

Table des matières

1	INTRODUCTION.....	1
1.1	GLOBAL PATIENT SAFETY CHALLENGE	1
1.2	INFECTIONS	1
1.3	LA SECURITE DES INJECTABLES.....	2
1.4	LES CYTOSTATIQUES INJECTABLES.....	2
1.5	BPF POUR LES CYTOSTATIQUES INJECTABLES	2
1.6	OBJECTIFS GENERAUX DE CE TRAVAIL	3
2	BIOCHARGE INITIALE DES EMBALLAGES ET PRODUITS UTILISÉS LORS DE LA FABRICATION DES CYTOSTATIQUE.....	4
2.1	OBJECTIFS	4
2.2	METHODE.....	4
2.2.1	<i>Biocharge par plaques count-tact.....</i>	<i>4</i>
2.2.2	<i>Biocharge par écouvillonnage.....</i>	<i>5</i>
2.3	RESULTATS	6
2.3.1	<i>Nombre de microorganismes.....</i>	<i>6</i>
2.3.2	<i>Type de microorganismes.....</i>	<i>9</i>
2.4	DISCUSSION.....	10
2.4.1	<i>Nombre de microorganismes.....</i>	<i>10</i>
2.4.2	<i>Type de microorganismes.....</i>	<i>12</i>
2.5	CONCLUSION.....	13
3	EFFICACITÉ MICROBIOLOGIQUE.....	14
3.1	OBJECTIFS	14
3.2	METHODE.....	14
3.2.1	<i>Efficacité microbiologique de 5 méthodes de désinfection sur 4 matériaux.....</i>	<i>14</i>
3.3	RESULTATS	16
3.3.1	<i>Efficacité microbiologique par désinfectant.....</i>	<i>16</i>
3.3.2	<i>Efficacité microbiologique sur la poche avec un mélange de tous les microorganismes et tous les désinfectants.....</i>	<i>18</i>
3.4	DISCUSSION.....	20
3.4.1	<i>Désinfectants</i>	<i>20</i>
3.4.2	<i>Microorganismes.....</i>	<i>21</i>
3.4.3	<i>Matériau</i>	<i>22</i>
3.5	CONCLUSION.....	22
4	ANALYSE DE RISQUE.....	23
4.1	OBJECTIFS	23
4.2	METHODE.....	23
4.3	RESULTATS	24
4.3.1	<i>Le diagramme d'Ischikawa.....</i>	<i>24</i>
4.3.2	<i>Analyse de risque « absolue ».....</i>	<i>26</i>
4.3.3	<i>Analyse de risque avec la connaissance de la biocharge</i>	<i>28</i>
4.4	DISCUSSION.....	28
4.4.1	<i>Analyse de risque « absolue ».....</i>	<i>29</i>
4.4.2	<i>Analyse de risque avec la connaissance de la biocharge</i>	<i>30</i>
4.4.3	<i>Analyse de risque avec les modifications recommandées et un autre désinfectant</i>	<i>31</i>
4.5	CONCLUSION.....	34
5	DISCUSSION GÉNÉRALE.....	34
6	CONCLUSION GÉNÉRALE	34
7	RECOMMANDATIONS.....	35
8	RÉFÉRENCES / BIBLIOGRAPHIE.....	35
9	ANNEXES	41

1 Introduction

La validation de la production des cytostatiques est un travail basé sur plusieurs mesures mises en place actuellement aux HUG. A savoir :

- Au niveau international, le **global patient safety challenge** qui a pour but de réduire les infections nosocomiales à l'échelle mondiale,
- D'une manière générale, la **sécurité des injectables**, cela de la production à l'administration
- Et d'un point de vue spécifique, l'assurance de travailler selon les **BPF** dans le domaine spécifique des cytostatiques.

1.1 Global Patient Safety Challenge

En octobre 2005, l'OMS a lancé le Global Patient Safety Challenge (Défi mondial pour la sécurité des patients), ce projet a pour mission de réduire le taux d'infections liées aux soins de santé, cela à l'échelle mondiale¹. Un des moyens d'y arriver était la promotion d'une meilleure hygiène des mains. Ceci a déjà été mis en place aux HUG depuis plus de 10 ans par l'utilisation généralisée et répétée de la solution alcoolisée Hopirub® comme moyen de désinfection des mains.

Le challenge semble en bonne voie pour les HUG, en effet, le taux des infections nosocomiales a diminué de 25 % et les infections nosocomiales sont passées de 13 à 10 % en 2 ans².

La fabrication des cytostatiques a aussi pris un aspect global ; en effet, les cytostatiques se font tous à la pharmacie des HUG (\neq fabrication à l'étage où se trouve le patient). Ainsi, dans cette mouvance de centralisation des préparations, nous cherchons aujourd'hui à vérifier les risques de présence de microorganismes avec la méthode actuelle de décontamination. De plus, les recommandations pour la prévention et la prise en charge des infections nosocomiales doivent également se baser sur des données microbiologiques³.

1.2 Infections

Les malades recevant des cytostatiques injectables peuvent les recevoir sous forme de perfusion ou d'injection simple. Etant donné, le risque bien connu d'infection lorsque la perfusion est employée⁴ (plus lorsqu'il y a utilisation d'un cathéter que d'une aiguille métallique), il est impératif de s'assurer que le début de la chaîne de l'asepsie a été respecté, ceci afin de minimiser les risques d'infections voire de septicémie. Sans oublier que l'expérience de Gadò⁵ conclu que les soins par les cytostatiques mènent à une sévère et longue dépression du système immunitaire chez l'enfant. Plus généralement, les causes principales des infections graves chez les patients atteints d'un cancer incluent le dérangement de l'immunité cellulaire ou humorale due à la maladie, la neutropénie grave à la suite des régimes cytostatiques, les lésions des barrières muqueuses dues aux effets nuisibles des agents antinéoplasiques, et les violations de la peau par des interventions thérapeutiques. En raison des défenses altérées de l'hôte, les infections représentant un danger pour la vie peuvent se produire plus souvent chez ces patients, limitant de ce fait les avantages de la thérapie

¹ Communiqués de presse des HUG 13/10/05

² Dayer P. (n°2)

³ Le comité de direction

⁴ La perfusion intraveineuse

⁵ The function of the immune system after the treatment of pediatric malignant diseases

antinéoplasique⁶. Ainsi, un patient ayant survécu au cancer, ne devrait pas avoir à s'inquiéter d'une éventuelle infection due à une mauvaise asepsie des injectables reçus.

1.3 La sécurité des injectables

Aux HUG, la qualité des produits injectables et de leurs moyens d'administration n'a cessé d'être améliorée par différentes études et protocoles mis en place ces 3 dernières années. Toutefois, ces initiatives (p.ex. l'évaluation de la qualité des sets de perfusion par Yves Pinget et la mise au point d'un protocole de qualification de l'inspection visuelle des médicaments injectables par Alexandra Bugmann) ne font qu'agir sur la performance du produit fini ; à savoir les risques dus à la présence de particules ou ceux dus à une quantité injectée inexacte. C'est pourquoi, il est bon de s'assurer, avant tout, que le produit a été réalisé selon les normes aseptiques, et qu'ainsi la préparation est dépourvue de microorganismes. Cette assurance doit être prise, tout particulièrement, pour les cytostatiques, car ceux-ci sont souvent administrés à des patients immunodéprimés (donc plus enclins à développer des infections à cause de microorganismes opportunistes).

1.4 Les cytostatiques injectables

En raison de la grande sensibilité à la détérioration des médicaments cytostatiques, il est impossible de les produire ou de les reconstituer beaucoup de temps avant leur administration. De plus, une dose individualisée pour chaque patient doit être préparée (préparation magistrale). Ainsi, il est impossible de procéder à une stérilisation finale ; c'est pourquoi, ils sont produits dans des conditions aseptiques.

1.5 BPF pour les cytostatiques injectables

Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments constituent un des éléments de l'assurance de la qualité ; elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente et selon les normes de qualité adaptées à leur emploi et requises par l'autorisation de mise sur le marché. Les bonnes pratiques de fabrication s'appliquent à la fois à la production et au contrôle de la qualité^{7 8}. Un des points essentiels de la fabrication des cytostatiques est la préparation aseptique.

La pharmacopée européenne dit au sujet de la préparation aseptique que le moyen pour maintenir la stérilité d'un produit obtenu à partir de composants préalablement stérilisés, c'est d'opérer dans des conditions et au sein d'installations conçues pour empêcher la contamination microbienne.

Aux HUG, les zones d'atmosphère contrôlées⁹ utilisées pour les cytostatiques injectables sont la zone C (salle blanche), qui contient la zone A (partie centrale de l'isolateur).

Lors de la préparation aseptique, les aspects suivants seront particulièrement surveillés : l'environnement, le personnel, les surfaces critiques, la stérilisation des récipients/fermetures et opérations de transfert, durée maximale de stockage du produit avant mise en récipient final. A noter que la préparation aseptique peut

⁶ Sepsis in hemato-oncologic patients

⁷ Le Dictionnaire agroalimentaire

⁸ OMS 1997

⁹ Zone dont le contrôle de la contamination particulaire et microbienne dans l'environnement est défini et qui est construite et utilisée de façon à réduire l'introduction, la multiplication ou la persistance de substance contaminantes (Le HIR)

comprendre, le remplissage et la fermeture aseptique des récipients, le mélange aseptique des composants de la formulation suivi du remplissage et du conditionnement aseptiques. Finalement, il est dit que la validation du procédé de préparation comprend un média fill (simulation avec des milieux de croissance microbienne qui sont ensuite mis en incubation et examinés en vue de la détection d'une éventuelle contamination microbienne)¹⁰.

Ces médicaments étant des préparations magistrales fabriquées à la demande, ils sont soumis à la BPF pour les médicaments en petites quantités, avec un supplément « cytostatiques »¹¹. L'article 2.3.3.2 de ce supplément dit justement que le risque le plus grave est la contamination microbienne ; c'est pourquoi, la validation microbiologique de la fabrication des cytostatiques a une telle importance.

1.6 Objectifs généraux de ce travail

Les objectifs de ce travail sont :

- ♣ établir la biocharge initiale de différents emballages représentatifs des emballages les plus utilisés dans la fabrication des cytostatiques
- ♣ établir l'efficacité microbiologique de plusieurs méthodes de désinfection du matériel entrant
- ♣ faire une analyse de risque microbiologique sur les différentes étapes de la fabrication des cytostatiques

Il aurait été également nécessaire de procéder à une vérification microbiologique de la désinfection des isolateurs de cytostatiques, ainsi que de la durée de celle-ci ; sans oublier une validation MFT de la fabrication des cytostatiques. Malheureusement, la partie pratique consacrée à l'efficacité microbiologique a pris beaucoup trop de temps.

¹⁰ Pharmacopée Européenne 1997

¹¹ Pharmacopoea Helvetica

2 Biocharge initiale des emballages et produits utilisés lors de la fabrication des cytostatiques

La fabrication des cytostatiques donne lieu à des préparations stériles conditionnées en mode aseptique. Cette asepsie nécessite la préparation de ces médicaments dans un environnement de classe A. Ainsi, pour s'assurer du maintien de la stérilité des préparations, un des éléments importants est la maîtrise de la contamination des emballages qui pénètrent dans l'isolateur ou le flux laminaire. Mais avant de procéder à la décontamination des dits emballages, il faut connaître leur charge microbiologique, car tout procédé de décontamination ou de stérilisation dépend du degré initial de contamination microbienne^{12 13}.

La biocharge est définie comme étant la détermination du nombre¹⁴ et de la nature des microorganismes viables¹⁵ sur un produit avant que ce matériel soit stérilisé^{16 17}.

2.1 Objectifs

Etablir la biocharge initiale de différents emballages représentatifs de la gamme d'emballages utilisés lors de la fabrication des cytostatiques.

2.2 Méthode

L'ensemble des prélèvements a été fait avec des gants stériles désinfectés par de la teinture de chlorhexidine 0.5 % selon la méthode employée aux HUG¹⁸, selon la EN 1500¹⁹.

2.2.1 Biocharge par plaques count-tact²⁰

2.2.1.1 Matériau à tester

NaCl 50 ml (poche plastique rigide)

Taxol 50 ml (verre)

Cisplatine « Ebewe » 50 ml (verre dans un gobelet plastique)

Poubelle de l'isolateur (sachet plastique), à l'extérieur

Emballage contenant un prolongateur vigon mâle-mâle stérile (cellophane)

Étiquettes (papier à imprimante laser)

2.2.1.2 Protocole

Chaque matériau a été testé sur 6 échantillons différents.

Le support de prélèvement utilisé est le count-tact TSA 2283e (Heipha)²¹ : il contient la combinaison LTHTh, ce qui lui permet d'inactiver la plupart des désinfectants

¹² Le HIR

¹³ MacQueen K. F.

¹⁴ The Centre for Cancer Education

¹⁵ ©MO BIO Laboratories, Inc.

¹⁶ ©Sterigenics

¹⁷ INTOTA™

¹⁸ Dayer P. 2006

¹⁹ Grossrieder F.

²⁰ Cavin F.

²¹ Heipha Dr. Müller GmbH

résiduels²² (**phénols, halogènes**, formaldéhydes, phb-esters, glutaraldehydes et les **ammoniums quaternaires**).

Sur une surface définie (l'ensemble de la plaque count-tact = 25 cm²), le cisplatine et le taxol seront «roulés» sur le count-tact (tout en respectant les 10 secondes d'application), tandis que pour la poche de NaCl, la poubelle, le cellophane et l'étiquette le count-tact sera appliqué sur leur surface durant 10 secondes.

L'expérience sera répétée après une 1^{ère} désinfection, puis après une 2^{ème} désinfection. Attention les produits pelables (matériels stériles qui seront dépourvus de leur emballage lors de l'entrée dans le sas de l'isolateur) ne subissent qu'une seule désinfection. Dans la catégorie des non pelables, il y a tout ce qui n'est pas séparé de son emballage et qui subit 2 désinfections).

Les plaques seront incubées 3 jours à l'abri de la lumière, puis 3 jours à la lumière et le 7^{ème} jour la lecture aura lieu²³.

La méthode de comptage des bactéries sera manuelle (en comptant chaque CFU à la main, grâce au quadrillage de la plaque count-tact).

2.2.2 Biocharge par écouvillonnage

2.2.2.1 Matériau à tester

Stylo indélébile

2.2.2.2 Protocole par écouvillonnage

Le stylo est écouvillonné sur toute sa longueur avec un écouvillon imbibé de solution physiologique stérile.

Dans un cas idéal, le stylo aurait été rincé, avant écouvillonnage, par passage successif dans trois béchers contenant 30 ml d'eau stérile. Chaque bécher aurait été animé d'un mouvement de rotation (120 rpm) pendant quinze secondes. Ce rinçage a pour objet de détacher les bactéries réversiblement attachées à la surface²⁴ ; toutefois, le stylo étant un objet de l'isolateur (zone A), j'ai décidé de ne pas le sortir de son milieu, afin d'éviter toute contamination extérieure. Ainsi, le prélèvement a été effectué dans l'isolateur, sans **jamais** sortir le dit stylo.

Comme l'écouvillon utilisé est sec, il sera préalablement trempé dans de l'eau stérile (cf. monodose de 10 ml d'aqua « Bichsel® »).

Écouvillonnage : allers sans retours en faisant tourner la tige de l'écouvillon d'un quart de tour **après** chaque bande.

L'étalement ayant été fait par mes soins, il n'a pas été nécessaire de respecter un horaire strict entre le prélèvement et l'étalement^{25 2627}.

L'écouvillon est placé dans un tube à essais avec 1 ml d'eau distillée. Le tout est agité vigoureusement entre le pouce et l'indexe 5 sec avant d'être vortexé durant 5 sec. L'écouvillon est appliqué sur une boîte de pétri contenant de l'agar, de la manière suivante²⁸ :

²² Biomérieux

²³ Selon la procédure utilisée par le laboratoire du contrôle qualité des HUG

²⁴ Marshall K.C.

²⁵ Miller JM

²⁶ Miller JM, Holmes HT

²⁷ Clinical Laboratory Standards Institute

²⁸ Copan

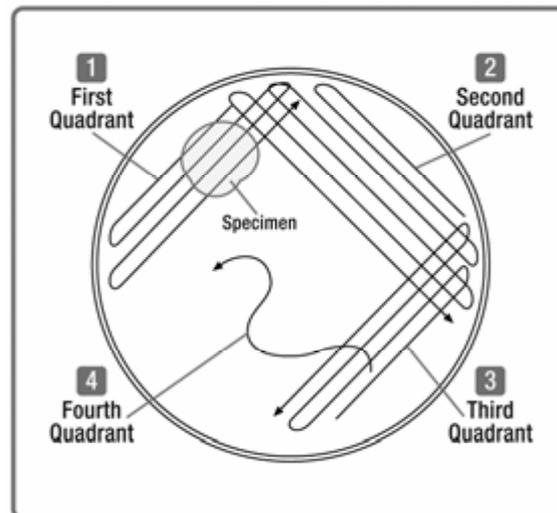


Figure 1: Schéma de la procédure pour étaler méthodiquement des écouvillons sur des boîtes de Pétri d'agar pour l'isolement primaire²⁹

Le tout est mis à 37°C, il s'agit d'une température adaptée pour la classe mésophile potentiellement pathogène (cf. nous cherchons à voir les bactéries de l'environnement, voir les bactéries pathogènes ; celles-ci poussent entre 20-45°C)³⁰. Le pétri est laissé à l'obscurité pendant 3 jours, puis à la lumière 3 jours et la lecture a lieu le 7^{ème} jour³¹. Le dénombrement a lieu visuellement.

2.3 Résultats

Tous les résultats de microorganismes trouvés sont exprimés dans les tableaux suivants en UFC. Rappelons que le terme de biocharge désigne la charge microbiologique pour une **surface totale**. Les détails des résultats, des surfaces utilisées ainsi, que les méthodes de désinfection se trouvent dans l'annexe *Biocharge*.

2.3.1 Nombre de microorganismes

Etant donné la dimension relativement réduite des différents matériaux testés, les prélèvements après la 1^{ère} et après la 2^{ème} désinfection ont été faits sur des échantillons à chaque fois différents. Ainsi, il n'y a pas de réel suivi de la biocharge pour une série de matériau. Deux désinfections sont effectuées pour simuler ce qui se passe lorsque le matériel est désinfecté une première fois avant son entrée en salle blanche et une deuxième fois avant son entrée dans l'isolateur.

²⁹ Isenberg HD

³⁰ Favet J.-L.

³¹ Selon les directives appliquées aux Laboratoire de contrôle de qualité des HUG

Tableau 1: BIOCHARGE pour chaque matériau avec la technique de désinfection à l'isopropanol 70 % (Klercide™), pour la 1ère et 2ème désinfection

Matériau	Initiale	Après 1 ^{ère} désinfection	Après 2 ^{ème} désinfection	
Poche glucose 5 % 50 ml	12 48 12 0 12 0	0 0 0 0 0 12	0 0 0 0 0 ?	
Poubelle de l'isolateur	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	Pas de 2ème désinfection, car les poubelles se trouvent déjà dans la salle blanche	
Etiquettes	4 0 4 4 12 20	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
Taxol 50 ml	0 48 4 0 ? 0	16 0 0 0 0 0	0 16 0 0 ? 0	
Cisplatine 50 ml	20 20 20 0 0 10	10 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
Cellophane d'emballage stérile	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	Pas de 2ème désinfection, car le vigon mâle sous cellophane est pelé avant son entrée dans l'isolateur	
PETIT Bac blanc stérile	0 0 0 37 37 0	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car les petits bacs se trouvent dans l'isolateur, ils ne sont pas amenés par mes soins		
GRAND bac blanc stérile	0 70 0 0 70 70	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car les grands bacs se trouvent dans l'isolateur, ils ne sont pas amenés par mes soins		
Stylo indélébile	0 0 0 0 0 0	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car le stylo se trouve dans l'isolateur, il n'est pas amené par mes soins		
Mini grip = fourre pour protocole	58** 0 0 174 0 232***	0 0 58 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
? il y a une ou des colonie(s) qui font tout le bord du count-tact, comme si une colonie s'était dispersée dans un liquide pour contaminer que le bord. ** il s'agit d'une grosse moisissure prenant tout le count-tact *** les UFC sont parfois quelque peu fusionnées				

Tableau 2 : BIOCHARGE pour chaque matériau avec la désinfection au Klercide™ A + frottement mécanique (mais seulement dans la 1^{ère} désinfection, tandis que la 2^{ème} est une vaporisation à l'isopropanol 70 %)

Matériau	Initiale					Après 1 ^{ère} désinfection				
Après 2^{ème} désinfection										
3 Etiquettes	24	36	48	12	48	0	12	0	0	0
	0	0	12	0	24	0	12	12	0	0
			0	0	0	0	0			
			0	12	0	0	0			
Poche glucose 5 % 500 ml	87	116	58-116	87	58	145	0	29	0	1*
	87	0	0	29	0	0	0	0	0	29
			0	0	?	0	29			
			0	29	0	0	0			
Poche glucose 5 % 1000 ml	432	96	14	48	240	0	0	0	0	0
	96	144	672	96	96	0	0	0	0	0
			0	0	0	0	0			
			0	0	0	0	0			
	* 2 ou 4 ** gazon ? il y a une ou des colonie(s) qui font tout le bord du count-tact, comme si une colonie s'était dispersée dans un liquide pour contaminer que le bord.									
Mini grip = fourre pour protocole	58	232	0	58	0	0	0	58	0	0
	58	0	58	116	290	0	0	0	0	0
			58	0	0	0	0			
			0	0	0	0	0			

Les matériaux sélectionnés étant de dimensions assez grandes, les prélèvements effectués après la 1^{ère} et la 2^{ème} désinfection ont été effectués sur les mêmes échantillons.

2.3.2 Type de microorganismes

L'identification des microorganismes a été faite par le Laboratoire Central de Bactériologie des HUG et ceux-ci sont accrédités de ISO/CEI 172025 et 15189 (STS 310). Le matériel utilisé et la méthode utilisée pour l'obtention de ces résultats sont indiqués dans le Répertoire des Prestations d'Analyses (RPA).

Tableau 3: Code utilisé pour les microorganismes trouvés

Microorganisme type	Identification de microorganismes
A	Germe de l'environnement (air)
B	<i>Sphingomonas paucimobilis</i> (<i>Pseudo. p.</i>)
C	Champignons filamenteux
D	Germe non fermentatif
E	Germe non fermentatif : <i>Rhizobium radiobacter</i> , un germe trouvé usuellement dans le sol, isolé parfois des patient avec cathéter de dialyse ou implants permanent

Tableau 4: Identification de microorganismes trouvés pour chaque matériau avec la technique de désinfection à l'isopropanol 70 %, pour la 1ère et la 2ème désinfection

Matériau	Initiale	Après 1 ^{ère} désinfection	Après 2 ^{ème} désinfection
Poche glucose 5 % 50 ml	A A A A A A	B	A
Etiquettes	A A A A A A		
Taxol 50 ml	A A A	A	A B
Cisplatine 50 ml	A A A A	A	
PETIT Bac blanc stérile	A A	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car les petits bacs se trouvent dans l'isolateur, ils ne sont pas amenés par mes soins	
GRAND bac blanc stérile	A D	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car les grands bacs se trouvent dans l'isolateur, ils ne sont pas amenés par mes soins	
Mini grip = fourre pour protocole	C A A A	A	

Tableau 5: Identification de microorganismes trouvés pour chaque matériau avec la désinfection au Klercide™ A + frottement mécanique (mais seulement dans la 1^{ère} désinfection, tandis que la 2^{ème} est une vaporisation à l'isopropanol 70 %)

Matériau	Initiale	Après 2 ^{ème} désinfection					Après 1 ^{ère} désinfection				
3 Etiquettes	C	A	A	A	A		E				
	A	A	A	A	A		A	B			
				A							
Poche glucose 5 % 500 ml	C	C	C	C	A	C		A		D	
	A			C						D	
				A							
				A							
Poche glucose 5 % 1000 ml	A	A	A	A	A						
	A	A	A	A	A						
	* 2 ou 4 ** gazon ? il y a une ou des colonie(s) qui font tout le bord du count-tact, comme si une colonie s'était dispersée dans un liquide pour contaminer que le bord.										
Mini grip = fourre pour protocole	A	A	A	A	A			A			
	A	A	A	A	A						
		A									

2.4 Discussion

Il ne faut pas oublier que toutes les informations données sont pour une biocharge « extérieure » à la préparation. Ainsi, l'on peut pondérer les résultats en fonction de cette information.

2.4.1 Nombre de microorganismes

2.4.1.1 Biocharge avec désinfection à l'isopropanol à 70 %

Les biocharges obtenues nous permettent de tirer une première conclusion générale : aucun matériau n'a une biocharge supérieure à 10^3 UFC. Ce qui laisse penser que quelque soit le moyen de désinfection utilisé, il devrait être suffisamment puissant, étant donné que la désinfection est définie comme une réduction de 3 log du nombre de microorganisme. D'une manière générale, on remarque que se sont les étiquettes, les minis grip et les poches de glucose qui sont le plus contaminés. Ceci s'explique

par le fait que les étiquettes sont faites dans une salle sans zone particulière, qu'elles sont touchées par un grand nombre de personnes et laissées sur plusieurs surfaces, dont la biocharge n'est pas maîtrisée. Quant aux minis grip, ils sont sûrement également en contacts avec beaucoup de personnes (cf. la fiche de préparation passe au minimum par les mains de 3 personnes, afin d'en contrôler le contenu). Enfin, les poches de glucose sont directement empaquetées dans des cartons qui servent accessoirement également de contenant de stockage, ainsi, les poches restent dans un environnement à atmosphère non contrôlé, en attendant d'être sélectionnées pour une préparation.

Les poubelles de l'isolateur, la cellophane d'emballage stérile et le stylo indélébile sont tous dépourvus de biocharge. Cela peut s'expliquer par le fait, que les poubelles utilisées dans l'isolateur sont en partie stockées dans la salle blanche. Ainsi, pour arriver dans cette zone C, l'emballage qui les contenait a dû être bien désinfecté avant son arrivée dans la salle blanche. A noter, que le paquet contenant les poubelles n'a pas été ouvert avant son entrée en zone C, ainsi le contenu (les sachets poubelle) était « propre ». Le stylo indélébile est quant à lui désinfecté plusieurs fois par jour et reste en permanence dans l'isolateur, de ce fait, il n'y a pas de raison pour qu'il soit contaminé par un germe.

Le taxol et le cisplatine ont des biocharges qui peuvent être discutées. En effet, ces deux fioles en verres ont dû être roulées sur le count-tact pour effectuer la biocharge. Dans ces conditions, il est sage de se demander dans quelle mesure les résultats obtenus sont pertinents. Parce que la pression exercée était forcément moins forte que pour les autres prélèvements (le verre est un matériau très glissant, surtout lorsqu'il est sous forme cylindrique). De plus, il y a pu y avoir une certaine patine des flacons sur le count-tact.

Après la 1^{ère} désinfection, on remarque une diminution du nombre de germes (poche, taxol, cisplatine, mini grip), voire une éradication totale (étiquette). Après la 2^{ème} désinfection, il n'en reste plus que sur une poche et des bouteilles de taxol.

Ainsi, la désinfection à l'alcool 70 % n'est pas suffisante pour venir à bout de tous les microorganismes.

Un fait s'avère particulièrement inquiétant : les petits et grands bacs de l'isolateur sont porteurs de germes ; alors que ceux-ci sont stériles à leur arrivée dans l'isolateur et qu'ils sont changés une fois par jour.

2.4.1.2 Biocharge avec désinfection au KlercideTM A + frottement mécanique.

En raison de leur biocharge conséquente, la poche, le mini grip et l'étiquette ont été repris pour faire une autre biocharge, avec plus d'échantillons (10 au lieu de 6 dans la biocharge précédente), une certaine continuité dans l'analyse (les mêmes échantillons ont été testés durant tout le parcours de désinfection) et un autre mode de désinfection (KlercideTM A + frottement).

De nouveau, la biocharge est « élevée » (cf. comparativement aux autres matériaux). Après une 1^{ère} désinfection au KlercideTM A accompagnée d'un frottement des matériaux à l'aide de lingette stérile, seules les poches de glucose de 1000 ml sont désinfectées, ce qui est inquiétant. En effet, nous nous attendions à ce que le KlercideTM A (mélange d'ammonium quaternaire et de Biguanide), une solution bactéricide très puissante, éradique les microorganismes. Après la 2^{ème} désinfection, il n'y a guère de changement probant.

2.4.2 Type de microorganismes

Dans les 2 cas de biocharge les microorganismes les plus observés sont ceux de l'environnement (air) ; à savoir, Streptocoques, *E.coli*, *Proteus*, , *Bacillus*, Spores de champignons³². Mais dans tous les cas il ne s'agit pas de microorganismes pathogènes, car le laboratoire en aurait fait part. Il y a également 1 germe non fermentatif (peut-être *Pseudomonas*)³³ et plusieurs champignons filamenteux.

Après la 1^{ère} désinfection il y a encore des germes de l'environnement (air), des champignons filamenteux, des germes non fermentatifs, mais également (2/12) *Sphingomonas paucimobilis*. Même si après la 1^{ère} désinfection les matériaux sont encore en salle C, il s'agit là d'un germe qui a été mis en cause dans une septicémie récurrente chez un patient leucémique³⁴, ainsi que dans des infections récurrentes chez des patients ayant des cathéters³⁵, sans oublier ses effets sur des patients d'oncologie ou d'hématologie³⁶. Il y a également eu 1 *Rhizobium*³⁷ *radiobacter* ; ce germe du sol est parfois isolé de patient avec cathéter^{38 39}, de dialyse ou implant permanent, il a également été impliqué dans un cas de bactériémie primaire chez un patient avec une tumeur⁴⁰ et il est considéré, depuis 1999, comme ayant potentiellement une grande influence dans les infections futures en particulier chez les patients dont l'immunité est compromise⁴¹. Il peut donc être considéré comme dangereux pour des patients immunodéprimés à cause de leur traitement oncologique. A noter que d'après les relevés effectués depuis le début de l'année 2007, les germes observés dans la salle C habituellement sont les germes de l'environnement (air), *Staphylococcus coagulase* négatifs, germes non fermentatifs⁴².

Après la 2^{ème} désinfection, tous les microorganismes observés sont des germes de l'air (9/10), sauf 1 qui est un *Sphingomonas paucimobilis*. Malgré le nombre de germes apparent, la validation des isolateurs servant à la préparation des cytostatiques⁴³, laisse penser que les préparations sont néanmoins produites avec la sécurité microbiologique nécessaire. Rappelons que l'isolateur étant en zone A, il doit impérativement contenir moins de 1 microorganisme⁴⁴. Pour information, les microorganismes observés depuis le début de l'année 2007 dans l'isolateur et dans ces SAS sont : *Corynebacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus coagulase* négatifs, *Sphingomonas paucimobilis*, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter lwoffii* et *Staphylococcus aureus*²³. Ainsi, mise à part pour *Sphingomonas paucimobilis*, aucun des résultats obtenus dans l'isolateur ne correspond à cette liste.

³² Larpent J.-P.

³³ Dr Petignat C.

³⁴ Perola O.

³⁵ Hsueh PR.

³⁶ Martino R.

³⁷ vivant en symbiose avec les légumineuses, Drapeau A.J.

³⁸ Lai C.C.

³⁹ Paphitou N.I.

⁴⁰ Christakis GB.

⁴¹ Franková H.

⁴² Laboratoire de contrôle de qualité

⁴³ Ackermann M.

⁴⁴ BPF

2.5 Conclusion

Pour une meilleure standardisation des prélèvements, il aurait fallu tenir compte de la norme EN 1174-1 (1996) et appliquer la norme EN 1174-2 (1997)⁴⁵, ainsi, la méthode de prélèvement aurait été préalablement validée. De plus, la pression utilisée pour l'application des count-tacts aurait du être standardisée avec un système adapté. D'une manière générale, la biocharge observée est relativement modeste, inférieure à 10^3 , pour autant que la méthode de décontamination utilisée soit efficace.

Une biocharge assez élevée a été observée sur le petit et grand bac de l'isolateur, c'est pourquoi, il faudrait peut-être envisager d'augmenter la fréquence de changement de ce matériel (par exemple, toutes les $\frac{1}{2}$ journées ou encore toutes les 2 heures).

On observe que des microorganismes aussi variés que potentiellement dangereux (*Sphingomonas paucimobilis*, *Rhizobium*⁴⁶ *radiobacter*) ont été isolées sur les matériaux étudiés, alors que ceux-ci étaient déjà en zone C. Il y a également eu un matériau (bouteille en verre de taxol), dans l'isolateur (zone A), qui était contaminé avec un *Sphingomonas paucimobilis*. Si à cela, on ajoute la littérature assez fournie qu'il y a sur ces 2 microorganismes et qui montre qu'ils sont dangereux pour les patients recevant des cytostatiques ; il apparaît comme essentiel de trouver un désinfectant ayant une bonne efficacité microbiologique.

La biocharge observée étant différente selon les matériaux, il était nécessaire, d'inclure une diversité de matériaux lors des tests d'efficacité microbiologique.

⁴⁵ NosoBase®

⁴⁶ vivant en symbiose avec les légumineuses, Drapeau A.J.

3 Efficacité microbiologique

Les cytostatiques injectables sont fabriqués de manière aseptique (sans stérilisation finale, mais le produit fini est stérile)⁴⁷. Le milieu hospitalier fait souvent appelle à des préparations individuelles utilisées **immédiatement**, ainsi il n'y a pas de possibilité d'effectuer un contrôle de stérilité. C'est pourquoi la stérilité du produit repose sur l'absolu respect des règles imposées et la validation des processus. Ceci sera vérifié par l'absence de microorganismes dans l'environnement de production, sur les gants, le plan de travail⁴⁸, dans et accessoirement sur les contenants des produits utilisés.

La stérilité d'un produit selon l'EN 556⁴⁹ dit qu'un produit peut être étiqueté « stérile », si la probabilité théorique qu'un micro-organisme viable soit présent sur un dispositif est égale ou inférieure à 1 pour 10⁶.

Les désinfectants suivants ont été choisis car ils font déjà parti des produits utilisés aux HUG (le KlercideTM A et le KlercideTM B sont utilisés pour la désinfection de l'isolateur, l'isopropanol 70% est actuellement utilisé pour la désinfection des emballages servant à la préparation des cytostatiques, la teinture⁵⁰ de Chlorhexidine 0.5 % est utilisé pour la désinfection des gants et est un des principes actifs de l'Hopirub®). Les matériaux sont eux représentatifs de tous les emballages utilisés en cytostatique (verre<->flacons, plastique rigide<->poche, étiquettes, plastique souple<-> poubelle ou cellophane). Les microorganismes sont, quant à eux, ceux indiqués dans la pharmacopée européenne pour des tests de croissance et des validations⁵¹.

3.1 Objectifs

Etablir l'efficacité microbiologique de plusieurs méthodes de désinfection (isopropanol 70%, isopropanol 70% + frottement avec un chiffon stérile, KlercideTM A, KlercideTM B, Chlorhexidine 0.5 %) sur différents matériaux (verre, papier, plastique simple, poche) ensemencés avec différents germes témoins (*B. subtilis*, *A. niger*, *C. albicans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*).

3.2 Méthode

3.2.1 Efficacité microbiologique de 5 méthodes de désinfection sur 4 matériaux

3.2.1.1 Matériel

3.2.1.1.1 Matériaux à tester

Cercles de poche de glucose de 12 cm de diamètre

Cercles de sachet plastique de 12 cm de diamètre

Etiquettes à cytostatique découpée toutes les 3 étiquettes

6 Cercles de verre de 12 cm de diamètre 3 mm d'épaisseur arête abattue ou

18 Carrés de verre de 15 cm de côté 3 mm d'épaisseur arête abattue

⁴⁷ Bonnabry P. (n°1 2007)

⁴⁸ Favet Dr. J.

⁴⁹ Cavin F.

⁵⁰ dissolution d'un extrait dans de l'alcool de titre approprié (Ph. EU 1997)

⁵¹ Pharmacopée Européenne 2001

3.2.1.1.2 Désinfectants à tester

Ammonium quaternaire et Biguanide (Bioacide : Klercide™ A⁵² stérile)
Dioxyde de Chlore stabilisé et Ammonium quaternaire (Bioacide : Klercide™ B⁵³ stérile)
Isopropanol / H₂O 70/30 (V/V) (Klercide™ 70/30⁵⁴ stérile)
Teinture de chlorhexidine 0.5 %

3.2.1.1.3 Microorganismes à tester

Les sources ont été choisies en fonction des indications de la pharmacopée européenne au point 2.6.12.

Tableau 6: Sources et lots des microorganismes utilisés pour l'efficacité microbologique

Microorganismes	Source ATCC ⁵⁵	Lot
<i>Aspergillus niger</i>	<16404>	443121
<i>Bacillus subtilis</i> (spore)	<6633>	486626
<i>Candida albicans</i>	<10231>	443121
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<9027>	484841
<i>Staphylococcus aureus</i>	<6538>	485784

3.2.1.1.4 Autres

Grand Pétri de 15 cm de diamètre
Count-tact
Ecouillons et Lingettes stériles
Anses en plastique
Solution saline (physiologique) stérile
Pétri de TSA, Malt et SDA⁵⁶
Solution saline tween 0.1 %⁵⁷

3.2.1.2 Protocole

3.2.1.2.1 Efficacité microbienne des modes de désinfections sur tous les microorganismes (à 10⁷ UFC/ml) et tous les matériaux

Toutes les étapes qui suivent ont été faites sous le flux laminaire (parfois horizontal, parfois vertical) et avec des gants non stériles, mais désinfectés avec de l'isopropanol. La préparation de la culture de microorganismes a été faite par mes soins (détails dans l'annexe *Efficacité microbologique*).

Le matériau à tester (précédemment stérilisé par les HUG ou par la stérilisation de la biologie végétale) a été mis dans un couvercle ou fond de boîte de pétri afin d'y recevoir 2 ml de suspension à 10⁷ UFC/ml du microorganisme, puis 1 écouillon ayant trempé dans la dite solution a servi à l'étalement « homogène » de celle-ci sur le morceau de matériau (de diamètre de 12 cm⁵⁸). L'excès de solution a été retiré (par

⁵² Schield Medicare (n°2)

⁵³ Schield Medicare (n°3)

⁵⁴ Schield Medicare (n°1)

⁵⁵ Premier dépôt de culture biologique au monde MedicineNet.com

⁵⁶ Il s'agit de milieu de culture pour les microorganismes

⁵⁷ La solution obtenue est tensioactive, ce qui permet de faciliter la suspension des substances difficilement mouillable.

⁵⁸ Les dimensions ont été spécialement étudiées pour permettre de faire les 3 prélèvements (témoin, 1^{er} désinfection, 2^{ème} désinfection) sur le même échantillon de matériau

basculement du matériau), puis le matériau est resté 1 H à sécher sous le flux laminaire.

Les prélèvements ont ensuite été effectués : le prélèvement témoin, le prélèvement après la 1^{ère} désinfection (avec le désinfectant à tester), le prélèvement après la 2^{ème} désinfection (toujours avec le même désinfectant que lors de la première désinfection⁵⁹ sauf pour le cas de la désinfection à l'isopropanol + action mécanique = frottement avec un chiffon stérile, où la deuxième fois, la désinfection est simplement une vaporisation d'isopropanol).

Le titre réel des suspensions a été vérifié par le dénombrement des survivants par étalement de surface.

Lorsque le matériau testé est le verre, il est « recyclé », c'est-à-dire qu'il est réutilisé pour les autres tests, en prenant soin de faire deux cycles de stérilisation (le 1^{er} tue les germes encore viables et après lavage et enveloppement des plaques de verre dans le papier journal, le tout est mis dans un 2^{ème} cycle de stérilisation). Ce processus particulier au verre, explique, en partie, que les tests d'efficacité microbiologique aient pris beaucoup plus de temps que prévu.

3.2.1.2 Efficacité microbiologique de tous les désinfectants sur un mélange de tous les microorganismes à 10³ UFC/ml seulement sur le matériau « plastique rigide=poche »

L'expérience a ensuite été refaite mais seulement sur la poche et avec un mélange de tous les microorganismes (*A. niger*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) à 10³ UFC/ml, pour tous les désinfectants.

3.3 Résultats

Les critères indiqués au bas du tableau sont respectés, si au moins 4 échantillons sur 6 correspondent à la dénomination utilisée. De plus, la dénomination désinfection totale dès la 2^{ème} vaporisation, l'emportera sur la désinfection partielle dès la 1^{ère} vaporisation, car **l'effet final recherché c'est la désinfection totale** (peu importe le nombre de cycle de désinfection nécessaire). Le fait d'avoir pris des suspensions à 10⁷ UFC/ml a posé un problème au niveau quantitatif. En effet, la contamination était tellement grande que souvent il a été impossible de chiffrer les microorganismes présents, c'est pourquoi, l'analyse est principalement qualitative. Les détails des résultats (analyse qualitative initialement et après chaque désinfection) sont dans l'Annexe *Efficacité microbiologique*.

3.3.1 Efficacité microbiologique par désinfectant

Tableau 7: Efficacité microbiologique avec des désinfections à l'isopropanol 70 %

Microorganisme / Matériau	B. subtilis	P.aeruginosa	S.aureus	C.albicans	A.niger
Poche	✗	☑	☑	☑	✗
Poubelle	✗	☑	~	☑	✗
Etiquette	✗	☑	☑	~	✗
Verre	✗	☑	☑	☑	✗

⁵⁹ La vaporisation a toujours été abondante, de manière à ce que tout le matériau soit imbibé du désinfectant.

Tableau 8 : Efficacité microbiologique de la désinfection à l'isopropanol 70% + action mécanique

Microorganisme/Matériau	<i>B. subtilis</i> (spores)	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
Poche	✗	☑	✓	☑	✗
Poubelle	✗	☑	~	~	✗
Etiquette	✗	✓	✓	✓	✗
Verre	✗	☑	☑	☑	✗

Tableau 9 : Efficacité microbiologique avec des désinfections au Klercide™ B

Microorganisme/Matériau	<i>B. subtilis</i> (spores)	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
Poche	✗	☑	~	✗	~
Poubelle	✗	~	☑	✓	✗
Etiquette	✗	~	✗	✗	✗
Verre	✓	☑	☑	☑	✗

Tableau 10 : Efficacité microbiologique avec des désinfections au Klercide™ A

Microorganisme/Matériau	<i>B. subtilis</i> (spores)	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
Poche	☑	☑	☑	☑	-
Poubelle	☑	~	☑	-	☑
Etiquette	☑	✓	☑	✓	~
Verre	☑	☑	☑	☑	~

Tableau 11 : Efficacité microbiologique avec la désinfection à la teinture de Chlorhexidine 0.5%

Microorganisme/Matériau	<i>B. subtilis</i> (spores)	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
Poche	~	☑	✓	☑	~
Poubelle	~	✓	☑	☑	~
Etiquette	✓	✓	✓	☑	~
Verre	≈	☑	☑	☑	~

~ Désinfection partielle dès la 1^{ère} vaporisation

≈ Désinfection partielle dès la 2^{ème} vaporisation

✓ Désinfection totale dès la 2^{ème} vaporisation

☑ Désinfection totale dès la 1^{ère} vaporisation

✗ Pas d'efficacité de désinfection

- Résultats non viables, car l'inoculation de la biocharge n'a pas marché ou il y a une augmentation de la biocharge au fur et à mesure de la désinfection

3.3.2 Efficacité microbiologique sur la poche avec un mélange de tous les microorganismes et tous les désinfectants

Tableau 12 : Efficacité microbiologique Mélange de *B. subtilis*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *C.albicans*, *A.niger*, tous à 10³ UFC/ml

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6
11	+++ A.n 1S.a + P.a 3 B.s	+++ A.n 4 B.s	+++ A.n 6 B.s	+++ A.n	+++ A.n 3 B.s	+++ A.n 6 B.s 3S.a
12	+++ A.n 1 B.s	12 A.n 1 B.s	10 A.n 5 B.s	9 A.n 1 B.s	9 A.n 5 B.s	6 A.n 5 B.s
13	++ A.n 4 B.s	(+) A.n 2 B.s 1/4 contour B.s	+(+) A.n	++ A.n	+(+) A.n 1 B.s	3 A.n 3 B.s
21	+++ A.n 4 B.s	+++ A.n	+++ A.n 8 B.s 1S.a	+++ A.n 5 B.s	+++ A.n 4 B.s	-
22	3 P.a 8 B.s	3 A.n	48 C.a + P.a 8 B.s 18S.a	1 A.n 5 B.s	0	-
23	1 A.n 1 B.s et 1/4 contour B.s	0	1 B.s	2 B.s et tout le contour B.s	1 A.n	-
31	+++ A.n 6 B.s	+++ A.n 9 B.s	+++ A.n 2 B.s	++ A.n 8 B.s	+++ A.n 2 B.s	+++ A.n 9 B.s 4S.a
32	6 A.n	4 A.n	6 A.n	11 A.n	3 A.n	6 A.n
33	3 A.n	1 A.n	1 A.n	1 A.n	1 A.n	1 A.n

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6
41	1 C.a ++ A.n 1 B.s 3 S.a	1 C.a 20 A.n 1 B.s 6 S.a	+++ A.n 3 B.s 3 S.a	5 C.a ++ A.n 4 B.s 3 S.a	++ A.n 14 B.s 3 C.a	++ A.n 1 B.s 3 C.a
42	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0
51	(+) C.a (+) P.a (+) B.s (+) S.a	+++ A.n 6 B.s 6 S.a	+++ A.n 1 C.a	+++ A.n 3 B.s 2 S.a	+++ A.n	+++ A.n 4 B.s 3 S.a
52	6 A.n	3 A.n	0	1 A.n	2 A.n	0
53	1 A.n	0	0	0	1 A.n	0

Tableau 13 : Code de couleur pour les désinfectants

Numéro	Désinfectant
1	Isopropanol 70 %
2	Isopropanol 70% + frottement mécanique
3	Klercide™ B
4	Klercide™ A
5	Teinture de Chlorhexidine 0.5 %

3.4 Discussion

3.4.1 Désinfectants

3.4.1.1 Désinfection à l'isopropanol 70 %

Malheureusement, l'isopropanol à 70% ne montre aucun signe d'activité sur les spores de *Bacillus subtilis*, ni sur le champignon *Aspergillus niger*. Par contre son action sur *P.aeruginosa* est totale et radicale dès la 1^{ère} vaporisation. Quant à *S.aureus* et *C. albicans*, il y a parfois une « résistance » de ces microorganismes à ce mode de désinfection. Il est toutefois possible que se soit le résultat d'une manipulation « mal » effectuée.

3.4.1.2 Désinfection à l'isopropanol 70% + action mécanique

Les résultats obtenus avec l'isopropanol 70 % accompagné d'un frottement vertical à l'aide de lingette stérile (2 passages), sont similaires à ceux obtenus par l'isopropanol seul. Toutefois, pour *S. aureus* et *C. albicans*, il y a encore une réduction de l'efficacité. Ce qui laisse penser que l'action mécanique diminue un peu l'action de l'alcool ; en effet, peut-être qu'au lieu d'« enlever » une partie des microorganismes, il enlève du désinfectant, empêchant, ainsi, celui-ci d'agir. De plus, le frottement peut avoir une action d'étalement des germes, d'où une augmentation du nombre de colonies.

3.4.1.3 Désinfection au KlercideTM B

Comme indiqué dans la notice d'emballage, 5 minutes ont été attendue avant de procéder aux prélèvements.

Selon le fabricant⁶⁰, le KlercideTM B a une activité sporicide (*B.subtilis* et autres), une activité bactéricide (*S.aureus*, *P.aeruginosa* et autres) et une activité fongicide (*C.albicans*, *A.niger* et autres). Expérimentalement, l'action sporicide n'a été vue que sur le verre et il n'a pas été possible de venir à bout d'*A. niger*. Ainsi, il règne un doute réel quant à l'effet de ce désinfectant. Pour plus de sécurité, il serait bon de procéder à des tests standardisés (sur un seul matériau, avec beaucoup plus d'échantillon et un nombre de vaporisation comptabilisé, tout comme le temps entre la désinfection et le prélèvement) pour voir l'activité réelle de ce désinfectant.

3.4.1.4 Désinfection au KlercideTM A

Comme indiqué dans la notice d'emballage, 5 minutes ont été attendue avant de procéder aux prélèvements.

Contre toute attente, le KlercideTM A, a une action sporicide (alors que le fabricant⁶¹ ne le mentionnait pas), ainsi qu'une bonne action générale sur les différents microorganismes, si ce n'est avec *A. niger*, qui n'est éradiqué que sur la poubelle.

Ces résultats associés aux résultats obtenues avec le KlercideTM B laisse planer un doute quant à l'utilisation du KlercideTM A pour le B et vice-versa.

⁶⁰ Schield Medicare (n°3)

⁶¹ Schield Medicare (n°2)

3.4.1.5 Désinfection à la teinture de chlorhexidine 0.5 %

La teinture de chlorhexidine s'est révélée être une bonne surprise. En effet, elle a une action radicale sur *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans*. Et une action partielle sur *B. subtilis* et *A. niger*. Etant donné le titre (10^7 UFC/ml) utilisé pour contaminer les matériaux, les résultats sont bons.

3.4.2 Microorganismes

3.4.2.1 *B. subtilis* (spore)

B. subtilis est dur à éradiquer à cause de sa capacité à sporuler. En effet, cet avantage lui permet de survivre à des conditions extrêmes. Des désinfectants choisis, seul le Klercide™ A en vient à bout.

3.4.2.2 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa est une bactérie flagellée et naturellement présente dans l'environnement, notamment dans la flore bactérienne de l'eau⁶². Elle est considérée comme pathogène opportuniste⁶³ et elle peut donc être dangereuse pour des personnes immunodéprimées. Ces résultats, pour un même désinfectant, sont parfois inégaux, ainsi avec le Klercide™ B ou encore le Klercide™ A, il y a une action partielle pour la poubelle alors que la poche et le verre sont parfaitement désinfectés. Pour expliquer ces différences, il faut peut-être faire référence à la morphologie de la bactérie ; en effet, étant flagellée, elle a la capacité de se déplacer en milieu aqueux, ainsi il est difficile de procéder à un étalement homogène de cette bactérie.

3.4.2.3 *S. aureus*

Le coque *S. aureus* se trouve dans les flores cutanées et muqueuses humaines et peut lorsqu'il est résistant à la méthycilline (MRSA) provoquer des infections nosocomiales graves⁶⁴. Après une exposition aux différents désinfectants, le *S. aureus* semble être sensible à tous avec des résultats variables selon le matériau choisi.

3.4.2.4 *C. albicans*

C. albicans se trouve normalement dans la zone vaginale, parce que le pH est acide (5,0 - 4,0). Mais en réalité, son véritable habitat est la muqueuse de l'intestin grêle, tandis que la localisation vaginale peut être considérée comme une résidence secondaire, comme la localisation cutanée⁶⁵. Cette levure est totalement éradiquée par la teinture de chlorhexidine à 0.5 %, cela quelque soit le matériau. Par contre le Klercide™ B n'a pas d'action sur elle lorsqu'elle est étalée sur une poche ou une étiquette.

3.4.2.5 *A. niger*

Cette moisissure est souvent la cause d'asthme bronchique. Toutes les espèces pathogènes pour l'homme se rencontrent dans la nature (sur les feuilles mortes, les céréales entreposées, le compost, les haies, les végétaux en décomposition de façon

⁶² Friedling P.

⁶³ OMS

⁶⁴ Institut Pasteur

⁶⁵ Psoriasis.org

générale)⁶⁶. Elle n'est malheureusement affectée totalement que par le KlercideTM A. La teinture de chlorhexidine a, tout de même, un effet partiel.

3.4.2.6 Mélange de microorganismes à 10³ UFC/ml

Avec le mélange de microorganisme les résultats sont encore plus flagrants, le seul désinfectant à avoir une action totale sur tous les microorganismes se trouve être le KlercideTM A. Juste après, la teinture de chlorhexidine à 0.5 %, a une bonne action ; en effet à part dans 2 échantillons où il y a *A. niger* qui résiste, il est possible d'obtenir une désinfection totale (4 échantillons sur 6). C'est pourquoi, un passage à ce mode de désinfection est recommandé.

3.4.3 Matériau

Pour s'assurer de la pertinence des résultats d'une efficacité microbiologique avec différents désinfectants et les microorganismes nécessaires à la validation de l'expérience, nous avons voulu tester les différents matériaux utilisés comme emballages de matériel servant à la fabrication des cytostatiques. Nous pensons pouvoir établir qu'il n'y avait pas de différence de résultats entre les différents matériaux étudiés. Pourtant nous observons que le verre donne toujours les meilleurs résultats de désinfection. Cela s'explique par le fait qu'il s'agit d'un matériau plane et rigide ; ces caractéristiques sont idéales pour un bon ensemencement des microorganismes, mais également pour une bonne désinfection. Tandis, qu'un matériau tel que les étiquettes, a le risque d'absorber la suspension de microorganisme plus en profondeur et donc d'être plus difficilement désinfectable. À noter que si l'on transpose ces résultats à la biocharge observée sur les étiquettes, on remarque qu'elles sont très élevées (en partie due à une plus grande contamination par les différentes personnes en contact avec elle, mais aussi à cause du plus grand maintien des microorganismes sur sa surface).

3.5 Conclusion

La désinfection par la chlorhexidine semble être un désinfectant du juste milieu. En effet, il a l'action totale souhaitée sur les bactéries (*C. albicans*, *S.aureus* et *P. aeruginosa*), tout en ayant une certaine efficacité contre les bactéries posant problème à la plus part des désinfectants (*A. niger* et *B subtilis*), cela en gardant une commodité d'utilisation que les bioacides n'ont pas, car il ne sont pas agréables à respirer.

⁶⁶ Vulgaris-médical

4 Analyse de risque

Le pharmacien a souvent assumé le rôle de « gardien », en s'assurant que les erreurs de médication n'aient pas lieu. Mais ces espérances ne sont pas réalistes, car éviter les erreurs est une tâche à accomplir avec l'ensemble de l'équipe de santé. Toutefois, le rôle de responsable dans la mise en application d'une médication sûre sera tenue par le pharmacien et il pourra assumer cette responsabilité de différente manière, dont une qui est primordiale, à savoir sa participation active lors des AMDEC sur les médicaments⁶⁷. L'AMDEC est l'évaluation systématique d'un processus ou d'un produit, ce qui permet de déterminer l'endroit et le mécanisme des échecs potentiels.

Les analyses de risques se concentrent sur l'identification et l'élimination des défauts, l'augmentation de la sécurité, ainsi que l'augmentation de la satisfaction du client⁶⁸. Il existe différents types d'analyse de risque, celle utilisée dans ce rapport tient compte de l'analyse des défaillances, de leurs effets et de leur criticité, il s'agit donc d'une analyse AMDEC, plus précisément une AMDEC-Moyen de production⁶⁹. L'utilisation de l'AMDEC est recommandée par l'ISMP dans les analyses de procédés d'administration de médicament en milieu hospitalier, ainsi que dans le développement de formulation galénique dans l'industrie pharmaceutique⁷⁰. Mais elle s'applique parfaitement à l'analyse d'un procédé de fabrication particulier, tel que la fabrication des cytostatiques.

4.1 Objectifs

Dans une étude sur la sécurité d'administration des médicaments par voie sous-cutanée en gériatrie⁷¹, l'analyse AMDEC de ce processus a mis en avant le fait que le problème majeur réside dans la préparation des injections et les risques infectieux qui y sont liés. L'auteur précise que ces risques se retrouvent dans n'importe quel type de préparations injectables. Ainsi, même si une autre analyse AMDEC démontre que lors de la production de cytostatique, la contamination microbienne est moins critique à la pharmacie que dans une unité de soin⁷², il y a une certaine pertinence à faire une analyse AMDEC portant sur le risque microbiologique lors des différentes étapes de la fabrication des cytostatiques à la pharmacie.

4.2 Méthode

Lors de la première séance de réflexion, un pharmacien (M. Sadeghipour) et une personne de l'extérieur (moi-même) avons découpé le processus, c'est-à-dire *la fabrication des cytostatiques injectables*, en étapes. A partir de cela, j'ai pu réunir les types de défaillances rencontrées et les réunir sur un diagramme d'Ischikawa. Une autre réunion a eu lieu pour estimer l'indice de criticité, à partir de la fréquence, de la sévérité et de la détectabilité des défaillances. Les échelles de rangs utilisées pour cette quantification sont dans l'annexe *Analyse de risque*.

L'analyse de risque a été refaite, cette fois, en tenant compte des résultats de la biocharge pour les matériaux utilisés.

⁶⁷ American Hospital Association

⁶⁸ Robin E.

⁶⁹ Ridoux M.

⁷⁰ Williams E.

⁷¹ Vukasovic C.

⁷² Cingria L.

Enfin, pour les taux de criticité les plus haut, des mesures ont été proposées et une autre analyse de risque a été effectuée pour voir si l'indice de criticité diminue ou pas⁷³.

4.3 Résultats

Le processus de fabrication des cytostatiques injectables a été découpé en huit étapes. Les étapes sont : préparation du bac et du matériel en zone non classée, entrée du bac dans le sas, récupération du bac dans la salle blanche, préparation des produits pour l'entrée dans le sas (de l'isolateur), préparation initiale de la place de travail, récupération du matériel dans l'isolateur, préparation des cytostatiques et nouvelles préparations de cytostatiques. Au total, vingt neuf mode de défaillances ont été déterminés.

4.3.1 Le diagramme d'Ishikawa

L'ensemble des défaillances a été structuré sur un diagramme « cause-effet » d'Ishikawa⁷⁴, celui-ci étant divisé en huit parties qui correspondent aux étapes du processus⁷⁵.

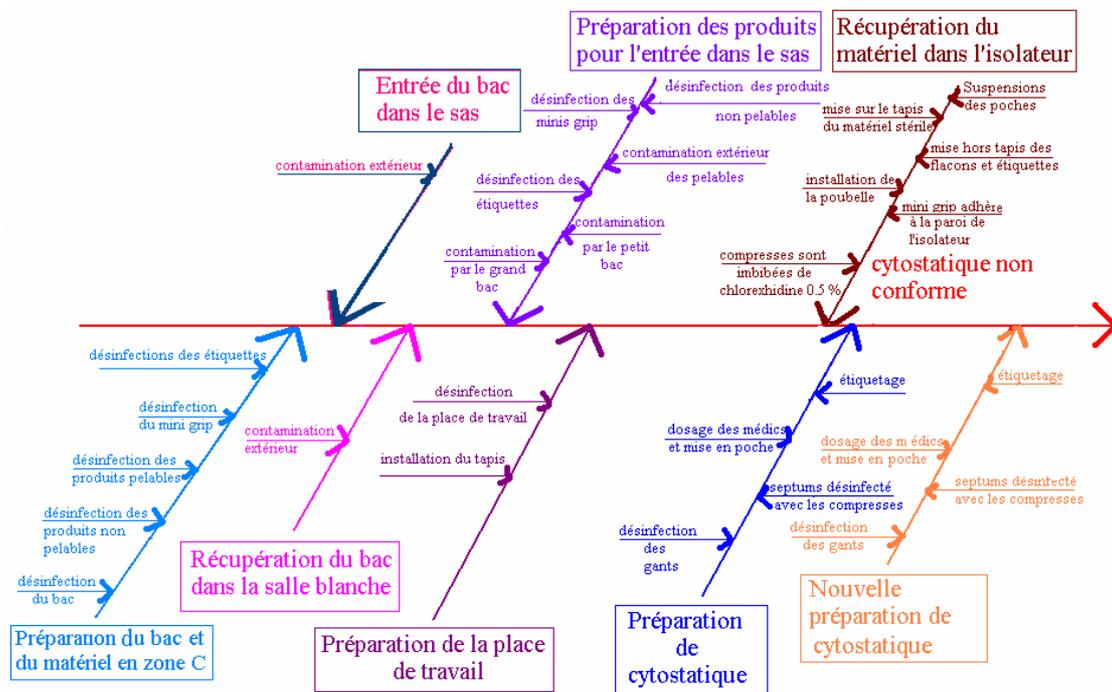


Figure 2: Diagramme cause-effet d'Ishikawa pour le processus de fabrication des cytostatiques injectables

Ce schéma permet une vision plus claire de la succession des étapes et des défaillances qui y sont associées.

En effet, les premières défaillances apparaissent lors de la **préparation du bac et du matériel**. Une mauvaise désinfection du bac, ainsi que des produits pelables et non pelables peut avoir lieu. Ces erreurs sont dues au grand nombre de matériel utilisé lors d'une session de préparation de cytostatique (une demi-journée). La mauvaise désinfection du mini grip ou encore des étiquettes est également possible.

⁷³ Williams E.

⁷⁴ Gruwez B.

⁷⁵ Bonnabry P. (2005)

Une absence de passage du **bac dans le SAS** ou un temps de passage insuffisant constitue également une des étapes à analyser.

Lors de la **récupération du bac dans la salle blanche**, le bac peut être mal réceptionné et ainsi être contaminé microbiologiquement.

Les **produits sont ensuite préparés à leur entrée dans le sas de l'isolateur**. Lors de cette étape il peut y avoir une mauvaise désinfection de produits non pelables, principalement due à l'absence d'aides préparateurs en pharmacie. Leur présence permet d'avoir une personne s'occupant exclusivement de l'opération de désinfection et d'insertion du matériel, tandis que le préparateur peut vaquer à la production sans stress supplémentaire. Cette étape peut également poser un problème de contamination par transfert secondaire, à savoir une contamination du matériel par un bac précédemment contaminé par un autre matériel.

Avant l'entrée du matériel dans la partie centrale de l'isolateur (l'enceinte classe A de l'isolateur), la **préparation initiale de la place de travail** peut être mal effectuée. En effet, la désinfection peut être insuffisante car l'accès à tous les recoins de l'isolateur est réduit lorsque les mouvements sont effectués à travers les gants de l'isolateur. De plus, l'installation du tapis peut avoir des ratés.

La **récupération du matériel dans l'isolateur** peut également influencer la microbiologie des matériaux. Ainsi, une mauvaise suspension des poches pourrait entraîner la chute de celle-ci et la contamination du tapis. La mauvaise mise sur le tapis du matériel stérile pourrait entraîner la contamination du matériel par un élément de l'isolateur. Des flacons et étiquettes qui seraient mal placés en dehors du tapis pourraient à leur tour contaminer le matériel stérile. Une mauvaise installation de la poubelle ou encore un mini grip tombant de la paroi de l'isolateur perturberaient l'emplacement du matériel stérile sur le tapis. Et enfin, des compresses mal imbibées par de la chlorhexidine 0.5 % perdraient une partie de leur utilité à savoir la désinfection des septums.

La **préparation des cytostatiques**, en elle-même, peut influencer la microbiologie si la désinfection des gants est mal faite ou est occultée, si la désinfection des septums est faite de manière sommaire ou encore si lors du dosage des médicaments et/ou de la mise en poche un mauvais mouvement a lieu, mettant inopinément en contact l'embout d'une seringue avec le verre d'un flacon, le métal ou encore le plastique d'une poche. Et finalement, l'étiquetage peut être une source de contamination microbienne s'il est mal fait, en raison du contact étroit qui serait nécessaire à l'enlèvement de l'étiquette.

Une ou des **nouvelles préparation(s) de cytostatiques** peuvent être une source de défaillances (similaires à celle observée lors de la première préparation), mais celles-ci auront peut être plus d'impact du fait que la répétitivité d'une tâche (élaboration des cytostatiques) entraîne la fatigue, l'inattention et la perte de concentration de l'opérateur ; ce qui sous-entend un accroissement du nombre d'erreurs. De plus, dans un cas de mauvaise désinfection des gants (entre chaque préparation), il est envisageable qu'il y ait une accumulation de la « saleté » microbienne sur les gants et de ce fait, un risque augmenté de contamination microbienne.

4.3.2 Analyse de risque « absolue »

Comme certains types de défaillances reviennent souvent, un tableau contenant les codes utilisés lors de l'estimation des défaillances a été mis au point.

Tableau 14 : Code pour les types de défaillances

Défaillances n°	Type de défaillances
1	Désinfection du bac
2	Désinfection des produits non pelable
3	Désinfection des produits pelables
4	Désinfection du mini grip
5	Désinfection des étiquettes
6	Contamination « extérieur »
7	Transfert de contamination : contamination par le petit bac du SAS
7'	Transfert de contamination : contamination par le grand bac du SAS
8	Désinfection de la place de travail (sans oublier les parois)
9	Installation du tapis
10	Suspensions des poches
11	Mise sur le tapis du matériel stéril
12	Mise hors tapis des flacons et des étiquettes (coincée entre des bouchons inviolables)
13	Installation de la poubelle
14	Mini grip adhère à la paroi de l'isolateur
15	Les compresses sont imbibées de chlorexidine 0.5 %
16	Désinfection des gants
17	Septums désinfectés avec les compresses
18	Dosage des médicaments et mise en poche
19	Etiquetage

Les règles nécessaires pour compléter ce tableau sont dans l'annexe *Règle d'estimation de la fréquence, la sévérité, la détection et l'indice de criticité dans une analyse de type AMDEC*

Avec l'aide du tableau 14 et des règles de l'annexe 10.3, une estimation des défaillances a été établie.

Tableau 15 : Quantification des défaillances possibles lors de la production des cytostatiques injectables

Etapes du processus	Défaillances n°	Fréquence	Sévérité	DéTECTABILITÉ	Indice de criticité
Préparation du bac et du matériel en zone atmosphérique non définie	1	3	2	9	54
	2	5	2	9	90
	3	5	1	9	45
	4	5	2	9	90
	5	5	2	9	90
Entrée du bac dans le sas	6	1	1	9	9
Récupération du bac dans la salle blanche	6	5	2	7	80
Préparation des produits pour l'entrée dans le SAS (de l'isolateur)	2	1	5	7	35
	4	1	3	7	21
	6 pelable	5	8	9	360
	5	1	3	7	21
	7	5	8	9	360
	7'	1	5	9	45
Préparation de la place de travail	8	1	7	6	42
	9	1	7	9	63
Récupération du matériel dans l'isolateur	10	1	6	9	54
	11	7	7	9	441
	12	4	2	9	72
	13	4	1	9	36
	14	4	4	9	144
	15	5	7	9	315
Préparation des Cytostatiques	16	4	5	5	100
	17	8	7	9	504
	18	5	5	9	225
	19	3	3	6	54
Nouvelles préparations de Cytostatiques	16	7	7	5	245
	17	9	7	9	567
	18	7	7	9	441
	19	3	3	6	54

4.3.3 Analyse de risque avec la connaissance de la biocharge

Avec l'aide du tableau 15 et en tenant compte des biocharges obtenues aux tableaux 1 et 2, une autre estimation des défaillances a été établie.

Tableau 16 : Quantification des défaillances possibles lors de la production des cytostatiques injectables en tenant compte des résultats de la biocharge

Etapes du processus	Défaillances n°	Fréquence	Sévérité	Déteçtabilité	Indice de criticité
Préparation du bac et du matériel en zone atmosphérique non définie	1	3	2	9	54
	2	5	2	9	90
	3	5	2	9	90
	4	5	3	9	135
	5	5	3	9	135
Entrée du bac dans le sas	6	1	1	9	9
Récupération du bac dans la salle blanche	6	5	2	7	70
Préparation des produits pour l'entrée dans le SAS (de l'isolateur)	2	1	7	7	49
	4	1	4	7	28
	6 pelable	5	8	9	360
	5	1	4	7	28
	7	5	9	9	405
	7'	1	7	9	63
Préparation de la place de travail	8	1	7	6	42
	9	1	7	9	63
Récupération du matériel dans l'isolateur	10	1	7	9	63
	11	7	7	9	441
	12	4	3	9	108
	13	4	1	9	36
	14	4	3	9	108
	15	5	7	9	315
Préparation de Cytostatiques	16	4	5	5	100
	17	8	7	9	504
	18	5	5	9	225
	19	3	3	6	54
Nouvelles préparation de Cytostatiques	16	7	7	5	245
	17	9	7	9	567
	18	7	7	9	441
	19	3	3	6	54

4.4 Discussion

Les analyses de risque proactives sont généralement utilisées lors du développement d'un nouveau processus, avant son implantation⁷⁶. Pour le processus de fabrication

⁷⁶ Bonnabry P. (2006)

des cytostatiques, il était important de quantifier en premier lieu les défaillances, afin de voir si les indices de criticité étaient réellement élevés.

Il est important de prendre conscience de quelques points importants. La fabrication des cytostatiques au sein de la pharmacie des HUG s'élevait à 13'000 en 2006⁷⁷. Ainsi lorsque nous parlons de fréquence, les indices sont très vite élevés ; en effet, il suffit de penser qu'il y a plus de 3 préparations par an qui subissent la défaillances, pour donner un 2-3 à la fréquence. De même pour donner un 7 à la fréquence, il suffit de croire que au moins 1 fois tous les 3 jours la défaillances ait lieu.

Quant à la sévérité, même si lorsqu'il y a des risques, il ne s'agit dans un premier temps que d'une contamination microbienne extérieure (contenant) et non pas de la préparation, il est important de garder à l'esprit que si la contamination venait à être au niveau de la solution injectable, les conséquences seraient dramatiques ; en effet, l'addition des facteurs suivants : contamination microbiologique, administration intraveineuse et patients immunodéprimés donne un cocktail explosif.

Finalement, la détectabilité, est en relation directe avec la fréquence des contrôles. Ainsi, pour obtenir un 7, il suffit d'avoir une détection bimensuelle (comme dans les salles C). Le 9 sera attribué aux défaillances survenant dans la zone à atmosphère non définie (c'est-à-dire la salle qui contient le matériel des cytostatiques, ainsi que les ordinateurs). Comme il s'agit de produit dont l'utilisation peut avoir lieu dans la journée ou le lendemain, l'indice minimal qui sera mis sera de 4, car il est impossible de détecter la faille microbiologique **avant** l'administration aux patients. Les défaillances dépendants des gants auront donc un indice de 5 (car il sont contrôlé tous les jours et pour chaque opérateur)⁷⁸.

4.4.1 Analyse de risque « absolue »

Pour classer ces analyses de risque absolues, c'est leur indice de criticité qui a été pris en compte. Au-delà de 50 % (sur un IC max de 810 : 10*9*9), le problème est considéré comme majeur. Entre 50 et 20 %, le problème a un effet moyen. Et en dessous de 20 % le problème est considéré comme mineur.

4.4.1.1 Problèmes majeurs (> 50 %)

Le problème majeur (IC = 567) réside dans la désinfection des septums lors de nouvelles préparations. Il faudrait peut-être **mettre au point de teinture de chlorhexidine colorée**, ainsi il serait plus difficile d'oublier de désinfecter un septum, de plus, l'opérateur pourrait voir si toute la zone a bien été touchée par la désinfection. Mais il faut prendre cette proposition avec modération ; en effet, il n'est pas non plus autorisé d'amener une contamination chimique à la préparation. Une autre mesure visant à diminuer l'accroissement du nombre d'erreur du à la succession de préparation, serait **d'imposer un tournus au personnel qui limiterait à 1 heure les manipulations dans l'isolateur pour un opérateur donné**.

Le problème qui vient juste après, c'est encore une fois la désinfection des septums (IC = 504), mais lors de la première fabrication des cytostatiques. C'est pourquoi, je recommande encore une fois, **l'utilisation de teinture de chlorhexidine colorée**.

Dans ce classement, il y a une surprise, il n'est pas tout de suite évident que la mise sur le tapis de matériel stérile peut avoir un aussi grand indice de criticité (IC = 441). La seule mesure qui semble applicable, dans ce cas là, est la **limitation du nombre de**

⁷⁷ Bonnabry P. (n°2 2006)

⁷⁸ Fleury-Souverain S.

matériel présent dans l'isolateur, ainsi, il y aura moins de chance, pour que l'opérateur débordé, fasse inopinément sortir quelque chose du tapis. De plus, l'utilisation d'une lignette stérile au lieu du tapis, permettrait sans doute d'avoir une plus grande stabilité des éléments stérile (qui sont d'habitude sur le tapis).

Quant au bon dosage et à la bonne mise en poche (IC = 441), ils seront mieux respectés avec des protocoles le plus clairs possibles. Toutefois, sur ce point la pharmacie des HUG est déjà à un très haut niveau ; rappelons qu'elle a procédé à la centralisation de la production des cytostatiques et à l'utilisation de protocoles de fabrication (mise au point par Mme. Ackermann) générés électroniquement⁷⁹, ce qui a eu pour effet de limiter les erreurs de production⁸⁰ et de standardiser le moyen de préparation (donc l'opérateur suit souvent la même marche à suivre). Et à nouveau en **mettant en place un tournus obligatoire des opérateurs**.

4.4.1.2 Problèmes à effet moyen (entre 50-20 %)

Toujours par rapport aux matériels stériles, la contamination des pelables par l'extérieur (IC = 360), ainsi que leur contamination par le petit bac (IC = 360) viennent juste ensuite, dans la liste du top dix des criticités possibles. **Augmenter la fréquence journalière du changement des bacs du sas** de une à 2 fois par jour, voir même la faire correspondre au changement d'opérateurs conseiller plus haut (à savoir toute les heures et demi) permettrait de contrer ces défaillances. A cela, il faut ajouter, la **présence continue d'aide préparateur** (au lieu de leur présence seulement en matinée), ce qui permettrait d'avoir une personne ne s'occupant que de l'entrée du matériel et de ce fait, moins sujette à une contamination du matériel stérile par l'« extérieur » de l'isolateur. De plus, il serait peut-être bon d'envisager de **changer la classe de la salle blanche**. En effet, actuellement elle est en zone C (maximum 100 microorganismes vivants (UFC) par m³)

La défaillance qui fait que les compresses sont mal imbibées à la teinture de chlorhexidine (IC=315) est un problème dont nous devons tenir compte et il pourrait être résolu en **utilisant encore une fois une teinture de chlorhexidine colorées**.

Enfin, la désinfection des gants (IC = 245) et le dosage, ainsi que la mise en poche des préparations (IC = 225) ont également un score conséquent. La désinfection totale des gants est un processus qui peut être mis en évidence par **l'utilisation d'une teinture de chlorhexidine colorée**.

4.4.2 Analyse de risque avec la connaissance de la biocharge

Cette analyse de risque n'a eu une influence que sur le facteur de sévérité. En effet, la biocharge ne va avoir aucun effet sur la fréquence des événements ni sur les moyens de détection utilisés.

Nous observons que dans les problèmes majeurs et moyens, il n'y a qu'une seule augmentation d'IC (360->405) : celle de la contamination des produits stériles par un transfert provenant du petit bac. Le fait qu'une biocharge ait été observé sur ce matériel, a été une grande surprise et a eu une influence sur la sévérité à cause du fait que le petit bac est destiné uniquement au recueillement du matériel stérile.

⁷⁹ Bonnabry P. (n°2 2007)

⁸⁰ Bonnabry P. (2006)

4.4.3 Analyse de risque avec les modifications recommandées et un autre désinfectant

Essayons maintenant de voir quels scores vont être obtenus en appliquant les mesures précédemment citées (en 5.4.1 Analyse de risque absolue) tout en tenant encore une fois compte de la biocharge obtenue et en imaginant que le désinfectant utilisé est la teinture de chlorhexidine 0.5 % (comme pour l'efficacité microbienne).

Tableau 17 : Quantification des défaillances possibles lors de la production des cytostatiques injectables en tenant compte des modifications recommandées

Etapas du processus	Défaillances n°	Fréquence	Sévérité	DéTECTABILITÉ	Indice de criticité
Préparation du bac et du matériel en zone atmosphérique non définie	1	2	1	9	18
	2	4	1	9	36
	3	4	1	9	36
	4	4	2	9	36
	5	4	2	9	36
Entrée du bac dans le sas	6	1	1	9	9
Récupération du bac dans la salle blanche	6	5	1	7	35
Préparation des produits pour l'entrée dans le SAS (de l'isolateur)	2	1	5	7	35
	4	1	3	7	21
	6 pelable	4	8	9	288
	5	1	3	7	21
	7	3 ⁸¹	9	9	243
	7'	1	7	9	63
Préparation de la place de travail	8	1	7	6	42
	9	1	7	9	63
Récupération du matériel dans l'isolateur	10	1	7	9	63
	11	5	7	9	315
	12	4	2	9	72
	13	4	1	9	36
	14	4	3	9	108
	15	2	7	9	126
Préparation de Cytostatiques	16	2	5	5	50
	17	2	7	9	126
	18	3	4	9	108
	19	3	2	6	36
Nouvelles préparation de Cytostatiques	16	2	7	5	70
	17	2	7	9	126
	18	3	4 ⁸¹	9	108
	19	3	2	6	36

⁸¹ Effet combiné de la désinfection à la teinture de chlorhexidine 0.5 % et de l'application des mesures recommandées (en bleu).

En appliquant, à la fois, les mesures cités en 5.4.1 (modification en jaune) et en changeant le mode de désinfection à l'alcool pour une désinfection à la teinture de chlorhexidine 0.5 % (modification en vert), on observe une nette diminution du nombre d'IC majeur et moyen (de 9 à 3). A noter que pour les valeurs subissant l'effet des deux mesures, la couleur bleue a été utilisée. De plus, le tableau 16 réunissant les IC de « l'ancien » processus et du nouveau processus permet de voir quantitativement l'effet de ces changements.

Ce tableau est essentiel ; en effet, il permet de voir, que malgré une forte diminution de la valeur des indices de criticité (la somme des IC est de 4882 dans l'ancien système, alors qu'elle est de 2362 dans le nouveau), la moyenne de la réduction des facteurs n'est que de 2.1. Cela démontre que les moyens mis en œuvres n'ont d'effet que sur quelques défaillances. Heureusement, il s'agit de celle considérée comme majeure à savoir la désinfection des septums avec les compresses (lors de la 1^{ère} préparation et lors des suivantes), ainsi que le dosage des médicaments et leur mise en poche.

Après s'être assuré de la validation MFT du processus avec le nouveau désinfectant proposé, il faudra établir des estimations de coût supplémentaire, de façon à voir si ces mesures ont un rapport réduction facteur/coût satisfaisant.

Tableau 18 : Les modes de défaillances et la comparaison des indices de criticité pour l'ancien et le nouveau processus

Etapas du processus	Défaillances n°	Indice de criticité		Réduction de facteur (ancien/nouveau)
		Old process	New process	
Préparation du bac et du matériel en zone atmosphérique non définie	Désinfection du bac	54	18	3.0
	Désinfection des produits non pelable	90	36	2.5
	Désinfection des produits pelables	90	36	2.5
	Désinfection du mini grip	135	36	3.8
	Désinfection des étiquettes	135	36	3.8
Entrée du bac dans le sas	Contamination extérieure	9	9	1.0
Récupération du bac dans la salle blanche	Contamination extérieure	70	35	2
Préparation des produits pour l'entrée dans le SAS (de l'isolateur)	Désinfection des produits non pelable	49	35	1.4
	Désinfection du mini grip	28	21	1.3
	Contamination « extérieur » des pelables	360	288	1.3
	Désinfection des étiquettes	28	21	1.3
	contamination par le petit bac du SAS	405	243	1.7
	contamination par le grand bac du SAS	63	63	1.0
Préparation de la place de travail	Désinfection de la place de travail	42	42	1.0
	Installation du tapis	63	63	1.0
Récupération du matériel dans l'isolateur	Suspensions des poches	63	63	1.0
	Mise sur le tapis du matériel stérile	441	315	1.4
	Mise hors tapis des flacons et des étiquettes	108	72	1.5
	Installation de la poubelle	36	36	1.0
	Mini grip adhère à la paroi de l'isolateur	108	108	1.0
	Les compresses sont imbibées de chlorhexidine 0.5 %	315	126	2.5
Préparation de Cytostatiques	Désinfection des gants	100	50	2.0
	Septums désinfectés avec les compresses	504	126	4.0
	Dosage des médicaments et mise en poche	225	108	2.1
	Etiquetage	54	36	1.5
Nouvelle préparation de cytostatique	Désinfection des gants	245	70	3.5
	Septums désinfectés avec les compresses	567	126	4.5
	Dosage des médicaments et mise en poche	441	108	4.1
	Etiquetage	54	36	1.5
Somme		4882	2362	
Moyenne				2.1

4.5 Conclusion

Lors de la fabrication des cytostatiques le même processus est répété plusieurs fois (plusieurs préparations avec le même opérateur en une seule session). Mais si une des défaillances réussit à contaminer l'ensemble, la cinquième préparation risque de « bénéficier » d'un cumul de contamination au cours du temps. C'est pourquoi, lors du début de l'étape d'autres préparations, il est impératif de s'assurer de la bonne désinfection des gants.

Même si la teinture de chlorhexidine 0.5 % colorée n'est stable que 15 jours à cause d'un risque de précipitation⁸², elle a l'avantage de délimiter un champ opératoire ; c'est pourquoi, cette mesure me semble très intéressante.

Une intensification du changement des bacs « stériles » (1->2-4 fois par jour) dans le sas de l'isolateur va sans aucun doute provoquer des coûts supplémentaires importants tout comme diminuer le nombre d'heure de travail continu; toutefois, assurer le maintien de la norme microbiologique de la zone A (< 1 microorganismes vivants (UFC)/m³ durant l'activité⁸³) et de part ce fait la stérilité de la préparation ne devrait pas être sujette à scrupules.

5 Discussion générale

Les trois expériences réalisées dans ce travail ont montré tout leur intérêt. En effet, en tenant compte de ces trois résultats :

- ♣ la biocharge : tous les matériaux ont une biocharge inférieure à 10³ UFC par surface de matériau.
- ♣ l'efficacité microbiologique observée chez la chlorhexidine : action totale chez les bactéries et partielle chez le spore de *B.subtilis* et la moisissure *A.niger*.
- ♣ la comparaison des analyses AMDEC de la production de cytostatique avec le désinfectant « normal » (isopropanol 70 %) et celle avec la teinture de chlorhexidine à 70 % associée à des mesures spécifiques : nette diminution du nombre de IC majeur et diminution de la valeur des IC en général

Il est clairement visible que l'efficacité microbiologique de la teinture de chlorhexidine 0.5 % doit être vérifiée dans un isolateur de cytostatique et que la validation par MFT de la fabrication des cytostatiques injectables est nécessaire

6 Conclusion générale

Même si des études comme celle de De Filippi⁸⁴ laisse présager que certaines associations (exemple 5-FU et l'interféron α) pourraient permettre de préserver des cellules du système immunitaire (NK : natural killer) chez les cancéreux, il est, pour le moment, impératif de s'assurer de la stérilité des préparations injectables de ces patients. C'est pourquoi, une validation par média fill devra être opérée avec le désinfectant choisis (la teinture de chlorhexidine à 0.5%). Un protocole de média fill, pour s'assurer de la durée de stérilité des flacons entamés⁸⁵, ayant déjà été mis au point aux HUG pourra servir de support à l'élaboration de cette validation.

⁸² Sautter A.

⁸³ Sadeghipour F.

⁸⁴ Immuno-chemotherapy of advanced colorectal cancer with alpha-2a interferon and 5-fluorouracil. Immunopharmacological studies

⁸⁵ Stucki C.

7 Recommandations

Au vu des résultats obtenus dans les différentes parties de ce rapport, je recommande la continuation de la validation microbiologique de la fabrication des cytostatiques. C'est-à-dire, une vérification de l'efficacité microbiologique de la teinture de chlorhexidine 0.5 % comme désinfectant de l'isolateur des cytostatiques et de la durée de son efficacité. Après cela, une validation de MFT des cytostatiques devra être faite.

Les résultats obtenus concernant la biocharge devrait faire état d'un mémo interne à la pharmacie des HUG, afin de sensibiliser le personnel (préparateurs et aides préparateurs) à la biocharge réelle du matériel utilisé.

L'analyse de risque pourra aider à la mise en place de certaine mesure permettant de diminuer les IC des étapes de la fabrication des cytostatiques. Ainsi, la décision pourra être prise d'augmenter la fréquence des changements de bac à 2 fois par jour, voir plus. De plus, un autre mode de désinfection devra être envisagé (la teinture de chlorhexidine 0.5 ou le KlercideTM A). Il faudra également débattre concernant la possibilité d'utiliser de la teinture de chlorhexidine 0.5 % colorée afin d'avoir un moyen visuel de s'assurer de quelques étapes clés de désinfections (gants de l'isolateur et septums des flacons ou poches).

Optionnellement, il faudrait mettre fin à une doute en mettant au point un protocole standard pour vérifier le spectre d'action du KlercideTM B avec un grand nombre d'échantillons à l'appuis ; en effet, mes résultats sont trop limités au niveau de la répétition, c'est pourquoi, il faudra refaire l'efficacité microbiologique, mais seulement pour le KlercideTM B et comme matériau, il serait bon de prendre les étiquettes (il s'agit du matériau ayant le moins marché). Ainsi, une décision pourra être prise concernant la continuation de l'utilisation de ce produit comme désinfectant de l'isolateur. Ainsi, si l'efficacité microbiologique du KlercideTM B contre les spores de *B. subtilis* n'est pas totale, il ne sera plus utilisé lors de la désinfections des isolateurs, d'où une économie d'argent.

8 Références / Bibliographie

1. Ackermann M., Grossrieder F., Herrera V., Saâdi JF., Ing H., Sadeghipour F., Bonnabry P., *Validation d'un isolateur pour préparation de cytostatiques*, Pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, 2003
2. American Hospital Association, Health Research & Educational Trust, and the Institute for Safe Medication Practices, *Pathways for Medication SafetySM : Looking Collectively at Risk*, 2002, <http://www.ismp.org/Tools/PathwaySection2.pdf> (juin 2007)
3. Biomérieux, http://www.biomerieux.ch/servlet/srt/bio/switzerland/dynPage?open=SWT_IND_PRD&doc=SWT_IND_PRD_G_PRD_13&pubparams.sform=2&lang=fr (juin 2007)
4. Bonnabry P., Cingria L., Sadeghipour F., Ing H., Fonzo-Christe C., Pfister R.E., *Use of a systematic risk analysis method to improve security in the paediatric parenteral nutrition production*, Qual Saf Health Care 2005;14:93-98

5. Bonnabry P., Cingria L., Ackermann M., Sadeghipour F., Bigler L., Mach N., *Use of a prospective risk analysis method to improve the safety of the cancer chemotherapy process*, International Journal for Quality in Health Care 2006;18(1): 9-16
6. Bonnabry P., *Analyse prospective des risques: application aux chimiothérapies anticancéreuses*, pour le rassemblement : Pharmacie clinique oncologique, Université Paris Descartes, 18 mai 2006, http://www.hcuge.ch/Pharmacie/ens/conferences/pb_analyse_risque_du_paris06.pdf (juin 2007)
7. Bonnabry P., *Pourquoi le travail en milieu aseptique devient-il si important en pharmacie hospitalière ?*, *Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier*, 5^{ème} édition, Pharmacie des HUG, Genève, 2007
8. Bonnabry P., *Sécurisation des processus par des analyse de risqué*, *Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier*, 5^{ème} édition, Pharmacie des HUG, Genève, 2007
9. BPF / GMP, Europe Indust., Pharm., 1989
10. Cavin Frédy, responsable de la stérilisation centrale du CHUV, Forum : *Contrôle microbiologique en stérilisation*, mars 2006, http://www.hpci.ch/files/formation/forum/hh_forum0603-3.pdf (juin 2007)
11. Christakis G.B., Alexaki P., Alivizatos A.S., Chalkiopoulou I., Athanasiou A.E., Zarkadis I.K., *Primary bacteraemia caused by Rhizobium radiobacter in a patient with solid tumours*, J Med Microbiol. 2006 Oct;55(Pt 10):1453-6
12. Cingria L., *GMP: Analyse et maîtrise des risques*, Pharmacopoea Helvetica, Informationen und Visionen, Berne, 28 septembre 2006, http://www.swissmedic.ch/files/pdf/Cingria_GMP.pdf#xml=http://www.swissmedic.ch/texis/texis.exe/webinator/swissmedic_fr/xml.txt?query=BPF+cytostatiques&pr=swissmedic_fr&order=r&cq=2&id=466de56d4 (juin 2007)
13. Clinical Laboratory Standards Institute CLSI (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS), *Quality Control of Microbiological Transport Systems*; Approved Standard M40-A, 2003, Vol. 23 No. 34.
14. Le Comité de rédaction, *Editorial*, Swiss-Noso, mars 1995, Vol.2, No.1, <http://www.chuv.ch/swiss-noso/f21e.htm>
15. Communiqués de presse des HUG 13/10/05, *Lancement à Genève du Défi mondial pour la sécurité des patients*, http://www.hugge.ch/actualite/communiqués_presse_detail_eid_66_lid_7.html (juin 2007)
16. Copan, *Product Insert & how to use swab guide*, Copan Innovation, Brescia, 2006, pp.7-11, http://www.copanswabs.com/assets/pdf/ESwab_PackInsertEU.pdf (juin 2007)
17. Dayer P., Alvarez R., Sax H., *Hygiène des mains = un geste de prévention et de respect*, VigiNews, Genève, 2006, n°1, pp.1
18. Dayer P., Alvarez R., Sax H., *Aux HUG, le taux d'infections a diminué de 25 %*, VigiNews, Genève, 2007, n°2, pp.1
19. De Filippi R., Cucchiara G., Prete SP., Marini S., Ricci F., Nunziata C., Turriziani M., Bonmassar E., Fuggetta MP., De Vecchis L., *Immunochemotherapy of advanced colorectal cancer with alpha-2a interferon and*

- 5-fluorouracil*. Immunopharmacological studies, Ann Oncol., 1991 Nov-Dec;2(10):759-64.
20. Le Dictionnaire agroalimentaire, <http://www.agrojob.com/dictionnaire/definition-Bonnes-Pratiques-de-Fabrication-des-medicaments-BPF--2564.htm>, (juin 2007)
 21. Drapeau A. J., Jankovic S., *Manuel de microbiologie de l'environnement*, OMS, Genève, 1977, pp.225
 22. Duchaine C., Cormier Y., Mériaux A., Pageau P., Chabot M., Israël-Assayag E., *Santé respiratoire des travailleurs et qualité de l'air des tourbières du Québec possédant des systèmes de dépoussiérage*, Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 2004, pp.22
 23. Favet Dr. J., *Source de contamination et utilité de leur mise en évidence, Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier*, Pharmacie des HUG, Genève, 8-9 mai 2006, 4^{ème} édition
 24. Favet J.-L., *Cours de Bactériologie Générale : Paramètres physico-chimiques de la croissance bactérienne*, Genève, 2006, https://dokeos.unige.ch/home/courses/1329c644/document/5_PARAMETRES_CROISSANCE.pdf?cidReq=1329a637 (juin 2007)
 25. Fleury-Souverain S., *Contrôle de la propreté des locaux de production, Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier*, Pharmacie des HUG, Genève, 8-9 mai 2006, 4^{ème} édition
 26. Franková H., Churý Z., Gaislerová V., Jilková J., Hejlová N., Mach J., [Agrobacterium tumefaciens (Radiobacter) as an infectious agent in an oncological patient], Vnitr Lek. 1999 May;45(5):298-300
 27. Friedling P., *Mémoire : Activité antibactérienne du cuivre métallique incorporé dans un polymère organique*, Faculté des sciences de l'agéculture et de l'alimentation, Université Laval, 1998
 28. Gadó J., Schlick B., Bárány O., Németh J., Müller J., Csóka M., Constantin T., Vonnák E., Böcskei R., Hauser P., Kovács G., *The function of the immune system after the treatment of pediatric malignant diseases*, Orv Hetil., 2006 Sep 10;147(36):1731-8
 29. Grossrieder F., *Flux personnes et flux materiel, Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier*, 4^{ème} édition Pharmacie des HUG, Genève, 2006,
 30. Gruwetz B., Penaud J.-F., Lecante V., Lopez I., Dauphin A., *Exemple d'analyse de processus de fabrication en pharmacotechnie hospitalière*, Journal de pharmacie clinique, 2001 Sep ; 20(2) :145-8
 31. Heipha Dr. Müller GmbH, www.heipha.de/db/files/030826e-4-e-0606-TSA_%20LTHTh.pdf (juin 2007)
 32. Hsueh P.R., Teng L.J., Yang P.C., Chen Y.C., Pan H.J., Ho S.W., Luh K.T, *Nosocomial infections caused by Sphingomonas paucimobilis: clinical features and microbiological characteristics*, Clin Infect Dis. 1998 Mar;26(3):676-81
 33. Institut Pasteur : <http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/staphylo.html> (juin 2007)
 34. INTOTATM, Experts in bioburden, 2007, <http://www.intota.com/multisearch.asp?strSearchType=all&strQuery=bioburden>
 35. Isenberg HD, *Essential Procedures for Clinical Microbiology, Procedure for streaking plates for primary isolation*, Collection, Transport and

- Manipulation of Clinical Specimens, ASM, Washington DC, 1998, Chapter 1.1, Page 27..
36. Lai C.C., Teng L.J., Hsueh P.R., Yuan A., Tsai K.C., Tang J.L., Tien H.F., *Clinical and microbiological characteristics of Rhizobium radiobacter infections*, Clin Infect Dis. 2004 Jan 1;38(1):149-53. Epub 2003 Dec 4
 37. MacQueen K. F., *Dosimetry and radiation facilities*, In *Commercial Products Division*, Gamma irradiation in Canada, Atomic Energy of Canada, Ottawa, 1970., vol. I., p. 5-8
 38. Larpent J-P., Larpent-Gourgaud M., *Eléments de Microbiologie*, Hermann, 1985, pp.282-283
 39. Le HIR A., *Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments*, 7^{ème} édition, Masson, Paris, 1997, pp.194, 221
 40. Locker GJ., Staudinger T., [*Sepsis in hemato-oncologic patients*], Wien Med Wochenschr. 2002;152(21-22):564-7
 41. Marshall K.C., Stout R., Mitchell R., *Mechanism of the initial events in the Sorption of Marine Bacteria to Surfaces*, J. Gen. Microbiol., 1971, 68, 337-348
 42. Martino R., Martínez C., Pericas R., Salazar R., Solá C., Brunet S., Sureda A., Domingo-Albós A., *Bacteremia due to glucose non-fermenting gram-negative bacilli in patients with hematological neoplasias and solid tumors*, Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996 Jul;15(7):610-5
 43. Mavoungou P., Gottot S., *La perfusion intraveineuse*, <http://documentation.ledamed.org/IMG/html/doc-10835.html> (juin 2007)
 44. McDermott RE., Mikulak RJ., Beauregard MR., *The Basics of FMEA*, Resources Engineering, Portland, 1996
 45. MedicineNet.com, <http://www.medterms.com/script/main/art.asp?articlekey=2378> (juin 2007)
 46. Miller JM., *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*, Second Edition, American Society for Microbiology, Washington DC, 1999
 47. Miller JM., Holmes HT., *Specimen collection, transport, and storage*, In: *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed., Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. Washington, DV: ASM;1995:19-20
 48. ©MO BIO Laboratories, Inc., 2006, http://www.mobio.com/services/services_view.php?id=7 (juin 2007)
 49. NosoBase®, *Normes Stérilisation*, 2005, <http://nosobase.chu-lyon.fr/normes/sterilisation.htm> (juin 2007)
 50. Organisation Mondiale de la Santé, *Directives de qualité pour l'eau de boisson, Recommandations*, Bibliothèque de l'OMS, Genève, 1994, 2^{ème} éd., Vol. 1
 51. Organisation Mondiale de la Santé, *Guide OMS des normes relatives aux bonnes pratiques de fabrication (BPF)*, Bibliothèque de l'OMS, Genève, 1997, Partie 2 : Validation, pp.2
 52. Paphitou N.I., Rolston K.V., *Catheter-related bacteremia caused by Agrobacterium radiobacter in a cancer patient: case report and literature review*, Infection. 2003 Dec;31(6):421-4.
 53. Perola O., Nousiainen T., Suomolainen S., Karkkainen U.M., Kauppinen J., Ojanen T., Katila M.L., *Recurrent Sphingomonas paucimobilis bacteraemia associated with a multi-bacterial water-borne epidemic*

- among neutropenic patients*, The Journal Of Hospital Infection, 2002/03, 50 (3) : 1996-201
54. Dr Petignat C., *Maladies infectieuses*, Lausanne, 2006, http://www.hpci.ch/files/formation/hh_mal-inf_epidemi_ambul.pdf (juin 2007)
55. *Pharmacopée européenne : publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne (série des traités européens, no 50), 3ème éd. Addendum 2001*, Strasbourg : Conseil de l'Europe, cop. 2000, pp.66
56. *Pharmacopée européenne : publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne (série des traités européens, no 50), 3ème éd. Addendum 1998*, Strasbourg : Conseil de l'Europe, 1997, pp.295, 1623
57. *Pharmacopoea Helvetica*, Institut suisse des produits thérapeutiques, Swissmedic, Berne, 2006, 10e éd., éd. Française
58. Psoriasis.org : <http://www.psoriasis.org/psoriasis.fr/candida.htm> (juin 2007)
59. Ridoux M., *AMDEC-Moyen*, Techniques de l'ingénieur, Paris, 1999, pp.1-5
60. Laboratoire de contrôle de qualité, *Classeur : Déclarations d'incidents*, HUG, Genève, 2007
61. Sadeghipour F., *Classification et conception des locaux de production, Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier*, Pharmacie des HUG, Genève, 8-9 mai 2006, 4^{ème} édition
62. Sautter A., *Antiseptiques et désinfectants*, Formation continue pour infirmières de salle d'opération, Genève, février 2004, http://www.hcuge.ch/Pharmacie/ens/conferences/ams_antisept2004.pdf (juin 2007)
63. Schield Medicare, <http://www.klercide.com/french/products/ProductDetail.asp?ProductID=1> (juin 2007)
64. Schield Medicare, <http://www.klercide.com/french/products/ProductDetail.asp?ProductID=11> (juin 2007)
65. Schield Medicare, <http://www.klercide.com/french/products/ProductDetail.asp?ProductID=9> (juin 2007)
66. ©Sterigenics, Bioburden, 2007, http://www.sterigenics.com/steripro_labs/Bioburden.aspx (juin 2007)
67. Stucki C., De Giorgi I., Sadeghipour F., Bonnabry P., *Mise au Point d'un Protocole de simulation de remplissage aseptique par media fill et validation des opérateurs de production*, Pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, 2003
68. The Centre for Cancer Education, *Online Medical Dictionary*, University of Newcastle upon Tyne, 1997, <http://cancerweb.ncl.ac.uk/cgi-bin/omd?bioburden> (juin 2007)
69. Vucasovic C., *Travail de diplôme : Sécurité d'administration des médicaments par voie sous-cutanée en gériatrie*, Genève, 2003, http://www.hcuge.ch/Pharmacie/ens/travdiplome/2003_cv_souscutane_doc.pdf (juin 2007)

70. Vulgaris-médicale : <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie/aspergillose-607.html#epidemiologie> (juin 2007)
71. Williams E., Talley R., *The use of failure mode effect and criticality analysis in a medication error subcommittee*, Hosp Pharm., 1994 Apr; 29 (4) :331-2, 334-6

9 Annexes

9.1 Biocharge

9.1.1 Méthodes de désinfections utilisés

9.1.1.1 Désinfection à l'isopropanol 70%

Lors de la 1^{ère} et de la 2^{ème} désinfection, le matériel a été vaporisé sur toute sa surface, en essayant de recréer ce qui a pu être observé dans la pratique, à savoir un seul passage de vaporisation uniforme, en procédant tout de même à un deuxième passage à proximité des « ouvertures » (capuchons des flacons de verre ou des poches).

9.1.1.2 Désinfection au Klercide™ A + frottement mécanique, puis à l'isopropanol 70%

Lors de la 1^{ère} désinfection, le matériel a été vaporisé sur toute sa surface, en essayant de recréer ce qui a pu être observé dans la pratique, à savoir un seul passage de vaporisation uniforme, en procédant tout de même à un deuxième passage à proximité des « ouvertures » (capuchons des flacons de verre ou des poches), puis après 5 minutes, le matériel a été frotté (2 passages de haut en bas) à l'aide de lingette stérile. Pour la 2^{ème} désinfection, c'est l'isopropanol qui a été utilisé ; en effet, il était hors de question d'utiliser du Klercide™ A comme mode de désinfection pour des produits qui allaient se retrouver dans l'isolateur. Rappelons que même lors de la désinfection hebdomadaire des isolateurs, lorsque le Klercide™ A et le Klercide™ B sont employés successivement, il y a toujours une dernière étape de « rinçage » avec de l'isopropanol à 70 %.

9.1.2 Résultats détaillés de ce qui a été obtenu lors de l'établissement de la biocharge

Tableau 1 : Nombre de bactéries pour 25 cm³ de matériau avec la technique de désinfection à l'isopropanol 70 %, pour la 1^{ère} et 2^{ème} désinfection

Matériau	Initiale			Après 1 ^{ère} désinfection			Après 2 ^{ème} désinfection		
Poche glucose 5 % 50 ml	1	4	1	0	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	0	1	0	0	?
Poubelle de l'isolateur	0	0	0	0	0	0	Pas de 2 ^{ème} désinfection, car les poubelles se trouvent déjà dans la salle blanche		
	0	0	0	0	0	0			
Etiquettes	1	0	†	0	0	0	0	0	0
	1	3	5	0	0	0	0	0	0
	* autour de la colonie rose, il y a un « champs » de minuscules colonies blanches ? il y a une ou des colonie(s) qui font tout le bord du count-tact, comme si une colonie s'était dispersée dans un liquide pour contaminer que le bord								

Taxol 50 ml	0	1	1	1	0	0	0	1	0
	0	?	0	0	0	0	0	?	0
Cisplatine 50 ml	2	2	2	1	0	0	0	0	0
	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Cellophane d'emballage stérile	0	0	0	0	0	0	Pas de 2ème désinfection, car le vigon mâle sous cellophane est pelé avant son entrée dans l'isolateur		
	0	0	0	0	0	0			
PETIT Bac blanc stérile	0	0	0	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car les petits bacs se trouvent dans l'isolateur, ils ne sont pas amenés par mes soins					
	1	1	0						
GRAND bac blanc stérile	0	1	0	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car les grands bacs se trouvent dans l'isolateur, ils ne sont pas amenés par mes soins					
	0	1	1						
Stylo indélébile	0	0	0	Pas de 1ère ou 2ème désinfection car le stylo se trouve dans l'isolateur, il n'est pas amené par mes soins					
	0	0	0						
Mini grip = fourre pour protocole	1**	0	0	0	0	1	0	0	0
	3	0	4**	0	0	0	0	0	0
** il s'agit d'une grosse moisissure prenant tout le count-tact *** les UFC sont parfois quelque peu fusionnées									

Les matériaux sélectionnés étant de dimension assez grande, les prélèvements après la 1^{ère} et la 2^{ème} désinfection ont été effectués sur les mêmes échantillons.

Tableau 2 : Nombre de bactéries pour 25 cm³ de matériau avec la désinfection au KlercideTM A + frottement mécanique (mais seulement dans la 1^{ère} désinfection, tandis que la 2^{ème} est une vaporisation à l'isopropanol 70 %)

Matériau	Initiale					Après 1 ^{ère} désinfection				
<i>Après 2^{ème} désinfection</i>										
3 Etiquettes	2	3	4	1	4	0	1	0	0	0
	0	0	1	0	2	0	1	1	0	0
			0	0	0	0	0			
			0	1	0	0	0			
Poche glucose 5 % 500 ml	3	4	*	3	2	5	0	1	0	1*
	3	0	0	1	0	0	0	0	0	1
			0	0	?	0	1			
			0	1	0	0	0			
Poche glucose 5 % 1000 ml	9	2	14	1	5	0	0	0	0	0
	2	3	0	2	2	0	0	0	0	0

		0	0	0	0	0				
		0	0	0	0	0				
	* 2 ou 4 ** gazon ? il y a une ou des colonie(s) qui font tout le bord du count-tact, comme si une colonie s'était dispersée dans un liquide pour contaminer que le bord.									
Mini grip = fourre pour protocole	1	4	0	1	0	0	0	1	0	0
	1	0	1	2	5	0	0	0	0	0
		1	0	0	0	0				
		0	0	0	0	0				

Le nombre de microorganismes prélevés sur 25 cm³ de count-tact ont été multipliés par un facteur permettant d'extrapoler ces résultats à la surface entière (cf. la biocharge représentant le nombre de microorganismes sur la surface **entière** d'un matériau).

Tableau 3 : Dimension des matériaux étudiés

	Aire totale cm ²	~ facteur de Multiplication
Cisplatine 50 ml	249.46	10
Taxol 50 ml	94.25	4
Poche Glucose 50 ml	306	12
Poche Glucose 500 ml	720	29
Poche Glucose 1000 ml	1200	48
Poubelle de l'isolateur	2800	112
Etiquettes	105	4
Petit bac blanc « stérile »	919.1	37
Grand bac blanc « stérile »	1728.5	69
Stylo indélébile	83.64	3
Cellophane de vigon male-male	311.75	12
Mini grip	1438.8	58

9.1.3 Code utilisé pour donner les échantillons à analyser le laboratoire de microbiologie des HUG

Valeur donné	Matériau	Etat	Nombre de répétition
1	Poche Glu 50 ml	Initiale	1
2	Etiquette (1 seule)	Après 1 ^{ère} désinfection	2
3	Taxol	Après 2 ^{ème} désinfection	3
4	Cisplatine		4
5	Petit bac		5
6	Grand bac		6
7	Mini grip		7
8	Cellophane		8
9	Etiquettes (par 3=2 ^{ème} essais)		9
10	Poche Glu 500 ml		10
11	Poche Glu 1000 ml		
12	Mini Grip (2 ^{ème} essais)		

9.2 Efficacité microbiologique

9.2.1 Préparation de suspensions de microorganismes

9.2.1.1 *Bacillus subtilis*

Une suspension à $5 \cdot 10^{10}$ UFC/ml était déjà disponible, ce qui permis de procéder directement à la dilution suivante : 50 μ l de la solution à $5 \cdot 10^{10}$ UFC/ml dans 50 ml d'eau physiologique. Le volume utilisé de 50 ml, est le volume nécessaire à la contamination de 4 séries de 6 échantillons (24 échantillons en tout).

9.2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Le germe a d'abord été « revigoré » en le repiquant sur du TSA. Puis, il y a eu à partir de cette souche 2 autres petri TSA d'inoculé. La détermination de la concentration que l'on cherche à faire (10^8 UFC/ml) sera obtenue par l'estimation du trouble d'une suspension bactérienne (obtenue en mettant une loups $\approx 10 \mu$ l dans 5 ml d'eau physiologique stérile) à l'aide de l'étalon de Macferland 2. Finalement, 5 ml de la suspension à 10^8 UFC/ml ont été mis dans un erlenmeyer contenant 45 ml d'eau physiologique stérile.

9.2.1.3 *Staphylococcus aureus*

Le germe a d'abord été « revigoré » en le repiquant sur du TSA. Puis, il y a eu à partir de cette souche 2 autres petri TSA d'inoculer. La détermination de la concentration que l'on cherche à faire (10^8 UFC/ml) sera obtenue par l'estimation du trouble d'une suspension bactérienne (obtenue en mettant une loups $\approx 10 \mu$ l dans 5 ml d'eau physiologique stérile) à l'aide de l'étalon Macferland 3. Finalement, 5 ml de la suspension à 10^8 UFC/ml ont été mis dans un erlenmeyer contenant 45 ml d'eau physiologique stérile.

9.2.1.4 *Candida albicans*

Cette levure pousse sur du SDA. Elle a été revigorée en la repiquant sur du SDA. Et au bout de 3 jours elle a été utilisée pour en faire une suspension. Elle a été préparée en utilisant 5 ml d'eau physiologique stérile auquel on a mis une anse de candida albicans $\approx 10 \mu$ l. Après dénombrement sous le microscope avec la chambre de Petroff-hauser et évaluation du titre de la suspension, 5 ml à 10^8 UFC/ml ont été mis dans un erlenmeyer contenant 45 ml d'eau physiologique stérile. Comme la méthode de Petroff-hauser ne permet pas de distinguer les microorganismes morts des vivants, un étalage de la solution dilué de 10^{-6} à 10^{-4} UFC/ml a été fait afin de s'assurer de la concentration de notre suspension de *Candida albicans*.

9.2.1.5 *Aspergillus niger*

Cette moisissure pousse sur du Malt. Il a été revigoré en la repiquant sur du Malt. Et au bout d'une semaine, il a été utilisé pour en faire une suspension. Elle a été préparée en imbibant (petit à petit) les spores de champignons avec 5 ml d'eau physiologique stérile ad. 0.1 % de Tween. Après dénombrement sous le microscope avec la chambre de Petroff-hauser et évaluation du titre de la suspension, 5 ml à 10^8 UFC/ml ont été mis dans un erlenmeyer contenant 45 ml d'eau physiologique stérile. Comme la méthode de Petroff-hauser ne permet pas de distinguer les microorganismes morts des

vivants, un étalage de la solution diluée de 10^{-6} à 10^{-4} UFC/ml a été fait afin de s'assurer de la concentration de notre suspension d'*Aspergillus niger*.

9.2.2 Résultats de l'efficacité microbiologique par microorganismes

9.2.2.1 Tableau des codes utilisé pour l'établissement d'étiquettes

Pour une plus grande simplicité de manipulation, les count-tacts ont été étiqueté selon le code suivant :

	Germes	Matériau	Désinfec°	Prélèv	Répéti°
1	Bacillus subtilis ⁸⁶	Poche « plastique »	Isopropanol	Témoin	1
2	Pseudomonas aeruginosa ¹	Poubelle « sachet plastique »	Isopropanol + ac° mécaniQ	Après 1 ^{er} désinfection	2
3	Staphylococcus aureus ¹	Etiquette « papier »	QAC « Klercide B » ⁸⁷	Après 2 ^{ème} désinfection	3
4	Candida albicans ⁸⁸	Plaque de « verre »	Biguanide « Klercide A » ⁸⁹		4
5	Aspergillus niger ⁹⁰		Teinture de Chlorhexidine 0.5%		5
6	Tous à 10^3				6

Ainsi, pour l'efficacité microbiologique de la tienteure de chlorhexidine 0.5 % avec le germe *Candida albicans* et le matériau plaque de verre, la 3^{ème} répétition du 1^{er} prélèvement aura le code suivant : 44513.

⁸⁶ Bactéries : a besoin de pousser pendant 24 H

⁸⁷ Klercide B : ammonium 4° + dioxyde de chlore stabilisé

⁸⁸ Levure : a besoin de pousser pendant 3 jours

⁸⁹ Klercide A : biguanide + ammonium 4°

⁹⁰ Moisissure : a besoin de pousser pendant 1 semaine

9.2.2.2 *Aspergillus niger*

Tableau 19 *A.niger* sur une poche en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	Remarques
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	4.6*10 ⁶ UFC/ml de Aspergillus niger (microscope) ou 7.7*10 ⁶ UFC/ml de Aspergillus niger (dénombrement par étalement)
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	7.2*10 ⁶ UFC/ml de Aspergillus niger (microscope) ou 5.8*10 ⁶ UFC/ml de Aspergillus niger (dénombrement par étalement)
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
32	++	++	+(+)	++	++(+)	+(+)	
33	+(+)	+(+)	+	++(+)	++	++(+)	
41	++	++	++	++	++	+	
42	++	+(+)	++(+)	+	+(+)	++(+)	4.2*10 ⁶ UFC/ml (microscope) ou 1.8*10 ⁶ UFC/ml de Aspergillus niger (dénombrement par étalement)
43	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
51	+++	++(+)	+++	+++	++(+)	+++	
52	+(+)	+	+	+ au bord	+ au bord	+ au bord	50 en bordure
53	50 en bordure	+ sur 7 carrés	+(+)	+ sur 1/2	30	50 en bordure	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon, + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 20 *A.niger* sur un sachet poubelle en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	7.2*10 ⁶ UFC/ml (microscope) ou 5.8*10 ⁶ UFC/ml de <i>A. niger</i> (dénombrement par étalement)
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
33	+ sur pourtour	+++	+++	++	+++	+++	4.6*10 ⁶ UFC/ml (microscope) ou 7.7*10 ⁶ UFC/ml de <i>A. niger</i> (dénombrement par étalement)
41	-	+++	+++	+++	+++	+++	
42	-	0	0	0	0	0	
43	-	0	0	0	0	0	
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	8.4*10 ⁵ UFC/ml (microscope) ou 9.9*10 ⁵ UFC/ml de <i>A. niger</i> (dénombrement par étalement)
52	++	++	++(+)	++	++(+)	++	
53	+	++(+)	+	+	++	+	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 21 *A.niger* sur une étiquette en papier

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	4.6*10 ⁶ UFC/ml de <i>Aspergillus niger</i> (microscope) ou 5.5*10 ⁶ UFC/ml de <i>Aspergillus niger</i> (dénombrement par étalement)
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	4*10 ⁶ UFC/ml de <i>Aspergillus niger</i> (microscope) ou 6.6*10 ⁶ UFC/ml de <i>Aspergillus niger</i> (dénombrement par étalement)
32	++	+++	+++	+++	+++	+++	
33	++	+++	+++	+++	+++	+++	
41	++	+++	+++	+++	+++	+++	
42	++	++	+(+)	++(+)	++(+)	++	
43	(+)	(+)	+	+(+)	+	+	
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	8.4*10 ⁵ UFC/ml (microscope) ou 9.9*10 ⁵ UFC/ml de <i>A. niger</i> (dénombrement par étalement)
52	+(+)	+(+)	++	++	++	++	
53	96	(+)	(+)	+	+	+	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 22 *A.niger* sur une plaque de verre

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6		
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1*10 ⁵ UFC/ml (microscope) ou 2.7*10 ⁵ UFC/ml de <i>A. niger</i> (dénombrement par étalement)	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
32	+++	+++	++ sur 1/2	+++	+++	+++ sur 3/4		
33	+++	+++	+++	+++	+	+++		
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
42	+++ sur 1/2	+++ sur 5 carrés	10	0	+ sur 8 carrés	0		
43	0	+ sur 4 carrés	0	0	+ sur 1/2	1		
51	++(+)	++(+)	+++	++(+)	++(+)	++(+)		4.2*10 ⁶ UFC/ml (microscope) ou 1.8*10 ⁶ UFC/ml de <i>A. niger</i> (dénombrement par étalement)
52	++	+(+)	++	++	+(+)	++		
53	+	23	+(+)	+	30	+(+)		
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies								

9.2.2.3 *Candida albicans*

Tableau 23 *Candida albicans* sur une poche en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	Remarques
11	++	+++	++(+)	++	++	++(+)	2.6*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida</i> <i>albicans</i> (microscope) pas de dénombrement par étalement
12	1	0	0	10	6	0	
13	1	0	1	28	+++ sur 2/3	0	
21	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++	
22	81	+++ sur pourtour	+	+++ sur 1/2 pourtour	0	+ sur 1/4 bord	
23	+++ sur 1/2 boîte	1	2	1	0	0	
31	++	++	+++	++	+++	+++	
32	++(+)	++(+)	+++	+++	++	++	
33	++(+)	+++	++	++	+++	+++	
41	+(+)	++	++	++	+++	++(+)	
42	0	0	0	0	100	++ sur le bord	1.7*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida</i> <i>albicans</i> (microscope) ou 5.9*10 ⁶ UFC/ml de <i>Candida</i> <i>albicans</i> (dénombrement par étalement)
43	0	72	0	0	9	10	
51	+(+)	+	+(+)	+(+)	+	+	
52	0	0	0	0	0	0	
53	0	0	0	4	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon, + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 24 *Candida albicans* sur un sachet poubelle en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	++(+)	++(+)	+++	+++	+++	+++	1.6-2.4*10 ⁷ UFC/ml de Candida albicans (microscope) ou 9.7-11*10 ⁶ UFC/ml de Candida albicans (dénombrement par étalement)
12	0	0	0	0	0	0	
13	0	0	0	100	0	0	
21	++(+)	+++	+++	+++	+++	+++	9.7-11*10 ⁶ UFC/ml de Candida albicans (dénombrement par étalement)
22	++	+(+)	++(+)	+++ su 1/2	++(+ sur 1/2	++(+)	
23	+++ sur 1/2	0	2	1	0	0	
31	222	44	+++	+++	+++	+++	1.6*10 ⁷ UFC/ml de Candida albicans (microscope) ou 1.6*10 ⁶ UFC/ml de Candida albicans (dénombrement par étalement)
32	0	0	4	0	0	0	
33	0	0	0	0	0	0	
41	+++	++(+)	++	++(+)	++(+)	++	2.4*10 ⁷ UFC/ml de Candida albicans (dénombrement par étalement)
42	20	26	70	0	20	0	
43	0	0	0	0	0	0	
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	9.7*10 ⁶ UFC/ml de Candida albicans (dénombrement par étalement)
52	0	0	0	0	0	0	
53	0	0	0	0	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 25 *Candida albicans* sur une étiquette en papier

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	1.3*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida</i> <i>albicans</i> (microscope) ou 1.1*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida</i> <i>albicans</i> (dénombrement par étalement)
12	100 sur 1/2	20	0	-	0	0	
13	30	0	0	1	4	1	
21	+++*	+++*	+++*	++(+)*	+++*	-	* belle délimitation de l'étiquette par rapport au "support"-> celui-ci est - perméable
22	23 localisés	0	4	3	0	0	
23	0	0	0	-	0	0	
31	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
33	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
41	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	1.7*10 ⁷ UFC/ml (microscope) ou 5.9*10 ⁶ UFC/ml de <i>Candida</i> <i>albicans</i> (dénombrement par étalement)
42	10	+	+(+)	+(+)	++	35	
43	0	0	20 sur le rebord	50 sur 1/2	0	0	
51	+++*	++(+)*	++(+)*	++(+)*	++(+)*	++(+)*	
52	0	0	0	2	0	0	
53	0	0	0	0	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 26 *Candida albicans* sur une plaque de verre

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2.4*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (microscope) ou 9.7*10 ⁶ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (dénombrement par étalement)
12	0	0	0	0	0	0	
13	0	0	0	0	0	0	
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2.4*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (dénombrement par étalement)
22	0	0	0	0	0	0	
23	0	0	0	0	0	0	
31	+(+)	+ = 298	+ = 280	190	+(+)	+(+)	1.6*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (microscope) ou 1.6*10 ⁶ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (dénombrement par étalement)
32	0	0	0	0	0	0	
33	0	0	0	0	0	0	
41	117	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	1.6*10 ⁶ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (dénombrement par étalement)
42	0	0	0	0	0	0	
43	0	0	0	0	0	0	
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	2.4*10 ⁷ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (microscope) ou 9.7*10 ⁶ UFC/ml de <i>Candida albicans</i> (dénombrement par étalement)
52	0	0	0	0	0	0	
53	0	0	0	0	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

9.2.2.4 *Bacillus subtilis*

Tableau 27 *Bacillus subtilis* 1.9-2.5*10⁶UFC/ml sur une poche en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	Remarques
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
21	+++	+++	+++	0*	+++	+++	* laisse penser que le count tact n'a pas servi
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
33	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++	°en bordure, donc certainement du à une contamination par les gants
42	0	0	0	0	0	+ °	
43	0	0	0	0	0	0	
51	+++	+++	+++	+++	+++	++(+)	
52	6	+	+ sur la moitié	6	+ sur la moitié	+ sur la moitié	
53	3	11	++	5	++ sur le contour	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon, + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 28 *Bacillus subtilis* 2.2-3*10⁶UFC/ml sur un sachet poubelle en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++
33	+++	+++	+++	+++	+++	+++
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++
42	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++
52	30 en bordure	39 en bordure	≈60 en bordure	++ en bordure	8	15
53	0	17	0	+ en bordure	0	7

légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 29 *Bacillus subtilis* 2.3-3*10⁶UFC/ml sur une étiquette en papier

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
22	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
23	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
33	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
42	0	0->12	0->30	0	0	0	Des colonies ont poussées après 48H
43	0	0	0	0	0->7	0	
51	++(+)	+++	++(+)	+++	++(+)	+++	
52	+ sur la 1/2	0	+ sur la 1/2				
53	0	0	0	0	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 30 *Bacillus subtilis* sur une plaque de verre

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1.9*10 ⁶ UFC/ml de bacillus subtilis
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
13	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	3.6*10 ⁶ UFC/ml de bacillus subtilis
22	+++	+++	+++	++(+)	+++	+++	
23	+++	+++	+++	++(+)	+++	+++	
31	+++	++(+)	+++	+++	+++	+++	*Elles sont sur le bord, elles sont donc dues à une contamination par le 1/2 pétri qui servait de récipient au plaque de verre.
32	++(+) sur tout le bord	+++ sur le bord d'+ carré	0	++(+) sur la 1/2 du bord	+++ sur la 1/2 du bord	+++ sur la 1/2 du bord	
33	0	2*	0	0	0	2*	
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1.7*10 ⁶ UFC/ml de bacillus subtilis
42	1*	0	0	0	0	1*	
43	0	5*	0	0	5*	0	
51	++	++	++	++	++	++	3*10 ⁶ UFC/ml de bacillus subtilis
52	++ sur 1/4	++ sur 1/4	++ sur 1/4	≈ 24 au bord	++ sur 1/4	++ sur 1/4	
53	≈ 2 au bord	24 au bord	8 au bord	≈ 50 au bord	13 au bord	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

9.2.2.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau 31 *Pseudomonas aeruginosa* 1.5-3.5*10⁷UFC/ml sur une poche en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	Remarques
11	++	++	++(+)	++	++(+)	++	* le count tact s'est détaché ° le count tact est mauvais
12	0	0	0	0	0	0	
13	0	0	0	0	1	0	
21	+++	+++	++	++	+	+	
22	0	0	2	0	0	0	
23	0	0	0	0	0	0	
31	+++	++(+)	++	++	agar est tombé	++	
32	0	0	0	0	0	0	
33	0	0	0	0	0	0	
41	+++	+++	+++	++	++	+++	
42	0	0	0	0	0	+°	
43	0*	0	0	0	0	0	
51	+++	++(+)	+++	+++	+++	++(+)	
52	0	0	0	+++ sur 3 carrés	+++ sur 3 carrés	0	
53	0	0	0	0	0	+++ sur 4 carrés	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon, + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 32 *Pseudomonas aeruginosa* 1.5-3.6*10⁷UFC/ml sur un sachet poubelle en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12	0	0	0	0	16	0
13	0	0	0	0	0	0
21	+++	+++	+++	++(+)	+++	+++
22	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++
32	23	0	8	1	60 sur 5 carrés	5
33	70	23	+++	++(+) sur 3/4	++(+)	65
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++
42	+++	+++	+++	+++	+++ sur 1/3	+ sur 2/3
43	3	0	5	34	+++ sur 3 carrés	0
51	+	+	++(+)	++	+	++
52	1	2	1	0	0	0
53	0	++ sur 1 carré	0	0	0	0

légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 33 *Pseudomonas aeruginosa* 1.5-3.5*10⁷ UFC/ml sur une étiquette en papier

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+(+)	++(+)	++	+++	++	+++	* le count tact s'est détaché
12	0	0	0	0	0	0	
13	0	0	0	0	0	0	
21	+++	++	++	+++	+++	+++	
22	+++ sur la 1/2	++ sur 1/2	++ sur 1/2	0	0	+++ sur la 1/2 carré	
23	0	+++ sur bord	0	0*	0	0	
31	++(+)	+++	++	++(+)	+++	+++	
32	+++	++	+(+)	++	++	++	
33	++	0	7	6	22	0	
41	+++	++(+)	++(+)	+++	++(+)	++(+)	
42	0	0	0	0	0	0	
43	1	0	0	0	0	+++ sur le bord	
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
52	0	+++ sur bord	0	+++ sur bord	+++ sur bord	0	
53	0	0	0	+++ sur bord	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 34 *Pseudomonas aeruginosa* sur une plaque de verre

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	3.5*10 ⁷ UFC/ml de Pseudomonas aeruginosa
12	0	+++ sur 3 carrés	0	0	0	0	
13	0	+++ sur 2 carrés	0	0	0	+++ sur 4 carrés	
21	+++	+++	+++	+++	++	++	2.1*10 ⁷ UFC/ml de Pseudomonas aeruginosa
22	0	0	0	0	0	0	
23	0	0	0	0	0	0	
31	(+)	++	++	+	+	++	
32	0	0	0	0	0	0	
33	0	0	0	0	0	0	
41	+++	++	+++	++	++	++	
42	0	0	0	0	0	0	
43	0	0	0	0	0	0	
51	+++	++(+)	+++	+++	+++	++(+)	
52	0	0	0	+++ sur 3 carrés	+++ sur 3 carrés	0	
53	0	0	0	0	0	+++ sur 4 carrés	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

9.2.2.6 *Staphylococcus aureus*

Tableau 35 *Staphylococcus aureus* 1.8-3.8*10⁷UFC/ml sur une poche en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6
11	++	++	+++	++(+)	+++	+++
12	0	0	0	18	0	5
13	0	+++ sur la 1/2	0	6	0	0
21	++(+)	-	++	-	-	-
22	+++ sur 1/2 bord	140 sur 1/2	100 sur le bord	160	36	+++ sur 1/2
23	0	+++ sur 1/4 bord	120 sur 1/2	0	0	0
31	+++	+++	+++	+++	++	++
32	+++	++(+)	++(+)	+++	8	99
33	++	++	++	++	1	23
41	+++	+++	+++	++	++	+++
42	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0
51	+++	+++	+++	+++	+++	+++
52	0	30	0	7	2	0
53	0	0	0	0	0	0

légende: +++ gazon, ++ presque gazon, + plus de 300 colonies

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 36 *Staphylococcus aureus* sur un sachet poubelle en plastique

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	++(+)	+++	+++	+++	+++	+++	1.8*10 ⁷ UFC/ml staphylococcus aureus
12	120	+++ sur la 1/2	23	+++ sur la 1/2	+++ sur la 1/2	+++ sur le 1/4	
13	1	+++ sur le 1/4	2	0	0	++ sur 1/4	
21	+++	++	+++	++	++	++	6.9*10 ⁷ UFC/ml staphylococcus aureus
22	8	+ sur 1/2	++	++	+	++	
23	0	0	30	120	+ sur 1/2	1	
31	+++	+++	++(+)	++(+)	++(+)	+++	1.1*10 ⁸ UFC/ml staphylococcus aureus
32	0	0	0	0	0	0	
33	0	0	0	0	0	0	
41	+++	++(+)	+++	+++	++(+)	+++	
42	0	0	0	0	0	0	
43	0	0	0	0	0	0	
51	++(+)	++	++	++	++	++(+)	6.9*10 ⁷ UFC/ml staphylococcus aureus
52	0	0	0	0	0	0	
53	0	0	0	0	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 37 *Staphylococcus aureus* sur une étiquette en papier

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6	
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	3.1*10 ⁷ UFC/ml de staphylococcus aureus
12	0	0	6	++(+)	0	0	
13	0	0	0	0	0	0	
21	+(+)	+++	+++	++	++(+)	+++	
22	+(+) sur la 1/2	1	+ sur 1/2	+ sur 1/2	+	++ sur la 1/2	
23	0	0	0	0	0	0	
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1.8*10 ⁷ UFC/ml de staphylococcus aureus
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
33	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	+++*	
41	+++*	+++	+++	+++*	+++	+++	* belle délimitation de l'étiquette par rapport au "support"-> celui-ci est - perméable
42	0	0	0	80	9	0	
43	0	34 en bordure	0	0	5	0	
51	+++	+++*	+++*	0	+++*	+++*	3.5*10 ⁷ UFC/ml de staphylococcus aureus
52	2	13	3	0	1	0	
53	0	0	0	0	0	0	
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies							

Université de Genève, Faculté des sciences, Section des sciences pharmaceutiques
Travail de diplôme en pharmacie hospitalière-HUG-2007

Tableau 38 *Staphylococcus aureus* 2.2*10⁷UFC/ml sur une plaque de verre

Nb de répétition/ Désinfectant, Prélèvement	1	2	3	4	5	6
11	-	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)	++(+)
12	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0
21	++	++(+)	+++	+++	+++	++(+)
22	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0
31	++	+++	+++	+++	+++	+++
32	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0
41	+++	+++	+++	+++	+++	+++
42	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0
51	+++	+++	+++	+++	++(+)	++(+)
52	0	0	0	0	0	0
53	0	0	0	0	0	0
légende: +++ gazon, ++ presque gazon + plus de 300 colonies						

9.3 Analyse de risque

9.3.1.1 Règles d'estimation de la fréquence, la sévérité, la détection et l'indice de criticité dans une analyse de type AMDEC

Tableau 39 Règles d'estimation de la fréquence dans une analyse AMDEC

Fréquence	Probabilité	Indice
Inexistante : Pas d'occurrence connue	1/10'000	1
Basse : Possible, pas de données existantes	1/5'000	2
		3
		4
Modérée : Documenté, mais peu fréquent	1/200	5
		6
Elevée : Documenté, fréquent	1/100	7
	1/50	8
Très élevée : Erreur pratiquement certaine	1/20	9
	1/10	10

Tableau 40 Règles d'estimation de la sévérité dans une analyse AMDEC

Sévérité	Indice
Ennui léger : Peut affecter le système	1
Problème systémique léger : Peut affecter le patient	2
	3
Problème systémique majeur : Peut affecter le patient	4
	5
Atteinte mineure du patient	6
Atteinte majeure du patient	7
Atteinte terminale ou décès du patient	8-9

Tableau 41 Règles d'estimation de la détectabilité dans une analyse AMDEC

Détectabilité	Probabilité	Indice
Très élevée : Système détectera toujours l'erreur	9/10	1
Elevée : Probabilité élevée de détection avant d'atteindre le patient	7/10	2-3
		4-5
Modérée : Probabilité basse de détection	5/10	6
	4/10	7
Basse : Probabilité basse de détection	2/10	8
	1/10	9
Inexistante : Détection impossible dans le système	0/10	9

L'indice de criticité se calcule de la manière suivante :

$$IC = \text{Fréquence} \times \text{Sévérité} \times \text{Détectabilité}$$