



Maîtrise Universitaire en Pharmacie

Travail Personnel de Recherche

Evaluation du niveau d'asepsie lors de la reconstitution et de la préparation de médicaments injectables en unité de soins

présenté à la

Faculté des sciences de
l'Université de Genève

par

Isabelle Castella

Responsables

**Lucie Bouchoud
Laure-Zoé Kaestli
Pr. Pascal Bonnabry**

Genève
2011

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier sincèrement Lucie Bouchoud, Pharmacienne cheffe de projet, responsable de l'Unité cytotatiques de la Pharmacie des Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG), pour son soutien, ses conseils, sa gentillesse et sa disponibilité tout au long de ce projet. Je remercie également Laure-Zoé Kaestli, Pharmacienne cheffe de projet, pour son accueil chaleureux, sa sympathie et son soutien bien qu'un accident l'ait contraint à suivre ce travail à distance.

Je remercie cordialement le Professeur Pascal Bonnabry, Pharmacien Chef, pour l'intérêt et le temps portés à ce projet, ainsi que pour son accueil au sein de la Pharmacie des HUG, me permettant ainsi de découvrir le milieu hospitalier.

Je tiens également à remercier le Docteur Farshid Sadeghipour, Pharmacien adjoint, responsable du Secteur production des HUG, pour son aide, sa sympathie et sa disponibilité tout au long de ce travail.

Je remercie Jean-Frédéric Saadi, pour ses conseils, sa bonne humeur et ses précieuses explications. Je remercie Patricia Geyer et Béatrice Matthey, pour les nombreuses commandes de matériel et Merci également à vous pour la mise à disposition des étuves du laboratoire et du secteur production.

Merci à tous les préparateurs pour leur aide et leur gentillesse. Un Merci particulier à Victor Herrera pour sa formation sur le travail en salle blanche, son aide et sa bonne humeur. Merci également à Bruno Givry et Enrique Baer pour m'avoir aidé à préparer les 300 poches nécessaires !

Merci à toute l'assistance pharmaceutique pour leur accueil et leur sympathie. Je remercie Bertrand Guignard pour ses précieux conseils sur mon orientation professionnelle. Merci à toute l'équipe de la pharmacie, pour son accueil chaleureux qui m'a permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions.

Finalement, je tiens à remercier spécialement ma famille, pour m'avoir donné l'envie d'étudier et pour m'avoir toujours soutenue et encouragée tout au long de mes études.

RÉSUMÉ

Contexte: La stérilité des préparations injectables médicamenteuses au sein de l'unité de soins (US) d'onco-hématologie pédiatrique est une priorité, car la plupart des patients soignés sont immuno-supprimés. Ces traitements injectables sont préparés directement par les infirmières, dans le local à pharmacie de l'US, sur un plan de travail. Aujourd'hui, des flux d'air laminaire verticaux sont disponibles dans cette US pour améliorer l'asepsie de la préparation des médicaments. L'évaluation du niveau d'asepsie lors de la préparation de médicaments injectables par différentes méthodes de travail sous flux laminaire vertical va permettre de déterminer quelle méthode apporte une sécurité microbiologique suffisante pour être recommandée à l'équipe soignante dans sa pratique quotidienne. Cette méthode doit d'une part garantir la stérilité des préparations, mais également s'adapter aux contraintes des pratiques infirmières.

Méthode: La reconstitution et la préparation de médicaments injectables sous flux laminaire vertical est simulée dans trois différentes conditions de travail: propre, intermédiaire et sale. Les deux premières comprennent des mesures de protection comme le port de gants stériles et la décontamination du flux et du matériel, tandis que dans les conditions sales, aucune mesure spécifique de protection n'est prise. L'unique différence entre conditions propre et intermédiaire est le port de manchons stériles pour les conditions propres. La simulation s'effectue avec un milieu de culture (Tryptic Soy Broth) permettant la mise en évidence d'une éventuelle contamination et comprend un montage de tubulure, une reconstitution avec erreur de manipulation (toucher l'embout de la seringue avec un doigt) et une reconstitution sans erreur. Elle est répétée 100 fois pour chacune des trois conditions de travail.

Résultats: Les niveaux de protection « intermédiaire » et « propre » n'ont montré aucune préparation contaminée, et un seul contrôle de surface contaminé. Le niveau « sale » a montré plusieurs préparations contaminées (4 seringues avec erreur et 1 seringue sans erreur), ainsi que plusieurs contrôles supplémentaires contaminés (analyse de surface, empreintes des doigts et propreté de l'air sous le flux).

Conclusion : L'absence de protection ne permet pas de garantir l'asepsie des préparations réalisées sous flux laminaire. Des mesures spécifiques doivent être mises en place, telles qu'une décontamination du plan de travail et du matériel, le port de gants stériles régulièrement désinfectés, ainsi que l'utilisation d'un champ stérile pour les préparations injectables.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

BPF :	Bonnes Pratiques de Fabrication
BPF PQ :	Bonnes Pratiques de Fabrication en Petites Quantités
CSH :	cellule souche hématopoïétique
DM :	dispositif médicamenteux
GRESI :	Groupe de Référence En Soins Infirmiers
HEPA :	High Efficiency Particulate Air filter
HUG :	Hôpitaux Universitaires de Genève
ISO :	International Organization for Standardization
IN :	infection nosocomiale
iv :	intraveineuse
LLA :	leucémie aiguë lymphoblastique
LLC :	leucémie lymphoïde chronique
LMC :	leucémie myéloïde chronique
mL :	millilitre
NaCl :	chlorure de sodium
Ph. Eur. :	Pharmacopée Européenne
Ph. Helv. :	Pharmacopée Helvétique
TRA :	Tests de remplissage aseptique
TSA :	Tryptic Soy Agar
TSB :	Tryptic Soy Broth
ufc :	unité formant colonie
US :	unité de soins
USP :	Pharmacopée américaine
ZAC :	zone à atmosphère contrôlée

TABLES DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION	p.1
2. ELÉMENTS DE THÉORIE	p.3
2.1. Fabrication de médicaments stériles	p.3
2.1.1. <i>Qu'est-ce que l'asepsie et comment la garantir ?</i>	p.3
2.2. Les Bonnes pratiques de Fabrication (BPF)	p.4
2.2.1. <i>La gestion de la qualité</i>	p.4
2.2.2. <i>Le personnel</i>	p.5
2.2.3. <i>Les locaux et équipements</i>	p.5
2.2.4. <i>Les documents</i>	p.5
2.2.5. <i>La production</i>	p.6
2.2.6. <i>Le contrôle de la qualité</i>	p.6
2.3. Zones à atmosphère contrôlée (ZAC)	p.6
2.4. Les flux laminaires	p.8
2.5. Le travail en asepsie	p.11
2.5.1. <i>Travail sous flux laminaire vertical</i>	p.11
2.5.2. <i>Tests de remplissage aseptique</i>	p.12
2.6. L'onco-hématologie	p.12
2.7. Impact clinique de l'administration de médicaments contaminés	p.14
2.8. Processus actuel de préparation des médicaments injectables	p.15
2.9. Contraintes liées au service	p.16
2.10. Objectifs du projet	p.16
3. MATÉRIEL ET MÉTHODE	p.17
3.1. Matériel utilisé	p.17
3.2. Conditions de travail	p.17
3.3. Manipulations	p.18
3.3.1. <i>Manipulations préalables</i>	p.18
3.3.2. <i>Matériel à prévoir pour une séance de travail</i>	p.19
3.3.3. <i>Séance de travail</i>	p.19
3.3.4. <i>Préparation d'une séance de travail sous flux</i>	p.20
3.3.5. <i>Déroulement des manipulations</i>	p.21
3.3.6. <i>Contrôles supplémentaires de la contamination</i>	p.21

3.3.7. Réalisation des manipulations	p.22
3.4. Evaluation du niveau d'asepsie	p.22
3.5. Détermination de la meilleure méthode de travail	p.24
4. RÉSULTATS	p.25
4.1. Résultats des poches pour perfusion et des reconstitutions de médicaments injectables	p.25
4.1.1. Résultats des conditions « sales »	p.25
4.1.2. Résultats des conditions « intermédiaires »	p.25
4.1.3. Résultats des conditions « propres »	p.26
4.2. Résultats des contrôles supplémentaires	p.26
4.2.1. Résultats des conditions « sales »	p.27
4.2.2. Résultats des conditions « intermédiaires »	p.27
4.2.3. Résultats des conditions « propres »	p.28
4.2.4. Résultats du comptage particulaire	p.28
5. DISCUSSION	p.29
5.1. La reconstitution de médicaments injectables	p.29
5.2. Les contrôles supplémentaires	p.31
5.3. Conclusion	p.33
6. PERSPECTIVES	p.35
7. BIBLIOGRAPHIE	p.36
8. ANNEXES	p.40

1. INTRODUCTION

Actuellement, la plupart des traitements médicamenteux injectables autres que les cytostatiques,¹ sont préparés directement par les infirmières dans les unités de soins (US). La zone de préparation est située dans le local à pharmacie, dans lequel sont stockés les médicaments, et où seul le personnel soignant peut accéder. La pratique exige que chaque infirmière prépare un médicament, puis l'administre elle-même à son patient. La préparation médicamenteuse se fait en général de façon extemporanée, c'est-à-dire qu'elle n'est pas conservée mais qu'elle est directement administrée au patient. De cette manière, le risque de conséquences liées à une contamination microbiologique du médicament est diminué. En effet, une administration effectuée rapidement après la préparation du médicament permet d'éviter une prolifération microbienne [1, 2].

Les patients hospitalisés ont souvent besoin de nombreux médicaments, dont certains sous forme injectable. Cependant, les voies parentérales, et notamment l'intraveineuse (iv) comportent beaucoup plus de risques que la voie orale. En effet, la voie iv consiste à injecter le médicament directement dans la circulation sanguine. C'est donc une voie dangereuse, du fait qu'il n'y a aucune barrière capable de protéger le corps en cas de contamination microbiologique ou d'injection de particules. La stérilité des médicaments injectables est donc primordiale et c'est pourquoi leur préparation et leur administration nécessitent des précautions particulières afin d'éviter au maximum une contamination et un risque infectieux pour le patient [3, 4]. Le GRESI² a mis en place des procédures institutionnelles pour la préparation des médicaments injectables par les infirmières, afin de garantir, entre autre, leur bonne reconstitution et d'assurer un niveau de propreté adéquat visant à limiter le risque de contamination des préparations.

Certains patients sont plus à risque de présenter une infection s'ils reçoivent un médicament non stérile, c'est-à-dire contaminé. C'est le cas des patients traités dans une unité d'onco-hématologie. En effet, ceux-ci sont principalement atteints de cancers hématologiques, le plus souvent des leucémies. Ils sont très affaiblis et n'ont souvent plus de système immunitaire capable de les protéger contre une infection. Cette immunodéficiences peut être due aux traitements chimiothérapeutiques, qui provoquent une diminution des cellules sanguines, notamment des globules blancs, qui sont actifs dans la défense immunitaire. Elle peut aussi

¹ Ces traitements sont préparés de manière centralisée à la pharmacie de l'hôpital, dans des conditions aseptiques.

² GRESI : Groupe de Référence En Soins Infirmiers

provenir de la maladie elle-même, qui est caractérisée par une production insuffisante de globules blancs (leucopénie), de globules rouges et de plaquettes. Une diminution du nombre de globules blancs affaiblit les défenses immunitaires du patient, ce qui augmente le risque de développer une infection lors de contact avec des micro-organismes. C'est pourquoi il est nécessaire de leur administrer des médicaments stériles. Pour cela, des précautions particulières pour la préparation de leurs traitements doivent être prises [2, 5-7], comme l'utilisation de flux laminaires ou d'isolateurs, de techniques de décontamination ou le port de gants stériles.

L'unité de soins d'onco-hématologie pédiatrique des hôpitaux universitaires de Genève (HUG) dispose aujourd'hui de flux laminaires verticaux placés dans le local à pharmacie. Leur bonne utilisation permettrait notamment d'augmenter le niveau de sécurité d'asepsie lors de la reconstitution et de la préparation des médicaments injectables. Plusieurs études ont démontré que l'utilisation de flux d'air laminaires et/ou de recommandations particulières étaient indispensables pour garantir la sécurité microbiologique d'une préparation [2, 8, 9]. Le fait d'utiliser de tels flux laminaires permet de générer, sous le flux, une atmosphère stérile et exempte de particules, dans laquelle la reconstitution va être effectuée.

Cependant, le fait d'utiliser un flux laminaire pour la reconstitution de médicaments n'est pas une garantie suffisante de l'obtention d'une préparation stérile. La qualité microbiologique de la préparation dépend de la manière de travailler sous le flux, qui doit apporter le moins possible de micro-organismes (idéalement aucun) dans la zone critique de travail. Le but de ce travail est d'évaluer le niveau d'asepsie de différentes méthodes de travail lors de la reconstitution et de la préparation de médicaments injectables en unités de soins. Plusieurs techniques seront appliquées afin de déterminer laquelle apporte une sécurité microbiologique suffisante, tout en étant compatible avec la pratique des infirmières de l'unité de soins. L'étude s'effectue dans l'unité d'onco-hématologie pédiatrique des HUG.

2. ELÉMENTS DE THÉORIE

2.1. FABRICATION DE MÉDICAMENTS STÉRILES

Selon la Ph. Eur. 7.0, la stérilité est l'absence de micro-organismes viables. La fabrication de médicaments stériles requiert des exigences particulières afin de diminuer les risques de contamination microbienne, particulaire et en endotoxines. Ces exigences comprennent d'une part l'application de procédés de préparation correctement validés, mais également la qualité des matières premières, des articles de conditionnement, la qualification du personnel, la maîtrise des contrôles microbiologiques de l'environnement de travail ainsi que ceux effectués sur les préparations terminées.

Il existe deux approches aboutissant à des médicaments stériles. Il s'agit de la fabrication aseptique et de la fabrication stérile. La première comprend les produits qui sont fabriqués sous flux laminaire ou dans des isolateurs à partir de produits stériles, sans stérilisation finale; la deuxième comprend les produits fabriqués dans des locaux appropriés, avec une stérilisation terminale, c'est-à-dire une stérilisation du produit dans son récipient final, qui peut se faire à la vapeur, à la chaleur sèche, par irradiation, à l'oxyde d'éthylène ou par filtration stérilisante.

La pharmacie des HUG possède des locaux appelés « salles blanches », qui sont des zones à atmosphère contrôlée (ZAC), dans lesquelles des flux laminaires ou des isolateurs sont placés et où la fabrication de médicaments stériles a lieu. Les flux laminaires à l'intérieur des salles blanches forment une zone aseptique, dans laquelle la contamination par des micro-organismes ou des particules est – si les mesures sont correctement appliquées – absente. Il y a également, au sein de la pharmacie, du personnel spécialisé dont la tâche consiste principalement en la fabrication aseptique.

2.1.1. Qu'est-ce que l'asepsie et comment la garantir ?

L'asepsie est l'ensemble des précautions prises pour empêcher tout apport exogène de micro-organismes [10]. La préparation aseptique a pour but de maintenir la stérilité d'un produit obtenu à partir de composants préalablement stérilisés. Pour cela, différents paramètres doivent être contrôlés, tels que l'environnement, le personnel, et les surfaces critiques. L'application de cette méthode de travail permet de garantir entre autre la qualité microbiologique de la préparation.

La fabrication aseptique de médicaments requiert donc des exigences particulières, mais elle demande également, tout comme la fabrication de médicaments non stériles, d'autres notions importantes qui permettront de garantir la qualité des préparations. Ces notions sont décrites dans les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).

2.2. LES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION (BPF)

Les Bonnes Pratiques de Fabrication industrielles doivent être suivies lors de la fabrication de médicaments à l'échelle industrielle ou à l'hôpital pour la fabrication de médicaments stériles. A la pharmacie des HUG, la fabrication de médicaments stériles se fait selon les règles des BPF industrielles, dans le cadre d'une autorisation de fabriquer délivrée par Swissmedic.

Les Bonnes Pratiques de Fabrication en petites quantités (BPFQ) représentent des règles assurant la qualité des préparations (fabrications) magistrales, officinales et hospitalières. Le domaine d'application comprend la fabrication de médicaments non soumis à une autorisation par les pharmacies d'hôpital, les pharmacies publiques, les drogueries ou autres établissements qui possèdent une autorisation cantonale de fabrication.

Il s'agit d'un guide qui doit être obligatoirement suivi, qui est organisé en différents chapitres traitant de la gestion de la qualité, du personnel, des locaux et équipements, de la documentation, de la production, du contrôle de qualité, de la sous-traitance et l'analyse de la fabrication, des réclamations et retrait des produits, de l'auto-inspection [11, 12]. Les BPF garantissent que les médicaments sont fabriqués selon des normes de qualité et que leur fabrication est documentée et contrôlée. Certains points, plus importants pour comprendre la suite du travail, vont être détaillés ci-dessous.

2.2.1. La gestion de la qualité

Ce chapitre traite de l'assurance-qualité qui, selon la Ph. Helv. 10.2, « recouvre la totalité des mesures prévues et prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués présentent la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés » [11]. L'assurance-qualité comporte les Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments (BPF), qui elles-mêmes comportent le contrôle de qualité.

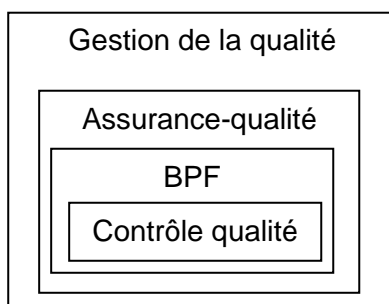


Figure 1 : Gestion de la qualité selon la Ph. Helv. 10.2

2.2.2. Le personnel

Le personnel doit être qualifié, et en nombre suffisant. Il doit également suivre une formation initiale pour ses tâches à effectuer et une formation continue. Le personnel doit être instruit sur les différentes directives concernant l'hygiène. En effet, l'hygiène est particulièrement importante, notamment pour la préparation de médicaments stériles, afin de diminuer au maximum le risque de contamination. Les différentes mesures comprennent la tenue et protection vestimentaire, le lavage et la décontamination des mains, l'interdiction de manger, boire ou fumer, ainsi que la santé des collaborateurs.

2.2.3. Les locaux et équipements

Différentes zones doivent être mises en place. Il s'agit de zones de fabrication, zones de stockage, zones de contrôle de qualité, zones annexes. Elles doivent être construites et structurées de façon à optimiser les opérations et à minimiser au mieux les risques d'erreurs ou de contamination.

La zone de fabrication doit être inaccessible au public, bien éclairée et sans communication directe avec les toilettes. La zone de stockage doit être conçue et contrôlée afin de garantir le respect des conditions de stockage des différentes matières premières, produits ou articles de conditionnement. La zone de contrôle de qualité peut être localisée dans la zone de production seulement si elle ne nuit pas au contrôle de la qualité ou à la qualité des produits fabriqués. Le matériel ou autre équipement doit être contrôlé, qualifié, correctement entretenu et nettoyé.

2.2.4. La documentation

Il s'agit des spécifications (exigences auxquelles doivent répondre les matières premières, produits ou articles de conditionnement pour évaluer la qualité), des instructions et comptes

rendus de fabrication, de conditionnement et de contrôle permettant la traçabilité et l'historique de chaque lot. Il s'agit également des procédures et autres documents, concernant notamment l'entrée de marchandises.

2.2.5. La production

La production doit être effectuée selon des procédures écrites détaillées. Elle regroupe les différentes étapes et processus de préparation, de la réception des matières premières à l'obtention du produit fini, y compris le conditionnement des médicaments. Des mesures sont exigées quant à la prévention des contaminations croisées, à la validation des procédures, du matériel, de l'équipement et des locaux, aux spécifications des matières premières et à leur libération, aux opérations de fabrication, aux articles et opérations de conditionnement, ainsi qu'aux produits et articles refusés, récupérés et retournés.

Quelques exigences particulières sont à souligner. Il s'agit de l'étiquetage des produits à tout moment de la production, la conservation des matières premières dans leur emballage original, la propreté de la place de travail, l'évitement, par des mesures spécifiques, de toute contamination croisée, et la validation des procédées pour les médicaments à haut risque [12].

2.2.6. Le contrôle de la qualité

Le contrôle de la qualité a pour but de certifier que chaque produit satisfait aux exigences de qualité. Il doit être effectué sur les équipements et les opérations, garantir un contrôle analytique des matières premières, ainsi qu'un échantillonnage caractéristique de chaque lot. De plus, il doit comporter des comptes rendus sur les essais permettant la libération de chaque lot. Ceux-ci doivent être conservés au moins un an après la date limite d'utilisation des matières premières et au moins un an après la date de péremption des produits finis.

2.3. ZONES A ATMOSPHERE CONTROLEE (ZAC)

Les zones à atmosphère contrôlée (ZAC) sont des locaux dans lesquels le niveau de propreté est contrôlé et la contamination microbienne et particulaire est définie. Les ZAC sont construites de manière à minimiser le nombre de substances contaminantes. L'accès se fait par plusieurs sas (pour le personnel, pour le matériel, pour les substances). Il existe différentes classes, selon le niveau de propreté dans chacune d'entre elles. Différents paramètres sont régulés, tels que le taux de renouvellement de l'air, le nombre de particules et de micro-organismes admis,

la pression relative, la température, l'humidité relative, et leur valeur dépend de la classe [13, 14].

Les tableaux ci-dessous représentent le nombre maximal de particules admises (tableau 1) et les limites de contamination microbienne (tableau 2), dans les différentes ZAC, selon les BPF.

Tableau 1 : Nombre de particules admises dans chaque classe, selon les BPF [15]

Classe	Nombre maximal autorisé de particules/m ³ de taille supérieure ou égale à			
	Au repos		En activité	
	0.5 µm	5 µm	0.5 µm	5 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352'000	2900
C	352'000	2900	3'520'000	29'000
D	3'520'000	29'000	Non défini	Non défini

Tableau 2 : Limites recommandées pour la contamination microbiologique en activité, selon les BPF [16]

Classe	Echantillon d'air en (ufc*)/m ³	Plaques de sédimentation (diamètre 90 mm) en (ufc)/4 heures	Plaques de contact (diamètre 55 mm) en (ufc)/plaque	Empreintes des gants (5 doigts) en (ufc)/gants
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	10	50	25	-
D	200	100	50	-

* ufc = unité formant colonie

Les conditions « au repos » correspondent à une situation dans laquelle l'installation avec le matériel de production est en place et opérationnelle, mais sans la présence des opérateurs. Les conditions « en activité » correspondent quant à elles à une situation dans laquelle les installations fonctionnent selon le mode opératoire défini et en présence des opérateurs.

La classe A est considérée comme étant la plus propre, alors que la classe D, comme « la moins propre ». La fabrication de médicament peut se faire dans chaque classe. Le choix de la classe se fait en fonction du risque des opérations. Les opérations à haut risque, comme la fabrication aseptique, s'effectuent dans la classe A, sous des flux laminaires ou dans des isolateurs. La classe B est l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A. Tandis

que les classes C et D sont des zones moins critiques, il peut également s'agir de sas. La pression relative doit être supérieure de 10 à 15 pascals entre une zone et une autre, de niveau de propreté inférieur.

Dans les ZAC, les locaux sont construits avec des surfaces lisses, sans fissures, facilement nettoyables. Les éviers et canalisations doivent être exclus des classes A et B. Le personnel doit porter un vêtement de protection particulier, selon la zone dans laquelle il se trouve. L'hygiène personnelle est également essentielle, notamment le lavage des mains. Les cheveux et barbes doivent être recouverts. Dans la zone de classe A, le port de bijoux est interdit et le maquillage est déconseillé. L'image ci-dessous représente l'habillement recommandé à porter dans la classe B, pour la fabrication aseptique [15, 17].



Figure 2 : Vêtement de protection pour la fabrication aseptique (classe B)

Les normes ISO³ sont des normes internationales qui ont pour but d'harmoniser les procédures et exigences, dont les BPF dans notre cas. La norme ISO 14644-1 concerne les salles propres et environnements maîtrisés apparentés et classifie la propreté de l'air, y compris dans les flux laminaires. Elle indique le nombre de particules admises dans chaque classe.

2.4. LES FLUX LAMINAIRES

Il existe des hottes à flux d'air laminaire horizontal et vertical. Ces systèmes effectuent un traitement et une distribution de l'air permettant le travail dans des conditions aseptiques, s'il est effectué correctement. Ils sont les seuls environnements, avec les isolateurs, à générer une

³ ISO : International Organization for Standardization

classe A. Il est cependant important de souligner le fait qu'un « flux laminaire ne rend rien stérile, mais il permet aux objets stériles de le rester ». C'est pourquoi des procédures de travail doivent être mises en place [14].

Sur les figures 3 et 4, les flèches bleues représentent le sens dans lequel l'air « propre » se dirige, tandis que les flèches rouges indiquent l'air potentiellement contaminé. De cette manière, la préparation, si elle se trouve au centre du plan de travail, est à l'intérieur d'un flux d'air stérile. L'air propre qui arrive est filtré sur un filtre HEPA (High Efficiency Particulate Air filter) qui retient à plus de 99,997% les particules de diamètre supérieur ou égal à 0.3 micromètre, et circule à une vitesse constante de 0.45 ± 0.1 m/s lorsqu'il s'agit d'un flux d'air horizontal [14, 15, 18] et de 0.30 ± 0.1 m/s pour un flux vertical [14].

Concernant les flux d'air laminaire horizontal, l'air de la salle est aspiré puis filtré sur un filtre HEPA. Cet air « propre » balaye ensuite la hotte de manière horizontale par rapport au plan de travail, c'est-à-dire du fond vers l'ouverture frontale et ressort en formant une barrière qui repousse et empêche les particules ou autres contaminants d'entrer sous la hotte (figure 3).

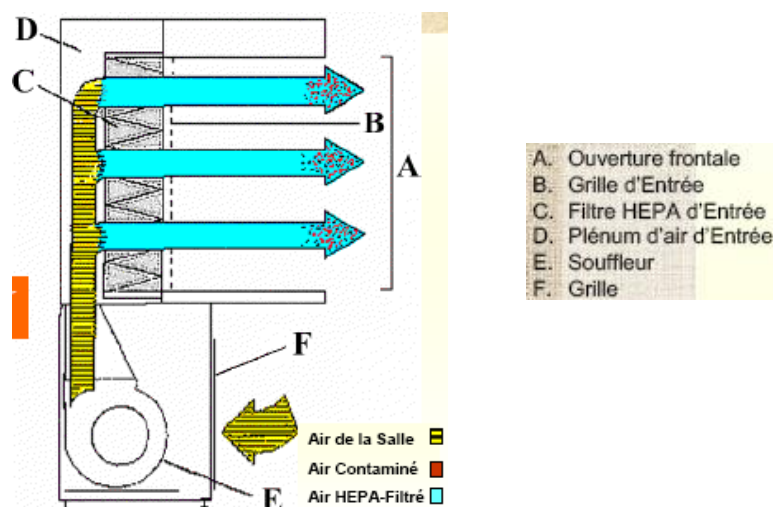


Figure 3 : Flux d'air laminaire horizontal

Dans les flux d'air laminaire vertical, le filtre HEPA se trouve en haut de la hotte et l'air circule de manière verticale, c'est-à-dire du haut vers le bas. L'air « propre » qui arrive perpendiculairement sur le plan de travail, est ensuite aspiré par des perforations se trouvant au niveau de l'ouverture frontale, ceci créant une barrière empêchant l'air extérieur d'entrer dans la hotte, et empêchant l'air filtré, à l'intérieur de la hotte, d'en sortir. Cet air ne ressort donc pas

directement dans la salle environnante mais est d'abord filtré à nouveau. L'ouverture frontale est également protégée par une vitre (figures 4 et 5).

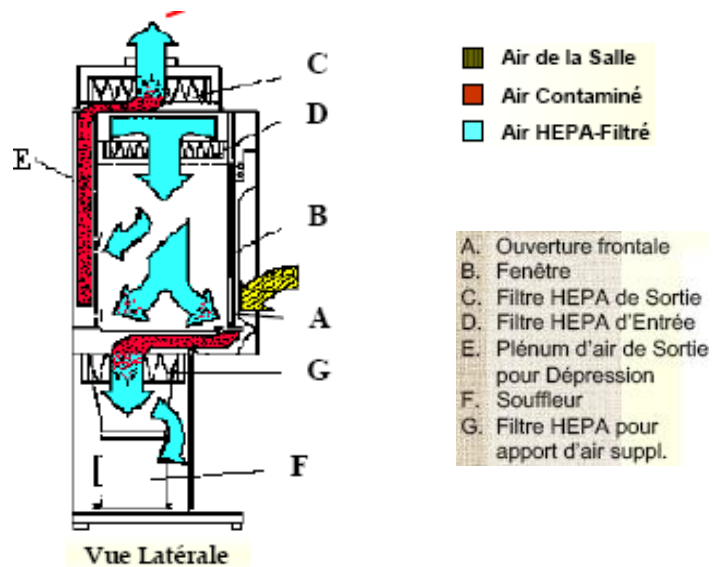


Figure 4 : Flux d'air laminaire vertical



Figure 5 : Manipulateur sous flux d'air laminaire vertical

Les flux d'air laminaire horizontaux assurent la protection du produit en empêchant la contamination par le manipulateur ou l'environnement. En effet, l'air sort de la hotte en repoussant les éventuels contaminants externes. Les flux d'air laminaire verticaux assurent quant à eux la protection du produit, ainsi que celle du manipulateur, car l'air ne ressort pas de la hotte directement sur celui-ci. Lors de la préparation ou de la reconstitution de produits dangereux pour la santé, il est nécessaire d'utiliser des flux d'air verticaux. Dans le cas de cette étude, un flux d'air horizontal aurait pu être utilisé, le but étant la protection du produit contre toute éventuelle contamination. L'unité de soins ayant acquis un flux vertical, le travail a été effectué avec un tel dispositif.

2.5. LE TRAVAIL EN ASEPSIE

L'asepsie désigne l'absence de micro-organismes dans un milieu déterminé, ou l'ensemble des moyens mis en œuvre pour prévenir les infections. [19]

Le travail en asepsie requiert des précautions particulières. Il s'agit ici d'agir contre la nature. En effet, les micro-organismes sont omniprésents et l'asepsie demande de les éliminer. Le fait de travailler dans des conditions d'asepsie permet de garder un médicament stérile, si celui-ci est déjà stérile à la base, c'est-à-dire exempt de micro-organismes viables. Pour cela, de nombreux contrôles doivent être pris en considération, tels que des contrôles microbiologiques ou particuliers. Des normes doivent également être respectées, concernant par exemple la pression dans les différentes classes de salles, le nombre de particules, la manière de s'habiller, tel que décrit dans le point 2.3. « Zones à atmosphères contrôlées ».

Dans le cas de notre étude, le travail ne va pas être effectué dans des conditions aseptiques, puisque le flux n'est pas placé dans une ZAC, mais il va s'en rapprocher. Le but est de créer des conditions permettant un résultat acceptable en terme de protection microbiologique d'une préparation injectable extemporanée. Effectivement, les mêmes contraintes BPF qu'en pharmacie ne peuvent être appliquées, mais il s'agit tout de même de devoir préparer un médicament qui, au final doit être stérile.

Nous allons nous concentrer ici sur la méthode de travail à suivre sous un flux laminaire vertical, étant donné que c'est celui-ci qui sera utilisé lors de cette étude.

2.5.1. Travail sous flux laminaire vertical

L'opérateur travaillant sous flux vertical porte une tenue adéquate : blouse, gants... Il est recommandé de travailler avec des gants stériles qui seront décontaminés régulièrement avec de la teinture de chlorhexidine, par exemple, afin de garder au mieux les conditions aseptiques au cours de la session de travail. Avant de commencer les manipulations, il faut préparer la place de travail, allumer le flux laminaire 15 minutes avant, décontaminer le plan de travail et y mettre un champ stérile. Le matériel qui rentre sous flux devrait être décontaminé et le matériel emballé stérilement, pelé sous flux. Les opérations s'effectuent sur un champ stérile, placé plus ou moins au centre du plan de travail et qui absorbe le liquide et évite sa propagation en cas de renversement. Les objets sous le flux sont disposés de manière à ne pas provoquer de turbulences de l'air, les uns à côté des autres plutôt que l'un sur l'autre. Il faut éviter d'appuyer

ses avant-bras sur les grilles d'aspiration de l'air. Il y a, sur le plan de travail, un côté « propre » et un côté « sale », et le travail s'effectue toujours dans un même sens, du propre vers le sale [14].

A la fin des manipulations, il faut identifier la préparation (produit, dosage, nom du patient) puis nettoyer et décontaminer le plan de travail. La préparation se fait de manière extemporanée avant administration.

Tout au long des manipulations, il faut faire attention à ne pas effectuer trop de mouvements brusques, susceptibles d'engendrer un accident. De plus, il est recommandé d'éviter au maximum de parler ainsi que de minimiser le nombre de personnes dans la salle de préparation, pour diminuer la présence de micro-organismes, dont la charge est proportionnelle au nombre de personnes bougeant dans la salle ou en sortant [20].

2.5.2. Tests de remplissage aseptique

Les tests de remplissage aseptique (TRA) ou media-fill test en anglais, permettent la validation des procédés de préparation aseptique, tel qu'il est décrit dans la Ph. Eur. au point « 2.6.1. Stérilité ». [21]. En effet, le principe est de simuler toutes les étapes d'une préparation avec un milieu de culture, dans les mêmes conditions aseptiques, afin de mettre en évidence le risque éventuel de contamination de la préparation. Le milieu de culture est ensuite incubé pendant une semaine à température ambiante afin de laisser croître les moisissures et champignons et une semaine à 32°C pour les bactéries. Le milieu de culture utilisé ici est le Tryptic Soy Broth (TSB). Le TSB est un milieu à l'hydrolysate de caséine et de soja. Il s'agit d'un milieu nutritif, dans lequel de nombreux micro-organismes aérobies et anaérobies peuvent croître [22].

2.6. L'ONCO-HÉMATOLOGIE

L'onco-hématologie est la spécialité médicale traitant des maladies cancéreuses du sang, de la moelle osseuse et des ganglions lymphatiques. Il peut s'agir de défauts de production, de développement ou de maturation des cellules hématopoïétiques (globules rouges, globules blancs, plaquettes). Elle traite d'affections telles que des leucémies, des lymphomes, des myélomes, selon le type de lignées cellulaires atteintes, et peuvent avoir un caractère aigu ou chronique.

La leucémie est un cancer détecté dans le sang, dans lequel il y a prolifération maligne de globules blancs. Il existe plusieurs types de leucémies, selon leur caractère aigu ou chronique et leur origine lymphoblastique ou myéloblastique. La leucémie aiguë est caractérisée par des cellules hématopoïétiques peu différenciées et immatures, qui sont bloquées à un stade précis de la différenciation, et qui envahissent la moelle osseuse de manière soudaine et très rapide. Dans ce cas, les cellules immatures représentent 20% des cellules de la moelle osseuse et engendrent un défaut de production des autres cellules hématopoïétiques, à savoir les globules rouges, les globules blancs normaux et les plaquettes. On peut différencier la leucémie aiguë lymphoblastique de la leucémie aiguë myéloblastique, selon le type de lignée cellulaire atteinte. La leucémie lymphoïde chronique (LLC) est due à une accumulation de lymphocytes matures dans la moelle osseuse et dans le sang. Son évolution est beaucoup plus lente que celle de la leucémie aiguë. Des lymphocytes peuvent également s'accumuler dans les ganglions, ce qui augmente leur volume. La LLC apparaît préférentiellement chez les personnes âgées. Il s'agit de la maladie cancéreuse du sang la plus fréquente. La leucémie myéloïde chronique (LMC) est quant à elle caractérisée par le dérèglement d'une cellule précurseur qui prolifère de manière incontrôlée, mais produisant des polynucléaires neutrophiles normaux et non immatures. Son évolution est toutefois plus lente que celle de la leucémie aiguë [23]. La LMC apparaît principalement chez l'adulte, et très rarement chez l'enfant.

Les enfants sont principalement touchés par la leucémie aiguë lymphoblastique (LLA), l'incidence maximale étant chez les garçons de 4 ans. Cette dernière étant très agressive, elle diminue la fonction de la moelle osseuse, notamment la production de globules blancs (ou leucocytes), nécessaires à la défense immunitaire. Pour cette raison, les patients atteints de leucémie aiguë sont plus sujets à des infections [24, 25]. Le dénombrement des globules blancs, particulièrement des granulocytes neutrophiles ayant un rôle contre les infections bactériennes, informe sur la gravité de la LLA. Plus le nombre de neutrophiles diminue, plus le risque d'infection est élevé [26].

Les traitements anticancéreux en onco-hématologie sont composés des chimiothérapies et des greffes de cellules souches. La chimiothérapie consiste en l'administration de médicaments cytotoxiques, qui empêchent la croissance et la propagation des cellules cancéreuses, mais détruisent également les cellules saines. Ils peuvent être pris par voie orale sous la forme de comprimés ou par injection. Ce sont ces traitements injectables qui sont préparés de manière centralisée à la pharmacie de l'hôpital. Les principaux effets secondaires sont des vomissements, nausées, perte d'appétit, fatigue, perte de cheveux et augmentation du risque infectieux, en raison de la diminution du nombre de cellules immunitaires, les globules blancs.

Lorsque la chimiothérapie n'est pas suffisante pour traiter la maladie, il y a la possibilité de greffer des cellules souches hématopoïétiques (CSH). Ces cellules sont capables de se différencier ensuite en n'importe quels types de cellules sanguines (globules blancs, globules rouges ou plaquettes). Avant de recevoir la greffe, le patient doit subir une immunosuppression, afin d'empêcher le rejet de greffe. Cela engendre un risque infectieux très élevé [27-30].

Comme présenté, la maladie elle-même ainsi que les traitements vont engendrer des neutropénies (taux anormalement bas de granulocytes neutrophiles dans le sang), voire des agranulocytoses chez les patients (tableau 3).

Tableau 3 : Hémogramme normal et pathologique [31]

Hémogramme	Nombre de neutrophiles / mm³
Normal	2000 - 7500
Neutropénie légère	1000 - 1500
Neutropénie modérée	500 - 1000
Neutropénie sévère	Moins de 500
Agranulocytose	Moins de 100

Les patients d'onco-hématologie sont donc généralement immunosupprimés, ce qui les rend extrêmement vulnérables aux infections. Les infections nosocomiales (IN), c'est-à-dire acquises en milieu hospitalier, représentent un risque majeur de complications chez les patients immunodéprimés [32, 33]. Leur prévalence est de 10 à 20% chez les enfants, comme chez les adultes, avec un risque particulièrement élevé chez les patients présentant une neutro- ou une lymphopénie [34].

Les unités d'hospitalisation d'onco-hématologie sont équipées de chambres à pression positive ainsi que d'« isolettes », dans lesquelles un flux d'air horizontal permanent crée une atmosphère dénuée au maximum de micro-organismes autour du lit du patient. Afin de contribuer à cette protection, les médicaments qu'ils reçoivent doivent à tout prix être stériles. Une contamination augmenterait le risque de complications infectieuses chez ces patients.

2.7. IMPACT CLINIQUE DE L'ADMINISTRATION DE MÉDICAMENTS CONTAMINÉS

L'administration de médicaments contaminés peut provoquer une infection nosocomiale, impliquant une diminution de la qualité de vie du patient, une durée d'hospitalisation plus longue que prévue, engendrant évidemment des coûts supplémentaires [35, 36]. Une étude a montré que les infections acquises dans un établissement de soins augmentent la durée d'hospitalisation d'environ 2,5 fois, ce qui équivaut à 11 jours de plus en moyenne. En outre,

elles engendrent un coût environ 2.8 fois plus haut que celui pour les patients non atteints par une IN, ce qui représente un surcoût de 3000£ approximativement [36]. Il est donc évident que l'évitement de ces infections peut améliorer la sécurité du patient et diminuer les coûts relatifs aux hospitalisations plus longues.

Si un patient reçoit un médicament contaminé, le risque qu'il développe une infection est grande, d'autant plus s'il est immunodéprimé [32]. C'est pourquoi la mise en place de mesures et de procédures de contrôle de qualité est particulièrement importante, afin de permettre d'éliminer le risque d'administrer un médicament non stérile et engendrer des conséquences néfastes pour le patient, mais aussi pour le reste de l'US [37-40]. Effectivement, le nombre de complications diminue lorsque des mesures d'asepsie ou d'hygiène sont prises en compte [41, 42].

2.8. PROCESSUS ACTUEL DE PRÉPARATION DES MÉDICAMENTS INJECTABLES

Actuellement, les infirmières reconstituent les médicaments injectables dans le local à pharmacie de l'unité de soins selon les procédures institutionnelles mises en place par le GRESI⁴. La reconstitution s'effectue comme suit : l'infirmière décontamine son plan de travail (chariot) avec une solution hydro-alcoolique, regroupe les médicaments et tout le matériel dont elle a besoin, se désinfecte les mains avec une solution hydro-alcoolique et met un masque. Puis, elle effectue la préparation sur un champ stérile. Certaines infirmières utilisent des gants (non stériles) ou s'aident de compresses selon le type de préparation, telle que le montage de poches pour perfusion. La préparation est ensuite étiquetée avec le nom du patient et recouverte par un deuxième champ stérile pour son transport vers le patient ou son éventuelle conservation jusqu'à l'administration. Il est important de noter que chaque infirmière prépare puis administre le médicament à son propre patient et qu'il n'est pas autorisé d'administrer un médicament préparé par une autre infirmière.

L'unité d'onco-hématologie pédiatrique dispose de flux laminaire verticaux, non utilisés jusqu'à aujourd'hui. Leur utilisation permettrait d'augmenter la qualité microbiologique des médicaments en diminuant le risque de contamination.

⁴ GRESI : Groupe de Référence En Soins Infirmiers

2.9. CONTRAINTES LIÉES AU SERVICE

Différentes contraintes liées à l'organisation d'un service de soins sont à prendre en considération et justifient la mise en place de pratiques différentes de celles en vigueur dans l'environnement de la pharmacie. Tout d'abord, le fait que chaque infirmière prépare un médicament puis l'administre elle-même à son patient implique que beaucoup de personnes qui travailleront à la suite sous le flux, plusieurs fois par jour. Pour cette raison, il n'est pas possible d'exiger un habillement qui prend trop de temps. De plus, les flux laminaires sont placés dans le local à pharmacie de l'unité de soins. Il ne s'agit pas d'une ZAC mais d'une salle non classée, où le passage et les mouvements sont fréquents, l'espace restreint, et dans lequel aucune mesure spécifique, telles qu'elles sont décrites au point 2.2.3. « Les locaux et équipements » des BPF n'est mise en place. D'autres mesures concernant l'hygiène et l'habillement du personnel sont également divergentes entre les pratiques opérées en unité de soins, et celles imposées par les BPF. En unité de soins, le port d'un vêtement de protection particulier n'est pas imposé, les bras et les cheveux peuvent être découverts, le port de bijoux ou de maquillage n'est pas exclu.

De ce fait, il n'est pas possible de produire un médicament stérile en unité de soins dans les règles des BPF, comme il est pratiqué à la pharmacie des HUG. Le but sera ici d'améliorer la sécurité d'asepsie des préparations des médicaments injectables en déterminant une bonne utilisation de flux laminaires en unité de soins, ainsi qu'une technique de travail permettant d'une part la protection du médicament contre une contamination, mais également l'adaptation aux pratiques des infirmières.

2.10. OBJECTIFS DU PROJET

Le but de cette étude est d'analyser la sécurité microbiologique d'une préparation de médicament injectable sous un flux laminaire placé en unité de soins. Différents types de protection personnelle et de manipulations sous flux laminaire vont être évaluées pour définir ensuite quelle serait la meilleure méthode de travail à adopter par les infirmières. Cette méthode devrait donc garantir la stérilité des préparations, mais également être adaptée aux pratiques des infirmières, ainsi qu'aux contraintes de temps et d'espace dont ces dernières disposent. L'étude s'effectuera dans l'unité de soins d'onco-hématologie pédiatrique aux Hôpitaux Universitaires de Genève (HUG).

3. MATÉRIEL ET MÉTHODE

3.1. MATERIEL UTILISE

La liste du matériel et des produits utilisés se trouve à l'annexe 1.

3.2. CONDITIONS DE TRAVAIL

Afin d'évaluer le niveau d'asepsie lors de manipulations sous flux laminaire vertical, la préparation de médicaments injectables va être simulée en appliquant différentes conditions de travail, c'est-à-dire différents niveaux de protection personnelle et différentes procédures à mettre en place avant une reconstitution.

Les conditions de travail sont les suivantes :

Tableau 4 : Les différentes conditions de travail appliquées

Mesures de protection	Conditions		
	Propres	Intermédiaires	Sales
Port de gants stériles	Oui	Oui	Non
Port de manchons stériles	Oui	Non	Non
Décontamination du flux	Oui	Oui	Non
Désinfection des gants	Oui	Oui	Non
Champ stérile	Oui	Oui	Non
Allumage du flux 15 minutes avant la 1 ^{ère} préparation	Oui	Oui	Non



Figure 6 : Conditions propres



Figure 7 : Conditions intermédiaires



Figure 8 : Conditions sales

Les conditions propres représentent les mesures de protection maximales facilement applicables pour un travail en US. Les conditions sales correspondent au pire des cas, qui est un travail sans protection, correspondant à une croyance selon laquelle le flux laminaire suffit en lui-même à protéger la préparation. Les conditions intermédiaires correspondent aux mesures maximales allégées, et sont peut-être plus réalistes pour une application dans la routine quotidienne d'une US. Des illustrations du flux laminaire dans les différentes conditions se trouvent à l'annexe 2.

De plus, une erreur de manipulation, qui peut survenir lors des opérations de routine et être source de contamination, est également simulée. Cette situation à risque permet de prendre en compte des éléments défavorables rencontrés lors de la préparation de médicaments. Il s'agit ici de toucher le bout de la seringue avec le doigt [43].

Afin de tester l'asepsie des préparations obtenues, le médicament est remplacé par un milieu de culture à l'hydrolysate de caséine et de soja (Trypticase Soy Broth, TSB). Ce milieu permet la croissance de nombreux micro-organismes, notamment les germes aérobies, anaérobies et les champignons [22]. De cette manière, il est possible d'évaluer si une contamination microbiologique a lieu et si le processus de reconstitution aboutit à une préparation stérile. Le milieu de culture TSB utilisé est certifié pour sa fertilité. Des contrôles positifs sont effectués en contaminant volontairement le milieu avec de l'eau du robinet (1 mL d'eau dans 100 mL de bouillon).

3.3. MANIPULATIONS

La simulation de la reconstitution et de la préparation de médicaments va être testée avec 3 opérations : un montage de tubulure, une reconstitution avec erreur de manipulation et une reconstitution sans erreur. Cette séquence va être répétée 100 fois pour chaque condition de travail citée précédemment.

3.3.1. Préparation du matériel simulant les médicaments

Les poches pour perfusion doivent tout d'abord être préparées. Des poches de 50 mL contenant du NaCl 0.9% sont utilisées. Elles sont vidées, puis remplies avec le bouillon de culture (TSB). Le TSB est filtré sur un filtre de 0.22 μm avant le remplissage des poches, pour un contrôle supplémentaire de stérilité. L'intégrité du filtre est ensuite testée. Ces opérations sont effectuées en salle blanche, selon les règles des BPF, afin d'assurer la stérilité. L'absence

de contamination est finalement vérifiée visuellement, avant l'utilisation des poches lors des sessions de travail.

Les flacons pour injectables ont également dû être préparés. Des flacons à pénicilline de 20 mL ont été remplis de 5 mL d'eau, fermés avec un bouchon en caoutchouc et scellés. Ils ont ensuite été stérilisés à l'autoclave. L'eau était ici seulement nécessaire pour le passage à l'autoclave, qui stérilise les solutions aqueuses. La préparation est effectuée dans une salle de classe D, car l'étape de stérilisation terminale à l'autoclave assure la stérilité des flacons. Le suivi du cycle d'autoclavage est enregistré afin de certifier le bon fonctionnement et la stérilité du lot.

3.3.2. Matériel à prévoir pour une séance de travail

La liste du matériel nécessaire pour une séance de travail se trouve à l'annexe 3.

3.3.3. Séance de travail

Une séance de travail comprend les trois étapes suivantes :

- Monter la tubulure : trocarer la poche contenant le bouillon avec la tubulure, puis connecter le robinet et la rallonge. Purger la tubulure avec le TSB contenu dans la poche pour perfusion et fermer avec un bouchon Luer-Lock. Ce montage sera ensuite incubé (figure 9).
- Reconstitution avec erreur : avec une seringue et une aiguille rose, prélever les 5 mL d'eau contenue dans le flacon stérile et jeter cette seringue. Avec une autre seringue et une autre aiguille, prélever 20 mL du flacon contenant le bouillon. Déconnecter l'aiguille, toucher l'embout de la seringue avec le doigt pendant 3 secondes. Injecter ensuite ces 20 mL dans le flacon de 20 mL préalablement vidé. Puis, prélever à nouveau ces 20 mL avec la même seringue, ajouter 5 mL d'air pour permettre l'éventuelle croissance de germes aérobies, et fermer la seringue avec un bouchon Luer-Lock. Cette seringue sera finalement incubée.
- Reconstitution sans erreur : avec une seringue et une aiguille rose, prélever les 5 mL d'eau contenue dans le flacon stérile et jeter cette seringue. Avec une autre seringue et une autre aiguille, prélever 20 mL du flacon contenant le bouillon. Injecter ensuite ces 20 mL dans le flacon de 20 mL préalablement vidé. Puis, prélever à nouveau ces 20 mL avec la même seringue, ajouter 5 mL d'air pour permettre l'éventuelle croissance de germes aérobies, et fermer la seringue avec un bouchon Luer-Lock. Cette seringue sera finalement incubée.



Figure 9 : Illustration du montage d'une poche pour perfusion avec tubulures

Lors de la reconstitution sans erreur, il faut veiller à ne pas toucher les parties des dispositifs médicamenteux (DM) par lesquels une contamination microbienne peut être introduite dans la préparation. Il s'agit par exemple des aiguilles, des bouchons élastomères des flacons, des embouts de seringues, des connexions Luer-Lock.

3.3.4. Préparation d'une séance de travail sous flux

- Allumer le flux laminaire 15 minutes avant le début des manipulations et décontaminer le plan de travail avec du Klercide-125[®] (mélange d'isopropanol 70% et de peroxyde d'hydrogène 0.125%) et laisser agir 15 minutes.
- Rassembler tout le matériel nécessaire à la préparation (annexe 3).
- Se laver les mains avec du savon.
- Se préparer selon les conditions de travail testées (propres, intermédiaires ou sales).
- Désinfecter les gants avec de la teinture de chlorhexidine à 0.5%.
- Décontaminer tout le matériel nécessaire à la préparation avec du Klercide-125[®].
- Peler le champ stérile sous le flux laminaire.
- Peler sur le champ stérile les DM emballés stérilement.

Aucune étape de décontamination du flux, de lavage des mains, de désinfection ou de précaution particulière (ex. champ stérile) n'est effectuée lors du troisième niveau de protection (« sale »), c'est-à-dire lors de la préparation sans protection du tout.

3.3.5. Déroulement des manipulations

Dix séances de travail forment une session. A la fin de chaque session, les poches pour perfusion, ainsi que les seringues sont incubées et le flux est à nouveau décontaminé. Chaque jour, des sessions dans les différentes conditions de travail mentionnées précédemment, à savoir propres, intermédiaires et sales sont faites dans un ordre aléatoire préalablement défini (annexe 4), dans le but de supprimer la variabilité due à l'apprentissage des méthodes de travail.

Chaque séance de travail est répétée 100 fois (donc chaque session est répétée 10 fois) afin d'obtenir 100 poches pour perfusion, 100 seringues reconstituées avec erreur et 100 seringues reconstituées sans erreur, et ceci pour chacune des trois conditions de travail cités ci-dessus.

Chaque poche pour perfusion et chaque seringue contenant le TSB à la place du médicament sont incubées pendant sept jours à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, puis pendant sept jours encore à une température de $32^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$, selon le chapitre 797 de la USP. La température des étuves est enregistrée afin de certifier la conformité avec les exigences de la pharmacopée.

3.3.6. Contrôles supplémentaires de la contamination

Lors de chaque session, un contrôle de la contamination est également effectué avec des plaques de sédimentation contenant du Trypticase Soy Agar (TSA) qui sont posées : une devant et une au fond du flux. Ces plaques permettent de contrôler la qualité de l'environnement (qualité de l'air) sous le flux laminaire. A la fin de la session de travail, une plaque de contrôle pour les gants (ou les mains) ainsi qu'une plaque « count-tact » pour analyser la surface de la zone de travail sont également effectuées. Le prélèvement avec la plaque « count-tact » sera effectué au milieu à droite du flux, sur le champ stérile, sauf pour les conditions « sales » où il se fera directement sur la surface du plan de travail. Les différentes plaques seront ensuite incubées à la fin de chaque séance de travail comme suit: les plaques de sédimentation au TSA sont incubées pendant 5 jours à température ambiante ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), les géloses au sang pour le contrôle des gants (mains) sont incubées dans une étuve à 26.5°C pendant 5 jours, et les plaques count-tact sont incubées à température ambiante ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)

pendant 3 jours à l'abri de la lumière puis pendant 3 jours encore à la lumière ambiante [44]. Un comptage particulaire sera effectué lors de trois sessions de travail de chaque niveau de protection. Le compteur à particules sera disposé sur le plan de travail, sous le flux. Ces techniques représentent un moyen supplémentaire de mesurer le niveau d'asepsie lors de la reconstitution sous flux laminaire vertical.

3.3.7. Réalisation des manipulations

Cette étude est réalisée dans l'unité de soins d'onco-hématologie pédiatrique des HUG. Le lieu de test se trouve dans le secteur de la policlinique, qui contient un flux laminaire vertical dans le local à médicaments.

Toutes les manipulations sont effectuées par le même opérateur, afin de limiter la variabilité due à la technique de travail.

3.4. EVALUATION DU NIVEAU D'ASEPSIE

Après incubation des poches pour perfusion et des seringues contenant le TSB, il s'agit d'observer s'il y a eu croissance de micro-organismes. La croissance est mise en évidence par l'apparition de turbidité, de grains ou de floculation dans la solution après la période d'incubation. Une solution transparente et limpide après incubation signifie qu'il n'y a pas eu de croissance [22]. Une poche pour perfusion ou une seringue non contaminée signifie que la reconstitution a été effectuée de manière aseptique. La figure 10 illustre la différence entre une seringue contaminée et une seringue non contaminée, telle qu'elle est prise en compte dans cette étude.

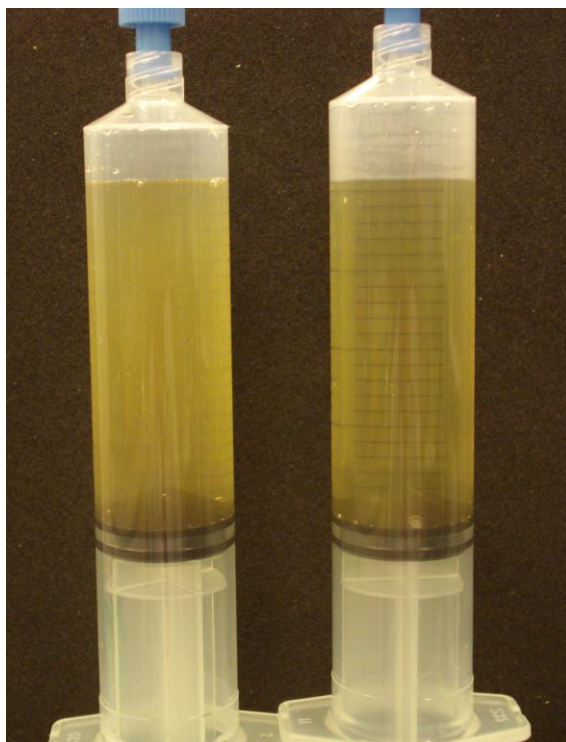


Figure 10: Illustration d'une seringue contaminée (à gauche) et d'une seringue non contaminée (à droite)

Après la période d'incubation, toutes les poches pour perfusion et les tubulures qui y sont reliées, ainsi que toutes les seringues reconstituées sont attentivement observées afin de définir s'il y a eu contamination ou pas. L'observation s'effectue à l'oeil nu, en s'aidant au besoin d'un fond noir ou blanc pour faciliter la détection. La différence de contamination entre les sessions de travail effectuées le matin ou l'après-midi est également évaluée. Les résultats seront exprimés en pourcentage de préparations contaminées.

Les différentes plaques de sédimentation disposées sous le flux, les plaques « count-tact » pour l'analyse de surface et les géloses au sang pour l'empreinte des doigts sont également observées attentivement après les périodes d'incubation respectives. La croissance de micro-organismes est mise en évidence par l'apparition de colonie(s) sur la plaque après incubation. Les plaques contaminées sont envoyées au Laboratoire de Bactériologie des HUG afin d'identifier les germes.

Si les résultats des poches et des seringues contenant le TSB effectuées dans les différentes conditions de travail mentionnées sont très rapprochés, ces contrôles supplémentaires permettent d'apporter des informations complémentaires sur la propreté de travail.

3.5. DETERMINATION DE LA MEILLEURE METHODE DE TRAVAIL

A partir des résultats obtenus, il s'agit de déterminer la meilleure méthode de travail sous flux laminaire vertical placé en US, pouvant d'une part garantir un niveau d'asepsie adéquat, mais prenant également en compte les contraintes des pratiques infirmières.

4. RÉSULTATS

Les résultats détaillés obtenus pour les poches pour perfusion ainsi que pour les reconstitutions de médicaments injectables dans les différentes conditions de travail sont présentés dans les annexes 5 à 7. Les résultats détaillés des contrôles supplémentaires se trouvent à l'annexe 8. Les résultats sont classés par conditions de travail, afin de montrer clairement les différences entre elles.

4.1. RÉSULTATS DES POCHEs POUR PERFUSION ET DES RECONSTITUTIONS DE MÉDICAMENTS INJECTABLES

4.1.1. Résultats des conditions « sales »

Tableau 5 : Résultats obtenus pour les conditions « sales »

Total : Conditions sales		
	Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	100	0
Nombres de seringues avec erreur	100	4
Nombres de seringues sans erreur	100	1

Aucune des poches pour perfusion ne s'est révélée contaminée. Cependant, dans deux d'entre elles, il y avait une petite particule qui flottait dans la poche. Concernant les seringues reconstituées avec erreur de manipulation, 4 (4%) étaient contaminées, tandis qu'une seule seringue reconstituée sans erreur (1%) était contaminée.

4.1.2. Résultats des conditions « intermédiaires »

Tableau 6 : Résultats obtenus pour les conditions « intermédiaires »

Total : Conditions intermédiaires		
	Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	100	0
Nombres de seringues avec erreur	100	0
Nombres de seringues sans erreur	100	0

Aucune contamination n'a été révélée dans les poches pour perfusion, ainsi que dans les seringues reconstituées avec ou sans erreur de manipulation lorsque les conditions de travail intermédiaires étaient appliquées.

4.1.3. Résultats des conditions « propres »

Tableau 7 : Résultats obtenus pour les conditions « propres »

Total : Conditions propres		
	Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	100	0
Nombres de seringues avec erreur	100	0
Nombres de seringues sans erreur	100	0

Aucune contamination n'a été révélée dans les poches pour perfusion, ainsi que dans les seringues reconstituées avec ou sans erreur de manipulation lorsque les conditions de travail propres étaient appliquées.

4.2. RÉSULTATS DES CONTRÔLES SUPPLÉMENTAIRES

Au total, des croissances bactériologiques ont été observées sur 5 plaques de sédimentation, 7 plaques count-tact et 9 géloses au sang, sur un total de 20, 10 et 10 échantillons prélevés, respectivement.

Les germes identifiés étaient pour la plupart des germes de l'environnement. Les autres étaient soit des germes de la peau (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*), soit des bactéries du genre *Bacillus* et *Paenibacillus* ou des champignons de différents genres (*Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*). Aucun germe pathogène n'a été identifié. Les champignons ont été identifiés seulement dans les conditions « sales ».

4.2.1. Résultats des conditions « sales »

Tableau 8 : Résultats obtenus pour les conditions « sales »

Sales	Nombres de plaques effectuées	Nombres de plaques contaminées
Flux avant droite [ufc*]	10	2
Flux fond gauche [ufc]	10	3
Count-tact [ufc]	10	5
Gélose au sang [ufc]	10	9

* ufc : unité formant colonie

Il est intéressant de relever qu'une différence existe entre la première session effectuée le premier jour des manipulations (dans les conditions sales) et la suite de l'étude (dans les mêmes conditions). En effet, le premier jour, aucune décontamination du flux n'avait encore été effectuée, c'est pourquoi tous les contrôles supplémentaires se montrent très contaminés (annexe 8).

Deux plaques de sédimentation situées à l'avant de la surface de travail du flux et 3 plaques situées au fond du flux ont montré une contamination. La moitié (5 sur 10) des analyses de surface était contaminée et presque la totalité (9 sur 10) des empreintes des doigts était contaminée.

4.2.2. Résultats des conditions « intermédiaires »

Tableau 9 : Résultats obtenus pour les conditions « intermédiaires »

Intermédiaires	Nombres de plaques effectuées	Nombres de plaques contaminées
Flux avant droite [ufc]	10	0
Flux fond gauche [ufc]	10	0
Count-tact [ufc]	10	1
Gélose au sang [ufc]	10	0

Sur toutes les analyses supplémentaires effectuées pour les conditions intermédiaires, seule une plaque « count-tact » d'analyse de surface a été contaminée. Il s'agissait d'un germe de l'environnement.

4.2.3. Résultats des conditions « propres »

Tableau 10 : Résultats obtenus pour les conditions « propres »

Propres	Nombres de plaques effectuées	Nombres de plaques contaminées
Flux avant droite [ufc]	10	0
Flux fond gauche [ufc]	10	0
Count-tact [ufc]	10	1
Gélose au sang [ufc]	10	0

De même pour les conditions propres, seule une plaque « count-tact » a été révélée positive à la contamination. Il s'agissait d'un germe de l'environnement.

4.2.4. Résultats du comptage particulaire

Le comptage particulaire a été relevé lors de trois sessions différentes dans chacune des trois conditions de travail.

Tableau 11 : Résultats obtenus pour le comptage particulaire

Conditions	Nombre de particules/m ³ de taille supérieure ou égale à	
	0.5µm	5µm
Sales 1	0	0
Sales 2	0	0
Sales 3	0	0
Intermédiaires 1	0	0
Intermédiaires 2	0	0
Intermédiaires 3	0	0
Propres 1	0	0
Propres 2	0	0
Propres 3	0	0

Dans les trois conditions de travail différentes, aucune particule n'a été révélée sous le flux, ce qui répondait dans tous les cas aux exigences d'une classe BPF A.

5. DISCUSSION

5.1. LA RECONSTITUTION DE MÉDICAMENTS INJECTABLES

Les résultats obtenus pour les reconstitutions de médicaments injectables montrent que le niveau aseptique des préparations n'est pas satisfaisant si des mesures de protections supplémentaires à la mise en marche du flux vertical ne sont pas mises en place. Ces mesures comprennent d'une part une protection personnelle, c'est-à-dire le port de gants stériles au minimum, tel que cela était le cas pour les conditions de travail intermédiaires. D'autre part, le fait de procéder à une décontamination du matériel avant de l'introduire sous le flux laminaire, de procéder à une désinfection des gants tout au long des manipulations et d'utiliser un champ stérile pour travailler permet également de réduire le taux de contamination des préparations. Ces mesures étaient appliquées lors des reconstitutions dans les conditions intermédiaires et propres et les résultats y sont bien meilleurs que ceux obtenus dans les conditions sales.

En effet, dans les conditions de travail intermédiaires et propres, ni les poches pour perfusion, ni les seringues reconstituées avec ou sans erreur n'ont été contaminées, alors que dans la condition de travail « sale », des reconstitutions non conformes ont été identifiées : 0% des poches, 4% des seringues reconstituées avec erreur de manipulation et 1% des seringues sans erreur étaient contaminées. De plus, 2 poches contenaient une particule qui flottait dans la solution. Cette particule pourrait éventuellement provenir d'un morceau de septum, lorsque celui-ci a été trocardé.

Concernant les niveaux de protection intermédiaires et propres, seul le port de manchons différencie les deux procédures. Les résultats étaient équivalents, avec aucune contamination dans toutes les préparations effectuées. Les manchons sont portés dans les salles blanches de la pharmacie, dans lesquelles sont effectuées les préparations aseptiques selon les règles des BPF. De plus, les infirmières des unités de soins travaillent la plupart du temps « bras nus », et la peau représente une flore naturelle particulièrement importante [45]. Pour éviter le risque de contamination des préparations par la flore bactérienne de la peau, le port de manchons stériles a été évalué. Effectivement, les avant-bras pénètrent sous le flux laminaire, et ceux-ci n'étant évidemment pas stériles, ils risquent de contaminer l'air sous la hotte, donc également la préparation elle-même. Cependant, aucune différence n'a pu être mise en évidence, en comparaison avec la même technique de travail, mais sans le port de manchons. Cela pourrait laisser penser que le port de manchons n'est pas utile. Toutefois, les tests ont été effectués sur 10 sessions de travail, soit 100 échantillons et le nombre de répétitions est certainement trop

faible pour détecter une différence entre les conditions intermédiaires et propres. Les conditions sales n'ont montré que 1% de contamination lors de la reconstitution sans erreur de manipulation, donc pour percevoir une différence sans le port de manchons, il faudrait tester beaucoup plus d'échantillons. Etant donné que la peau représente un vecteur microbiologique important et que les avant-bras rentrent sous le flux, le port de manchons pourrait quand même s'avérer utile.

Les conditions de travail qualifiées de « sales » constituent la préparation de médicaments injectables sans aucune protection personnelle, c'est-à-dire à mains nues (pas de gants), sans manchons et sans aucune mesure spécifique telle que la désinfection des mains ou la décontamination du matériel avant de l'introduire sous le flux laminaire, ou encore sans l'utilisation d'un champ stérile. Ces conditions n'ont pas montré de résultats satisfaisants quant au niveau d'asepsie des préparations, notamment en ce qui concerne les seringues, car plusieurs se sont révélées être contaminées (4% de contamination lors des reconstitutions avec erreur et 1% de contamination lors des reconstitutions sans erreur). Etant donné que ces conditions n'impliquaient aucune étape de décontamination de surface ni de désinfection des mains, ces résultats étaient attendus.

L'administration de médicaments contaminés aux patients immuno-déficients peut s'avérer très dangereuse pour eux, pouvant engendrer des complications, une augmentation de la morbidité et de la mortalité des patients, ainsi que des allongements de la durée d'hospitalisation [46]. C'est pourquoi cette technique de travail doit à tout prix être évitée. Pour cela, des mesures spécifiques, telles qu'elles sont opérées dans les conditions intermédiaires et propres de cette étude, doivent impérativement être mises en place.

De plus, pour la reconstitution de seringues, lorsqu'une erreur de manipulation a lieu (il s'agissait ici de toucher l'embout de la seringue avec le doigt), le taux de seringues contaminées est plus élevé dans les conditions sales (4% à la place de 1% lorsqu'il n'y a pas d'erreur). Cela signifie que les erreurs pouvant survenir lors d'opérations de routine impliquent un plus grand risque de contamination des préparations. Pourtant, le taux ne varie pas (il est de 0% pour la reconstitution avec ou sans erreur) lorsque les conditions intermédiaires ou propres sont pratiquées, c'est-à-dire lors de procédés de décontamination et de protection personnelle. De ce fait, dans ces conditions-ci, si une erreur de manipulation survient, les mesures de protection appliquées (le port de gants désinfectés) sont alors suffisantes pour prévenir une contamination.

Ces résultats corroborent avec ceux obtenus dans l'étude de C. Stucki [1]. En effet, le taux de contamination des seringues était plus élevé lorsque le manipulateur touchait l'embout de la seringue avec le doigt et que l'environnement était plus contaminé (contamination microbienne et particulaire) autour de lui. Le taux de contamination était de 0% pour une reconstitution sous flux laminaire, 24% pour une reconstitution dans une salle d'opération et 10% dans une US. Dans la salle d'opération et dans l'US, le taux de contamination était plus élevé que sous le flux laminaire. Dans notre cas, le taux de contamination est plus élevé lorsque les reconstitutions avec erreur de manipulation se font sans mesure de protection spécifique, telles que le port de gants stériles, leur désinfection et la décontamination du plan de travail et dans un environnement plus contaminé, selon les résultats des contrôles supplémentaires.

Lors de la lecture des résultats, la différence entre les sessions de travail effectuées le matin et celles effectuées l'après-midi a été évaluée. Les conditions intermédiaires et propres ne montrent évidemment pas de différences (car aucune contamination n'a été observée). Pour les conditions sales, les deux poches contenant une particule et une des seringues contaminée ont été reconstituées le matin, et 4 autres seringues contaminées ont été reconstituées l'après-midi. De plus, l'incidence des contaminations survient de manière irrégulière tout au long des sessions de travail et les contaminations n'ont pas été systématiquement observées au début des manipulations ou dans une seule session. Il n'y a donc pas de différence détectable entre le fait de reconstituer des médicaments le matin ou l'après-midi, c'est-à-dire qu'il n'y a pas d'effet « horaire » et que l'efficacité du flux est la même s'il est laissé plusieurs heures sans utilisation ou si, au contraire, on y fait beaucoup de manipulations à la suite.

5.2. LES CONTRÔLES SUPPLÉMENTAIRES

L'analyse des résultats obtenus pour les contrôles supplémentaires est cohérente avec les hypothèses avancées suite aux observations des reconstitutions de médicaments injectables. Effectivement, les contrôles supplémentaires du niveau aseptique montrent que l'environnement de travail des conditions sales n'est pas conforme aux exigences, avec des taux de contamination des plaques de sédimentation, des plaques count-tact et des géloses au sang beaucoup plus élevés que dans les deux autres conditions de travail (intermédiaires et propres). Ces contrôles supplémentaires permettent d'analyser la qualité microbiologique et particulaire de l'environnement sous le flux laminaire, environnement qui devrait être stérile pour une production aseptique.

Dans les conditions sales, le taux de contamination des plaques de sédimentation est de 20% et 30% respectivement pour les plaques disposées à l'avant et à l'arrière du plan de travail, sous le flux. Les plaques count-tact permettant l'analyse de surface, indiquent un taux de contamination de 50% et les empreintes des doigts, un taux de contamination de 90%. Ces résultats montrent que l'environnement sous le flux laminaire n'est pas du tout stérile dans ces conditions-ci, et que le risque de contamination des préparations effectuées dans un tel milieu est alors évident.

Ces résultats confirment que le fait de travailler sans prendre de mesures assurant une protection personnelle (par exemple le port de gants stériles), sans étape de décontamination (du matériel à utiliser et de l'intérieur de la hotte) et sans utiliser de champ stérile, ne permet pas d'obtenir un environnement suffisamment propre sous le flux et donc ne permet pas un travail aseptique.

En effet, lorsque la reconstitution de médicaments injectables est effectuée dans les conditions intermédiaires ou propres, les contrôles supplémentaires montrent des résultats beaucoup moins contaminés: seule une plaque count-tact présente une seule ufc dans les deux niveaux de propreté (c'est-à-dire 10% de contamination pour l'analyse de surface et 0% pour les plaques de sédimentation et les géloses au sang). Aucune autre plaque n'indique la présence d'une contamination. Les mesures spécifiques entreprises pour veiller à la qualité microbiologique des préparations et de l'environnement sous le flux sont donc nécessaires et efficaces.

Le fait de porter des gants stériles, qui sont en plus décontaminés à chaque fois qu'ils sont entrés sous le flux permet de diminuer, voire de faire disparaître l'introduction de contaminants à l'intérieur de la hotte. D'autre part, le fait de décontaminer le matériel à utiliser et l'intérieur de la hotte (plan de travail et parois) permet également l'élimination des éventuels germes pouvant ensuite contaminer les préparations médicamenteuses. De plus, l'utilisation d'un champ stérile sur lequel sont effectuées les préparations assure une protection supplémentaire. Selon les résultats du Laboratoire de Bactériologie, la plupart des germes identifiés dans les différents contrôles supplémentaires étaient des germes de l'environnement ou des germes de la peau. Les mesures indiquées ci-dessus sont donc tout à fait adaptées à l'élimination de ces germes ubiquitaires.

Concernant la différence entre les conditions intermédiaires et les conditions propres, celle-ci n'est pas apparente pour les contrôles supplémentaires. Les deux types de conditions ont

donné les mêmes résultats. Ceci démontre que le fait de porter des gants stériles décontaminés est suffisant et que le port de manchons stériles n'est pas nécessaire pour obtenir un niveau aseptique très significativement supérieur.

Le contrôle particulière a été entrepris lors de trois sessions de travail dans chacune des trois conditions de travail, pendant que l'opérateur manipulait. Un comptage s'effectue sur 10 minutes. Aucune particule n'a été révélée lors des différentes sessions de travail et donc aucune différence ne peut être constatée. Cela indique que le flux d'air laminaire fonctionnait bien et qu'il n'y a pas de particule qui ait pu pénétrer sous la hotte. Les contaminants présents provenaient donc du manipulateur ou du matériel, et non d'un mauvais fonctionnement du flux.

5.3. CONCLUSION

La préparation de médicaments injectables en unité de soins est un problème essentiel à investiguer, par le fait que la contamination de ces préparations peut engendrer des conséquences sévères et des hospitalisations prolongées, notamment lorsqu'il s'agit, comme ici, de patients immuno-supprimés. La stérilité des médicaments doit donc être garantie, afin de leur administrer leurs traitements en toute sécurité.

La mise en place de mesures spécifiques visant à limiter fortement le risque de contamination des préparations est donc réellement nécessaire. Le seul fait de travailler sous flux laminaire ne suffit pas à assurer un niveau aseptique garantissant la non-contamination des médicaments injectables. En effet, il est important de rappeler qu'un « flux laminaire ne rend rien stérile, mais il permet aux objets stériles de le rester » [14]. C'est pourquoi tout matériel introduit sous la hotte doit être décontaminé, ainsi que les parties du corps manipulant les préparations (les mains) doivent être au moins protégées par des gants, qui eux doivent être désinfectés à chaque fois qu'ils entrent sous le flux laminaire. De cette manière, l'environnement sous le flux peut être gardé exempt de contaminants et assurer un niveau d'asepsie adéquat des préparations effectuées à l'intérieur de celui-ci.

La préparation sous flux laminaire de tous les médicaments utilisés en onco-hématologie est pour le moment difficile à mettre en place. En effet, les préparations sont nombreuses et l'US ne dispose pas de l'équipement suffisant pour que chaque infirmière prépare sous le flux laminaire tous les médicaments qu'elle va administrer. C'est pourquoi la priorité à certaines préparations et certains patients, considérés comme plus sensibles, doit être déterminée. Il s'agit dans un premier temps, d'effectuer les préparations des médicaments pour les patients en aplasie ou les

patients greffés, ainsi que les préparations de lignes de perfusion qui peuvent rester jusqu'à 96 heures en place, y compris les solutés de perfusion dans lesquels sont ajoutés des électrolytes.

6. PERSPECTIVES

Suite à cette étude, l'idée serait d'entreprendre une évaluation des pratiques proposées par les infirmières de l'US. Elles effectueraient quelques préparations sous le flux laminaire en suivant le même protocole que celui établi dans ce travail et proposeraient éventuellement d'adapter la méthode de travail. La meilleure technique serait discutée entre les infirmières de l'US, les pharmaciens travaillant en salle blanche et le médecin-chef du service. De cette manière, il serait possible de mettre en place un protocole, pour que les infirmières préparent toutes les préparations déterminées sous le flux laminaire, à savoir les médicaments destinés aux patients en aplasie ou les patients greffés ainsi que les lignes de perfusion.

Notre étude ne permet pas de déterminer si des conditions de travail entre la procédure sale et la procédure intermédiaire seraient suffisantes pour garantir une sécurité microbiologique acceptable. D'autres conditions pourraient être testées ultérieurement. Cependant, les conditions intermédiaires sont considérées par la pharmacie comme étant un minimum applicable.

Il est aussi envisageable d'évaluer la possibilité de laisser sous flux, pendant 24 heures, des flacons qui seraient destinés à usages multiples. Il s'agirait de médicaments stables et chers.

L'acquisition de flux laminaires par d'autres unités de soins, telles que l'onco-hématologie adulte ou les soins intensifs permettrait la mise en place des mêmes pratiques dans ces autres services également.

7. BIBLIOGRAPHIE

1. Stucki, C., et al., *Microbial contamination of syringes during preparation: the direct influence of environmental cleanliness and risk manipulations on end-product quality*. American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists, 2009. **66**(22): p. 2032-6.
2. Beaney, A.M., *Preparation of parenteral medicines in clinical areas: how can the risks be managed - a UK perspective?* Journal of clinical nursing, 2010. **19**(11-12): p. 1569-77.
3. Stoltz, J.A., et al., *Changes in injecting practices associated with the use of a medically supervised safer injection facility*. J Public Health, 2007. **29**(1): p. 35-39.
4. James, A. and M. Schmid, *Les injections*, L.B.S.-S.d. formation, Editor. 1993.
5. Fransman, W., et al., *A pooled analysis to study trends in exposure to antineoplastic drugs among nurses*. The Annals of occupational hygiene, 2007. **51**(3): p. 231-9.
6. Trissel, L.A., et al., *Effect of two work practice changes on the microbial contamination rates of pharmacy-compounded sterile preparations*. American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists, 2007. **64**(8): p. 837-41.
7. Thomas, M., M.D. Sanborn, and R. Couldry, *I.V. admixture contamination rates: traditional practice site versus a class 1000 cleanroom*. American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists, 2005. **62**(22): p. 2386-92.
8. Pethran, A., et al., *Uptake of antineoplastic agents in pharmacy and hospital personnel. Part I: monitoring of urinary concentrations*. International archives of occupational and environmental health, 2003. **76**(1): p. 5-10.
9. Simon, A. and G. Fleischhack, *[Surveillance for nosocomial infections in pediatric hematology/oncology patients]*. Klinische Padiatrie, 2001. **213 Suppl 1**: p. A106-13.
10. Koller, C., *Stérilisation*, in *Cours de pharmacie galénique, 3e année de Bachelor en pharmacie*. 2010-2011: EPGL, Genève.
11. *Règles de Bonnes Pratiques de Fabrication de médicaments en petites quantités*, in *Ph. Helv.* 2009. p. 93-108.
12. Dr. Sadeghipour, F., *Bonnes pratiques de fabrication en petites quantités, selon la Ph. Helv. 10.2, Préparation des médicaments en petites quantités*, in *Cours de 2e année de Master en Pharmacie*. 2010-2011: EPGL, Genève.
13. *Bonnes pratiques de fabrication*, A.f.d.s.s.d.p.d. santé, Editor. 2009: Paris.
14. Bonnabry, P., F. Sadeghipour, and V. Herrera, *Maîtrise de la fabrication aseptique en milieu hospitalier, 8e édition*. 2010: Pharmacie des HUG, Genève.

15. Pannatier, A., in *Cours de pharmacie hospitalière, 3e année de Bachelor en pharmacie*. 2009-2010: EPGL, Genève.
16. Eudraxex, *EU Guidelines to Good Manufacturing Practice: Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, in *The Rules Governing Medicinal Products in the European Union 2009*.
17. *Bonnes pratiques de pharmacie hospitalière (BPPH), Ligne directrice particulière 1 préparation des dispositifs médicaux stériles*. 2001. p. 36-50.
18. Dr. Sadeghipour, F., *La préparation des médicaments parentéraux à l'hôpital - Hottes à flux d'air laminaire*, in *Séminaire DESS en pharmacie hospitalière*. 2005.
19. Perrot, A., *Hygiène des soins*. 2005, Association Romande des Agents Techniques Hospitaliers.
20. Lipsett, P.A., *Do we really need laminar flow ventilation in the operating room to prevent surgical site infections?* *Annals of surgery*, 2008. **248**(5): p. 701-3.
21. Stucki, C., et al., *Mise au point d'un protocole de simulation de remplissage aseptique par media fill et validation des opérateurs de production*. 2003, GSASA.
22. *Mode d'emploi - Milieux en flacons prêts à l'emploi*. 2008, BD Diagnostic Systems Tryptic Soy Broth (TSB).
23. 8.10.2009; Available from: <http://memebateau.free.fr/html/leucemie.htm>
24. Waugh, A., A. Grant, and J.S. Ross, *Ross and Wilson anatomy and physiology in health and illness*. 9th ed. 2001, Edinburgh ; New York: Churchill Livingstone. p.
25. Elad, S., et al., *A systematic review of viral infections associated with oral involvement in cancer patients: a spotlight on Herpesviridea*. *Supportive care in cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 2010. **18**(8): p. 993-1006.
26. Caquet, R., *Guide infirmier des examens de laboratoire*. Elsevier Masson SAS ed. 2008, Issy-les-Moulineaux.
27. Jouet, J.P., *Les greffes de cellules souches hématopoïétiques*. 2007: Université de médecine, Lille.
28. Pagano, L., et al., *Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised patients*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2011. **66 Suppl 1**: p. i5-14.
29. Wingard, J.R., J. Hsu, and J.W. Hiemenz, *Hematopoietic stem cell transplantation: an overview of infection risks and epidemiology*. *Hematology/oncology clinics of North America*, 2011. **25**(1): p. 101-16.
30. Ruhnke, M., *Bacterial infections in cancer patients*. *Onkologie*, 2010. **16**(12): p. 1183-1192.

31. Lefrère, F., *Hématologie et transfusion*. Estem De Boeck Diffusion ed. Vol. 6. 2008, Paris.
32. Pozzetto, B. and P. Berthelot, *Les infections nosocomiales virales et leur prévention*. Virologie, 1997. 1: p. 453-462.
33. Tabone, M.D., et al., *[Nosocomial infections in immunocompromised children]*. Pathologie-biologie, 2000. 48(10): p. 893-900.
34. Entz-Werle, N., F. Uttwiler, and M. Bientz, *Nosocomial infections in children with acute lymphoblastic leukemia*. Médecine et maladies infectieuses, 2003. 33: p. 634-639.
35. Owens, C.D. and K. Stoessel, *Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention*. The Journal of hospital infection, 2008. 70 Suppl 2: p. 3-10.
36. De Angelis, G., et al., *Estimating the impact of healthcare-associated infections on length of stay and costs*. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2010. 16(12): p. 1729-35.
37. Zafar, A., R. Hasan, and N. Sabir, *Implications of use of contaminated drugs: a developing world scenario*. Lancet, 2003. 362(9378): p. 169-170.
38. Ezzedine, H., et al., *An outbreak of Ochrobactrum anthropi bacteraemia in five organ transplant patients*. The Journal of hospital infection, 1994. 27(1): p. 35-42.
39. Wang, S.A., et al., *Enterobacter cloacae bloodstream infections traced to contaminated human albumin*. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 2000. 30(1): p. 35-40.
40. Barbut, F. and J.C. Petit, *Epidemiology of Clostridium difficile-associated infections*. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2001. 7(8): p. 405-10.
41. Rizzari, C., et al., *Central venous catheter-related infections in pediatric hematology-oncology patients: role of home and hospital management*. Pediatric hematology and oncology, 1992. 9(2): p. 115-23.
42. Al-Damouk, M., E. Pudney, and A. Bleetman, *Hand hygiene and aseptic technique in the emergency department*. The Journal of hospital infection, 2004. 56(2): p. 137-41.
43. Trissel, L.A., et al., *Using a medium-fill simulation to evaluate the microbial contamination rate for USP medium-risk-level compounding*. American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists, 2005. 62(3): p. 285-8.
44. in *Laboratoire de Contrôle de Qualité (LCQ)*. 2011: HUG, Rue Gabrielle-Perret-Gentil 4, 1211 Genève 14.

45. Grice, E.A. and J.A. Segre, *The skin microbiome*. Nat Rev Microbiol, 2011. **9**(4): p. 244-53.
46. Gayvallet-Montredon, N., et al., *[Nosocomial bacteremias in pediatrics]*. Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie, 2002. **9**(7): p. 679-84.

8. ANNEXES

Annexe 1: Appareils, matériel et produits utilisés

Annexe 2: Illustrations du flux laminaire dans différentes conditions

Annexe 3: Liste du matériel à prévoir pour une séance de travail à l'US

Annexe 4: Détermination aléatoire des différentes séances de travail

Annexe 5: Résultats détaillés pour les conditions opératoires « sales »

Annexe 6: Résultats détaillés pour les conditions opératoires « intermédiaires »

Annexe 7: Résultats détaillés pour les conditions opératoires « propres »

Annexe 8: Résultats détaillés pour les contrôles supplémentaires

Annexe 1 : Appareils, matériel et produits utilisés

Tableau 1 : Appareils utilisés

Appareil	Fabriqueur
Flux d'air laminaire vertical Safemate 0.9 Cyto	Bioair EuroClone® Division
Compteur à particules 227A	Met One

Tableau 2 : Matériel utilisé

Matériel	Fabriqueur
Poches NaCl 0.9 % (9 g/l), 50 ml, isotoniques, stériles, apyrogènes	Sintetica Bioren SA, Couvet, Suisse
Tubulures de transfert, stériles, volume standard, LuerLock Ends	Baxa, Englewood, Etats-Unis
Rallonges pour perfusion 150 cm, D.I. 1mm	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Allemagne
Robinetts 3 voies Luer-Lock	BD Connecta, Helsingborg, Suède
Seringues de 5 et 30 ml, Luer-LockTyp, stériles	BD, Franklin Lakes, Etats-Unis
Aiguilles roses 18 G, Luer	Terumo, Leuven, Belgique
Gants stériles non poudrés en latex avec revêtement en nitrile, Protegent MicroSMT,	Cardinal Health, Châteaubriant, France
Flacons pénicilline, 20 ml, incolores, type 1	Med-Lab Marketing AG, Oberwil, Suisse
Bouchons pour flacons pénicilline	Flaigg, Aesch, Suisse
Bouchons combi Luer-Lock	B Braun, Medical Inc. Bethlehem
Chiffons stériles HS II, TX 3210	ITW Texwipe, Mahwah, Etats-Unis
Champs de préparation, Chemoprotect®	CODAN, Lensahn, Allemagne
Compresse non-tissées, 40 gr, 5x5 cm, 4 plis, 3 pces/sachet, stériles	Applimed, Châtel-Saint-Denis, France

Tableau 3 : Produits utilisés

Produit	Fabriqueur
Teinture de chlorhexidine 0.5%	Pharmacie des HUG, Genève, Suisse
Klarcide®-125 (isopropanol 70% et peroxyde d'hydrogène 0.125% mélangé à de l'eau désionisée)	Ecolab, Shield Medicare, Farnham, Royaume-Uni
Trypticase Soy Broth (TSB-ST)	bioMérieux, Marcy l'Etoile, France

Annexe 2 : Illustrations du flux laminaire dans différentes conditions



Figure 1 : Conditions sales



Figure 2 : Conditions intermédiaires et propres



Figure 3 : Travail sous flux laminaire dans les conditions intermédiaires ou propres

Annexe 3 : Liste du matériel à prévoir pour une séance de travail à l'US

- 1 poche pour perfusion de 50 mL contenant 50 mL de TSB
- 1 tubulure pour perfusion
- 1 rallonge
- 1 robinet à 3 voies
- 1 flacon de 100 mL contenant le bouillon de culture (TSB)
- 2 flacons pour injectables de 20 mL (contenant 5 mL d'eau)
- 2 seringues de 30 mL
- 2 seringues de 5 mL
- 4 aiguilles roses
- 3 bouchons Luer-Lock
- 1 champ stérile (sauf lors de la préparation sans protection du tout)
- 1 paire de gants stériles et éventuellement 1 paire de manchons stériles (sauf lors de la préparation sans protection du tout)

Tout le matériel doit être stérile.

De plus, du Klercide-125[®] et des chiffons stériles sont nécessaires pour la décontamination du flux et du matériel, ainsi que de la chlorhexidine 0.5% pour la désinfection des gants (mains).

Annexe 4 : Détermination aléatoire des différentes séances de travail

Tableau 4 : Ordre déterminé des séances de travail

Jour	Conditions de travail
Jour 1	Sales
	Intermédiaires
Jour 2	Propres
	Sales
Jour 3	Intermédiaires
	Propres
Jour 4	Sales
	Intermédiaires
Jour 5	Propres
	Sales
Jour 6	Intermédiaires
	Propres
Jour 7	Sales
	Intermédiaires
Jour 8	Propres
	Sales
Jour 9	Intermédiaires
	Propres
Jour 10	Sales
	Intermédiaires
Jour 11	Propres
	Sales
Jour 12	Intermédiaires
	Propres
Jour 13	Sales
	Intermédiaires
Jour 14	Propres
	Sales
Jour 15	Intermédiaires
	Propres

Annexe 5 : Résultats détaillés pour les conditions opératoires « sales »

Tableau 5 : Résultats des séances de travail effectuées dans les conditions « sales »

Matin			Après-midi		
Jour 1			Jour 2		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	2
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 4			Jour 5		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	1 particule	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 7			Jour 8		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	1

Jour 10			Jour 11		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	1 particule	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	1	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 13			Jour 14		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	1
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Annexe 6 : Résultats détaillés pour les conditions opératoires « intermédiaires »

Tableau 6 : Résultats des séances de travail effectuées dans les conditions « intermédiaires »

Après-midi			Matin		
Jour 1			Jour 3		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 4			Jour 6		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 7			Jour 9		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 10			Jour 12		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 13			Jour 15		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Annexe 7 : Résultats détaillés pour les conditions opératoires « propres »

Tableau 7 : Résultats des séances de travail effectuées dans les conditions « propres »

Matin			Après-midi		
Jour 2			Jour 3		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 5			Jour 6		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 8			Jour 9		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 11			Jour 12		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Jour 14			Jour 15		
	Effectuées	Contaminées		Effectuées	Contaminées
Nombres de poches	10	0	Nombres de poches	10	0
Nombres de seringues avec erreur	10	0	Nombres de seringues avec erreur	10	0
Nombres de seringues sans erreur	10	0	Nombres de seringues sans erreur	10	0

Annexe 8 : Résultats détaillés pour les contrôles supplémentaires

Tableau 8 : Résultats des contrôles supplémentaires

Jour	Session	Conditions	Flux avant droite [ufc]	Flux fond gauche [ufc]	Count-tact [ufc]	Gélose au sang [ufc]
Jour 1	Matin	Sales	20 (avec moisissures)	18	6 (avec moisissures)	3
	Après-midi	Intermédiaires	0	0	1	0
Jour 2	Matin	Propres	0	0	0	0
	Après-midi	Sales	5 (avec moisissures)	5	5 (avec moisissures)	6
Jour 3	Matin	Intermédiaires	0	0	0	0
	Après-midi	Propres	0	0	1	0
Jour 4	Matin	Sales	0	1 gros amas d'ufc	2	0
	Après-midi	Intermédiaires	0	0	0	0
Jour 5	Matin	Propres	0	0	0	0
	Après-midi	Sales	0	0	0	3
Jour 6	Matin	Intermédiaires	0	0	0	0
	Après-midi	Propres	0	0	0	0
Jour 7	Matin	Sales	0	0	3	3 (avec moisissures)
	Après-midi	Intermédiaires	0	0	0	0
Jour 8	Matin	Propres	0	0	0	0
	Après-midi	Sales	0	0	0	3
Jour 9	Matin	Intermédiaires	0	0	0	0
	Après-midi	Propres	0	0	0	0
Jour 10	Matin	Sales	0	0	0	3
	Après-midi	Intermédiaires	0	0	0	0
Jour 11	Matin	Propres	0	0	0	0
	Après-midi	Sales	0	0	0	1
Jour 12	Matin	Intermédiaires	0	0	0	0
	Après-midi	Propres	0	0	0	0
Jour 13	Matin	Sales	0	0	0	2
	Après-midi	Intermédiaires	0	0	0	0
Jour 14	Matin	Propres	0	0	0	0
	Après-midi	Sales	0	0	2	2
Jour 15	Matin	Intermédiaires	0	0	0	0
	Après-midi	Propres	0	0	0	0