_r \cdot u \cdot S$$

t_r et v_r sont des grandeurs caractéristiques d'un soluté pour un système chromatographique donné et servent en analyse qualitative de moyen d'identification.

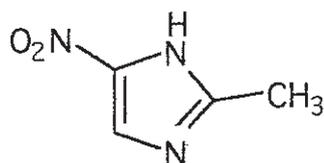
IV-4-2 - Résultats

A partir de 10 kGy, on remarque l'apparition de pics supplémentaires, résultant de la fixation de produit secondaire notamment le 2-méthyl 5-nitro imidazole (pic 1).

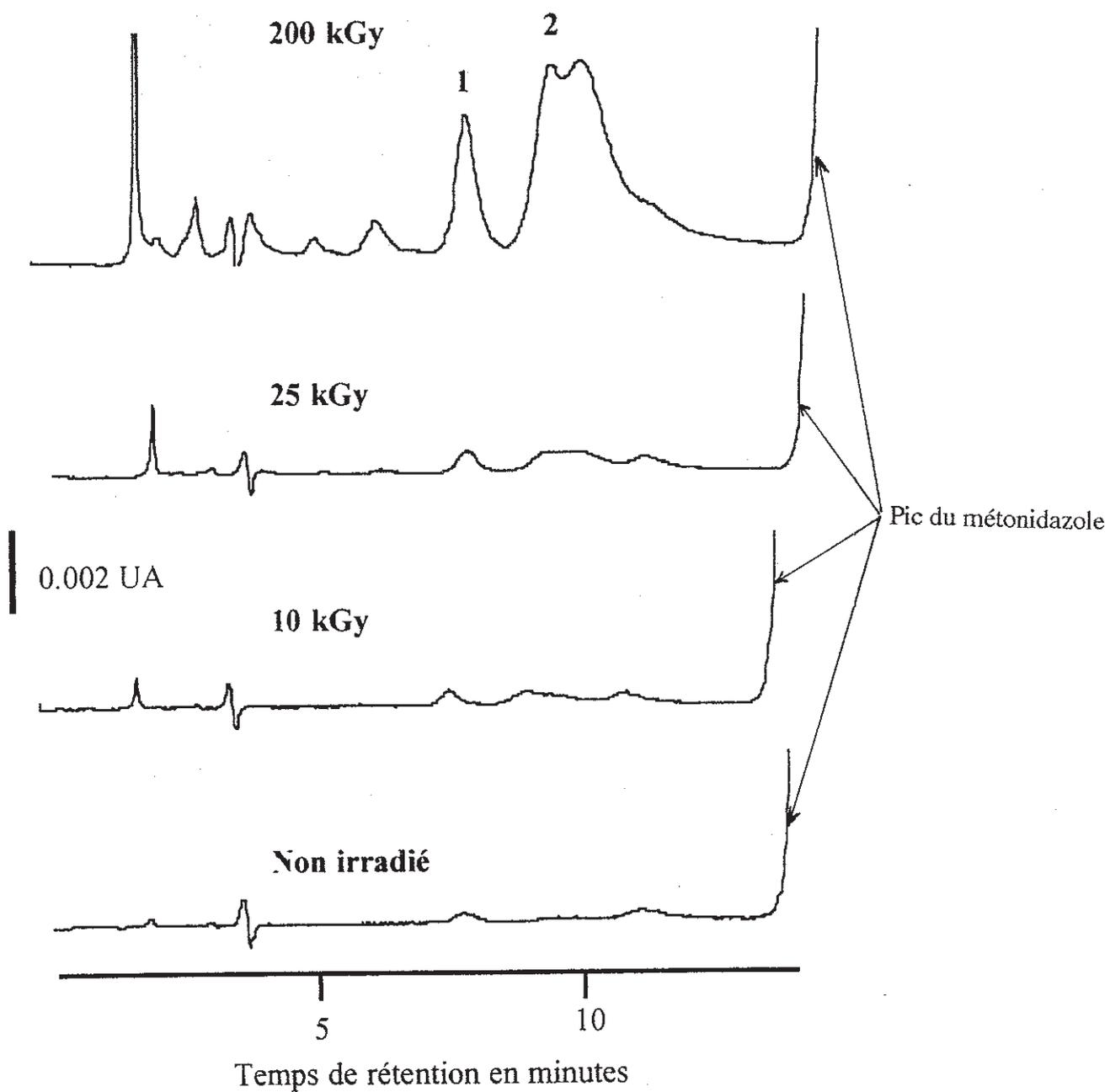
Doses en kGy	10	25	200
Pic 1 /métronidazole(%)	0,01	0,02	0,07
Pic 2 /métronidazole(%)	0,03	0,05	0,17

Tableau XIII: Pourcentage de produits de dégradation lors de l'irradiation

A 200 kGy, les pics parasites sont importants et la somme des surfaces est supérieure à 0,1% du pic du métronidazole (l'identification est alors obligatoire).



2-méthyl 5-nitro imidazole



IV-5 -RESONANCE PARAMAGNETIQUE ELECTRONIQUE

IV-5-1 - Principe de la méthode (34)

La résonance paramagnétique électronique (RPE) est une technique spectroscopique qui consiste à mesurer l'absorption d'une onde électromagnétique traversant un échantillon soumis à un champ magnétique; on observe ainsi les propriétés magnétiques des "électrons célibataires", c'est à dire des électrons qui ne sont pas appariés deux par deux. La RPE permet la détection et l'étude structurale de molécules, ions, radicaux paramagnétiques (possédant un ou plusieurs électrons célibataires) : ions de métaux de transition, molécules stables (O_2, N_2) et des radicaux libres organiques.

On place l'échantillon exactement au centre d'un ventre magnétique où il est soumis d'une part au champ magnétique H , et d'autre part au champ oscillant $H_1 \cos \omega t$ perpendiculaire à H .

L'application de la RPE comme test d'ionisation ne peut être envisagée qu'à la condition que les radicaux soient stables: ceci n'est vrai qu'en phase solide car la réactivité des radicaux est alors très faible; au contraire, en phase liquide où toutes les espèces sont très mobiles et donc ont la possibilité de réagir entre elles, les radicaux n'ont qu'une existence très brève (moins d'une seconde).

(35) Ainsi la RPE rend très aisée l'identification d'une ionisation en phase solide.

Après une radiolyse en phase solide, les transformations chimiques sont inférieures d'un facteur 10 à celles apparues en phase fluide.

IV-5-2 - Théorie

Le phénomène de résonance concerne le spin électronique. Le concept de spin fut introduit par Uhlen Back et Goudsmith. Ils ont suggéré pour l'électron un moment magnétique (spin) résultant de la rotation autour d'un axe d'une particule chargée. Le spin est caractérisé par le nombre quantique s .

La mécanique quantique montre que l'électron a deux états de spin:

$$m_s = +1/2 \text{ état } \alpha$$

$$m_s = -1/2 \text{ état } \beta$$

Si on applique un champ magnétique B_0 , l'électron libre acquiert une énergie de Zeemann :

$$E = g_e \cdot \beta \cdot m_s \cdot B_0$$

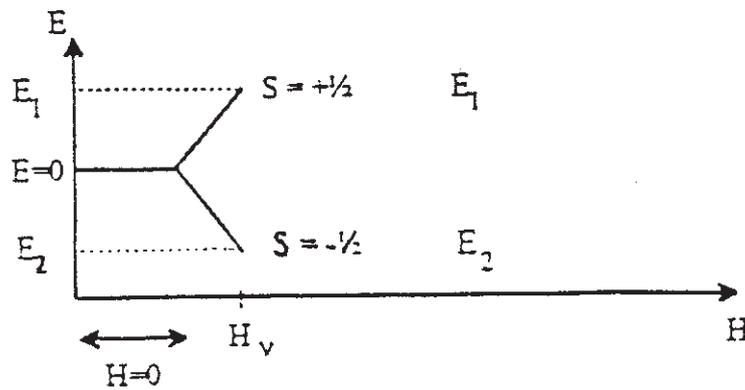
g_e : facteur de Landé

β_e : magnéton de Bohr

avec deux états stationnaires pour $m_s = +$ ou $- 1/2$

$$\text{et avec } \Delta E = g_e \cdot \beta_e \cdot B_0$$

B_0 a levé la dégénérescence entre les états de spin α et β .



On applique perpendiculairement au champ magnétique statique un champ magnétique oscillatoire avec B inférieur ou égal à B_0 , fourni par une déviation électromagnétique de pulsation ω_0 telle que:

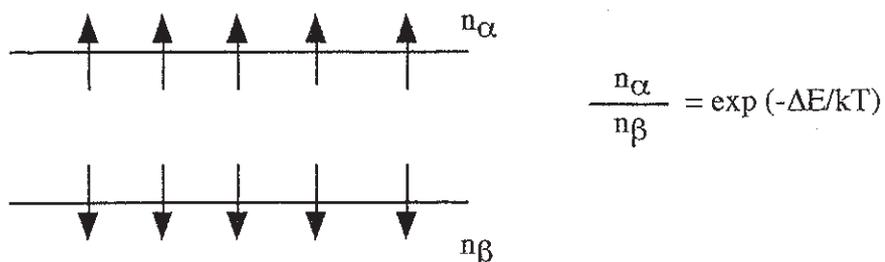
$$\frac{h \omega_0}{2 \pi} = \Delta E = g_e \beta_e B_0$$

On introduit une transition entre les niveaux α et β appelée résonance paramagnétique électronique.

L'absorption et l'émission induite ayant des probabilités égales, les populations de chaque niveau ont tendance à devenir équivalentes.

Toutefois une surpopulation d'environ 10^{-3} du niveau inférieur est maintenue par les phénomènes de relaxation.

La population des deux niveaux est donnée par la distribution de Boltzmann:



On peuple le niveau β donc on augmente l'intensité d'absorption, soit en abaissant la température, soit en augmentant le champ BO jusqu'à observer la résonance d'un échantillon paramagnétique placé dans une cavité résonante, elle même placée dans l'entrefer d'un électroaimant.

Les spectromètres sont conçus pour enregistrer la première dérivée (dE/dH avec H champ de balayage et E l'énergie).

IV-5-3 - Spectre RPE des radicaux libres

Un spectre RPE est caractérisé par trois paramètres:

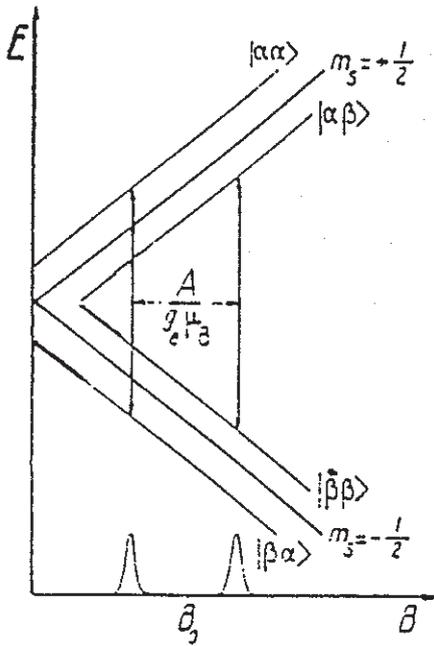
- le facteur g
- les constantes de couplage hyperfins
- les largeurs de raie

IV-5-3-1 - Facteur g

Dans un radical libre, l'électron célibataire possède un moment cinétique orbitalaire dû à son moment dans l'espace et un moment cinétique de spin dû à sa rotation sur lui-même. Le facteur g traduit l'intensité de couplage entre les moments cinétiques. Cette interaction (couplage spin-orbite) dépend de l'environnement électronique. Deux radicaux de facteur de Landé différents résonneront à des champs différents.

IV-5-3-2 - Couplage hyperfin

Quand l'électron est au voisinage d'un atome de spin nucléaire non nul (^1H , ^{13}C , etc...), il y a interaction entre les moments magnétiques de l'électron et du noyau. Il y a alors couplage hyperfin qui se traduit par une multiplication des raies et un signal RPE.



ν : radiofréquence induisant les transitions $\Delta m_s = \pm 1$ et $\Delta m_l = 0$ (figurées par des pointillés)
 A : constante de couplage hyperfin

en traits gras : niveaux d'énergie d'un électron libre
 en traits maigres : niveaux d'énergie d'un électron couplé avec un noyau

Fig. 2. - Niveaux d'énergie, en fonction du champ magnétique directeur B , pour un noyau de spin $1/2$ couplé à un spin électronique $S = 1/2$.

ex: Atome d'hydrogène dont le spin $I = 1/2$

Le spin nucléaire a deux orientations possibles: $m_I = \pm 1/2$

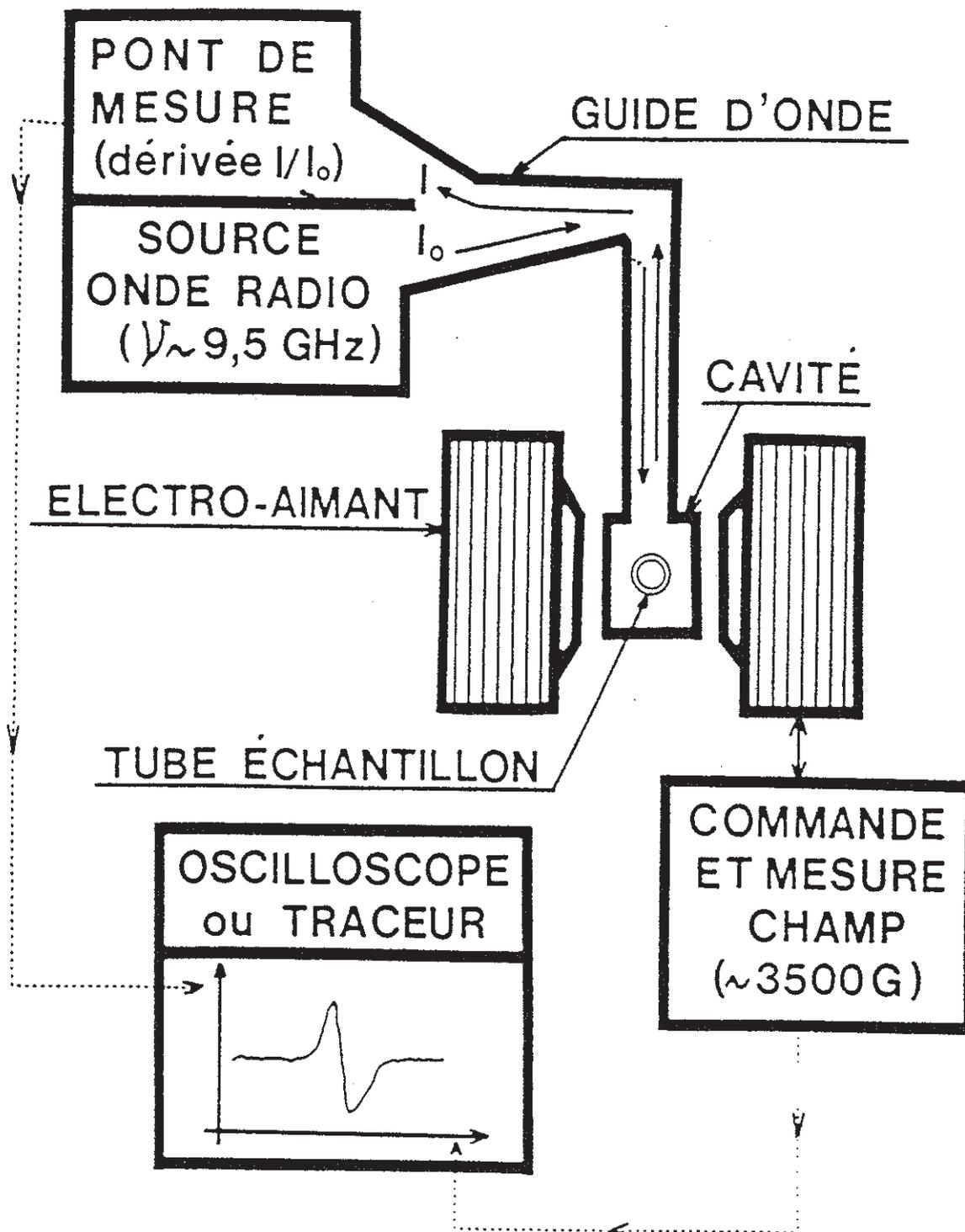
IV-5-4 - Appareillage (23)

La majorité des spectromètres commerciaux fonctionnent en bande X

($B_0 = 0,3 \text{ T}$, $\gamma = 9 \text{ GHz}$, $\lambda = 3 \text{ cm}$), plus rarement en bande Q ($B_0 = 1,350 \text{ T}$, $\gamma = 35 \text{ GHz}$, $\lambda = 0,8 \text{ cm}$).

Les principaux composants d'un spectromètre sont:

- Un émetteur hyperfréquence, généralement un klystron stabilisé sur la fréquence de la résonance de la cavité résonante.
- Une cavité résonante contenant l'échantillon, placée dans la partie la plus homogène du champ magnétique.
- Un électroaimant dont le champ peut varier linéairement dans un domaine de quelques Gauss à plusieurs milliers de Gauss ($1\text{G} = 10^{-4}\text{T}$).
- Un amplificateur synchrone accordé sur la fréquence de modulation du champ magnétique, assurée par une bobine de Helmholtz fixée à la cavité.

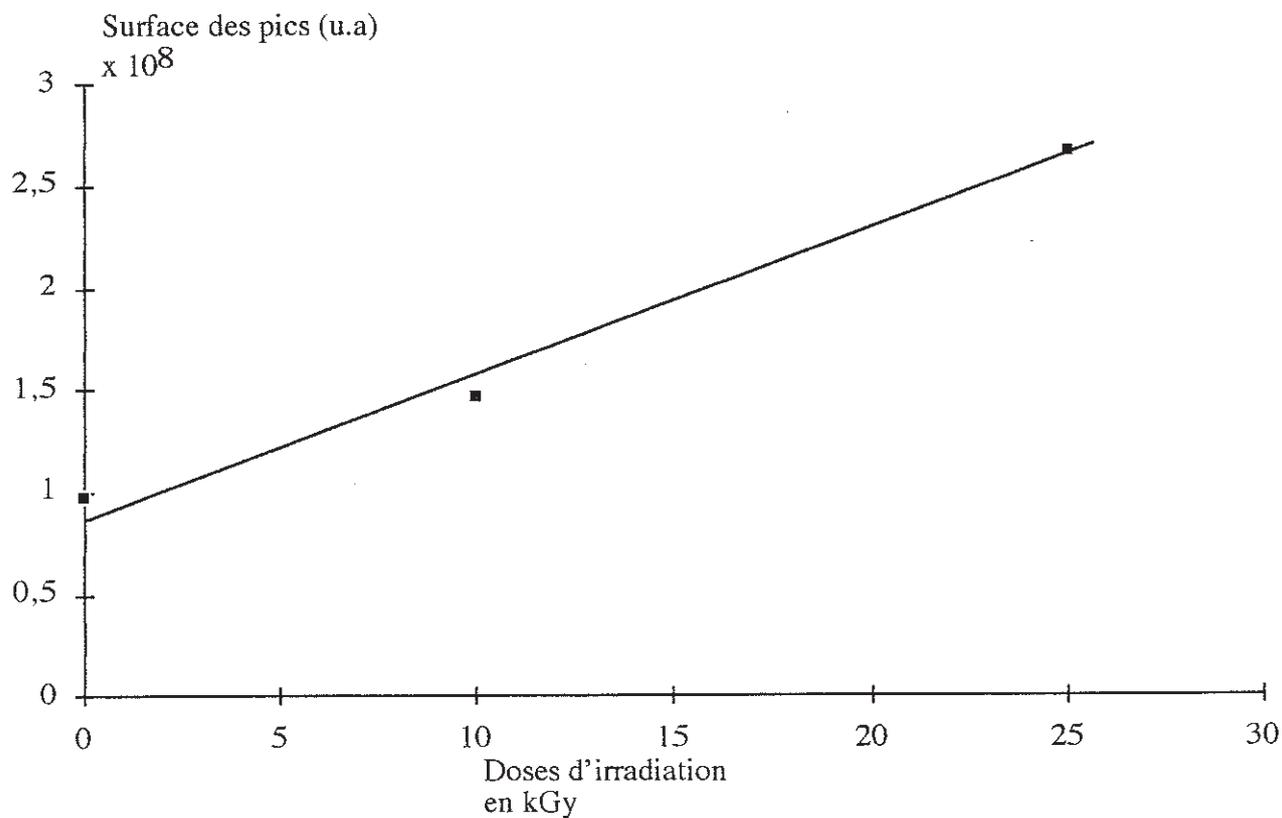


Spectromètre de RPE

L'onde radio parcourt le guide d'onde et traverse l'échantillon placé dans la "cavité" située dans l'entrefer d'un électro-aimant; elle est réfléchiée, retraverse l'échantillon et un port de mesure calcule le rapport entre l'intensité émise I et l'intensité réfléchiée I_0 ; la dérivée de ce rapport est tracée en fonction de la valeur du champ magnétique : c'est le "spectre de RPE" dont la forme est liée à la nature des radicaux ou ions paramagnétiques présents dans le produit étudié.

L'onde radio parcourt le guide d'onde et traverse l'échantillon placé dans la "cavité" située dans l'entrefer d'un électroaimant; elle est réfléchiée, retransverse l'échantillon et un pont de mesure calcule le rapport entre l'intensité émise I et l'intensité réfléchiée I_0 . La dérivée de ce rapport est tracée en fonction de la valeur du champ magnétique: "C'est le spectre RPE" dont la forme est liée à la nature des radicaux ou ions paramagnétiques présents dans le produit étudié.

IV-5-5 - Résultats



Surface des pics	Dose d'irradiation (kGy)
$9,682 \times 10^7$	0
$1,468 \times 10^8$	10
$2,663 \times 10^8$	25

Tableau XIV : Surface des pics de RPE en fonction des doses d'irradiation

Le spectre du produit non irradié correspond à un bruit de fond (valable même sans produit) .

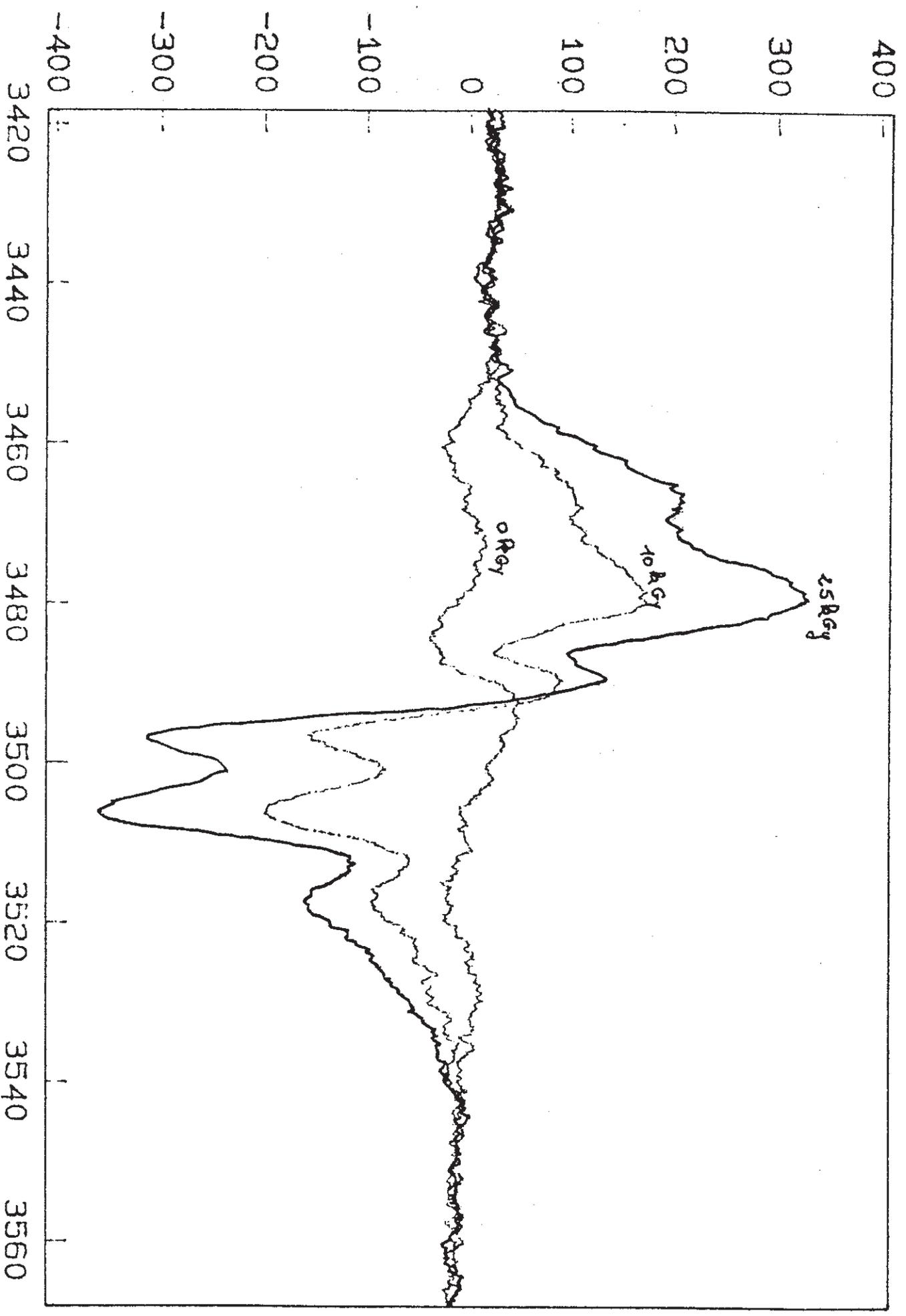
La résonance paramagnétique électronique est un très bon moyen d'identifier si le produit a été radiostérilisé; car les formes classiques de stérilisation n'engendrent pas de radicaux libres. On éviterait ainsi la double irradiation et le mélange de méthodes de stérilisation.

On peut aussi constater ici, que la surface des pics est une fonction linéaire par rapport à la dose d'irradiation, donc la quantité de radicaux libres est proportionnelle à la dose d'irradiation.

Vu sa sensibilité, cette méthode pourrait servir de référence pour l'étude des conditions de stérilisation.

[10]

88



[G]

CHAPITRE VI : CONCLUSION

L'appellation "rayonnement gamma" est encore un terme rejeté de notre enseignement général car il est trop souvent associé uniquement à la crainte du nucléaire.

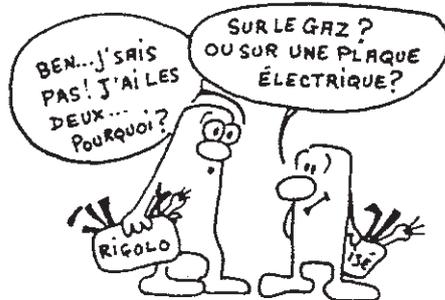
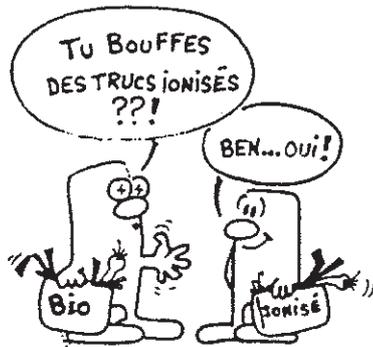
Or la radiostérilisation ne consiste pas à stériliser par de la radioactivité, mais par une ionisation constituée de photons, qui a certes pour origine une source radioactive mais n'est pas inducteur de radioactivité. Une telle nuance semble difficile à saisir, c'est pourquoi la promotion des médicaments radiostérilisés sera difficile malgré l'excellent label de qualité que ce procédé permet d'obtenir.

Même si l'expérience montre que pour des doses de stérilisation de 10 à 25 kGy le métronidazole irradié satisfait à la plupart des tests de pureté de la Pharmacopée, il faut se préoccuper de la détection et de l'identification d'éventuels produits caractéristiques de la radiolyse pour l'aspect toxicologique et pharmacologique.

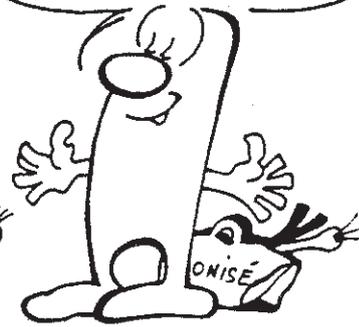
Ainsi, dans nos tests hors Pharmacopée (HPLC, RPE et dosage des nitrites), on se rend bien compte que la dégradation du métronidazole à 25 kGy est faible. Mais des tests toxicologiques s'imposent pour la vérification de l'innocuité.

Peut-être serait-il bon d'envisager des contrôles complémentaires plus spécifiques que ceux de la Pharmacopée.

Il faut avouer cependant, que les techniques industrielles et notamment celles de la stérilisation rentrent dans une ère technologique nouvelle, et qu'il est difficile de faire suivre les contrôles adaptés dans le même temps.



TU PRÉFÈRES QUOI ? ÊTRE GAZÉ ? OU ÉLECTROCUTÉ ?



REFERENCES

1- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Encyclopédie Universalis . Edition 1993.
- 2- P.Bastide - J.Chopineau - R.Malhuret.
Le pharmacien hospitalier et la responsabilité des produits stériles.
Techniques Hospitalières n°455-456 Août- septembre 1983
- 3- J.L.Vida - L.Merian Brosse - F.Devaux - A.C.Lagrave - D.Brossard - A.Carlier.
Application des recommandations de la Pharmacopée en stérilisation hospitalière.
La Pharmacie hospitalière française n°101 septembre 1992 .1841-1850.
- 4- AFNOR .Matériel médico-chirurgical. Stérilisateur à la vapeur d'eau pour charges à protection perméable.
NF 8.90-320 , fevrier 1984.
- 5- Pharmacopée française X édition.
Méthodes de stérilisation IV-6, janv 1986.Indicateurs biologiques destinés au contrôle des méthodes de stérilisation,IV-6.1, janv 1986.
Maisonneuve SA, Moulin-les-Metz.
- 6- F.Galtier.
Quelques conséquences pratiques des lois sur la stérilisation.
Techniques Hospitalières n°535 Avril 1990.
- 7- Pharmacopée française IX édition.
Stérilisation par les rayonnements ionisants de matériel médico-chirurgical à usage unique et d'articles de pansements et de suture.Stérilisation de matériel médico-chirurgical.
Maisonneuve SA, Moulin-les-Metz.
- 8- M.Hanania
Application des Pratiques de Bonnes Fabrication au matériel médico-chirurgical stérile à usage unique.Mémoire de DSP de Pharmacie galénique industrielles de l'université Paris V, 1985.
- 9- Ministère des Affaires Sociales et de la Solidarité Nationale, Direction de la Pharmacie et du Médicament.
Bonnes Pratiques de Fabrication et de Production pharmaceutique, 1985.
- 10- A.Le Hir.
Abrégé de Pharmacie galénique
Masson, Paris,1992. 191-220.
- 11- D.Goeury.
La stérilisation et les technologies de demain.
Le Pharmacien hospitalier Mai 1995 suppl n°1 N°78.

- 12- A.Le Coq
La stérilisation centrale dans les établissements hospitaliers.
Techniques Hospitalières n°572 mai 1993.
- 13- D.Gouillet - C.Deweerd - B.Valance - J.Calop.
Stérilisation par plasma peroxyde d'hydrogène
Hygiènes n°8 Janv-fev-mar 1995 fiche n°15.
- 14- L.Saint Lebe - J.J.Raffi.
Le traitement ionisant des aliments- institut français pour la nutrition : Conférence
1995, cahier nutrition diététique 30, 2, 1995.
- 15- M.Delebasse.
Cours de sixième année de Pharmacie industrie à Limoges.
- 16- E.Tison - A.Millaire - P.Degroote - G.Ducloux.
Les radicaux libres en pathologie cardiovasculaire.
Lille Médical 1989 vol XXIX ,n°7.
- 17- B.Tilquin.
Radiostérilisation des médicaments.
J.Pharm. Belg .1991. 46,6 . 396-398.
- 18- B.Tilquin.
Actions biologiques et chimiques des radiations ionisantes.
Ed Teknea.
- 19- J.P.Vasseur (Coordonateur).
Ionisation des produits alimentaires.
Collection Sciences et Techniques Agro-Alimentaires.
Tec&Doc Lavoisier-Apiaria-Tecknea.
- 20- Glyn.O.Phillips.
Applications des rayonnements dans l'industrie pharmaceutique et en chirurgie: une vue
d'ensemble.
Bulletin AIEA 1/1994.
- 21- N.G.S. GOPAL Guide for radiation.
Sterilization of pharmaceuticals and documentation of raw material.
Radiat.Phys.Chem.32-4 619-622. 1988.
- 22- D.Gouillet-C.Deweerd-B.Valance-J.Calop.
Stérilisation par les radiations ionisantes.
Hygiènes N°8. Janv-Fev-Mars 1995-fiche n°14.
- 23- J.Paul. Insem Lyon.
Problèmes de stérilisation liés aux prions.
Assoc.Intern.pour la recherche en hyg.hosp.Bulletin n°1-1995.
- 24- Lettres en annexe.

- 25- Pharmacopée Européenne
Méthodes de stérilisation.
X édition-Chapitre IX-1
- 26- US Pharmacopée
Sterilization and sterility assurance.
XXII édition.
- 27- Directive Européenne III/9009/90 EN.
- 28- AFNOR Iso 11 137 ;1994.
Stérilisation de dispositifs médicaux-Validation et contrôle de routine pour la stérilisation par irradiation.
- 29- Guide des Bonnes Pratiques de Frabrication.
Stérilisation par irradiation , Radiopharmaceutique.
V édition. 90-96 - 1995.
- 30- Flagyl* .
Dossier réservé aux Pharmaciens des établissements hospitaliers.
Laboratoires Spécia.
- 31- Métronidazole.
Dossier réservé aux Pharmaciens des établissements hospitaliers.
Laboratoires Qualimed.
- 32- Pharmacopée Européenne.
Biographie du Métronidazole.
X édition
- 33- C.Guinchard.
Méthodes chromatographiques.
Le Moniteur de l'Internat n°16.
- 34- C.Chachaty.
Spectrométrie par résonance paramagnétique électronique.
Technique de l'ingénieur-1984 -p 2885-1.
- 35- B.Tilquin -Bruno 1995.

2-BIBLIOGRAPHIE

CNEVA

République Française

AGENCE NATIONALE DU MEDICAMENT VETERINAIRE

FOUGERES, le - 7 FEV. 1995

BP 203
35302 FOUGERES CEDEXTél. 99 94 78 82
Télécopie 99 94 78 99N/Réf. : TA/AB 95/0099
V/Réf. :
Objet : V/courrier du 01/12/94
Documents législatifsMonsieur T. ARTUSO
Agence Nationale du Médicament Vétérinaire
àMonsieur S. GALY
Faculté de Limoges
Laboratoire de Chimie Analytique
et de Bromatologie
2 rue du Docteur Marcland
87025 LIMOGES

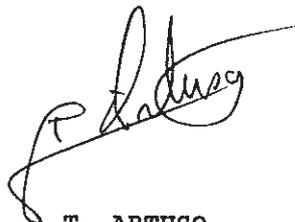
Monsieur,

Etant responsable de l'évaluation de la qualité pharmaceutique des médicaments vétérinaires au sein de l'Agence Nationale du Médicament Vétérinaire, je vous envoie, suite à votre courrier du 01/12/94, adressé à mon collègue M. LAURENTIE, des documents législatifs relatifs aux radiostérilisations.

Le premier document est la copie de la ligne directrice III/9009/90 « The use of ionizing radiation in the manufacture of medicinal products ». Le second document est une liste issue de STP PHARMA où se trouve des lignes directrices qui pourraient vous intéresser.

Je reste à votre disposition si vous désirez d'autres renseignements administratifs concernant la qualité pharmaceutique.

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.

T. ARTUSO

N/Réf: EPH/12/94



British
Consulate-General
Bordeaux

16 Décembre 1994

353 Boulevard du Président Wilson
33073 Bordeaux Cedex
Telephone : 56 42 34 13
Fax : 56 08 33 12

LABORATOIRE DE CHIMIE ANALYTIQUE
ET DE BROMATOLOGIE
2 Rue du Docteur Marcland
87025 LIMOGES

Messieurs,

Je vous remercie de votre lettre du 1 courant adressée à notre Ambassade à Paris. Toutefois nos services commerciaux s'occupent essentiellement de l'exportation et de la diffusion de marchandises britanniques en France, je vous conseille donc de vous adresser au :

Conseiller Commercial
Ambassade de France
21-24 Grosvenor Place
London SW1X 7HU
Tél:71.235.70.80
Fax:71.235.85.98

ou à l'une des associations professionnelles suivantes :

Association of British Pharmaceutical Industry
12 Whitehall
LONDON SW1A 2DY
Tél:71.930.3477
Fax:71.930.3290

Association of Pharmaceutical Importers
11 High Street
Wanstead
LONDON E11 2AN
Tél:81.989.1164
Fax:81.530.7779

Institute of Sterile Services Management
HSDU
East Birmingham Health Authority
Yardley Gren Unit
BIRMINGHAM B9 5PV
Tel:21.766.6611 (Poste 2453)

Je vous prie d'agrèer, Messieurs, l'assurance de mes sentiments les meilleurs.

A. Roberts
Vice-Consul Britannique (Commercial)



12 Whitehall London SW1A 2DY
 Telephone 0171 930 3477
 Facsimile 0171 747 1411
 Direct Line 0171 747 14__

**The Association of the
 British Pharmaceutical Industry**

15 February 1995

M S Galy
 c/o Mr J P Basley
 Laboratoire de Chimie Analytique
 Faculte de Pharmacie
 Universite de Limoges
 2 rue du docteur Marcland
 87025 Limoges
 France

Dear M Galy,

Re your letter dated 1 December received on 6 February.

Most companies will contract outside for this service.

We suggest you contact:

Isoron Plc, Moray Road, Elgin Industrial Estate, Swindon. Tel: 44 793 511050.

For guidance, see Annex 12 'Use of ionizing radiation in the manufacture of medicinal products' in the booklet "Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufacturers 1993" Medicines Control Agency, Price £11.50 ISBN No 011 321 633 5. Available through HMSO, 49 High Holborn WC1. General telephone enquiries: 44 171 873 0011.

I hope this is of assistance to you.

Yours sincerely,

Gail Turner

Gail Turner
 Health Industry Information Officer

President T Medinger MA DPhil Oxon
Director General T M Jones B Pharm PhD FPS FRSC FKC MCPP
Secretary D B LI George BVSc MRCVS Solicitor

AMBASSADE DE SUÈDE

Paris, le 14 décembre 1994

Université de Limoges
Faculté de Pharmacie
M. J.P. BASLY, Maître de Conf
2, rue du docteur Marcland
87025 LIMOGES

Monsieur,

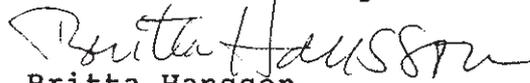
En me référant à votre lettre du 1er décembre dernier, je vous prie de bien vouloir s'adresser, de préférence en langue anglaise, aux autorités et organismes compétents suédois, dont voici les adresses:

Läkemedelsverket
(l'Office des produits médicaux et pharmaceutiques)
Box 26
S-751 03 UPPSALA
Tél: +19-46-18-17 46 00
Fax: +19-46-18-54 85 66

Läkemedelsindustriföreningen
(l'Association de l'industrie pharmaceutique suédoise)
Box 5522
S-114 85 Stockholm
Tél: +19-46-8-670 37 00
Fax: +19-46-8-663 86 80

Socialstyrelsen
(Direction nationale de la santé et des affaires sociales)
S-106 30 Stockholm
tél: +19-46-8-783 30 00

Veuillez agréer, Monsieur, l'expression de mes sentiments distingués.


Britta Hansson
Assistante



Läkemedelsindustriföreningen

The Swedish Association of the Pharmaceutical Industry

Stockholm February 13, 1995

J.P. Basly, Assistant Professeur
S. Galy, Student
Université de Limoges
Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Chimie Analytique
et de Bromatologie
2, rue du docteur Marcland
F-87025 LIMOGES
France

Dear Sirs,

Gamma radiosterilization

As to your letter of January 27, 1995 we hereby include guidelines from a reference book "Standards for pharmaceutical preparations in Finland and Sweden", published annually.

For any questions regarding the contents or the relevant legislation we would like to refer to the Swedish competent authority, The Medical Products Agency (MPA), Attention Pharm.dr. Lennart Enerot. P.O. Box 26, S-751 03 UPPSALA. Phone No +46 18 17 46 00, Fax No +46 18-54 85 66.

Also regarding your second question we advice you to contact the MPA.

Yours Sincerely
The Swedish Association of the
Pharmaceutical Industry, LIF

Lena Wergeman/

Ulla Berggren



EMBASSY OF THE
UNITED STATES OF AMERICA
2, Avenue Gabriel
75382 Paris Cedex 08

Paris, le 12 Décembre 1994

M. Galy
laboratoire de Chimie Analytique
Faculté de Pharmacie
Université de Limoges
2, rue du Docteur Marcland
87025 Limoges

Monsieur,

Suite au courrier que vous nous avez adressé en date du 1er Décembre dans le cadre de votre thèse de Doctorat en Pharmacie, nous vous conseillons de prendre contact d'une part avec la "Food and Drug Administration" et d'autre part la "Nuclear Regulatory Commission" dont vous trouverez les coordonnées ci-dessous.

- **FOOD AND DRUG ADMINISTRATION**
Department of Health and Human Services
200 Independent Avenue SW
Washington DC 20201
Phone: 202 690 6343
Fax: 301 443 3170

- **NUCLEAR REGULATORY COMMISSION**
1, White Flint North Building
11555 Rockville Pike
Rockville MD 20852
Phone: 301 415 8200
Fax: 301 504 1672

Nous espérons que ces informations pourront vous permettre d'aboutir dans vos recherches et vous prions d'agréer, Monsieur, l'expression de nos sentiments distingués.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Jerome Bosken".

Jerome Bosken
Conseiller pour la Science,
la Technologie et l'Environnement



March 22, 1995

J. P. Basly, Assistant Professeur
S. Galy, Student
Universite de Limoges
Faculte de Pharmacie
Laboratoire de Chimi Analytique
et de Bromatologie
2, rue du docteur Marcland
870225 Limoges
FRANCE

Professeur Basly:

Reference is made to your letter of January 31, 1995 in which you were seeking information on legislation regarding the use of gamma radiosterilization on drugs. You also inquired about British territory plants and the standards to which they must conform.

There are two regulations which FDA uses to address this issue, found in the Code of Federal Regulations (CFR) Title 21:

- 1) under part 200 at 200.30 "Sterilization of drugs by irradiation" (a copy of which is enclosed), which deals with NDA submission, and
- 2) under part 211, the Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals regulation (CGMP), at 211.113(b) Control of microbial contamination. This reads as follows:

"(b) Appropriate written procedures, designed to prevent microbiological contamination of drug products purporting to be sterile, shall be established and followed. Such procedures shall include validation of any sterilization process."

To comply with the above regulations, the important parameters are that the sterilization process must be effective, and its use must not alter the finished pharmaceutical or cause it to degrade. Our concern is that the regulations are followed, we leave the option of which technology to achieve this open to the firm. We believe that this approach promotes the exploration and future implementation of technological advances.

Your second question dealing with the standards British plants must comply with is answered similarly. Local standards for pharmaceutical production in countries external to the United States are not our focus, but those products

p. 2
Professeur Basly
March 22, 1995

destined for shipment to the USA must be manufactured in accordance with the CGMP regulation. Specifically, use of gamma radiosterilization would need to comply with 21 CFR 211.113(b), whether production was in the United States or outside of it. If you need more information regarding British standards, I suggest you contact their agency.

If I can be of any further assistance, feel free to write me at the above address, or you may FAX me at (301) 594-2202.

Regards,



C.D. Rutledge
Consumer Safety Officer
Policy and Guidance Branch, HFD-323
Division of Manufacturing and Product Quality
Office of Compliance
Center for Drug Evaluation and Research
U. S. Food and Drug Administration

BOTSCHAFT
DER BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND
Ambassade
de la République fédérale d'Allemagne

75008 Paris, le 6 décembre 1994
13/15, av. Franklin D. Roosevelt
Fernspr./Téléphone: (1) 42 99 78 00
Fax: (1) 43 59 74 18
Wi 412.03

Université de Limoges
Faculté de Pharmacie
Lab. de Chimie Analyt. et de Bromot.
à l'att. de Messrs. Penicaut, Dreyfuss,
Basly, Cledat et Galy
2, rue du docteur Marcland -

87025 Limoges

Messieurs,

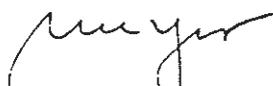
Faisant suite à votre lettre du 1er décembre 1994 je regrette de ne pouvoir vous être utile, étant donné que l'Ambassade n'est pas en possession d'informations ou de documents ayant trait au sujet qui vous intéresse.

Je vous suggère donc de soumettre votre demande directement à la Fédération de l'Industrie Pharmaceutique en Allemagne:

Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e. V.
Karlstr. 19-21
D-60329 Frankfurt/Main
Tel.: 1949-69-25 560
Fax: 1949-69-23 78 13

Veuillez agréer, Messieurs, l'expression de mes sentiments distingués.

p.o.


(Wagner)



Herren
J.P. Basly/S. Galy
Université de Limoges
Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Chimie analytique
et de Bromatologie
2, rue du docteur Marcland

Unsere Zeichen: Dr.Aut/ga

Durchwahl: -1216

Fax:

Datum: 07.02.1995

F 87025 LIMOGES

Behandlung von Arzneimitteln mit ionisierenden Strahlen

Sehr geehrter Herr Basly,
sehr geehrter Herr Galy,

verbindlichen Dank für Ihr Schreiben vom 16.12.1994, das uns erst heute erreichte. In der Anlage erhalten Sie Kopien einiger Unterlagen, denen die gesetzlichen Grundlagen in der Bundesrepublik Deutschland für diese Sterilisationsart zu entnehmen sind. Die pharmazeutische Industrie führt die Behandlung mit ionisierenden Strahlen nicht selbst durch, sondern vergibt diese an Auftragerhersteller. Zu diesen Betrieben, die ionisierende Strahlen anwenden, können wir keine Angaben machen, da sie keine Mitglieder unseres Verbandes sind.

Mit verbindlichen Grüßen
Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V.


Dr. Gert Auternhoff
Abteilungsleiter

Anlagen

AMBASSADE D'AUTRICHE

PARIS

6, Rue Fabert

75007 Paris

(Tél. 45 55 95 66)

Paris, 30 janvier 1995

Réf. 361.01/3/95

Monsieur S. GALY
Université de Limoges
Faculté de Pharmacie
Laboratoire de Chimie
analytique et Bromatologie
2, rue du Docteur Marcland
87025 LIMOGES

Monsieur,

Pour faire suite à votre courrier du 1er décembre dernier concernant la radiostérilisation des médicaments par rayonnement gamma, l'Ambassade d'Autriche a l'honneur de vous communiquer ci-dessous les informations transmises à ce sujet par les autorités autrichiennes compétentes.

La deuxième édition du Codex inclut la radiostérilisation (traitement par rayons gamma et électroniques avec une dose suffisante permettant le degré de sécurité requis) comme méthode facultative. Sur cette base, cette méthode est autorisée dans les conditions suivantes:

Pour chaque cas, le fabricant est tenu de présenter une documentation complète sur l'installation de stérilisation, sur les conditions de stérilisation, sur la preuve de

:/2

l'efficacité du procédé et il est tenu de prouver que la qualité du produit ainsi traité n'est pas réduite par cette méthode de stérilisation.

En vous souhaitant bonne réception de la présente, l'Ambassade d'Autriche vous prie d'agréer, Monsieur, l'expression de ses salutations distinguées.

Pour l'Ambassade:

A handwritten signature in cursive script, appearing to read 'Walter Rochel', written in dark ink.

Walter Rochel
(Conseiller)



AMBASSADE DE SUISSE
EN FRANCE

75007 PARIS, le

5 janvier 1995

142, Rue de Grenelle
Téléphone (1) 49.55.67.00
Télexcopieur 45 51 34 77
Télex 270969
Chèques Postaux Paris 5 695 57 P
Réception: 9 h. à 11 h. 45

Réf.: 511.215 - HU/BEG

Prière d'adresser vos correspondances
à l'Ambassade et non pas à des personnes
déterminées.

Université de Limoges
Faculté de Pharmacie
à l'att. de M./Mme S. Galy
2, rue du docteur Marcland

87025 LIMOGES

Madame, Monsieur,

Faisant suite à votre demande du 1er décembre 1994 et à ma réponse provisoire du 9 du même mois, je viens de recevoir de la Société suisse de pharmacie à Liebefeld/Berne:

- copie du chapitre IX.1 "Méthodes de stérilisation" de la Pharmacopée suisse
ainsi que
- copie d'une lettre du 15.12.1994 de l'Office intercantonal de contrôle des médicaments (OICM), Berne

Vous y trouverez des explications précises concernant la stérilisation de médicaments par irradiation. Les directives mentionnées par l'OICM sont en fait les règlements de l'Union européenne "CPMP working party on quality of medicinal products. Note for guidance. The use of ionizing radiation in the manufacture of medicinal products".

Malheureusement, la Société suisse de pharmacie ne dispose pas d'une liste d'installations de stérilisation en Suisse. Je vous conseille cependant de vous mettre directement en rapport avec le Dr. Ph. Blanco du Service de microbiologie de l'Office Intercantonal de Contrôle de médicaments à Berne (Tél. 194131/ 302 36 51 ou le responsable de la Division de la radioprotection de l'Office fédéral de la santé, Bollwerk 27, 3001 Berne, Dr. Bernard Michaud, Tél. 194131 / 322 96 16.

En espérant que ces informations vous seront utiles, je vous prie d'agréer, Madame, Monsieur, l'assurance de ma considération distinguée.

Ulrich Hunn
Consul

(Affaires commerciales)

Annexes: mentionnées -



Bundesamt
für Gesundheitswesen

Office fédéral
de la santé publique

Ufficio federale
della sanità pubblica

Swiss Federal Office
of Public Health

Division de la radioprotection

Monsieur Stéphane Galy
Université de Limoges
FACULTE DE PHARMACIE
LABORATOIRE DE CHIMIE
ANALYTIQUE ET DE
BROMATOLOGIE
2, rue du docteur Marcland
F-87025 LIMOGES

Votre référence

Votre communication du

Notre référence

Téléphone direct

Wy / KE

031 / 322 96 15

Berne, 15 mars 1995

Irradiation des médicaments

Monsieur

Nous avons transmis votre demande du 13 février 1995 à l'Office intercantonal de contrôle des médicaments compétent en la matière. Cet office nous a répondu en substance ce qui suit:

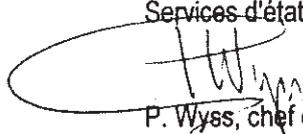
Il existe deux installations d'irradiation avec lesquelles est pratiquée la radiostérilisation des médicaments conformément aux législations cantonales (lois sur la santé, lois sur les médicaments). Ces installations font l'objet de contrôles par des inspecteurs des autorités sanitaires en règle générale tous les deux ans. Les exigences applicables à l'irradiation des médicaments en Suisse sont tirées d'un document de la Convention sur les inspections pharmaceutiques (PIC), le "Guide to Good Manufacturing Practice for Pharmaceutical Products, Document PH 5/92, May 1992 Appendix 10: "Use of Ionizing Radiation in the Manufacture of Pharmaceutical Products".

Par ailleurs l'irradiation des dispositifs médicaux doit satisfaire aux exigences de l'EN- 552:1994.

Il va de soi que les prescriptions en matière de radioprotection sont elles aussi applicables à l'exploitation d'installations de ce type. En Suisse la radioprotection est un domaine qui relève de la Confédération qui a édicté une loi le 22 mars 1991 et une ordonnance d'exécution le 22 juin 1994 (voir annexe), notre office étant l'autorité habilitée à délivrer les autorisations.

En espérant vous avoir été de quelque utilité, nous vous prions d'agréer, Monsieur, l'expression de notre considération distinguée.

Office fédéral de la santé publique
Division de la radioprotectionz
Services d'état-major


P. Wyss, chef de service

Bollwerk 27, case postale
3001 Berne

Téléphone 031 322 96 16
Téléfax 031 322 83 83

AMBASSADE ROYALE DE DANEMARK

PARIS

Monsieur J.P. BASLY
Maître de Conférences
Faculté de Pharmacie
Université de Limoges
2, rue du docteur Marcland
87025 LIMOGES

77, AVENUE MARCEAU

75116 PARIS

TELEPHONE : (1) 44 31 21 21

ADR.TELEGR. : AMBADANE

TELEX : 640 445

TELECOPIE : (1) 44 31 21 88

copie(s)

annexe(s) Réf.: 82.Dan.10

Le 1 mars 1995

Monsieur,

L'Ambassade se réfère à votre lettre du 23 février 1995 au sujet de la radiostérilisation des médicaments par rayonnement gamma.

N'étant pas en mesure de vous renseigner, nous vous conseillons de prendre contact soit avec le Ministère de la Santé au Danemark, et de préférence en anglais, soit avec l'Ambassade de France dont voici les coordonnées:

Sundhedsministeriet
(Ministère de la Santé)
Herluf Trolles Gade 11
DK-1052 Copenhague K
D a n e m a r k
Tél: +45-33 92 33 60
Fax: +45-33 93 15 63,

Ambassade de France
Kongens Nytorv 4
DK-1216 Copenhague K
D a n e m a r k
Tél: +45-33 15 51 22
Fax: +45-33 93 97 52.

Nous vous prions d'agréer, Monsieur, l'expression de nos sentiments les plus distingués.



Joan Roschmann
Service Économique



AMBASSADE ROYALE
DE NORVÈGE
PARIS

90

Affaire suivie par
Mme Hild Stokke

Notre date
01.03.95

Votre date
23.02.95

Notre référence
HIS

Votre référence

Université de Limoges
2, rue du Dt. Marcland
87025 LIMOGES
à l'att. de M. J.P. BASLY

Monsieur,

Se référant à votre lettre du 23 février,
l'Ambassade a le regret de vous faire savoir qu'elle
n'est pas en mesure de donner suite à votre demande.

Cependant, nous vous indiquons l'adresse d'une
institution qui est susceptible de pouvoir vous
aider:

Statens Helsetilsyn
Postboks 8128 Dep.
0032 Oslo.

Nous vous recommandons de rédiger votre courrier en
anglais.

Veuillez agréer, Monsieur, l'expression de nos
salutations distinguées.

Hild Stokke
Consul

Téléphone : 53 67 04 00
Fax : 53 67 04 40

AMBASSADE VAN HET KONINKRIJK DER NEDERLANDEN
AMBASSADE ROYALE DES PAYS-BAS

Bureau du Conseiller
Scientifique et Technique

7, rue Eblé, 75007 Paris
Tél. (33-1) 40 62 33 33
Fax. (33-1) 40 62 34 56

Université de Limoges
Laboratoire de Chimie Analytique
et de Bromatologie
S. GALY
2, rue Docteur Marcland
87025 Limoges

Notre réf.: 95150

Paris, le 7 mars 1995

Monsieur,

Suite à votre lettre du 23 février dernier, je vous informe comme suit.

La radiostérilisation par rayonnements gamma de médicaments n'est -probablement- pas pratiquée aux Pays-Bas. Par contre ce qui se pratique aux Pays-Bas, c'est la radiostérilisation par rayonnements gamma d'articles médicaux, tels que pansements, seringues, etc. Les médicaments sont jugés trop fragiles pour ce traitement.

La seule entreprise autorisée à effectuer le traitement -d'après mon interlocuteur au Ministère de la Santé, responsable au département de l'Inspection des Médicaments- est la société GAMMASTER située à Ede, qui fait partie du groupe OPG. Mon interlocuteur croit que Gammaster traite uniquement les articles médicaux, et non pas les médicaments. Elle dispose cependant bien d'une autorisation pour les médicaments, donc si elle le voulait, elle pourrait le faire.

En ce qui concerne la législation en vigueur, cela dépend dans quelle législation vous êtes intéressé. Car trois législations différentes entrent en jeu ici.

D'abord la législation pharmaceutique pour les médicaments, puis celle concernant les articles médicaux, et finalement la Loi sur l'Energie Nucléaire, pour ce qui est des aspects de sécurité.

Cette complexité des choses est la raison pour laquelle je vous conseillerais de vous mettre directement en rapport avec la société Gammaster aux Pays-Bas. Elle est sans aucun doute le mieux en mesure de vous fournir tous les renseignements que vous désiriez obtenir.

On y parle sûrement anglais, peut-être aussi français.

Les coordonnées de cette société sont les suivantes:

GAMMASTER International bv
Morsestraat 3
6716 AH EDE
Pays-Bas
Tél.: 19 - 31.8380.37476
Fax.: 19 - 31.8380.38988

Vous souhaitant bonne chance pour la suite de vos travaux, je vous prie d'agréer, Monsieur, l'expression de mes considérations distinguées.



Mme Joannette POLO
Bureau Conseil Scientifique et Technique

7 Contrôle de routine du procédé

NOTE : le contrôle du procédé comprend la maîtrise et la surveillance de l'équipement, la manipulation du produit avant, pendant et après l'irradiation, l'entretien préventif et de routine, la surveillance de la dose délivrée, le contrôle de continuité du procédé et la documentation.

7.1 Spécification du procédé

Il faut élaborer une spécification du procédé pour chaque produit et chaque catégorie de produits. Cette spécification du procédé doit comprendre une description :

- a) du ou des produits couverts par cette spécification ;
- b) de la dose stérilisante et de la dose maximale (voir 6.2) ;
- c) du plan de chargement du produit et des comparaisons entre doses aux endroits correspondant aux doses minimales et maximales (voir 6.4.1) ;
- d) de la position des dosimètres en contrôle de routine (voir l'annexe C) ;
- e) **pour la stérilisation par irradiation gamma**, des relations entre la densité du produit, la dose et la puissance de la source ;
- f) **pour l'irradiation par faisceau d'électrons et rayons X**, des relations entre les caractéristiques du faisceau, la vitesse d'acheminement, la configuration du produit et la dose.

Si le produit nécessite des expositions multiples au champ d'irradiation, certaines d'entre elles pouvant nécessiter une réorientation du produit, cette nécessité doit figurer dans la spécification.

7.2 Manutention du produit

Une documentation relative à la manutention du produit avant, pendant et après la stérilisation, doit être établie et conservée. Le produit doit être manipulé et stocké de sorte que son efficacité et les conditions microbiennes n'en soient pas affectées. Un système de comptage du produit doit être mis en application lors de la réception du produit, de son chargement et déchargement, de sa manutention après l'irradiation et de son évacuation.

7.2.1 Expédition et réception du produit

Pour garantir la comptabilisation du produit, les enregistrements à effectuer doivent comprendre un comptage des produits à la réception. Toute divergence entre la quantité de produits mentionnée sur le bordereau de livraison et la quantité reçue doit être réglée avant le traitement.

7.2.2 Stockage du produit avant et après la stérilisation

Les produits stériles et non stériles doivent être stockés dans des zones séparées. Si ces zones ne sont pas *exclusivement* conçues pour ce type de stockage ou si elles se trouvent éloignées de l'irradiateur, les produits ou les palettes doivent être clairement identifiés comme étant stériles ou non.

7.3 Entretien préventif et de routine

Les modes opératoires d'entretien (normalement recommandés par le fournisseur de l'équipement) doivent être documentés, mis en oeuvre et enregistrés (ce dernier point ne concerne que l'entretien préventif) conformément à l'ISO 9001 et/ou 9002, selon les cas.

7.4 Irradiation du produit

7.4.1 Contrôle du procédé

L'irradiateur doit être utilisé et conservé conformément aux modes opératoires documentés afin que les prescriptions documentées de procédé soient respectées.

7.4.1.1 Irradiateurs gamma

a) **Maîtrise** : pour un produit ou une catégorie de produits donnés, le réglage des temporisateurs et/ou la vitesse du système d'acheminement doivent être contrôlés et réglés pour éviter tout dysfonctionnement de la source. Le temporisateur de cycle doit être équipé d'un dispositif permettant de vérifier toute variation par rapport aux intervalles de temps présélectionnés. Il est nécessaire de s'assurer que la source se trouve dans la position d'irradiation souhaitée.

b) **Surveillance** : la position de la source, le temps de cycle et le mouvement du conteneur d'irradiation doivent être contrôlés.

c) **Chargement du produit** : le produit doit être chargé dans le conteneur d'irradiation conformément au plan de chargement du produit.

7.4.1.2 Irradiateurs à faisceau d'électrons et rayons X

a) **Maîtrise** : les caractéristiques du faisceau d'électrons et la vitesse d'acheminement doivent être automatiquement contrôlées.

b) **Surveillance** : les caractéristiques du faisceau d'électrons et la vitesse d'acheminement doivent être surveillées pour détecter toute déviation du procédé.

c) **Chargement du produit** : le produit doit être chargé dans le conteneur d'irradiation conformément au plan de chargement du produit.

7.4.2 Interruption du procédé

En cas d'interruption du procédé, entraînant un retard dans l'achèvement de la stérilisation au-delà de la période spécifiée, les effets sur la qualité microbiologique du produit doivent faire l'objet d'une étude et des mesures appropriées doivent être prises.

Pour les produits capables de supporter une prolifération microbienne, la spécification du procédé doit inclure l'intervalle maximal de temps pouvant s'écouler entre l'achèvement de la fabrication et l'achèvement du procédé de stérilisation ainsi que les conditions de stockage et de transport à appliquer pendant cet intervalle, y compris l'irradiation.

NOTE : pour les produits qui ne peuvent supporter une prolifération microbienne, une interruption du procédé n'entraîne pas, en général, de conséquences et de mesures particulières en raison des effets cumulatifs de la dose de radiation sur les micro-organismes.

7.4.3 Surveillance de la dose

Des dosimètres de routine doivent être utilisés pour surveiller le procédé de stérilisation. L'utilisation d'indicateurs visuels sensibles au rayonnement comme preuve de l'efficacité du traitement par irradiation ou comme unique moyen de différencier les produits irradiés des produits non irradiés doit être proscrite.

7.4.3.1 Emplacement des dosimètres

L'emplacement des dosimètres doit être déterminé à partir de la cartographie de doses pour le produit (voir l'annexe C). Les descriptions de ces emplacements doivent faire partie intégrante des spécifications pour garantir une bonne utilisation de ces dosimètres. Ces derniers doivent être placés en rapport avec les positions des doses minimales et maximales.

7.4.3.2 Fréquence de la surveillance

Le procédé doit être contrôlé en plaçant les dosimètres aux intervalles spécifiés afin de vérifier que la dose absorbée par le produit se situe dans les limites spécifiées.

Pour les irradiateurs gamma, au moins un conteneur d'irradiation équipé d'un dosimètre doit se trouver en permanence dans l'irradiateur. En présence de plusieurs cheminements, chacun d'eux doit être contrôlé avec au moins un dosimètre placé en permanence dans l'irradiateur.

Pour les irradiateurs à faisceau d'électrons et à rayons X, il est nécessaire de placer les dosimètres aux intervalles spécifiés à des périodes suffisantes pour s'assurer que la dose stérilisante est appliquée à tous les produits durant l'ensemble du procédé d'irradiation.

7.4.3.3 Analyse

Après l'irradiation, les dosimètres doivent être lus et les résultats enregistrés. Toutes les données de routine doivent être analysées et les mesures de dose comparées par rapport aux doses stipulées dans la spécification du procédé.

Tout relevé dosimétrique (correspondant à un seul dosimètre ou à la moyenne de plusieurs) indiquant qu'une dose se situe hors des limites spécifiées doit faire l'objet d'une étude. En cas d'utilisation de plusieurs dosimètres à chaque emplacement, si un seul relevé dépasse le système dosimétrique, une étude doit être réalisée. Le produit traité, objet du relevé, ne doit pas être évacué avant qu'une étude satisfaisante a été faite et que des preuves indiquant que le produit est acceptable ont été documentées.

7.5 Documentation du procédé

Pour chaque produit, les informations suivantes doivent être enregistrées, analysées par des personnes autorisées et conservées comme documentation :

- a) comptage initial des produits par code de produit et numéro du lot de fabrication (le cas échéant) ;
- b) plan de chargement du produit ;
- c) emplacement et récupération du dosimètre ;
- d) numéro du lot de stérilisation ;
- e) dose stérilisante spécifiée et dose maximale autorisée ;
- f) paramètres de procédé :
 - réglage du temporisateur de cycle et/ou vitesse du système d'acheminement (**gamma**) ;
 - caractéristiques du faisceau et points de référence de la vitesse du système d'acheminement (**faisceau d'électrons et rayons X**) ;
- g) comptage de vérification des produits chargés dans le conteneur d'irradiation ;
- h) date(s) de la stérilisation ;
- i) comptage de vérification des produits déchargés du conteneur d'irradiation ;
- j) relevés du dosimètre et analyse ;
- k) comptage de vérification des produits sortant ;
- l) enregistrements du procédé :
 - fonctionnement du système d'acheminement et position de la source (**gamma**) ;
 - caractéristiques du faisceau et vitesse du système d'acheminement (**faisceau d'électrons et rayons X**).
- m) pour les irradiateurs dont le système d'acheminement interne peut être choisi, documentation relative au système utilisé pour le produit ;
- n) interruptions du procédé et mesures prises ;
- o) variations du procédé et mesures prises.

7.6 Acceptation de la stérilisation

Lorsque des enregistrements permettent de démontrer que le procédé de stérilisation est conforme aux prescriptions de la présente norme, ce procédé est accepté.

NOTE : des enregistrements supplémentaires de fabrication et de contrôle du produit seront nécessaires comme spécifié dans le plan système qualité/contrôle qualité (voir l'ISO 9001/9002) afin de s'assurer que le produit est stérile et qu'il peut être distribué.

La présente norme n'exige pas de contrôle de stérilité du produit fini.

Annexe C (informative)

Dosimètres, dosimétrie et matériel associé

C.1 Dosimétrie

La présente annexe fournit des informations pour la sélection et l'utilisation des systèmes dosimétriques servant à mesurer la dose absorbée des irradiateurs. Sont présentés les différents types de systèmes dosimétriques susceptibles d'être utilisés régulièrement comme moyen d'assurance qualité dans la stérilisation par irradiation des dispositifs médicaux. La plage de dose absorbée, couverte par cette annexe, est comprise entre 1,0 et 100 kGy (0,1 à 10 Mrad). Les méthodes et pratiques normalisées relatives aux systèmes dosimétriques sont traitées dans d'autres normes (se référer, par exemple, à l'ASTM 1989, 1991a, 1992, 1993a, 1993b, 1993c, 1993d, 1993e).

C1.1 Classification des dosimètres

Les dosimètres peuvent être classés en fonction de leur qualité relative et des domaines d'application. Trois types de dosimètres sont utilisés comme étalons : primaire, de référence, ou de transfert. Des dosimètres de routine servent aux mesures de routine.

Au sommet de la qualité se trouvent les dosimètres primaires, généralement établis puis entretenus par les laboratoires d'étalons nationaux. Les dosimètres primaires les plus répandus sont les chambres d'ionisation (International Commission of Radiation Units and Measurements [ICRU] 1969, 1970) et les calorimètres (ICRU 1982, 1984 ; Laughlin and Genna 1966). Les dosimètres de transfert ou de référence servent à mesurer les sources d'irradiation et les dosimètres de routine. Les dosimètres de référence les plus couramment utilisés sont les solutions de sulfate ferreux (Fricke) et de dichromate aqueux pour des installations gamma et à rayons X et le calorimètre pour les faisceaux d'électrons.

Le tableau C1 fournit une liste d'exemples de dosimètres de référence dont la plupart peuvent également servir de dosimètres de transfert. Les plages d'énergie de ces dosimètres figurent dans le tableau C1.1.

On utilise des dosimètres de routine pour le contrôle et l'assurance qualité de l'irradiation des dispositifs médicaux de routine. Des exemples de ces dosimètres et de leurs plages d'énergie sont donnés respectivement dans les tableaux C2 et C2.1.

La dose absorbée par un dispositif médical irradié est généralement exprimée en termes de dose absorbée par l'eau parce que la plupart des dispositifs non métalliques sont presque équivalents à l'eau en ce qui concerne leurs propriétés d'absorption de l'irradiation. La détermination de la dose absorbée par d'autres matériaux fait l'objet d'une explication détaillée dans l'ASTM (1988d), Attix (1986) et McLaughlin et autres (1989a).

Tableau C1 : exemples de dosimètres de référence

Dosimètre	Système de lecture	Plage de dose absorbée approximative (Gy)	Référence
Calorimètre	Thermomètre	10 - 10 ⁵	Laughlin and Genna (1966) ; Miller and Kovacs (1990).
Alanine	Spectromètre à résonance magnétique d'électrons	1 - 10 ⁵	Regulla et autres (1982, 1985)
Solution de sulfate cérique-céreaux	Spectrophotomètre à ultraviolet ou potentiomètre	10 ³ - 10 ⁵	Matthews (1982), Bjergbakke (1970a)
Solution éthanol-chlorobenzène	Appareil d'analyse chromatique ou oscillogramme à haute fréquence	10 ² - 10 ⁵	Razem et autres (1985) ; Kovacs et autres (1985)
Solution de sulfate ferreux (Fricke)	Spectrophotomètre à ultraviolet	10 - 4x10 ²	Ellis (1977) ; Sehested (1970)
Solution dichromate	Spectrophotomètre à ultraviolet	10 ³ - 5x10 ⁴	Sharpe et autres (1985)

NOTE : la plupart des exemples de dosimètres de référence figurant ci-dessus peuvent également servir de dosimètres de transfert.

Tableau C1.1 : plage d'énergie des dosimètres de référence

Dosimètres	Plage d'énergie (MeV)			
	0,1 - 0,3	0,3 - 1,0	1,0 - 5,0	5,0 - 15,0
Calorimètres	X	X	X	X
Alanine	?	?	X	X
Solution de sulfate cérique-céreaux	NA	NA	?	X
Solution éthanol-chlorobenzène	NA	NA	?	X
Solution de sulfate ferreux (Fricke)	NA	NA	?	X
Solution dichromate	NA	NA	?	X

Symboles :

NA = Système(s) non appropriés pour cette plage

? = Système(s) pouvant être modifiés pour être utilisés dans cette plage

X = Système(s) appropriés pour cette plage

Tableau C2 : exemples de dosimètres de routine

Dosimètre	Système de lecture	Plage de dose absorbée approximative (Gy)	Référence
Polyméthacrylate de méthyle teint	Spectrophotomètre optique	$10^3 - 5 \times 10^4$	Barrett (1982) ; Whittaker et autres (1985) ; Glover et autres (1985)
Polyméthacrylate de méthyle incolore	Spectrophotomètre à ultraviolet	$10^3 - 10^5$	Barrett (1982) ; Chadwick (1977)
Cellulose de triacétate	Spectrophotomètre à ultraviolet	$10^4 - 4 \times 10^5$	Tamura et autres (1981) ; Tanaka et autres (1984)
Solution de sulfate cérique-céveux	Potentiomètre ou spectrophotomètre à ultraviolet	$10^3 - 10^5$	Matthews (1982) ; Bjergbakke (1970a)
film de teinture radiochromique, solution, guide d'ondes optiques	Spectrophotomètre optique ou densitomètre optique	$1 - 10^5$	Miller et autres (1981) ; Liu et autres (1985) ; McLaughlin et autres (1989b) ; Farahani et autres (1990)
Solution ferreuse-cuprique	Spectrophotomètre à ultraviolet	$10^3 - 3 \times 10^4$	McLaughlin et autres (1981) ; Bjergbakke (1970b)

Tableau C2.1 : plage d'énergie des dosimètres de routine

Dosimètres	Plage d'énergie (MeV)			
	0,1 - 0,3	0,3 - 1,0	1,0 - 5,0	5,0 - 15,0
Polyméthacrylate de méthyle coloré	NA	NA	?	X
Polyméthacrylate de méthyle incolore	NA	NA	?	X
Cellulose de triacétate	X	X	X	X
Solution de sulfate cérique-céveux	NA	NA	?	X
Film radiochromique	X	X	X	X
Solution radiochromique	NA	NA	X	X
Solution ferreuse-cuprique	NA	NA	?	X

Symboles :

NA = Système(s) non appropriés pour cette plage
 ? = Système(s) pouvant être modifiés pour être utilisés dans cette plage
 X = Système(s) appropriés pour cette plage

C1.2 Sélection de systèmes dosimétriques

Les critères à prendre en considération lors de la sélection d'un système dosimétrique adéquat sont les suivants :

- a) adéquation du dosimètre à la plage souhaitée de dose absorbée et à l'utilisation d'un dispositif spécifique ;
- b) stabilité et reproductibilité adéquates du système ;
- c) facilité d'étalonnage du système ;
- d) étalonnage imputable et conforme aux étalons nationaux ;
- e) aptitude à contrôler et corriger la réponse du système lorsqu'il s'agit d'erreurs systématiques comme celles liées à la température et à l'humidité ;
- f) facilité d'utilisation ;
- g) vérification que la durée et la main d'oeuvre nécessaires à l'obtention, la lecture et l'interprétation de la réponse du dosimètre se trouvent dans les limites acceptables pour la production ;
- h) solidité du système (ex : résistance à la dégradation au cours de la manipulation et utilisation du dosimètre dans les environnements de traitement de routine) ;
- i) vérification que les variations des données relatives à la réponse du système dosimétrique se trouvent dans les limites établies par rapport à une courbe d'étalonnage appropriée pour la plage de dose absorbée souhaitée. Il convient d'utiliser des méthodes adéquates d'analyse par régression pour ajuster la courbe. Ces méthodes peuvent inclure des fonctions exponentielles, polynomiales ou linéaires ;
- j) influence des conditions ambiantes (comme la température, l'humidité, la lumière) sur la réponse du dosimètre et du système de lecture, avant, pendant et après l'étalonnage et l'utilisation ;
- k) influence du débit de dose et/ou d'une livraison fractionnée de la dose sur la réponse du dosimètre pendant l'étalonnage et l'utilisation en cours de fabrication ;
- l) stabilité de la réponse du dosimètre avant et après irradiation ;
- m) variation de la réponse du dosimètre à l'intérieur d'un même lot ou entre lots différents ;
- n) effets des variations de spectre entre l'étalonnage et les champs d'irradiation du dispositif.

Les avantages et inconvénients présentés par chaque système dosimétrique sont répertoriés dans le tableau C3.

Tableau C3 : avantages et inconvénients des systèmes dosimétriques

Système dosimétrique	Avantages	Inconvénients
Calorimètre	Exactitude et précision élevées. Mesure directe de la dose absorbée.	Influence de la répartition spatiale de la dose absorbée. Sensibilité limitée. Le système doit être réellement adiabatique pour des périodes d'exposition prolongée.
Solution de sulfate ferreux (Fricke)	Exactitude et précision élevées. Rendement chimique de l'irradiation et coefficient d'absorption linéaire moléculaire clairement définis. Peu d'influence du débit de dose. Influence de la température faible. Stabilité durable avant et après irradiation.	Sensibilité à l'impureté de l'eau et aux réactifs. Plage de doses absorbées réduite et inférieure aux doses stérilisantes. Dépendance à l'oxygène libre. Utilisation obligatoire de conteneurs en verres, fragiles et parfaitement propres. Ecart entre lots, chaque lot devant être étalonné.
Solution de sulfate cérique.	Exactitude et précision élevées. Peu d'influence du débit de dose. Aucune dépendance à l'oxygène libre. Plage de doses pouvant être supérieure aux doses stérilisantes en choisissant une concentration d'ions cériques. Influence de la température faible. Stabilité durable avant et après irradiation.	Sensibilité à la pureté de l'eau et aux réactifs. Influence au spectre de basse énergie. Obligation de diluer la solution avant de procéder à la lecture avec le spectrophotomètre, opération nécessitant l'intervention d'un opérateur spécialisé. Sensibilité de la solution diluée à la lumière. Utilisation obligatoire de conteneurs en verre, fragiles et parfaitement propres.
Solution de sulfate cérique-cérox	Exactitude et précision élevées. Peu d'influence du débit de dose. Aucune dépendance à l'oxygène libre. Plage de doses pouvant être supérieure aux doses stérilisantes en choisissant une concentration d'ions cériques. Influence de la température faible. Stabilité durable avant et après irradiation. Lecture possible sur spectrophotomètre ou potentiomètre. Dilution inutile avant la lecture avec un potentiomètre. Sensibilité plus faible aux impuretés organiques que le sulfate cérique.	Sensibilité à la pureté de l'eau et aux réactifs. Influence au spectre de basse énergie. Utilisation obligatoire de conteneurs en verre, fragiles et parfaitement propres.
Solution d'éthanol chlorobenzène	Exactitude et précision élevées. Peu d'influence du débit de dose. Aucune influence de la température ou de l'humidité. Stabilité durable avant et après irradiation. Plage de doses pouvant être inférieure et supérieure aux doses stérilisantes en choisissant la concentration de chlorobenzène.	Nécessité de combiner solvants et concentrations. Utilisation obligatoire de conteneurs fragiles en verre. Nécessité d'utiliser un équipement analytique spécial pour certaines lectures.

Système dosimétrique	Avantages	Inconvénients
Solution dichromate	Exactitude et précision élevées. Aucune influence mesurable du débit de dose. Plage de doses pouvant être inférieure et supérieure aux doses stérilisantes en choisissant une combinaison de concentration de dichromate. Faible influence de la température. Stabilité durable avant et après irradiation.	Sensibilité à la pureté de l'eau et aux réactifs. Sensibilité des solutions aux expositions prolongées à la lumière. Utilisation obligatoire de contenants en verre, fragiles et parfaitement propres.
Solution radiochromique	Exactitude et précision élevées. Peu d'influence du débit de dose. Influence de la température connue. Stabilité durable avant et après irradiation. Relativement insensible aux impuretés.	Nécessité de combiner solvants et concentrations. Plage de dose absorbée réduite, légèrement inférieure aux doses stérilisantes. Sensible aux UV (contenants en verre ambré ou opaque nécessaires).
Alanine	Exactitude et précision élevées ; s'applique à de larges plages de doses. Aucune influence mesurable du débit de dose. Faible influence de la température. Faible influence de l'humidité. Stabilité durable avant et après irradiation.	Pas encore commercialisé en grande quantité. Nécessité d'utiliser un équipement de lecture onéreux et difficile à obtenir. Ecart entre lots. Chaque lot doit être étalonné.
Polyméthacrylate de méthyle (teint ou incolore)	La saturation intervient juste au-dessus des doses stérilisantes. Disponible dans le commerce. Faible influence de la température (< 40 °C).	Possibilité d'instabilité des valeurs d'absorption après l'irradiation. L'épaisseur doit être soigneusement mesurée. Ecart entre lots. Chaque lot doit être étalonné. Légère influence du débit de dose. Influence de la température et de l'humidité pendant le stockage et l'irradiation.
Film de teinture radiochromique	La saturation intervient bien au-dessus des doses stérilisantes. S'applique à de larges plages de doses. Peu ou absence de dépendance à l'oxygène libre. Permet d'obtenir une cartographie de doses détaillée. Pas d'influence du débit de dose pour les plages de doses stérilisantes (à l'exception des doses très faibles ou d'une exposition prolongée). Faible influence de la température (< 40 °C) pour la plupart des films. Disponible commercialement.	Sensibilité aux UV (emballage obligatoire). L'épaisseur de certains films doit être soigneusement mesurée. Certaines erreurs sont possibles si l'utilisation se fait à une humidité relative très faible (< 35%) ou très élevée (>65%). Influence de la température pendant l'irradiation, dans certains cas. Ecart entre lots. Chaque lot doit être étalonné. Influence du débit de dose pour les doses > 35 kGy.

fin du tableau

Système dosimétrique	Avantages	Inconvénients
Film de cellulose triacétate	<ul style="list-style-type: none"> · Influence du débit de dose très faible. · Disponible commercialement. · Permet d'obtenir une cartographie de doses détaillée. 	<ul style="list-style-type: none"> Instabilité des valeurs d'absorption après l'irradiation. L'épaisseur de certains lots doit être soigneusement contrôlée. Certaines erreurs sont possibles si l'utilisation se fait à une humidité relative très faible (< 20%) ou très élevée (>90%). Ecarts entre lots. Chaque lot doit être étalonné. Utilisation limitée à la plage de dose stérilisante et doses supérieures.

C1.3 Etalonnage du système dosimétrique

Un programme d'étalonnage doit être mis en oeuvre en bonne et due forme afin de s'assurer que les dosimètres, ainsi que le matériel d'essai et de mesure associé, soient calibrés et maintenus dans les limites de précision spécifiées, jugées suffisantes pour un mesurage individuel.

Le système dosimétrique doit être étalonné aux intervalles spécifiés afin de s'assurer que la précision des mesures de dose absorbée est maintenue dans les limites requises. L'étalonnage de l'ensemble du système doit comprendre l'irradiation des dosimètres à des niveaux connus de dose, suivie par une lecture des appareils de mesure à utiliser pour l'installation d'irradiation. L'étalonnage doit être documenté et imputable à des étalons nationaux, comme pour chaque type d'instruments de mesure figurant ci-dessous. Le but est d'obtenir une précision de mesure maintenue dans les limites spécifiées. Consulter ASTM 1991b ainsi que McLaughlin et autres (1989a) pour toute directive supplémentaire.

C1.3.1 Dosimètres

Chaque lot de dosimètres doit être étalonné par irradiation d'échantillons représentatifs de dosimètres à des niveaux connus de doses absorbées. Cette irradiation peut être effectuée dans des laboratoires d'étalons nationaux ou de référence. D'autres méthodes consistent à irradier les dosimètres dans les locaux de l'utilisateur conformément à des dosimètres de référence établis par des laboratoires d'étalons nationaux ou de référence. On peut également utiliser un champ radioactif dont l'étalonnage est réalisé par un laboratoire d'étalons.

Les modes opératoires d'étalonnage nécessitent généralement la définition d'une courbe d'étalonnage contenant les valeurs de réponse des dosimètres à la dose absorbée. Dans la pratique, cette courbe correspond à une équation réponse/dose, à partir de laquelle les valeurs appropriées, sous forme de tableau, peuvent être obtenues.

Un mode opératoire documenté doit spécifier les détails de l'étalonnage dosimétrique ainsi que les prescriptions de qualité.

Lorsque les caractéristiques de la réponse du dosimètre à l'irradiation diffèrent selon les conditions environnementales, tels que le débit de dose, l'humidité ou la température, il convient d'appliquer les corrections appropriées ou d'étalonner le dosimètre sous des conditions proches de celles de l'utilisation souhaitée.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION -----	4
 CHAPITRE I : LA STERILISATION	
I-1 - HISTORIQUE -----	5
I-2 -GENERALITES -----	7
I-3 - LOIS ET PARAMETRES MESURABLES -----	8
I-4 - LES DIFFERENTES METHODES	
I-4-1 - Produits stérilisés dans leur conditionnement définitif:	
I-4-1-1 - La vapeur d'eau -----	11
I-4-1-2 - La chaleur sèche -----	12
I-4-1-3 - La stérilisation par les gaz	
I-4-1-3-1 - L'oxyde d'éthylène -----	13
I-4-1-3-2 - Le formol -----	14
I-4-1-3-3 - L'acide peracétique -----	14
I-4-1-4 - La stérilisation par rayonnements	
I-4-1-4-1 - Les rayonnements Gamma -----	15
I-4-1-4-2 - Les rayonnements Béta -----	15
I-4-1-4-3 - Les rayonnements Ultra-violets -----	16
I-4-1-5 - Stérilisation par plasma de peroxyde d'hydrogène ---	16
I-4-2 - Produits ne pouvant être stérilisés dans leurs conditionnements définitifs: filtration sur membrane et préparation aseptique. ----	18
 CHAPITRE II : LA RADIOSTERILISATION PAR RAYONNEMENTS GAMMA	
II-1- PRINCIPE -----	20
II-2 - DESCRIPTION D'UN CENTRE D'IONISATION AU COBALT 60 -----	23
II-3 - PARAMETRES DE STERILISATION	
II-3-1 - Dose absorbée -----	25
II-3-2 - Dose stérilisante -----	25
II-3-3 - La durée d'exposition -----	26

II-4 - EFFETS DE LA RADIOSTERILISATION

II-4-1 - Introduction	26
II-4-2 - Les radicaux libres	
II-4-2-1 - Historique	27
II-4-2-2 - Définition	27
II-4-2-3 - Mécanismes d'actions	27
II-4-3 - Effets sur les matériaux	30

II-5 - APPLICATIONS

II-5-1 - Les aliments	33
II-5-2 - Les pansements	36
II-5-3 - Matières premières	37
II-5-4 - Produits médicamenteux	37
II-5-5 - La chirurgie	39
II-5-6 - En médecine	40
II-5-7 - Les déchets	40
II-5-8 - Coloration de pierre	40
II-5-9 - Chimie des plastiques	40

II-6- AVANTAGES-INCONVENIENTS DE LA METHODE

II-6-1 - Avantages	41
II-6-2 - Inconvénients	41

CHAPITRE III : TEXTES EXISTANTS SUR LE CONTRÔLE DES PRODUITS IRRADIES

III-1 - INTRODUCTION	43
III-2 - PHARMACOPEE EUROPEENNE	43
III-3 - PHARMACOPEE AMERICAINE	45
III-4 - DIRECTIVE EUROPEENNE III/9009/90 EN	45

III-5 - NORME AFNOR -----46**III-6 - LES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION ---46****CHAPITRE IV: APPLICATION AU METRONIDAZOLE****IV-1 - PROPRIETES DU METRONIDAZOLE**

IV-1-1 - Formule brute et développée -----48

IV-1-2 - Classe thérapeutique -----48

IV-1-3 - Spectre d'action -----48

IV-1-4 - Mécanisme d'action -----48

IV-1-5 - Indications thérapeutiques -----49

IV-1-6 - Le Métronidazole dans le Monde -----49

IV-2 - CONTRÔLE PHARMACOPEE APRES IRRADIATION

IV-2-1 - Identification

IV-2-1-1 - Produit non irradié -----50

IV-2-1-2 - Produit irradié à 10 kGy -----51

IV-2-1-3 - Produit irradié à 25 kGy -----52

IV-2-2 - Essai

IV-2-2-1 - Produit non irradié -----53

IV-2-2-2 - Produit irradié à 10 kGy -----54

IV-2-2-3 - Produit irradié à 25 kGy -----55

IV-2-3 - Dosage -----56

IV-3 - DOSAGE DE NITRITES -----56

IV-4 - CONTRÔLE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

IV-4-1 -Théorie chromatographique	
IV-4-1-1 - Définition -----	57
IV-4-1-2 - Répartition des substances au cours de la migration -----	57
IV-4-1-3 - La théorie des plateaux -----	58
IV-4-2 - Résultats -----	59

IV-5 - CONTRÔLE PAR RESONANCE PARAMAGNETIQUE ELECTRONIQUE

IV-5-1 - Principe de la méthode -----	61
IV-5-2 - Théorie -----	61
IV-5-3 - Spectre RPE des radicaux libres	
IV-5-3-1 - Le facteur g -----	63
IV-5-3-2 - Couplage hyperfin -----	63
IV-5-4 - Appareillage -----	64
IV-5-5 - Résultats -----	66

CHAPITRE VI : CONCLUSION -----	69
--------------------------------	----

. REFERENCES -----	70
--------------------	----

1 - REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES -----	71
---------------------------------------	----

2 - BIBLIOGRAPHIE -----	74
-------------------------	----

. TABLE DES MATIERES -----	104
----------------------------	-----

. ANNEXES -----	108
-----------------	-----

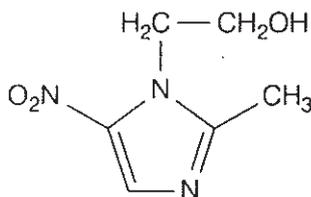
ANNEXES

Annexe I



MÉTRONIDAZOLE

Metronidazolum


 M_r 171,2

Le métronidazole contient au minimum 99,0 pour cent et au maximum l'équivalent de 101,0 pour cent de (nitro-5 méthyl-2 imidazolyl-1)-2 éthanol, calculé par rapport à la substance desséchée.

CARACTÈRES

Poudre cristalline, blanche ou jaunâtre, peu soluble dans l'eau, dans l'acétone, dans l'alcool et dans le chlorure de méthylène, très peu soluble dans l'éther.

IDENTIFICATION

L'identification C peut être omise quand les identifications A, B et D sont effectuées. Les identifications B et D peuvent être omises quand les identifications A et C sont effectuées.

A. Le point de fusion (V.6.11.1) du métronidazole est de 159 °C à 163 °C.

B. Dissolvez 40,0 mg de métronidazole dans de l'acide chlorhydrique 0,1N et complétez à 100,0 ml avec le même acide. Prélevez 5,0 ml de solution et complétez à 100,0 ml avec de l'acide chlorhydrique 0,1N. Examinée de 230 nm à 350 nm (V.6.19), la solution présente un maximum d'absorption à 277 nm et un minimum d'absorption à 240 nm. L'absorbance spécifique au maximum est de 365 à 395.

C. Examinez le métronidazole par spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (V.6.18). Les maximums d'absorption du spectre obtenu

avec la substance à examiner correspondent en position et en intensité relative à ceux du spectre obtenu avec le métronidazole SCR. Examinez les substances sous forme de pastilles.

- D. A 10 mg environ de métronidazole, ajoutez 10 mg environ de poudre de zinc R, 1 ml d'eau et 0,25 ml d'acide chlorhydrique dilué R. Chauffez au bain-marie pendant 5 min. Refroidissez. La solution donne la réaction des amines primaires aromatiques (V.3.1.1).

ESSAI

Aspect de la solution. Dissolvez 1,0 g de métronidazole dans de l'acide chlorhydrique 1N et complétez à 20 ml avec le même acide. La solution n'est pas plus fortement opalescente que la suspension témoin II (V.6.1) et n'est pas plus fortement colorée que la solution témoin JV₆ (Procédé II, V.6.2).

Substances apparentées. Opérez par chromatographie sur couche mince (V.6.20.2) en utilisant une plaque recouverte de gel de silice GF₂₅₄ R.

Solution à examiner. Dissolvez 0,10 g de métronidazole dans de l'acétone R et complétez à 10 ml avec le même solvant.

Solution témoin. Prélevez 0,3 ml de solution à examiner et complétez à 100 ml avec de l'acétone R.

Déposez séparément sur la plaque 20 µl de chaque solution. Développez sur un parcours de 15 cm avec un mélange de 1 volume d'eau, de 10 volumes d'alcool R, de 10 volumes de diéthylamine R et de 80 volumes de chloroforme R. Laissez sécher la plaque à l'air. Examinez en lumière ultraviolette à 254 nm. S'il apparaît d'autres taches que la tache principale dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, aucune d'entre elles n'est plus intense que la tache du chromatogramme obtenu avec la solution témoin.

Métaux lourds (V.3.2.8). 1,0 g de métronidazole satisfait à l'essai limite C des métaux lourds (20 ppm). Préparez le témoin avec 2 ml de solution à 10 ppm de plomb (Pb) R.

Perte à la dessiccation (V.6.22). Déterminée à l'étuve à 100-105 °C pendant 3 h sur 1,000 g de métronidazole, la perte à la dessiccation n'est pas supérieure à 0,5 pour cent.

Cendres sulfuriques (V.3.2.14). Déterminé sur 1,0 g de métronidazole, le taux des cendres sulfuriques n'est pas supérieur à 0,1 pour cent.

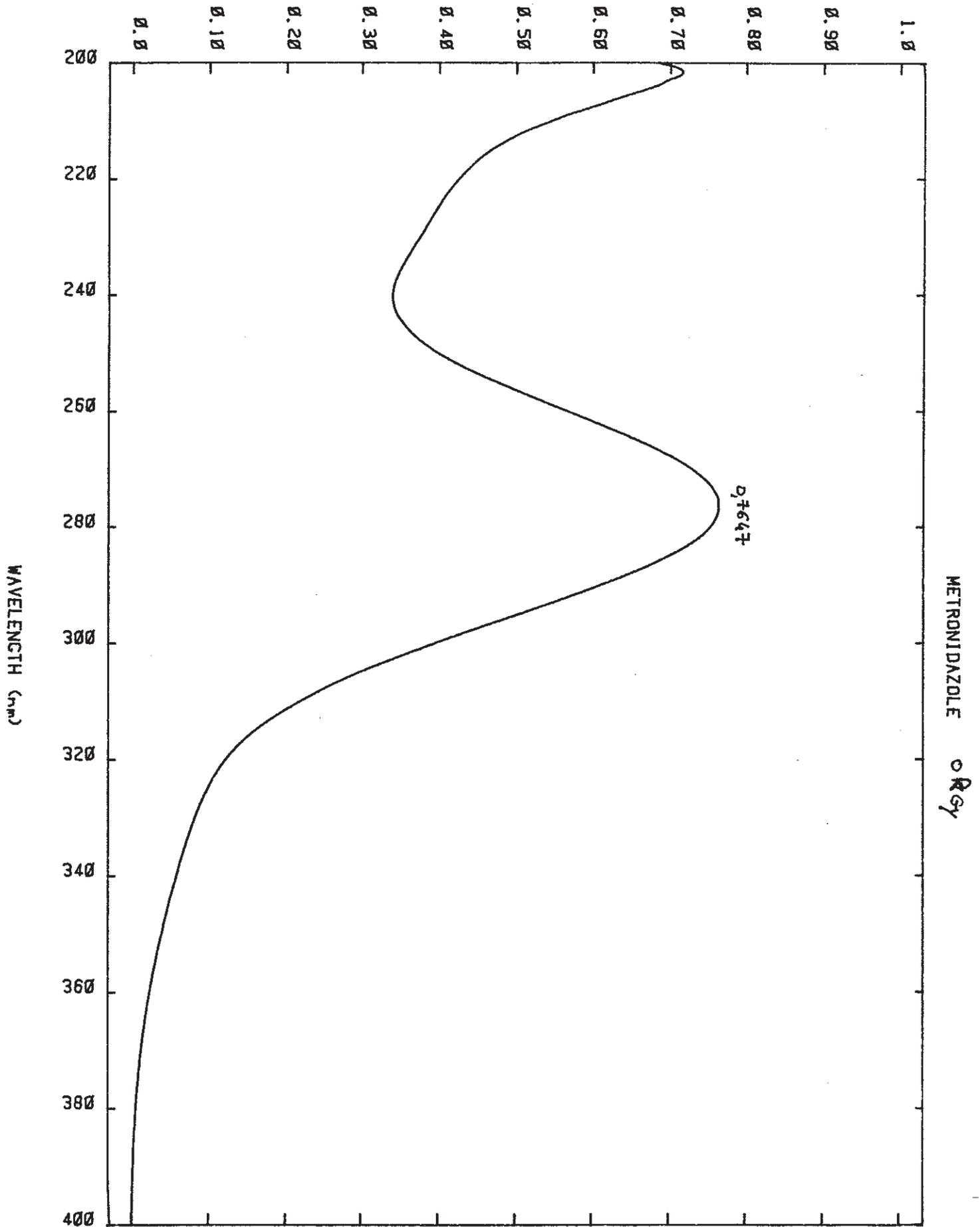
DOSAGE

Dissolvez 0,150 0 g de métronidazole dans 50 ml d'acide acétique anhydre R. Effectuez le dosage des bases en milieu non aqueux (V.3.5.5) en titrant par l'acide perchlorique 0,1N. Déterminez le point de fin de titrage par potentiométrie (V.6.14).

1 ml d'acide perchlorique 0,1N correspond à 17,12 mg de $C_6H_9N_3O_3$.

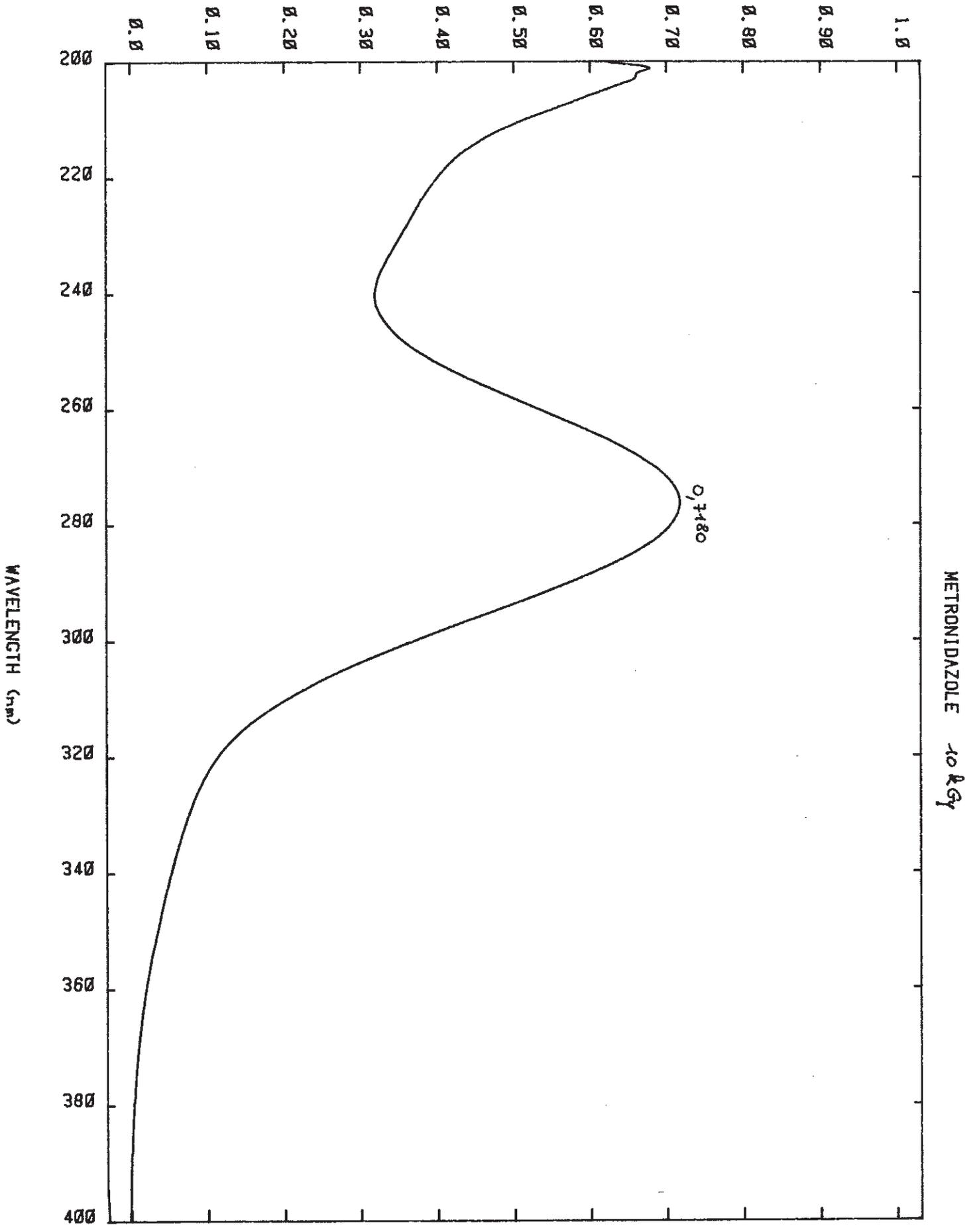
CONSERVATION

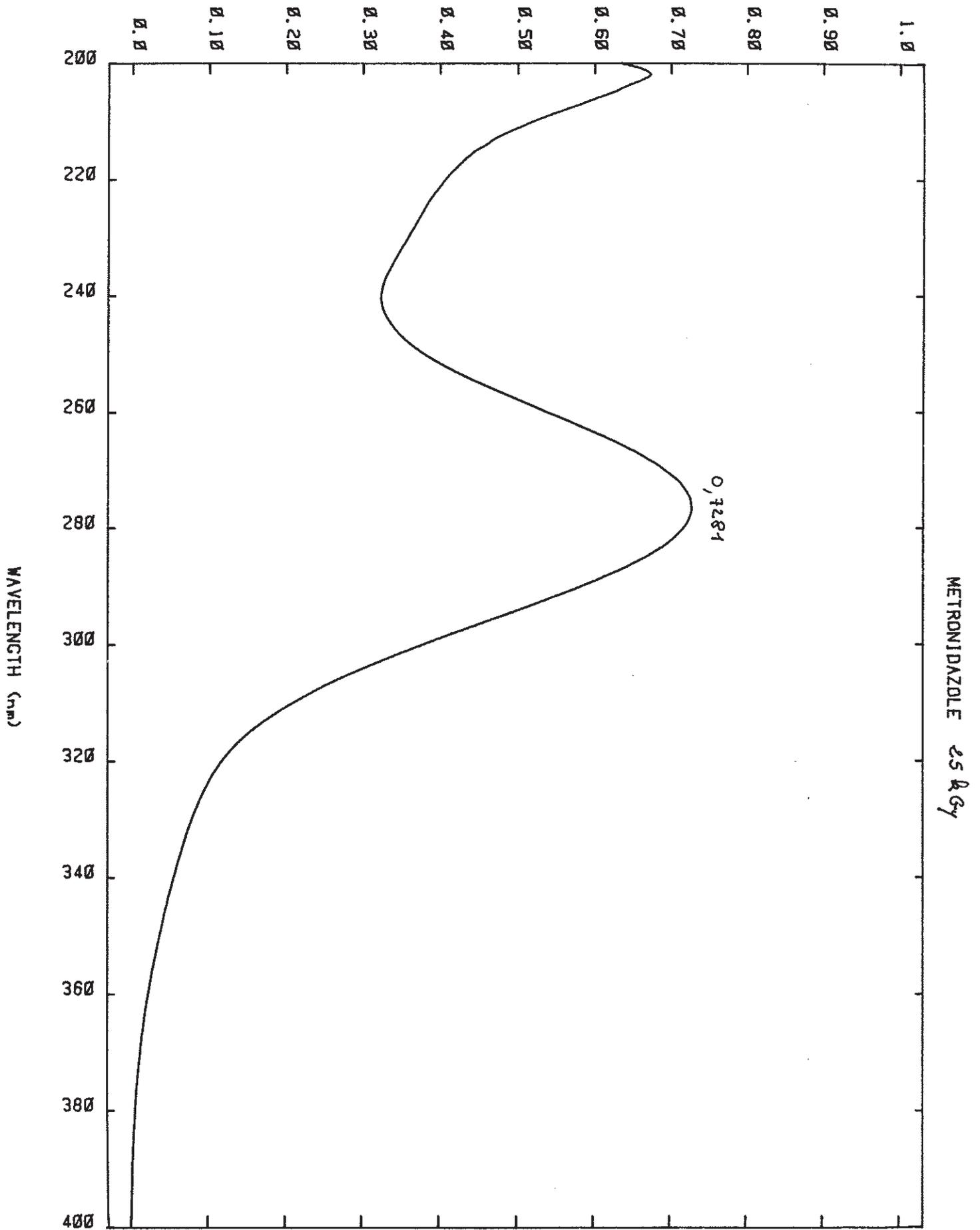
En récipient bien fermé, à l'abri de la lumière.



Annexe III

ABSORBANCE

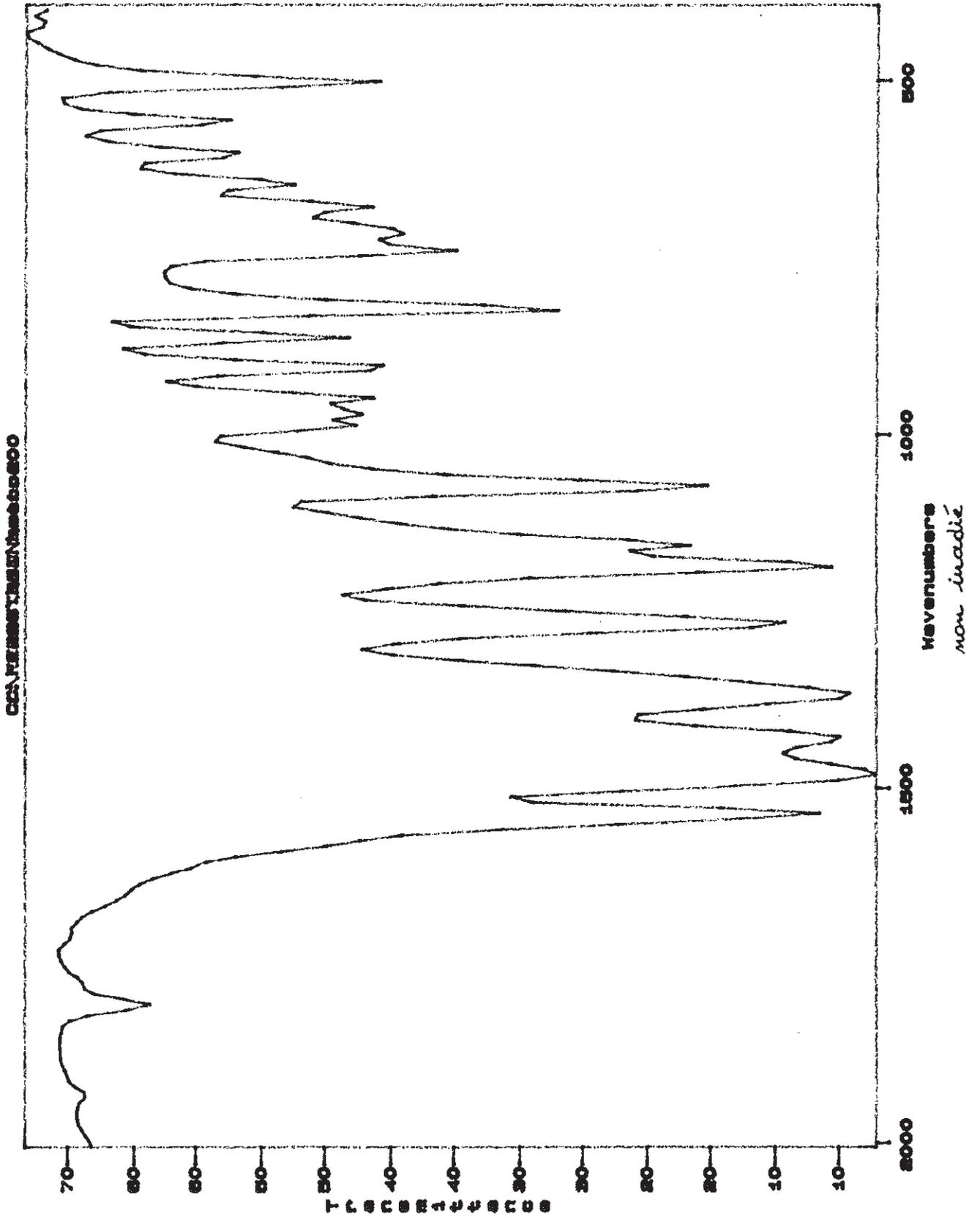




METRONIDAZOLE 25 R.G.

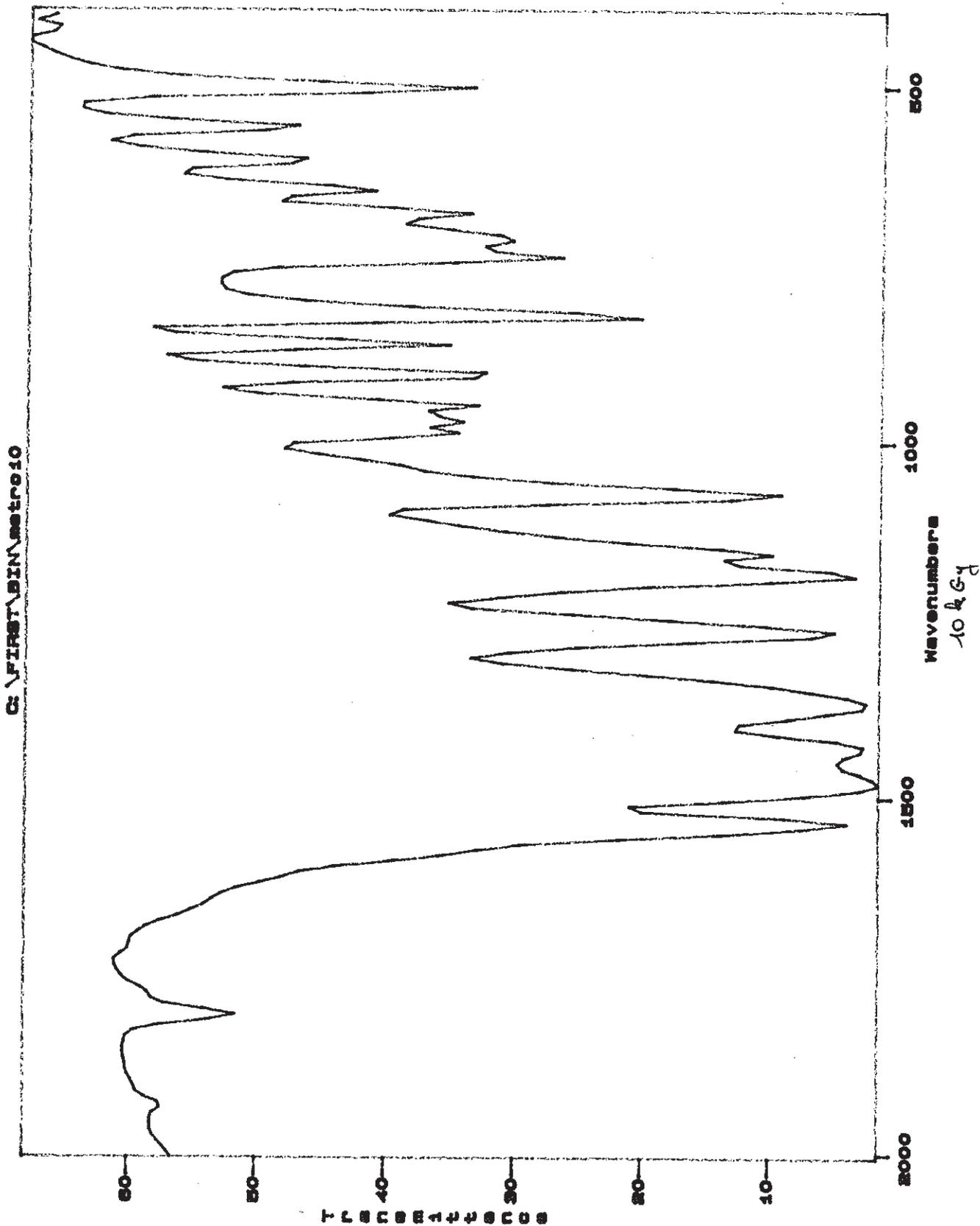
Annexe V

INFRA-ROUGE



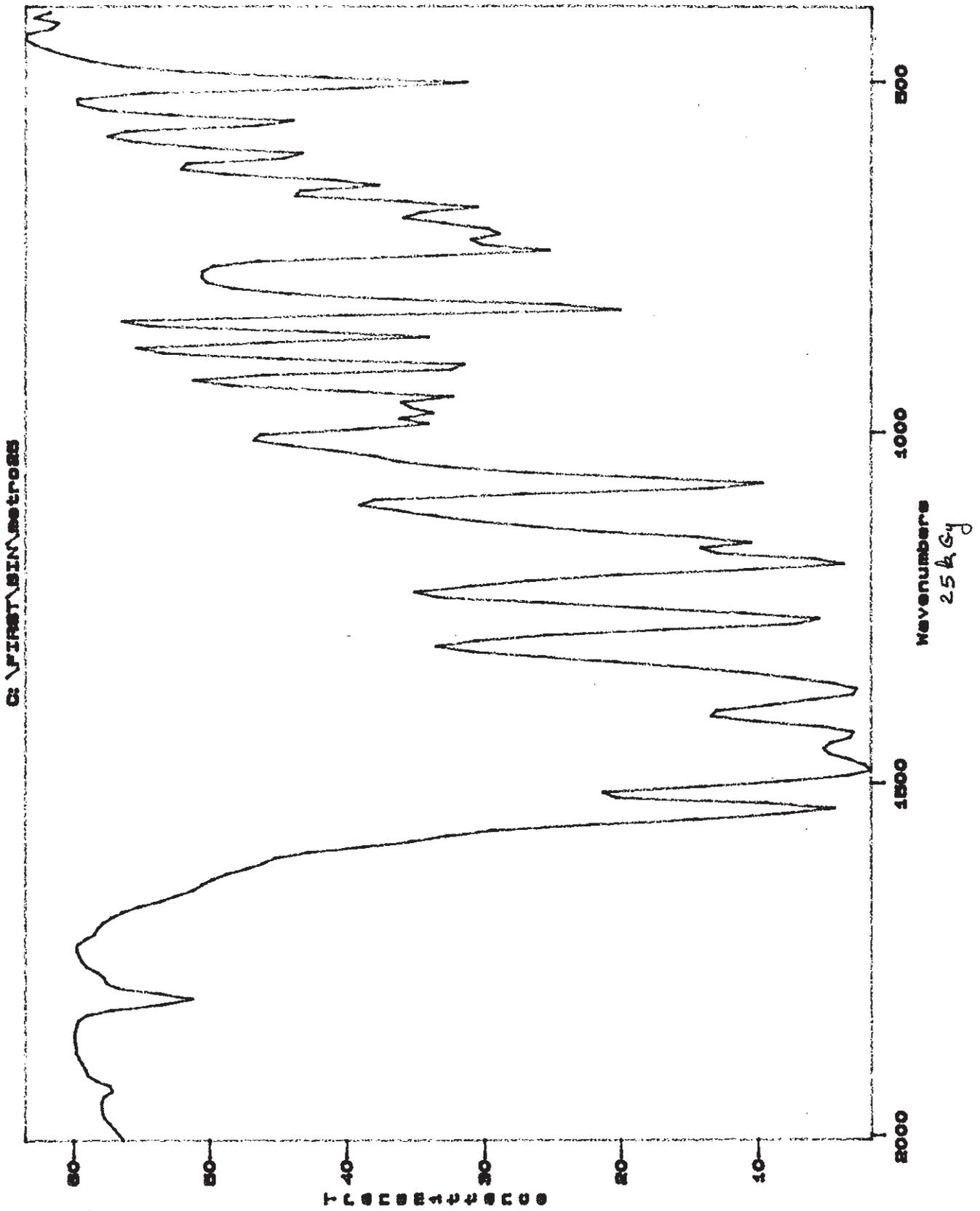
Annexe VI

INFRA-ROUGE



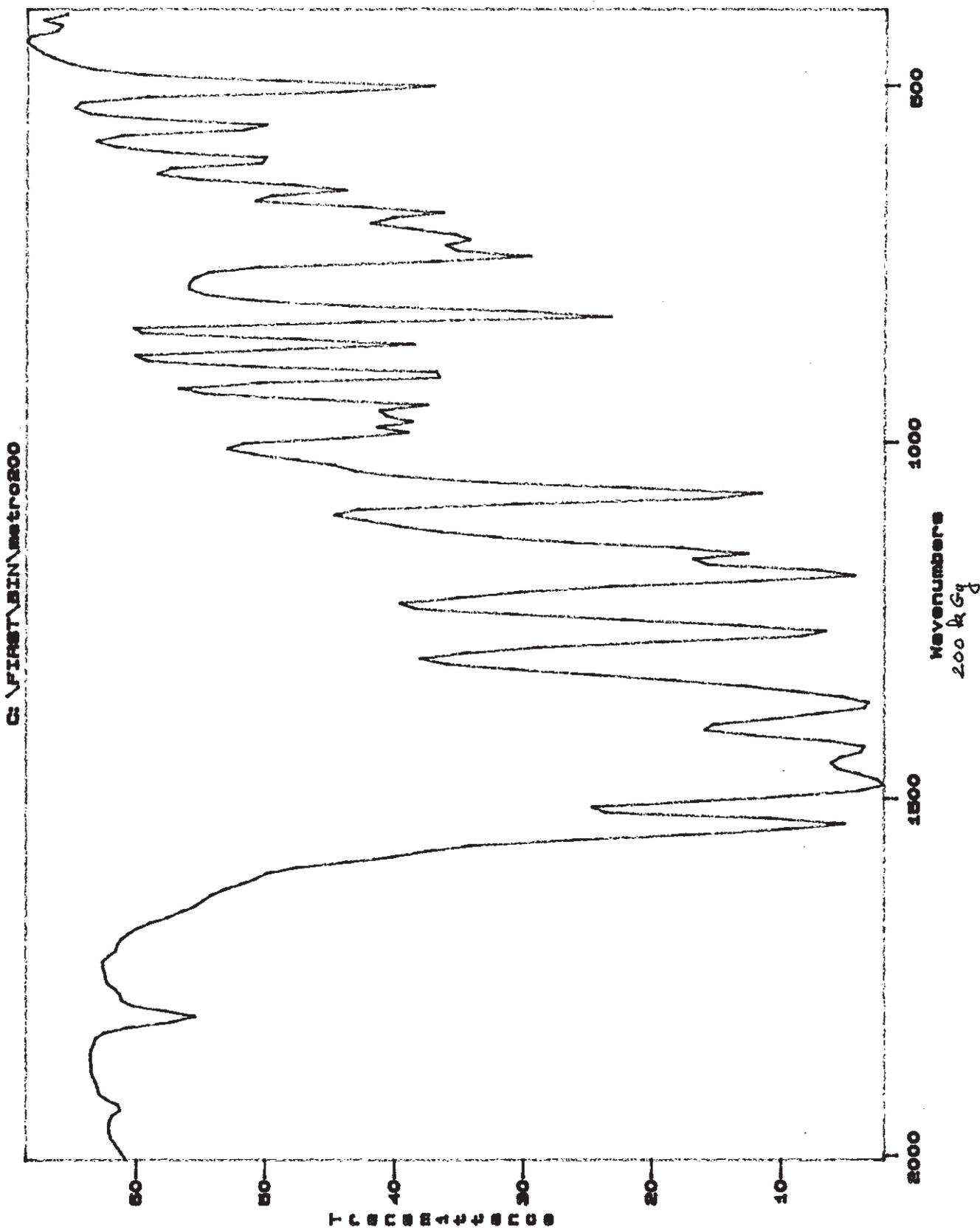
Annexe VII

INFRA - ROUGE



Annexe VIII

INFRA - ROUGE



55

GALY (Stéphane).- Radiostérilisation des médicaments : cas du métronidazole.
-120 f.; tabl.;30 cm (Thèse: Pharm.; Limoges; 1995).

RESUME :

Cette thèse se propose dans sa partie théorique de détailler le principe de la radiostérilisation gamma.

Cette ionisation sera testée en pratique sur le métronidazole.

Celui-ci subira les contrôles Pharmacopée auxquels s'ajouteront la CLHP, la RPE et le dosage des nitrites.

Ce contrôle sera suivi d'une discussion sur les procédés adéquats de contrôle et de détection de cette stérilisation pour assurer l'innocuité du produit final à administrer au malade.

SUMMARY :

This doctoral Thesis of Pharmacy dealing in the theoretical part with the description of gammaradiosterilization.

In practical, this ionisation will be tested on metronidazole by different method of control:

- HPLC
- ESR
- nitrit dosage

The control will be follow by a discussion about the establishment by adequate investigations that the irradiation treatment does not cause the drug to become unsafe or otherwise unsuitable for use.

MOTS-CLES : Radiostérilisation, métronidazole, Pharmacopée, CLHP, RPE.

JURY: Président : Monsieur le Professeur Bernard.

Juges : Monsieur Jean- Phillippe Basly.

Monsieur Jean-Luc Duroux.

Monsieur Charles Auxéméry.

