

Contrôles microbiologiques

Formation TOP opérateur en production 29.11.2022 + 15.12.2022

Isabelle Constantin

Responsable production
Institut für Spitalpharmazie
Inselspital Bern

Agenda

- Définition
- Origine des contaminations microbiennes
- Milieu de culture
- Contrôle des salles
- Contrôle du personnel
- Contrôle des processus



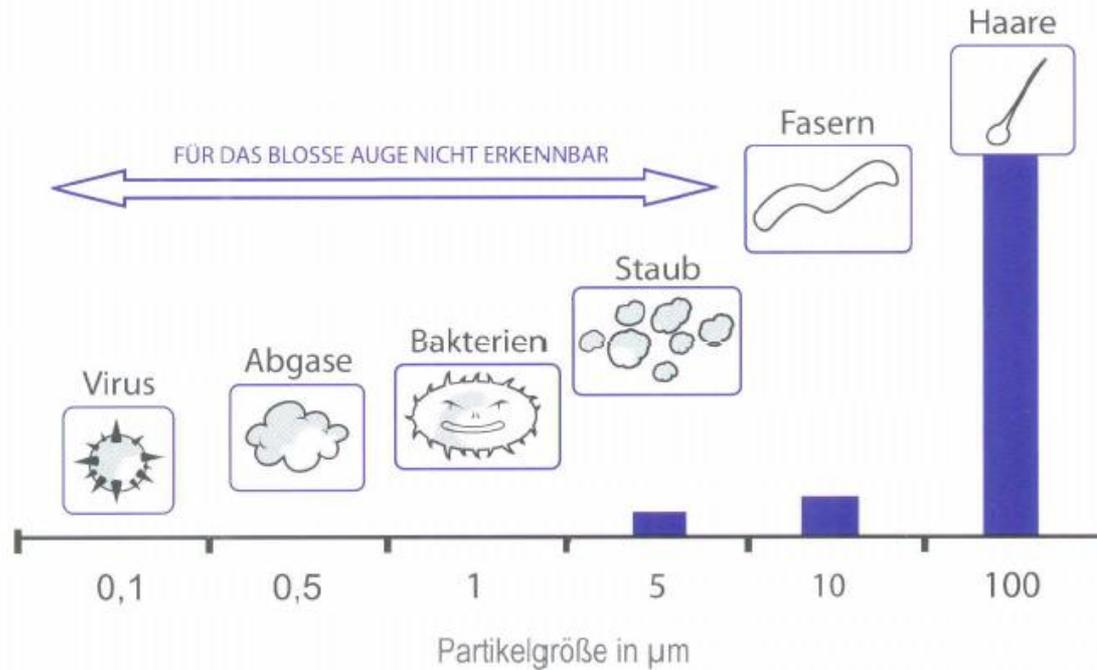
Définition

Les **contrôles microbiologiques** ont pour objectif de détecter les microorganismes (bactéries, champignons,...) présents dans un endroit prédéfini

- Air
- Surface
- Personnel
- Eau
- Médicaments
- ...

Microorganismen

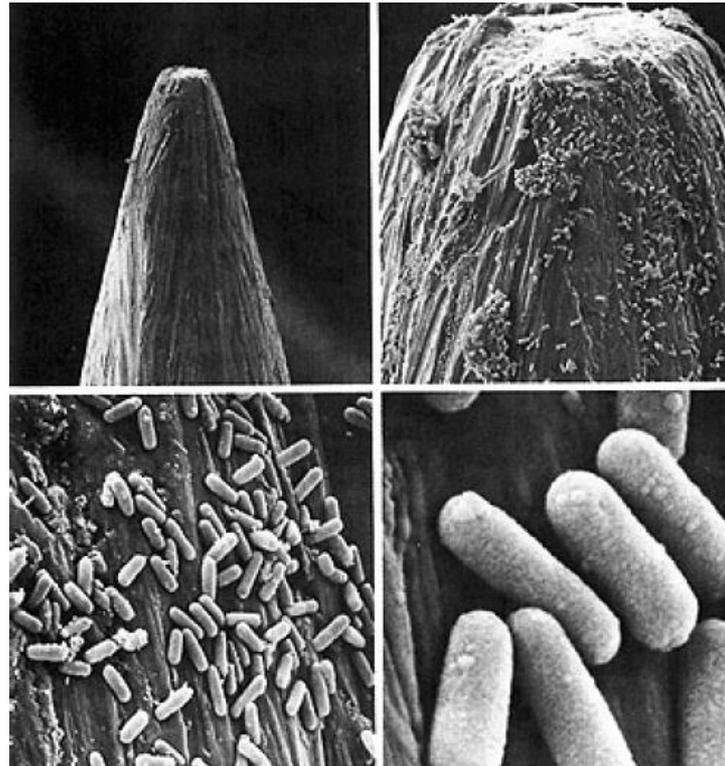
invisible à l'oeil nu



source: decontam GmbH

Microorganismen

Bactérie sur la pointe d'une aiguille



source: http://www.gmuender.org/bt/viren_bakterien1.pdf

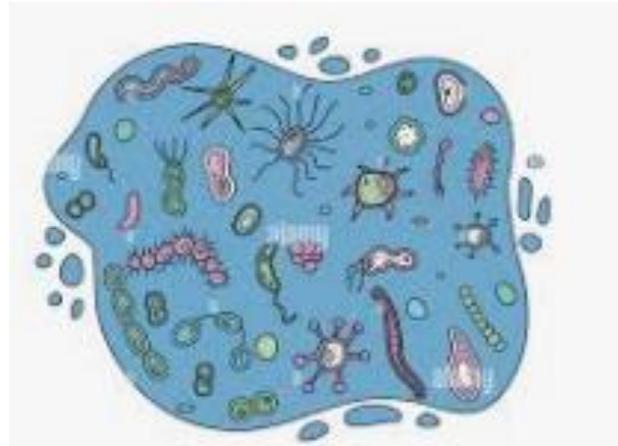


Origine des contaminations microbiennes

D'où viennent les microorganismes en production?

homme

Matériel (carton,
consommable,
...)



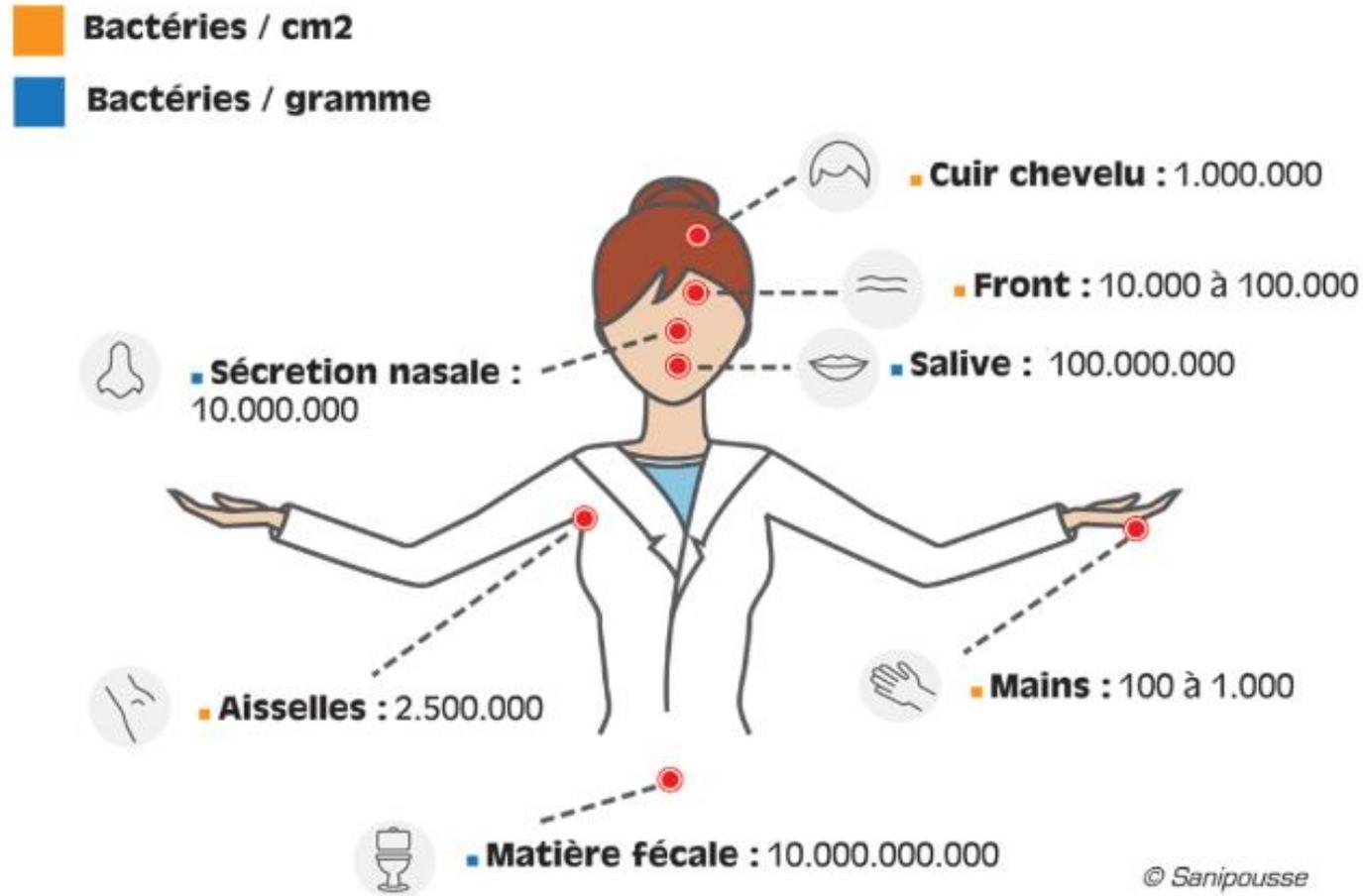
eau

air

documentation



Origine des contaminations microbiennes



© Sanipousse



Comment se protéger des microorganismes?

Infrastructure

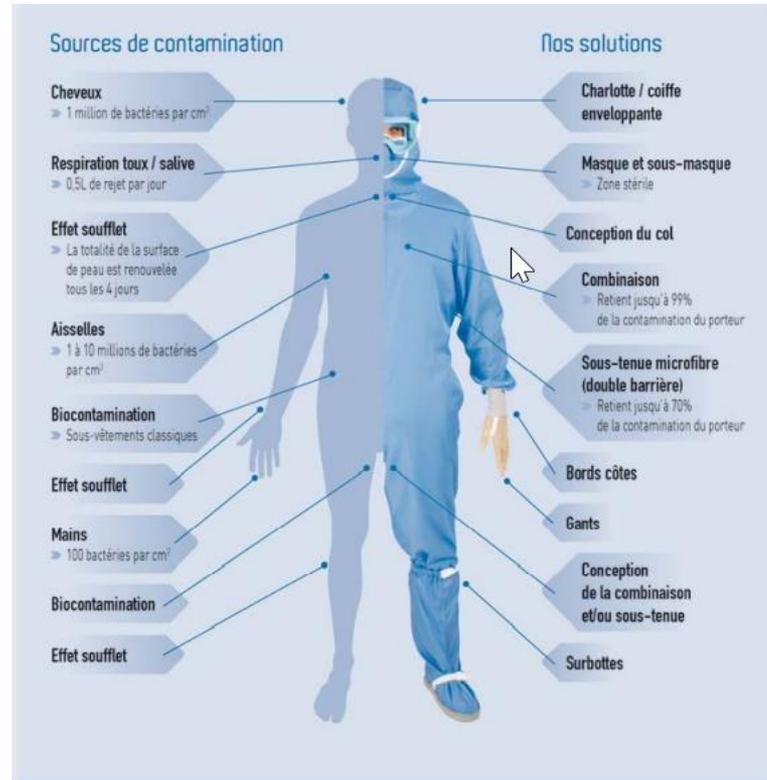
- ❖ Salle blanche (surfaces lisses, pas de fenêtres qui s'ouvrent, minimum de choses,...)
- ❖ Traitement de l'air à travers des filtres
- ❖ Renouvellement de l'air



Comment se protéger des microorganismes?

Opérateur

❖ Tenue adaptée





Comment se protéger des microorganismes?

Comportement

- ❖ Procédure d'habillage
- ❖ Nettoyage des mains
- ❖ mouvements lents,
- ❖ parler le minimum
- ❖ Pas de bijoux (piercing), maquillage, vernis, faux ongles, parfum,
- ❖ Pas de boisson ni de nourriture (bonbon, chewing gum)
- ❖ Fumeur (30 minutes entre dernière cigarette et entrée en ZAC)

Procédés

- ❖ Choix des consommables
- ❖ Désinfection à l'entrée des salles
- ❖ nettoyage

Milieu de culture

Bouillon de trypcase de soja

- Simulation des procédés

Gélose de contact ou de boîte de pétri

Gélose de tryptcase de soja

- Contrôle des surfaces
- Contrôle des opérateurs
- Contrôle de l'air



Incubation et résultats

Milieu de culture liquide

- 7 jours à T amb (20 – 25°C)
- 7 jours à 32°C

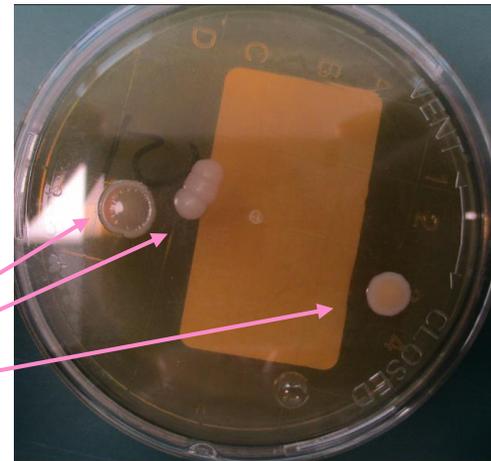


trouble: contamination microbienne
solution limpide: aucune contamination

Boîte de pétri

- 5 jours à 32°C

Comptage du nb de colonies



Contrôles des salles

Selon la pharmacopée helvétique



Valeurs-limites pour la contamination microbienne (a)

Classe	Echantillon d'air (ufc par m ³)	Boîtes de pétri Ø 90 mm (ufc par 4 h) (b)	Géloses de contact Ø 55 mm (ufc par plaque)	Empreintes des gants 5 doigts (ufc par gant)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini

Contrôle des salles

Classe A

- Isolateur
- Flux laminaire (FL)
- plafonnier



Photos : Getinge-La Calhène

Source: Marion-Lorraine Poncet CHUV
Maîtrise universitaire en pharmacie, 2009.



Contrôle des salles



Classe B

- Environnement direct FL pour travail aseptique (cyto, aseptique)

Classe C

- Fabrication de solutions destinées à être filtrées +/- autoclavées
- «Environnement direct FL pour travail aseptique (cyto, aseptique)»
 - > uniquement avec analyse de risques

Classe D

- Environnement pour isolateur
- Travail administratif

Echantillon d'air (actif)

Préleveur d'air

ISPI: 1000 litres prélevé



Valeurs-limites pour la contamination microbienne (a)				
Classe	Echantillon d'air (ufc par m ³)	Boîtes de pétri Ø 90 mm (ufc par 4 h) (b)	Géloses de contact Ø 55 mm (ufc par plaque)	Empreintes des gants 5 doigts (ufc par gant)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	Non défini
D	1000	100	50	Non défini

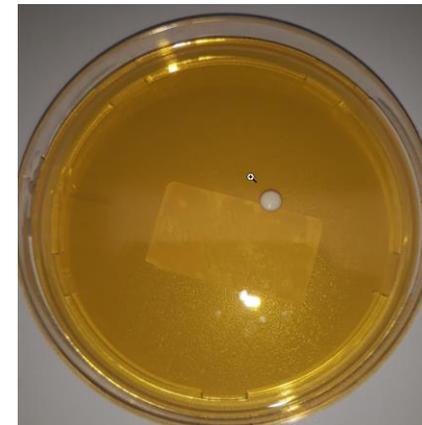
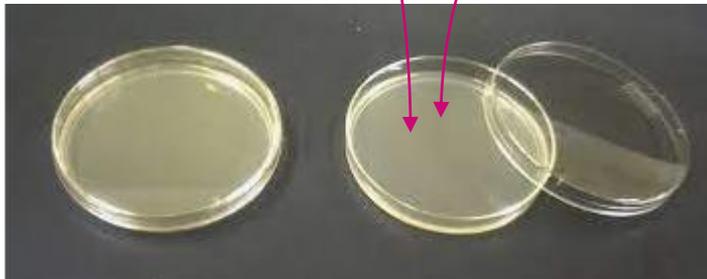


Boîte de pétri (passif)

Sédimentation passive, boîte ouverte sur la place de travail
 => Max 4h pour éviter que la gélose se sèche



Valeurs-limites pour la contamination microbienne (a)				
Classe	Echantillon d'air (ufc par m ³)	Boîtes de pétri Ø 90 mm (ufc par 4 h) (b)	Géloses de contact Ø 55 mm (ufc par plaque)	Empreintes des gants 5 doigts (ufc par gant)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini



Gélose de contact

sol,
Surface de travail
Poignée
Mur,...



Valeurs-limites pour la contamination microbienne (a)				
Classe	Echantillon d'air (ufc par m ³)	Boîtes de pétri Ø 90 mm (ufc par 4 h) (b)	Géloses de contact Ø 55 mm (ufc par plaque)	Empreintes des gants 5 doigts (ufc par gant)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini



Fréquence du contrôle des salles



	Zone de travail (A)	Environnement immédiat
Echantillonnage de l'air	4 fois par année	4 fois par année
Plaques de sédimentation	A chaque séance de travail	Hebdomadairement
Contrôle des surfaces (gélose de contact)	hebdomadairement	mensuellement



Contrôle des opérateurs: empreinte de gants

Empreintes de gants, d'avant bras
ventre, front,...



Valeurs-limites pour la contamination microbienne (a)				
Classe	Echantillon d'air (ufc par m ³)	Boîtes de pétri Ø 90 mm (ufc par 4 h) (b)	Géloses de contact Ø 59 mm (ufc par plaque)	Empreintes des gants 5 doigts (ufc par gant)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	Non défini
D	200	100	50	Non défini





Fréquence du contrôle des empreintes de gants

	Zone de travail (A)	Environnement immédiat
Empreintes des gants	A la fin de chaque journée de travail	quotidiennement
Avant-bras	À définir	À définir

Microorganismes trouvés à l'ISPI (ZAC A/B 2021)



Contrôle

Microorganismes

Les plus communs

Empreintes de gants,

Brevibacillus species
Corynebacterium species
Bacillus species
Staphylo coagulase negative

Staphylocoque coag. Neg

Provient de l'homme
Détruit par EtOH und Isopropanol

Empreintes de surface

Penicillium species
Staphylo coagulase negative
Brachybacterium conglomeratum
Staphylo coagulase negative



Bacillus species

Plaque de sédimentation

Staphylo coagulase negative
Staphylo coagulase negative

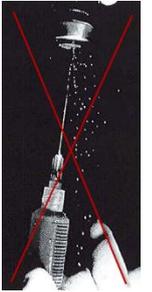
Provient de l'environnement
Contiennent des spores, ne sont pas détruites par -OH mais par H₂O₂

Contrôle de l'air

4 x Staphylo coagulase negative
+micrococcus species +
corynebacterium species

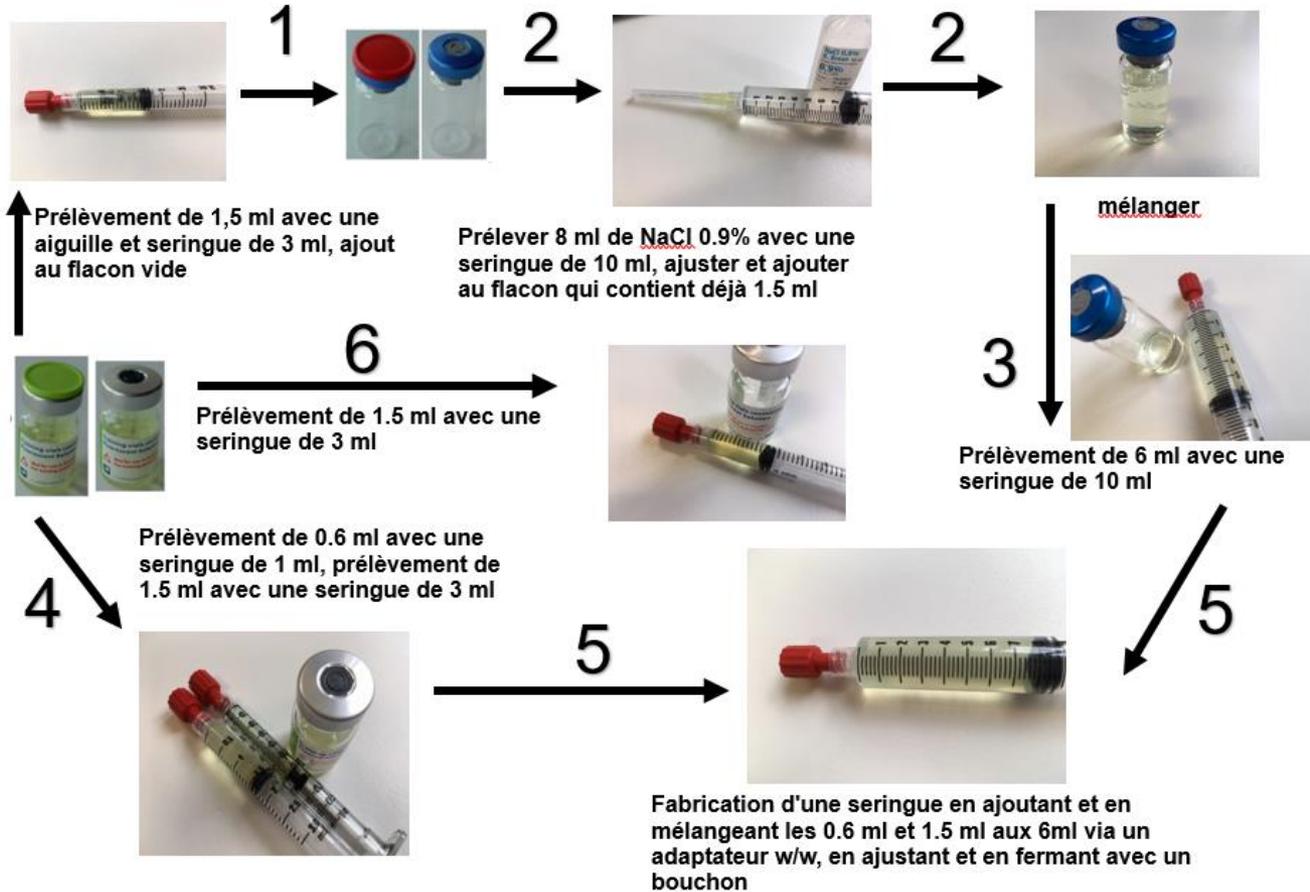


Contrôle des opérateurs: manipulation avec aiguille



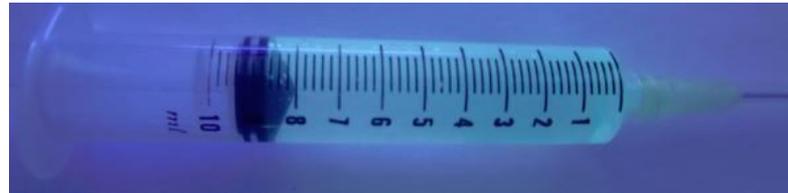
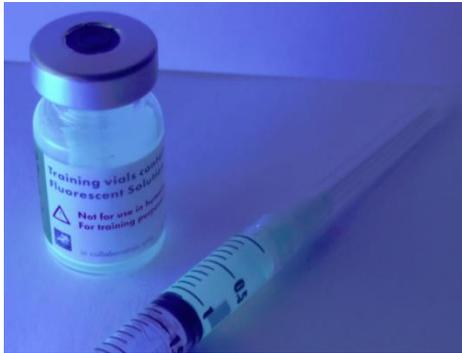


Contrôle des opérateurs: manipulation avec aiguilles





Contrôle des opérateurs: manipulation avec aiguilles



En cas de contamination, répétition de la théorie et pratique



Contrôle des processus



Les validations de procédés **aseptiques** dans les étapes de production doivent être faites avec des milieux de culture complexes afin de simuler le travail dans des conditions aseptiques (**Media Fills**). Les simulations des procédés ont également pour objet de **vérifier** si les **opérateurs** prenant part à la production aseptique disposent des compétences et aptitudes spécifiques en matière de techniques de production aseptique.

=> au minimum 1 fois par année

Contrôle des processus



Media Fill: milieu de culture liquide à base de trypticase soja

Simulation des processus avec media fill:

- Avant la première production, si le processus est nouveau
- Répétition au minimum 1 fois par année, en fonction du «worse case»

Contrôle des processus: exemple à l'ISPI

Production aseptique dans 3 salles différentes:



Contrôle des processus: exemple à l'ISPI



Critères évalués	«worse case»	pourquoi
Volume de remplissage	grand	Remplissage plus lent
Volume de remplissage	petit	Plus de manipulations en fct du tps
Grandeur du lot	grand	Durée plus longue
Remplissage	Système ouvert	Plus de risque de contamination
remplissage	manuel	Plus de risque de contamination mais impossible pour un gd lot
Filtration stérilisante	sans	Plus de risque de contamination
Surface de contact entre le produit et l'environnement	grand	Plus de risque de contamination

Contrôle des processus: exemple à l'ISPI



Plusieurs procédés de fabrication simulés dans une production

⇒ Exemple: remplissage de mono-doses, de collyres et de seringues dans un même protocole

⇒ Contrôle de la salle (sédimentation, plaque de contact,...)

⇒ Contrôle d'empreintes de gants

⇒ Contrôle des procédés d'habillement, de fabrication, nettoyage,...

⇒ Possibilité de filmer toute la production

But de ces contrôles



- Pour les inspections?
- Pour le chef?
- Pour un examen?



- Pour la sécurité du médicament et donc pour le patient



But de ces contrôles

- Préparer en imaginant que le médicament est pour nous ou un de nos proches
- Qualité garantie
- Patient
 - ❖ Malade
 - ❖ Immunodéficient (cyto contre cellules cancéreuses mais pas contre infections)
 - ❖ Ne pas rajouter un risque supplémentaire



But de ces contrôles

Démontrer que le **personnel** est apte a travailler de manière **stérile** dans les **locaux appropriés**.....

....et répéter afin que la qualité reste omniprésente

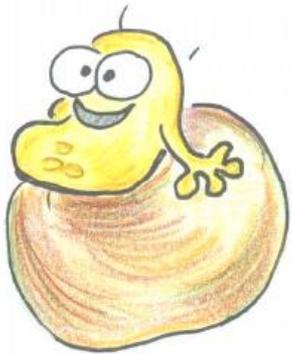
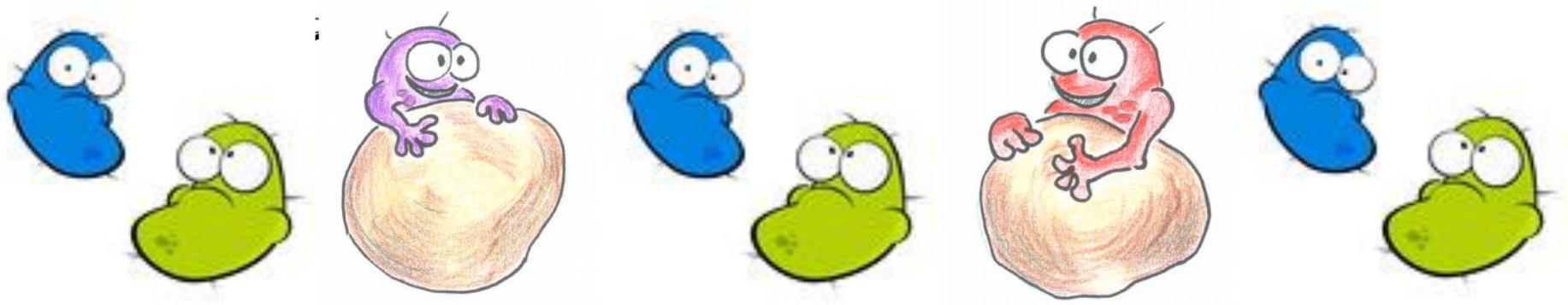


Formation du personnel

- Théorie
- Montrer
- Pratiquer

*T*ell me and I forget
*T*each me and I remember
*I*nvolve me and I learn.
Benjamin Franklin

- Lecture de documents
- Création de fiches / cartes / jeu
- Vidéo
- Simulation virtuelles
-



Merci pour votre attention!!

