

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

Aurelie KRIMM

Responsable Contrôle Qualité Microbiologie

OCTAPHARMA SAS



28 novembre 2019

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

- **Présentation d'Octapharma**
- **Contexte réglementaire**
- **Principe : analyse des risques de contamination**
- **Cas concret 1 : une méthode de dénombrement microbien**
- **Cas concret 2 : un prélèvement d'environnement**
- **Conclusion**

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulaires, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

PRESENTATION DE LA SOCIETE OCTAPHARMA

Fondé en 1983, Octapharma est un laboratoire pharmaceutique spécialisé dans le développement, la production et la vente de médicaments dérivés du sang.

Les produits Octapharma, issus du fractionnement du plasma, offrent des traitements dans 3 aires thérapeutiques :

- L'hématologie.
- Les soins intensifs.
- L'immunothérapie.



Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

PRESENTATION DE LA SOCIETE OCTAPHARMA

Le groupe Octapharma possède des filiales et bureaux dans 32 pays, représentant plus de 7000 salariés et commercialise ses produits dans plus de 113 pays.

Le siège social est situé à Lachen (Suisse), et les 6 sites de production à :

- Vienne (Autriche)
- Stockholm (Suède)
- Lingolsheim (France)
- Springe et Dessau (Allemagne)
- Mexico (Mexique)



Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulaires, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

PRESENTATION DE LA SOCIETE OCTAPHARMA

Le site de Lingolsheim, près de Strasbourg, compte plus de 500 employés.

Le Contrôle Qualité Microbiologie d'Octapharma Lingolsheim compte 3 cadres et 13 techniciens et ses missions principales sont :

- **Les analyses microbiologiques (matières premières et produits).**
- **Les prélèvements et analyses des utilités (eau, vapeur propre, air comprimé, azote)**
- **Les prélèvements microbiologiques et particulaires de l'environnement en zones classées.**
- **Les analyses de fertilité.**
- **Les identifications de germes.**



Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

● Contexte réglementaire

➤ **Bonnes Pratiques de Fabrication**

Partie I Chapitre Contrôle de la qualité 6.5

- « Les locaux et équipements des laboratoires de contrôle de la qualité doivent répondre aux critères généraux et spécifiques correspondants détaillés au chapitre 3 [Chapitre Locaux et matériel]. Les équipements des laboratoires ne doivent pas être systématiquement déplacés entre zones à haut risque afin d'éviter toute contamination croisée accidentelle. Notamment, les laboratoires de microbiologie doivent être aménagés de sorte à minimiser le risque de contamination croisée. »

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

● Contexte réglementaire

➤ Pharmacopée Européenne

2.6.12. Contrôle microbiologique des produits non stériles : essai de dénombrement microbien

- « Réaliser le dénombrement dans des conditions permettant d'éviter toute contamination microbienne extrinsèque du produit à examiner.
- Les précautions prises pour éviter la contamination ne doivent pas affecter les microorganismes susceptibles d'être mis en évidence. »

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

● Contexte réglementaire

➤ United States Pharmacopeia

<1117> : Microbiological laboratory best practices

- « regular cleaning and sanitization of equipment such as incubators, refrigerators, and water baths should be performed to minimize the potential for contamination in the laboratory. »
- « it is also important that microbiological samples be handled in an environment that makes contamination highly unlikely. »
- « It is important to consider that microbial contamination of samples, which leads to false-positive results, is always possible unless careful aseptic precautions are taken. »

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulaires, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

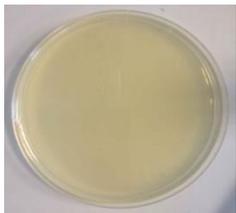
● Principe : analyse des risques de contamination

➤ Qu'est-ce qu'une contamination d'une analyse microbiologique?

- Élément dont la présence influe sur le résultat d'analyse microbiologique d'un prélèvement en provoquant :



- Une croissance microbienne non représentative du prélèvement analysé = risque de faux positif



- Une inhibition de la croissance microbienne intrinsèque du prélèvement analysé = risque de faux négatif

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

● Principe : analyse des risques de contamination

- **Comment maîtriser ces risques de contamination?**
 - Définir les facteurs de risques de faux positifs de l'analyse
 - Pour chaque risque identifié, mettre en place des moyens de maîtrise et des moyens de contrôle
 - Vérifier l'absence de faux négatifs
 - Figurer la méthode
 - Former le personnel
 - Pour chaque analyse, vérifier les contrôles en place



Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

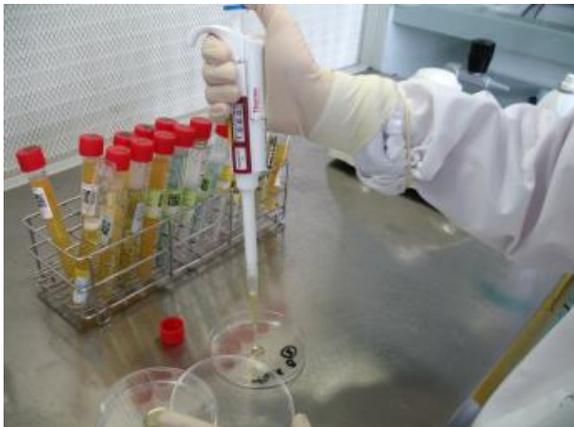
Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

● Cas concret 1 : méthode de dénombrement microbien d'un produit non stérile sur plaque (inclusion)



ANALYSE :

- Ensemencer 2 boîtes de Pétri avec 1ml d'échantillon de produit
- Ajouter 20ml de gélose TSA
- Homogénéiser la gélose et le produit
- Attendre la solidification de la gélose
- Incuber à l'étuve

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

➤ Quels sont les facteurs de risques de faux positifs?

- Détailler la méthode (étapes, matériel utilisé, ...)
- Lister de façon exhaustive tout ce qui peut représenter une source de contamination, pour choisir les moyens de maîtrise adaptés.
- Définir en même temps les moyens de contrôle associés.



Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

FACTEURS DE RISQUE DE CONTAMINATION	MOYENS DE MAITRISE DU RISQUE	MOYENS DE CONTRÔLE
Tubes pour l'échantillonnage	Matériel stérile à usage unique	Certificats fournisseurs
Boîtes de Pétri		
Embout de pipettes		
Milieu de culture	Milieu stérile et fertile	Certificat fournisseur + test à réception
Pipette	Utilisation d'équipement qualifié et définition de règle de nettoyage/désinfection	Tracer la vérification de la validité des équipements et les nettoyages/désinfections
Bain-Marie		
Etuve		
Environnement de test	Utilisation d'un flux laminaire qualifié : PSM	Contrôles de l'environnement du flux + vérification de l'état qualifié
Environnement de test	Nettoyage du PSM	Tracer les étapes de nettoyage/changement d'eau/ajout de stabilisant/désinfection
Eau du bain-marie	Définition d'une fréquence de nettoyage et de changement de l'eau et utilisation d'un stabilisant	
Surfaces externes du matériel	Désinfection du matériel entrant dans le flux	
Contamination humaine	Port de gants et désinfection régulière + formation du personnel à la gestuelle	Observation de la méthodologie par un tuteur

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particuliers, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

➤ Quels sont les facteurs de risques de faux négatifs?

- La méthodologie de nettoyage/désinfection (résidus de produits)
- Les interactions avec le produit à analyser (inhibition de croissance)



La validation de la méthode avec des souches Pharmacopée et des souches issues de la flore interne va permettre de prouver l'absence d'inhibition de croissance et donc l'absence de faux négatif.

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particuliers, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr**Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?****● Cas concret 2 : prélèvement microbiologique de surface en zone classée****PRELEVEMENT :**

- Ouvrir la boîte contact
- Appliquer la boîte sur la surface à prélever en exerçant une pression homogène pendant 10 secondes
- Refermer la boîte contact
- Nettoyer la surface prélevée pour éliminer les résidus de gélose

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

FACTEURS DE RISQUE DE CONTAMINATION	MOYENS DE MAITRISE DU RISQUE	MOYENS DE CONTRÔLE
Milieu de culture	Milieu stérile et fertile	Certificat fournisseur + test à réception
Transport des prélèvements	Désinfection du matériel entrant en zone classée	Témoin négatif
Contamination humaine	Port de gants et désinfection régulière + formation du personnel à la gestuelle	Observation de la méthodologie par un tuteur
Etuve	Utilisation d'équipement qualifié et définition de règle de nettoyage/désinfection	Tracer la vérification de la validité des équipements et les nettoyages/désinfections

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particulières, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

➤ Quels sont les facteurs de risques de faux négatifs?

La méthodologie de désinfection du matériel (désinfection des boîtes non emballées par exemple)



L'absence de neutralisants dans le milieu (inhibition de croissance en présence de résidus de produits de désinfection)

La validation des neutralisants des géloses avec des souches Pharmacopée et des souches issues de la flore interne va permettre de prouver l'absence d'inhibition de croissance et donc l'absence de faux négatif.

Quels sont les enjeux de la maîtrise de la contamination ?

Aspects particuliers, microbiologiques et chimiques

ASPEC - info@aspec.fr
www.aspec.fr

SOFITEL LYON BELLECOUR

Comment fiabiliser les résultats des analyses microbiologiques?

● Conclusion



Une analyse des risques détaillée est essentielle pour déterminer les sources de contamination d'une analyse microbiologique.

Les moyens de maîtrise de la contamination ne doivent pas générer de faux négatifs : à vérifier lors de la validation de méthode.

Les procédures de test, la documentation lors des analyses et la formation du personnel permettent de s'assurer que le risque de contamination est maîtrisé lors de chaque analyse.