

## Mise en place d'un protocole de validation microbiologie en héματο-oncologie

Jean-François Bussières, Diane Larocque, Sonia Prot-Labarthe

### Résumé

**Objectifs :** Le domaine des préparations stériles en établissement de santé est l'objet d'une mise à jour importante en Amérique avec la publication de nouvelles normes de pratique. L'objectif de cet article est de décrire la mise en place en pharmacie d'un protocole de validation microbiologique dans le secteur d'héματο-oncologie dans un centre hospitalier de soins tertiaires au Québec.

**Méthodologie :** Au CHU mère-enfant Sainte-Justine, nous avons mené deux études de validation microbiologique afin de décrire le niveau de contamination des enceintes de préparation. L'étude présente le protocole et les résultats de 43 semaines d'application.

**Résultats :** On note un taux moyen de croissance de 6,6 %. Parmi les agents identifiés, on note une colonie de *bacillus sp.* à trois reprises, une colonie de *penicillium sp.* à une reprise, une colonie de *staphylococcus coagulase* négative à une reprise et un champignon filamenteux à une reprise.

**Conclusion :** Peu d'études ont été publiées sur la validation microbiologique en pharmacie hospitalière en Amérique du Nord. Cette étude démontre la faisabilité de la mise en place d'un protocole de validation microbiologique en établissement de santé.

**Mots clés :** préparations stériles, validation microbiologique, contrôle de qualité

### Introduction

Le domaine des préparations stériles en établissement de santé est l'objet d'une mise à jour importante en Amérique avec la publication de nouvelles recommandations. L'objectif de cet article est de situer brièvement l'état des lieux en matière de contrôle de qualité microbiologique dans les salles de préparation de médicaments dans les départements de pharmacie en établissement de santé et de décrire la mise en place en pharmacie d'un protocole de validation microbiologique dans le secteur d'héματο-oncologie dans un centre hospitalier de soins tertiaires.

### Mise en contexte

En décembre 2003, Morris et coll. ont publié un sondage national sur l'assurance de la qualité en matière de pré-

parations de médicaments en établissement de santé<sup>1</sup>. Ce sondage concernait le respect des recommandations pour les préparations stériles publiées par The American Society of Health-System Pharmacists (ASHP) en juillet 2002<sup>2</sup>. On note que 98 % des établissements réalisent des préparations stériles et que 59 % des établissements réalisent des préparations par lot. En ce qui a trait aux activités de contrôle de la qualité, on note les résultats suivants : 92 % effectuent de l'observation directe pour la formation du personnel et 90 %, de l'évaluation continue de la qualité des préparations; 72 % réalisent des validations à intervalles réguliers, mais seulement 26 % utilisent des milieux de culture particuliers pour la formation du personnel et 30 %, pour l'évaluation continue de la qualité des préparations. Près de 99 % procèdent à l'inspection visuelle des préparations de niveau de risque 1 selon les directives de l'ASHP et 37 % procèdent à des tests de validation microbiologique sur des échantillons; 9 % recherchent des endotoxines pour les préparations de niveau de risque 1. Enfin, 96 % sont conformes quant à la certification des hottes; 88 % sont conformes quant à la tenue des registres pour la formation du personnel, mais seulement 5 % sont conformes quant à la tenue des registres pour les préparations de niveau de risque 3. Ce sondage confirme qu'il reste beaucoup à faire en matière de contrôle de qualité des préparations stériles.

Mckerrow et coll. rapportent une croissance de la présence de service centralisé d'additions aux solutés (SCAS) dans les départements de pharmacie depuis 15 ans au Canada<sup>3,4</sup>. L'offre de service d'un SCAS au Québec et au Canada est comparable. On note que 88 % c. 84 % des établissements disposent d'un SCAS, que ce SCAS couvre plus de 90 % des patients dans 69 % c. 66 % des cas. On note peu de différences quant aux clientèles

---

**Jean-François Bussières**, B. Pharm., M. Sc., M.B.A., est chef du département de pharmacie au Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine et professeur agrégé de clinique à la Faculté de pharmacie de l'Université de Montréal

**Diane Larocque**, B. Pharm., M. Sc., est chef d'équipe héματο-oncologie au Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine

**Sonia Prot-Labarthe**, D. Pharm., est assistante de recherche au Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine

desservies et aux types de produits préparés. Le nombre moyen d'unités de préparation de courte durée par jour-présence demeure moins élevé au Québec (0,87 unité/jour-présence de courte durée) que dans toutes les régions du Canada (1,07), à l'exception des provinces atlantiques. Les données disponibles ne fournissent toutefois aucune information sur le nombre et de la nature des activités de contrôle effectuées dans ce domaine.

La publication du chapitre 797 de la United States Pharmacopeia (USP) sur les préparations stériles en pharmacie en 2004 ainsi que la publication de l'alerte NIOSH (The National Institute for Occupational Safety and Health) en 2005 ont incité les associations professionnelles et plusieurs ordres de pharmaciens à remettre à jour leurs normes de pratiques<sup>5-8</sup>. L'Ordre des pharmaciens du Québec (OPQ) a mandaté un groupe de travail sur les préparations magistrales dont les travaux devaient débiter en 2005 afin de mettre à jour la norme de pratique 95.01, adaptée de la norme de la Société canadienne des pharmaciens d'hôpitaux<sup>9</sup>. La section 12 de cette norme est consacrée à la validation du procédé. En vertu des principes généraux (12.1), la validation du procédé exige l'élaboration de procédures de préparation scientifiquement valables qui, lorsqu'elles sont respectées, assurent que l'identité, la concentration, la qualité et la pureté du médicament correspondent aux spécifications appropriées. On devrait minimiser les écarts avec les procédures établies; le pharmacien désigné devrait consigner ces derniers et les approuver. On précise la validation des équipements (12.2), des techniques aseptiques (12.3), la surveillance de l'environnement (12.4) et la tenue de rapports et registres (12.5). Sur le plan de l'environnement, la norme précise qu'on doit établir un programme de surveillance de l'environnement scientifiquement valable pour s'assurer que les normes sont respectées. On devrait définir le nombre maximum de micro-organismes ou de particules tolérés ainsi que les mesures à prendre quand ces seuils de tolérances sont dépassés. Des échantillons d'air devraient être prélevés à divers endroits dans l'aire de préparation aseptique; les surfaces devraient être contrôlées au moyen de plaques de contact, de la technique d'écouvillonnage et de rinçage ou d'autres méthodes appropriées, et des systèmes d'alarme devraient avertir le personnel lorsque la pression ou le débit d'air tombe sous les limites établies pour les pièces où doit régner un gradient positif de pression ou de débit.

Ces nouvelles recommandations ont incité plusieurs auteurs nord-américains à décrire leur expérience dans la mise à jour de leur pratique<sup>10-13</sup>. Enfin, il convient de rappeler qu'au Canada, la fabrication des médicaments relève de la compétence fédérale et qu'elle est encadrée par la *Loi sur les aliments et drogues et ses règlements*<sup>14</sup> tandis que la préparation des médicaments est de compétence provinciale et qu'elle est encadrée par la *Loi sur la pharmacie* de chaque province. Enfin, notons que nous avons

publié un dossier sur l'état de la situation en matière de préparations stériles en pharmacie en 2004<sup>15</sup>. En comparant la norme USP 797, la norme ASHP 2000 et celle de l'OPQ, on note que la norme USP est plus précise en matière de contrôle environnemental, notamment parce qu'elle requiert un décompte particulière dans la salle tous les six mois, une validation microbiologique des enceintes tous les mois et des actions immédiates lorsque le niveau de contamination augmente de 50 % par rapport au niveau de base.

On retrouve dans la documentation quelques sources précisant les seuils maximaux de contamination par sédimentation. Le milieu de culture est déposé sur le plateau de l'enceinte durant une période de temps donnée (p. ex. 2 heures) et incubé ou par contact (c.-à-d. le milieu de culture est mis en contact avec une surface donnée (p. ex. une pompe, un endroit du plateau de travail, un gant) durant une période de temps donnée (p. ex. 10 secondes) et incubé). Par exemple, les bonnes pratiques de préparations hospitalières en France où la pharmacotechnie est bien structurée proposent un nombre maximal de particules par mètre cube de taille égale ou supérieure à une valeur donnée (p. ex. dans les grades B – aussi appelé classe 5 selon ISO 14644-1 ou classe 100 selon le *Federal Standard 209D/209E* –, on recommande qu'il n'y ait aucune particule de plus de 5 µm au repos contre moins de 2 000 particules de plus de 5 µm lorsqu'en activité)<sup>16</sup>. De même, les bonnes pratiques proposent des limites recommandées de contamination microbiologique (sous forme de valeur moyenne de *colony forming units (CFU)*). Le tableau I présente ces recommandations. Kastango et coll. ont publié un article intéressant illustrant la mise en application du chapitre USP 797<sup>12</sup>. Les auteurs proposent un niveau de base, un niveau d'alerte et un niveau d'action reliés à des seuils de contamination de l'air et des surfaces d'une salle blanche (p. ex. de type ISO 7). Le niveau d'action oblige des correctifs tandis que le niveau d'alerte vise à rehausser le respect des politiques et des procédures en vigueur. Par exemple, le niveau basal sous une hotte à flux d'air laminaire a été fixé à 0 CFU et le seuil d'action est à plus de 3 CFU pour les prélèvements d'air. De même, concernant les zones de travail proches de l'aire de préparation et celles pour la zone d'habillage ou de passage, le niveau basal est respectivement à moins de 5 et 10 CFU et le seuil d'action a été fixé à 8 et 15 CFU. À notre connaissance, peu d'établissements de santé ou de pharmacies privées au Québec vérifient la contamination microbienne de leurs salles, de leurs enceintes et des produits finis, bien que ceci soit exigé par la norme 95.01. De même, le service de l'inspection professionnelle de l'OPQ ne publie pas, comme en milieu communautaire, la liste des pharmacies certifiées pour les établissements de santé. Enfin, à notre connaissance, l'inspection effectuée en milieu communautaire n'exige pas de validation microbiologique périodique pour maintien du certificat même si la norme le propose.

**Tableau I : Limites recommandées de contamination microbiologique**

Grade	ISO 14644-1	Federal Standard 209D/209E	Limites recommandées de contamination microbiologique (valeurs moyennes en <i>colony forming units CFU</i> ) – <i>Bonnes pratiques de préparations hospitalières</i> <sup>16</sup>			
			Échantillon d'air UFC/m <sup>3</sup>	Boîte de Pétri (90 mm diam.) UFC/4 h	Géloses de contact (55 mm diam.) UFC/plaque	Empreintes de gant UFC/gant
A	Classe 5	100 (M3.5)	< 1	< 1	< 1	< 1
B	Classe 5	100 (M3.5)	10	5	5	5
C	Classe 7	10 000 (M5.5)	100	50	25	-
D	Classe 8	100 000 (M6.5)	200	100	50	-

Au CHU Sainte-Justine, nous avons mené deux études de validation microbiologique afin de décrire le niveau de contamination des enceintes de préparation. Dans la première de ces études, Landry et coll. ont démontré en 1998 un taux moyen de croissance de bactéries et de champignons de 5 % parmi l'ensemble des prélèvements par sédimentation et contact faits à l'intérieur de cinq enceintes de type isolateur (n = 4) et hotte (n = 1) dans la salle propre de préparation de pharmacie principale<sup>17</sup>. La salle comportait plusieurs éléments de non-conformité, ce qui est commun à plusieurs salles propres de préparations stériles en établissement de santé au Québec. Le devis n'avait pas pour objectif de comparer les deux types de technologie mais d'enregistrer la croissance bactérienne et fongique dans une pièce et un environnement réel. Au total, 657 prélèvements ont été effectués (327 sur gélose de type trypticase soja agar (TSA) et 330 de type Sabouraud dextrose agar (SAB-D)) durant une période de 20 jours; des 33 géloses positives, 24 (73 %) ont confirmé une croissance bactérienne contre 9 (27 %) une croissance fongique. Parmi les agents identifiés, on note *bacillus*, *staphylococcus*, *penicillium*, *micrococcus*, *corynebacterium* et des espèces de *mucor*.

Après avoir apporté quelques correctifs à la salle et aux politiques et procédures, on a entrepris une seconde étude, qui a été menée localement, en 2001, afin de comparer deux environnements (c.-à-d. salle propre de la pharmacie principale dont les isolateurs ont été ciblés pour l'étude ET salle propre d'hémo-oncologie dont deux hottes classe II B3 ont été ciblées pour l'étude). On a observé un taux moyen de croissance de bactéries et de champignons de 6,7 % parmi l'ensemble des prélèvements par sédimentation et contact faits à l'intérieur de quatre enceintes. Au total, 1 966 prélèvements ont été effectués (983 sur gélose de TSA et 983 de SAB-D) durant une période de 21 jours; des 132 géloses positives, 88 (67 %) ont confirmé une croissance bactérienne contre 44 (33 %) une croissance fongique. On a observé globalement une croissance de 8,5 % dans les deux hottes et de 5,0 % dans les deux isolateurs (p < 0,002). Toutefois, il faut interpréter avec prudence cette différence, lorsqu'on prend en compte les variables pertinentes susceptibles d'influencer la croissance (p. ex. personnel, niveau d'activité, heure de la journée, etc.). Le niveau de contamina-

tion est plus prononcé dans une hotte, quel que soit le niveau d'activité; il est aussi haut dans un isolateur, lorsque le niveau d'activité est élevé. L'étude démontre la nécessité de faire un devis plus rigoureux (c.-à-d. comparaison nez à nez d'une hotte et d'un isolateur, dans un environnement identique pour un niveau d'activité comparable avec les mêmes assistants techniques) afin d'éliminer plusieurs variables confondantes. On a identifié une population d'agents pathogènes similaires<sup>18,19</sup>.

## Méthodologie

À partir de la revue de la documentation et de l'expertise développée localement avec ces deux études, nous avons établi un protocole hebdomadaire de validation microbiologique en hémo-oncologie en collaboration avec le Département de microbiologie. La présente étude décrit l'application de ce protocole hebdomadaire.

Le Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine est un établissement tertiaire de 500 lits. Le Département de pharmacie, d'une superficie de 800 m<sup>2</sup>, compte une pharmacie principale avec une salle propre (57 m<sup>2</sup>) et une pharmacie satellite en hémo-oncologie avec une salle propre (29 m<sup>2</sup>). Le tableau II décrit les éléments clés du protocole actuellement implanté dans la salle propre d'hémo-oncologie. Le protocole a été testé au début de 2005 et mis en place hebdomadairement en avril 2005.

## Résultats

Les résultats portent sur 43 semaines de prélèvements menés d'avril 2005 à mars 2006. On a omis de procéder à la mesure durant certaines semaines compte tenu de la pénurie de ressources humaines. À terme, le protocole a pour objet d'assurer le contrôle de l'air de la salle (c.-à-d. décompte particulière) et des enceintes de travail (c.-à-d. validation microbiologique); cette étude décrit les résultats découlant du second aspect. Le tableau III présente les résultats des 43 semaines d'application. On note un taux moyen de croissance de 6,6 %, ce qui est similaire au taux moyen observé dans nos deux études précédentes. Le taux est plus élevé dans la hotte n° 1 (8,1 %), suivi de la hotte n° 3 (5,8 %) et de la hotte n° 2 (5,8 %). Les hottes n° 1 et n° 2 sont de type classe II B3 avec évacuation externe à 30 % et recirculation. La hotte n° 1 est l'enceinte utilisée de manière plus intensive pour les prépara-

## Tableau II : Protocole de validation microbiologique

### POLITIQUES

Ces politiques et ces procédures sont rédigées en collaboration avec le Département de pharmacie et microbiologie/immunologie. En vertu de la norme 95.01 de l'OPQ (sections 12.4, 12.5), une surveillance de l'environnement doit être effectuée.

### PROCÉDURES

#### Contrôle de l'air de la hotte par sédimentation

- **approvisionnement** – un assistant technique sénior en pharmacie se présente chaque mercredi matin avec deux sacs à fermeture par pression et glissière de style Ziplock<sup>MD</sup> vers 10 h 30 au Département de microbiologie pour récupérer trois géloses sang de mouton 5 % en assiette 100 mm (rouge) et trois géloses IMA en assiette 100 mm (beige); elles sont laissées dans les sacs (à l'envers) jusqu'à leur introduction dans les hottes.
- **entrée des boîtes de Pétri dans la hotte** – après avoir effectué le lavage des enceintes selon les procédures en vigueur, on désinfecte l'extérieur des boîtes de Pétri fermées à l'aide d'une compresse d'alcool à 70 % v/v et on dépose une boîte de chaque type au fond (milieu) de la surface de travail dans la hotte. Au-dessous de la boîte de Pétri, on indique le numéro de la hotte (1, 2 ou 3) avec un marqueur permanent. On ouvre les boîtes de Pétri et on laisse les couvercles à côté des boîtes de Pétri de 11 h à 14 h. Le travail de production se produit normalement.
- **fermeture des boîtes de Pétri dans la hotte** – à 14 h, on ferme les boîtes de Pétri, on désinfecte l'extérieur des boîtes de Pétri (pour éliminer le dépôt potentiel d'aérosols de chimiothérapie) à l'aide d'une compresse d'alcool à 70 % v/v et on sort les boîtes de Pétri de chaque hotte. On colle le pourtour de chaque boîte à l'aide d'un ruban Parafilm « M » (PM-999 - Laboratory film – Pechiney plastic packaging – Chicago – II 60631), on colle au-dessous de la boîte de Pétri (afin de permettre la lecture sans retirer le couvercle) une étiquette d'identification CYTOXIQUE (grise) et on met toutes les boîtes dans un sac qui comporte aussi une étiquette d'identification cytotoxique. L'assistant technique apporte les six boîtes de Pétri au laboratoire central – secteur microbiologie. Une requête par hotte doit être remplie selon les directives du Département de microbiologie. Dans le cas où la production ne permet pas d'apporter les boîtes immédiatement, elles sont conservées à température ambiante et apportées au laboratoire dès que possible.
- **personne de contact en microbiologie** – la personne contact est X.
- **analyse en microbiologie** – un protocole complémentaire est établi par le Département de microbiologie pour faire les analyses; aucune particularité n'est prévue pour le montage (c.-à-d. préparation de l'échantillon, microscopie, ensemencement), les conditions d'incubation sont respectivement pour les géloses sang et IMA : aérobies, 35° C – 3 jours et aérobies; 28° C – 7, les critères concernant la lecture et l'identification sont respectivement pour les géloses sang et IMA : 48 et 72 heures en n'ouvrant la boîte de Pétri que s'il y a croissance à 72 heures; jours 2, 3 et 7; n'ouvrir la boîte de Pétri que s'il y a croissance au jour 7. Noter le nombre de colonies de chaque type différent pour chaque boîte de Pétri. Chaque type morphologique différent de colonies est identifié par le genre. L'identification est présumptive sur toutes les colonies, et le microbiologiste de garde est consulté en cas de doute. Aucun antibiogramme n'est effectué et aucun germe n'est conservé.
- **suivi des résultats** – les analyses des prélèvements (c.-à-d. absence/croissance + identification du genre) sont effectuées par le personnel du Département de microbiologie et les résultats sont saisis dans le logiciel Softlab<sup>MD</sup>; compte tenu du délai de croissance, le personnel de la pharmacie vérifie la présence/absence de croissance et l'identification du genre, chaque mercredi suivant.
- **résultats positifs** – en présence de résultats positifs, la pharmacienne chef d'équipe détermine la conduite à tenir, notamment : (1) demande d'entretien ponctuel additionnel à la salubrité en soirée; (2) courriel au personnel afin de renforcer l'application de politiques et procédures; (3) changement à des politiques et procédures. Le chef de Département est avisé des résultats.

tions d'agents cytotoxiques, ce qui peut expliquer le taux de croissance plus élevé. La hotte n° 2 est utilisée de manière moins intensive pour les préparations d'agents cytotoxiques et de manière peu intensive pour les préparations non cytotoxiques. La hotte n° 3 est une hotte de type A sans recirculation externe et inclut une pompe de remplissage de type Automix<sup>MD</sup> de Baxter. Sa situation, devant la porte d'entrée de la salle, ainsi que la présence d'une pompe altèrent sans doute le flux d'air laminaire. Pour ce qui est des résultats de culture, on note, dans la majorité des cas, l'absence de croissance. Lorsque la croissance est observée, on note la présence d'une ou d'un maximum de deux colonies, notamment de *bacillus sp.*, *penicillium sp.*, *staphylococcus coagulase* négative et de champignons.

Les manipulations requises au Département de pharmacie pour suivre le protocole de validation microbiologique sont effectuées par les assistants techniques séniors en pharmacie formés au secteur d'hémo-oncologie. On estime que la procédure requiert habituellement un temps total de 30 à 40 minutes pour l'équipe technique à la pharmacie (c.-à-d. déplacement pour l'obtention des géloses –

10-15 minutes, manipulations à l'introduction des géloses dans les trois enceintes – 10 minutes, manipulations à la sortie des géloses de l'enceinte, déplacement pour la remise des géloses – 10-15 minutes de travail administratif : étiquette, feuille de demande etc.). Le temps requis au laboratoire de microbiologie n'est pas inclus dans cette évaluation mais demeure marginal, compte tenu du nombre total de géloses manipulées (c.-à-d. six géloses/semaine).

Peu d'études ont été publiées sur la validation microbiologique en pharmacie hospitalière en Amérique du Nord. Cette étude démontre la faisabilité de la mise en place d'un protocole de validation microbiologique en établissement de santé. Les deux études de validation microbiologique réalisées précédemment ont contribué significativement à la réalisation de plusieurs changements effectués ou en voie de l'être. Jusqu'à maintenant, une mise à jour des politiques et des procédures d'entretien ménager a été effectuée (c.-à-d. entretien quotidien avec signatures sur feuille de contrôle, entretien hebdomadaire incluant lavage plafond/mur/surfaces), on a procédé à une révision des

**Tableau III : Profil des résultats de validation microbiologique : présence ou absence de croissance de germes**

Semaines	Hotte no 1 (2 géloses)	Hotte no 2 (2 géloses)	Hotte no 3 (2 géloses)
Semaine 1	-	-	-
Semaine 2	-	-	-
Semaine 3	-	-	-
Semaine 4	-	-	-
Semaine 5	-	-	-
Semaine 6	-	-	-
Semaine 7	-	+	+
Semaine 8	-	-	-
Semaine 9	-	-	-
Semaine 10	+	-	-
Semaine 11	-	-	-
Semaine 12	-	-	-
Semaine 13	+	-	+
Semaine 14	+	-	-
Semaine 15	-	-	-
Semaine 16	-	-	-
Semaine 17	-	-	-
Semaine 18	-	-	-
Semaine 19	-	-	-
Semaine 20	-	-	-
Semaine 21	-	-	-
Semaine 22	-	-	-
Semaine 23	-	-	-
Semaine 24	+	+	-
Semaine 25	-	-	-
Semaine 26	-	+	+
Semaine 27	-	-	-
Semaine 28	+	+	+
Semaine 29	-	-	-
Semaine 30	-	-	-
Semaine 31	-	-	-
Semaine 32	-	-	-
Semaine 33	-	-	-
Semaine 34	-	-	-
Semaine 35	-	-	-
Semaine 36	-	-	-
Semaine 37	+	+	+
Semaine 38	+	-	-
Semaine 39	-	-	-
Semaine 40	-	-	-
Semaine 41	-	-	-
Semaine 42	-	-	-
Semaine 43	-	-	-
<b>Proportion de prélèvements positifs</b>	<b>7 / 86 (8,1 %)</b>	<b>5 / 86 (5,8 %)</b>	<b>5 / 86 (5,8 %)</b>

+ : croissance de germes; - : aucune croissance de germes observée

politiques et des procédures (incluant habillage strict, accès limité à la salle, réduction des sources de contamination à proximité de la hottes, etc.) et de la formation additionnelle a été offerte au personnel incluant projection de la vidéo de formation réalisée en collaboration avec l'Association des pharmaciens des établissements de santé du Québec. Les résultats obtenus montrent qu'en dépit d'un rehaussement du niveau de pratique et en limitant les sources de contamination, on observe un niveau de contamination moyen de 6,6 % à l'intérieur des trois enceintes, ce qui est comparable à nos deux études précédentes. De plus, on peut souligner que deux mesures sont effectuées dans chaque enceinte, l'une pour mesurer la croissance bactérienne et l'autre pour mesurer la croissance fongique. En prenant pour perspective d'analyse complémentaire le nombre de périodes de mesures où l'on a vérifié la contamination bactérienne ou fongique (c.-à-d. 129 périodes de mesures par sédimentation au lieu de 258 géloses exposées), on obtient un taux moyen de croissance de 13,2 % (c.-à-d. 17/129). Autrement dit, dans plus d'un cas sur 10, on a observé un prélèvement positif de type bactérien ou fongique dans les enceintes. À notre avis, plusieurs facteurs expliquent cette croissance : la salle propre est partiellement conforme, en dépit d'une mise à jour partielle effectuée en 2000 (p. ex. il y a encore présence dans la salle de préparation de réfrigérateurs et d'ordinateurs et absence d'antichambre avec pression adéquate pour accéder à la salle de préparation), les enceintes ne sont pas optimales, ne comportant pas d'évacuation externe à 100 % selon les recommandations de NIOSH, les espaces et surfaces de travail sont limités compte tenu du personnel en place (p. ex. de 2 à 3 assistants techniques et de 1 à 2 pharmaciens) dans une pièce de moins de 30 m<sup>2</sup>. Il est intéressant de souligner qu'un bureau personnel est généralement de 9 à 10 m<sup>2</sup>, lequel ne contient pas tout l'équipement requis dans une salle de préparation. L'absence criante de normes en matière d'aménagement en pharmacie hospitalière nuit à la planification d'espaces adéquats au Québec.

En ce qui concerne le protocole, les géloses sont laissées en place pour une période de trois heures, ce qui correspond à la période minimale recommandée pour obtenir une mesure adéquate du risque; un temps d'exposition plus prolongé peut assécher la gélose et limiter la croissance des agents ayant sédimenté. Bien que nous ayons considéré le recours à des géloses de type contact (p. ex. RODAC) comme dans les études précédentes, les coûts plus élevés d'achat et les temps plus longs de manipulation nous ont convaincus que la mesure par sédimentation est à tout le moins suffisante pour la pratique actuelle à Sainte-Justine. On ne note qu'une à deux colonies dans chacun des prélèvements positifs observés, ce qui indique une contamination limitée. Trois de ces colonies contenaient du *bacillus sp.* provenant possiblement de contamination par les emballages (p. ex. carton) ou par les particules déposées sur les souliers. Le *bacillus sp.* est un

saprophyte de l'environnement naturel. Il est présent dans les sols de toute nature et ses spores peuvent survivre n'importe où, notamment dans la nourriture. L'habillement strict exigé inclut le port de couvre-chaussures pour tout le personnel; ces couvre-chaussures sont toutefois portés dans la pharmacie satellite à l'extérieur de la salle propre pour des raisons pratiques et d'efficacité, ce qui augmente les risques d'introduire ce contaminant dans la pièce propre. Les bacillus produisent des spores qui résistent à l'alcool éthylique. Toutefois, le personnel de l'entretien ménager utilise des ammoniums quaternaires pour l'entretien des surfaces et du sol. Aucun sporicide n'est utilisé dans les enceintes dont l'entretien est confié au personnel technique plutôt qu'au personnel de la salubrité. La présence d'une colonie de *penicillium sp.* provient probablement de l'air ambiant. Il appartient aux contaminants les plus communs des laboratoires. La présence d'une colonie de *staphylococcus coagulase* négative provient probablement de la flore cutanée, puisque ce sont parmi les bactéries commensales les plus fréquentes. On ne peut éliminer une contamination humaine lors des manipulations en laboratoire. De plus, on note la présence d'*acromonium sp.*, de *rhodotorula m.*, de *verticillium sp.*, de *fusarium sp.*, d'*aspergillus sp.* et de *cladosporium sp.* Plusieurs de ces champignons se retrouvent à l'état naturel dans l'environnement, notamment dans l'air, dans le sol, sur des supports telles les céréales, les feuilles, l'eau. Compte tenu du nombre limité de colonies observées et d'observations ponctuelles non répétées de ces bactéries et champignons lors de prélèvements ultérieurs, on ne peut exclure des cas de contaminations externes lors de la réalisation du prélèvement et de la mise en culture. De plus, l'obtention de résultats positifs de culture a mené à un renforcement des mesures d'entretien.

En ce qui concerne le suivi fait à l'équipe, les résultats de culture obtenus chaque semaine sont diffusés à toute l'équipe d'hémo-oncologie, encourageant un resserrement des politiques et des procédures en cas de cultures positives. Bien que le niveau idéal visé de contamination microbienne soit de 0 CFU à l'intérieur des enceintes, on ne peut conclure que la présence de cultures positives est responsable d'infections nosocomiales chez les patients. La plupart des médicaments utilisés inhibent la croissance bactérienne ou fongique, compte tenu des propriétés physico-chimiques intrinsèques de la molécule. Aucune mesure de contamination n'est effectuée sur les produits finis, tous préparés de manière extemporanée de façon nominative. Ce protocole est maintenu de manière continue. Il sera éventuellement bonifié d'un décompte particulière dans la salle. Dans le cadre d'un projet d'agrandissement de notre établissement, nous procédons à la construction d'une nouvelle pharmacie satellite conforme comportant une superficie accrue (c.-à-d. environ 100 % de plus que la pharmacie satellite actuelle – 120 m<sup>2</sup>), des pièces strictement attribuées à des fonctions spécifiques

(c.-à-d. salle blanche, antichambre pour le transfert et l'habillage, salle de saisie, salle d'entreposage en deux sections distinctes (recherche et non-recherche), salle de déballage, salle pour dispensation orale, salle pour rencontrer patients, salle pour bureaux pharmaciens.

## Conclusion

Les normes de pratique en ce qui concerne les préparations stériles en établissement de santé ont connu une mise à jour importante. Au Québec, peu d'établissements de santé ont un protocole de validation microbiologique en pharmacie. Cette étude illustre l'implantation d'un protocole dans un centre hospitalier tertiaire dans le secteur de l'hémo-oncologie.

Pour toute correspondance :  
Jean-François Bussières  
Département de pharmacie  
CHU Sainte-Justine  
3175, chemin de la Côte Sainte-Catherine  
Montréal (Québec) H3T 1C5  
Téléphone : (514) 345-4603  
Télécopieur : (514) 345-4820  
Courriel : bussiere@aei.ca

## Abstract

**Objective:** Sterile product preparation in healthcare establishments has been the focus of important changes, these in response to the publication of new practice guidelines in North America. The purpose of this article is to describe the implementation of a pharmacy protocol for microbiological validation in haematology-oncology in a tertiary care hospital.

**Methods:** At the Sainte-Justine mère-enfant university health center, two microbiological validation studies were conducted to assess the degree of contamination found in the preparation areas. The study describes the protocol and the results after 43 weeks of application.

**Results:** An average rate of microbiological growth of 6.6% was observed. Of the identified organisms, bacillus species colonies were observed three times while penicillium species and staphylococcus coagulase negative colonies were observed once, as well as filamentous mushroom.

**Conclusion:** Few studies have been published on microbiological validation in North American hospital pharmacies. This study demonstrates the feasibility of implementing a protocol for microbiological validation in healthcare establishments.

**Key Words:** sterile products, microbiological validation, quality control

## Références

1. Morris AM, Schneider PH, Pedersen CA, Mirtallo JM. National Survey of quality assurance activities for pharmacy-compounded sterile preparations. *Am J Health Syst Pharm* 2003;60:2567-76.
2. American Society of Health-System Pharmacists. Guidelines on quality assurance for pharmacy-prepared sterile products. *Am J Health Syst Pharm* 2000;57:1150-69.
3. Mckerrow R, Bussièrès JF, Hall K, Salman B, Lefebvre P, Roberts N et coll. Rapport canadien sur les pharmacies hospitalières 2003-2004. [http://www.lillyhospitalsurvey.ca/hpc2/content/rep\\_2004\\_tocF.asp](http://www.lillyhospitalsurvey.ca/hpc2/content/rep_2004_tocF.asp) (site visité le 21 juillet 2005).
4. Bussièrès JF, Lefebvre P. Perspective 2003-2004 sur la pharmacie hospitalière au Québec et au Canada. *Pharmactuel* 2005;38(dossier:1):1-22.
5. USP – Sterile preparations - Chapter 797 - United States pharmacopeia, 27th ed. Rev. and the National Formulary, 22nd ed. Rockville, MD : The United States Pharmacopeia Convention; 2004:2350-70. <http://www.usp.org/products/USPNF/> (site visité le 7 septembre 2005).
6. American Society of Health System Pharmacists. Summary and implementation of USP Chapter <797>. <http://www.ashp.org/SterileCpd/797guide.pdf> (site visité le 19 juillet 2005).
7. Center for Disease Control. Preventing occupational exposure to antineoplastic and other hazardous drugs in health care settings. NIOSH ALERT. September 2004. <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2004-165/> (site visité le 6 septembre 2005).
8. American Society of Health System Pharmacist. Compounding resource center. <http://www.ashp.org/SterileCpd/> (site visité le 19 juillet 2005).
9. Ordre des pharmaciens du Québec. Norme 95.01. Informations professionnelles no 75. Juillet 1995. [http://www.opq.org/fr/normes\\_guides/pdf/Francais/074.pdf](http://www.opq.org/fr/normes_guides/pdf/Francais/074.pdf) (site visité le 6 septembre 2005).
10. Kastango ES, Bradshaw BD. USP chapter 797: Establishing a practice standard for compounding sterile preparations in pharmacy. *Am J Health Syst Pharm* 2004;61:1928-38.
11. Kastango ES, Douglass K. Quality assurance for sterile products. *Int J Pharm Compd* 2001;5:246-53.
12. Kastango ES. Blueprint for implementing USP chapter 797 for compounding sterile preparations. *Am J Health Syst Pharm* 2005;62:1271-88.
13. Trissel LA, Gentempo JA, Anderson RW, Lajeunesse JD. Using a medium-fill simulation to evaluate the microbial contamination rate for USP medium-risk-level compounding. *Am J Health Syst Pharm* 2005;62:285-8.
14. Gouvernement du Canada. Loi sur les aliments et drogues, L.R. 1985, ch. F-27, et Règlement sur les aliments et drogues, C.R.C., ch. 870.
15. Bussièrès JF, Prot S. Perspective sur les préparations magistrales en pharmacie au Québec. *Pharmactuel* 2004;37(1-dossier):4-15.
16. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. Bonnes pratiques de préparations hospitalières françaises (BPPRH). Document de consultation. Juillet 2002.
17. Landry C, Bussièrès JF, Lebel P, Forest JM, Hildgen P, Laferrière C. Factors affecting the sterility of work areas in barrier isolators and a biological safety cabinets. *Am J Health Syst Pharm* 2001;58:1009-14.
18. Bussièrès JF, Forest JM. Comparative microbiological study of biological safety cabinets and barriers isolators in a pharmacy department. 2002 Midyear Clinical Meeting, Atlanta, GA, USA. <http://www.ashp.org/SterileCpd/education2.cfm> (site visité le 20 juillet 2005).
19. Murray P, Baron JE, Pfaller MA, Tenover C, Tenover RH. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington: American Society for Microbiology Press, 1999. 1773 p.

## Remerciements

Nous tenons à remercier D<sup>re</sup> Céline Laferrière, microbiologiste, Marie Vachon, responsable du secteur de bactériologie, et Carole Scrivo, technicienne du laboratoire de bactériologie pour leur expertise et leur collaboration dans la mise en place de ce protocole.

## FORMATION CONTINUE



### **28 et 29 septembre 2006 — Les préparations magistrales stériles et non stériles. Sommes-nous ISO? Séminaire administratif de l'A.P.E.S.**

- Lieu : Hôtel Gouverneur, Shawinigan
- Renseignements : A.P.E.S., tél. : (514) 286-0776
- Programme : [www.apesquebec.org/formation](http://www.apesquebec.org/formation)



### **12, 19 et 26 octobre 2006 — La prévention des erreurs médicamenteuses**

- Lieu : 12 octobre à Montréal, 19 octobre à Québec et 26 octobre à Saguenay
- Renseignements : A.P.E.S., tél. : (514) 286-0776
- Programme : [www.apesquebec.org/formation](http://www.apesquebec.org/formation)



### **20 octobre 2006 — Journée Infectiologie**

- Lieu : Hôtel Gouverneur, Sainte-Foy
- Renseignements : A.P.E.S., tél. : (514) 286-0776
- Programme : [www.apesquebec.org/formation](http://www.apesquebec.org/formation)



### **1<sup>er</sup> et 8 novembre 2006 — Soirées Soins intensifs**

- Lieu : 1<sup>er</sup> novembre, Montréal, 8 novembre, Québec
- Renseignements : A.P.E.S., tél. : (514) 286-0776
- Programme : [www.apesquebec.org/formation](http://www.apesquebec.org/formation)



### **23 et 24 novembre 2006 — Journées Oncologie/Soins palliatifs**

- Lieu : Trois-Rivières
- Renseignements : A.P.E.S., tél. : (514) 286-0776
- Programme : [www.apesquebec.org/formation](http://www.apesquebec.org/formation)