

Contrôles bactériologiques des productions pharmaceutiques en milieu hospitalier

Dominique Blanc

Division autonome de médecine préventive hospitalière
Centre Hospitalier Universitaire Vaudois

CHUV/DAMPH/Cours/DB/Ctrl_bac_productions_pharm.ppt

Création d'un nouveau médicament

Quelle qualité est requise?

Ph. Eur. 5.1.4. Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques

Comment atteindre cette qualité?

- Contrôle des matières premières
- BPF
- Etude du conditionnement, procédé de fabrication, etc.

Comment conserver cette qualité?

Ph. Eur. 5.1.3. Efficacité de la conservation antimicrobienne

Fabrication d'un médicament

Contrôle de la qualité après fabrication

Ph. Eur. 2.6.1. Essai de stérilité

Ph. Eur. 2.6.12. Contrôle microbiologique des produits non stériles
(dénombrement des germes aérobies viables totaux)

Ph. Eur. 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles
(recherche de microorganismes spécifiés)

Remarque: depuis 1998, la Pharmacopée helvétique se réfère à la Ph. Eur. pour ce domaine

Qualité microbiologique:

5.1.4.: Chapitre d'information et de conseil: pas une partie opposable de la Pharmacopée

Catégorie 1

Préparations obligatoirement stériles et autres préparations étiquetées stériles:

- essai de stérilité (2.6.1)

Qualité microbiologique: Catégorie 2

Préparations pour application locale ou pour administration dans les voies respiratoires, à l'exception des préparations obligatoirement stériles, et dispositifs transdermiques.

Bactéries aérobies viables	≤10 ^{2*}
Champignons	
Entérobactéries	<10*
<i>Pseudo. aeruginosa</i>	0*
<i>Staph. aureus</i>	0*

*: germes/ml ou g ou dispositif

Qualité microbiologique: Catégorie 3A

Préparations pour administration par voie orale ou rectale:

Bactéries aérobies viables	≤10 ^{3*}
Champignons	≤10 ^{2*}
<i>E. coli</i>	0*

*: germes/ml ou g ou dispositif

Qualité microbiologique: **Catégorie 3B**

Préparations pour administration orale contenant des matières premières d'origine naturelles, lorsqu'un pré-traitement antimicrobien est impossible et que les matières premières peuvent avoir une contamination $>10^3$ germes/g ou ml :

Bactéries aérobies viables	$\leq 10^4$ *
Champignons	$\leq 10^2$ *
Entérobactéries	$\leq 10^2$ *
Salmonelles	0**
<i>Staph. aureus</i>	0*
<i>E. coli</i>	0*

*: germes/ml ou g ou dispositif

** : germes / 10 ml ou g

Qualité microbiologique: **Catégorie 4A**

Préparations à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales (entières, en fragments ou en poudre) et dont l'emploi fait intervenir de l'eau bouillante:

Bactéries aérobies viables	$\leq 10^7$ *
Champignons	$\leq 10^5$ *
<i>E. coli</i>	$\leq 10^2$ *

*: germes/ml ou g ou dispositif

Qualité microbiologique: **Catégorie 4B**

Préparations à base de plantes exclusivement composés d'une ou plusieurs drogues végétales (entières, en fragments ou en poudre) et dont l'emploi ne fait pas intervenir de l'eau bouillante:

Bactéries aérobies viables	$\leq 10^5$ *
Champignons	$\leq 10^4$ *
Entérobactéries	$\leq 10^2$ *
<i>E. coli</i>	0*
Salmonelles	0**

*: germes/ml ou g ou dispositif

** : germes / 10 ml ou g

Essai de stérilité

= validation du processus de stérilisation ou des procédés de fabrications aseptiques!

N'assure pas qu'un produit est stérile ou a été stérilisé, mais qu'aucun germe n'a pu être décelé! La méthode de détection doit donc être sensible.

Essai de stérilité: conditions de réalisation

Équivalentes à celles requises pour la fabrication aseptiques de produits:

- Flux laminaire de classe A dans une salle propre de classe B
- BPF
- Prélèvements adéquates dans la zone de travail
- Contrôles appropriés

Buts:

- éviter des contaminations durant la procédure
- utiliser une méthode capable de mettre en évidence des microorganismes (y. c. inhibition des anti-microbiens)

Filtration sur membrane

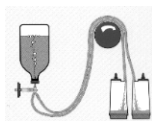
Utilisée chaque fois que la nature du produit le permet (prép. aqueuses, filtrables, alcooliques ou huileuses, etc.)

Filtres: porosité $\leq 45 \mu\text{m}$

Matériels et techniques: doit permettre un travail dans des conditions aseptiques



Système ouvert



Système fermé

Filtration sur membrane

Solutions aqueuses

Poudres: dissolution dans un solvant approprié

Huiles et solutions huileuses:

- faibles viscosité: filtration sans dilution préalable

- forte viscosité: diluer dans un diluant stérile (ex: myristate d'isopropyle)

Pommades et crèmes: diluer au 1/100 avec myristate d'isopropyle, chauffer si nécessaire

Ensemencement direct du milieu de culture

Le volume de produit utilisé ne doit pas dépasser 10% du volume du milieu de culture

Liquides huileux: milieu additionné de 10 g/litre de polysorbate 80

Pommades et crèmes: diluant + agent émulsionnant stérile approprié (dilution 1/10), émulsionner, transférer dans un milieu sans agent émulsionnant.

Attention: inhibition des anti-microbiens

Milieus de culture et incubation recommandés

Thioglycolate liquide (bactérie aérobies et anaérobies)

incubation 30-35°C, 14 jours

Hydrolysate de caséine et de soja (bactéries aérobies et champignons)

incubation 20-25°C, 14 jours

Contrôles de qualité

Test de stérilité des milieux: incuber des échantillons des milieux pendant 14 jours

Test de croissance: inoculer le milieu avec une quantité < 100 cfu de différents germes (Tableau 2.6.1.-1)

Tableau 2.6.1.-1 – Microorganismes d'essai appropriés pour les tests de croissance et de validation

MICROORGANISME		ENCUBATION	
Espèce	Souches appropriées	Température (° C)	Durée maximale
Type : bactéries aérobies		Pour tous les aérobies :	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	30 - 35	3 jours
	CIP 4.83		
	NCTC 10788 NCIMB 9518		
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	30 - 35	3 jours
	CIP 52.62		
	NCIMB 8054		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	30 - 35	3 jours
	NCIMB 8626		
	CIP 82.118		
Type : bactéries anaérobies		Pour tous les anaérobies :	
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404	30 - 35	3 jours
	CIP 79.3		
Type : levures et moisissures		Pour toutes les levures et moisissures :	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	20 - 25	5 jours
	IP 48.72		
	ATCC 2091		
	IP 1180.79		
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404		

Test de validation de la méthode

Doit se faire :

- lorsque l'essai de stérilité doit être appliqué à un nouveau produit
- chaque fois qu'une modification est apportée aux conditions expérimentales de l'essai

Principe:

Inoculer le produit avec une quantité < 100 cfu des différents germes (Tableau 2.6.1.-1) et faire le test. Une croissance doit être observée dans les 3-5 jours maximum, suivant le germe.

Observation et interprétation des résultats

Lecture à plusieurs reprises au cours de l'incubation et à la fin: détecter des signes macroscopiques de prolifération microbienne.

Pas de signes de croissance observé:

- le produit examiné satisfait à l'essai

Croissance microbienne observée:

- le produit examiné ne satisfait pas à l'essai
- identification des germes à l'espèce

sauf si...

Observation et interprétation des résultats

Croissance microbienne observée:

sauf si... on démontre que l'essai n'est pas valable pour des raisons indépendantes du produit:

- anomalie dans les équipements
 - anomalie dans la procédure
 - croissance dans les témoins négatifs
 - espèce(s) microbiennes(s) imputables(s) aux matériels/techniques de l'essai (typage moléculaire)
- Refaire l'essai!!!

Niveau d'assurance de l'essai de stérilité

Est fonction de l'homogénéité des conditions de fabrication du lot et du plan d'échantillonnage adopté!

(Tableau 2.6.1-3 et -3)

Un lot est un ensemble de récipients fermés pour lesquels les risques de contamination sont identiques (conditions de préparation et de stérilisation homogènes).

Contrôle de la contamination microbienne dans des produits non obligatoirement stériles (2.6.12-13)

Dénombrement des germes aérobies viables totaux:

Échantillon à traité: 10 g ou 10 ml

Selon nature du produit: diluer, dissoudre, émulsionner

Technique: Filtration sur membrane, poser le filtre sur une gélose nutritive

Recherche de micro-organismes spécifiés

Quantité de l'échantillon: fonction de la limite admise.

Technique: fonction du micro-organisme recherché (milieux sélectifs).

Directives de l'OICM concernant la fabrication de médicaments prêts à l'emploi dans les pharmacies d'hôpitaux du 13 mai 1982):

26. Prélèvement et contrôle des échantillons

⁴ Le contrôle des échantillon doit être pratiqué selon la pharmacopée suisse, ou étrangères reconnues.

⁵ Pour les produits finis, les échantillons doivent en particulier être contrôlés comme suit:

a) les **médicaments à usage parentéral et autres produits stériles** en fonction de leur identité, leur teneur, **leur stérilité** ...

On peut renoncer à l'examen de stérilité lorsqu'un produit a été stérilisé par chauffage à la vapeur, dans son récipient final, pendant 3 min. A 135°C ou pendant 20 min. A 120°C, et pour autant qu'il soit possible de consigner ce traitement dans le procès-verbal d'un enregistreur de température portant sur plusieurs points de mesure...

b) les **médicaments à usage oral, rectal ou applicables sur des muqueuse**: l'identité des principes actifs...

c) **autres médicaments**: examen organoleptique

Analyses microbiologiques pour la Pharmacie du CHUV: 2000

Catégories	Nombre
1 filtrable	672
1 non filtrable	70
2 filtrable	68
2 non filtrable	13
3 non filtrable	2
Total	825
Non conformes 1er contrôle:	12 (1.5%)
Non conforme 2ème contrôle	0

**Analyses microbiologiques sous la
responsabilité de la pharmacie d'hôpital**

- Eau pour la préparation des dialysats:
<100 cfu/ml
- Eau pour préparations injectables en vrac:
<10 cfu/ 100 ml
- Eau purifiée (*aqua purificata*):
<100 cfu/ml
