

CONTEXTE : Les 2 principaux risques lors de la reconstitution des cytotoxiques sont le risque toxique pour le manipulateur et le risque de contamination bactériologique du produit fini. Le premier risque ayant déjà été validé antérieurement, notre travail a porté sur le deuxième risque.

OBJECTIF : Validation microbiologique de notre procédé de fabrication des PAI grâce à un kit de validation

METHODE :

1)

Analyse des PAI fabriquées en 2013 afin d'identifier les principales « manipulation-type » (MT) selon :

- le type de flacon (prêt à l'emploi ou poudre à diluer pour injection),
 - le nombre d'étapes,
 - le type de dispositifs médicaux stériles utilisés (seringues, prise d'air... etc.).
- Total de 8 MT

Réalisation des 6 principales MT par 3 opérateurs pour un total de 60 préparations grâce au kit de validation **KLERKIT**[®] (cf photo) à base de milieu de culture Tryptone Soja (TSB).

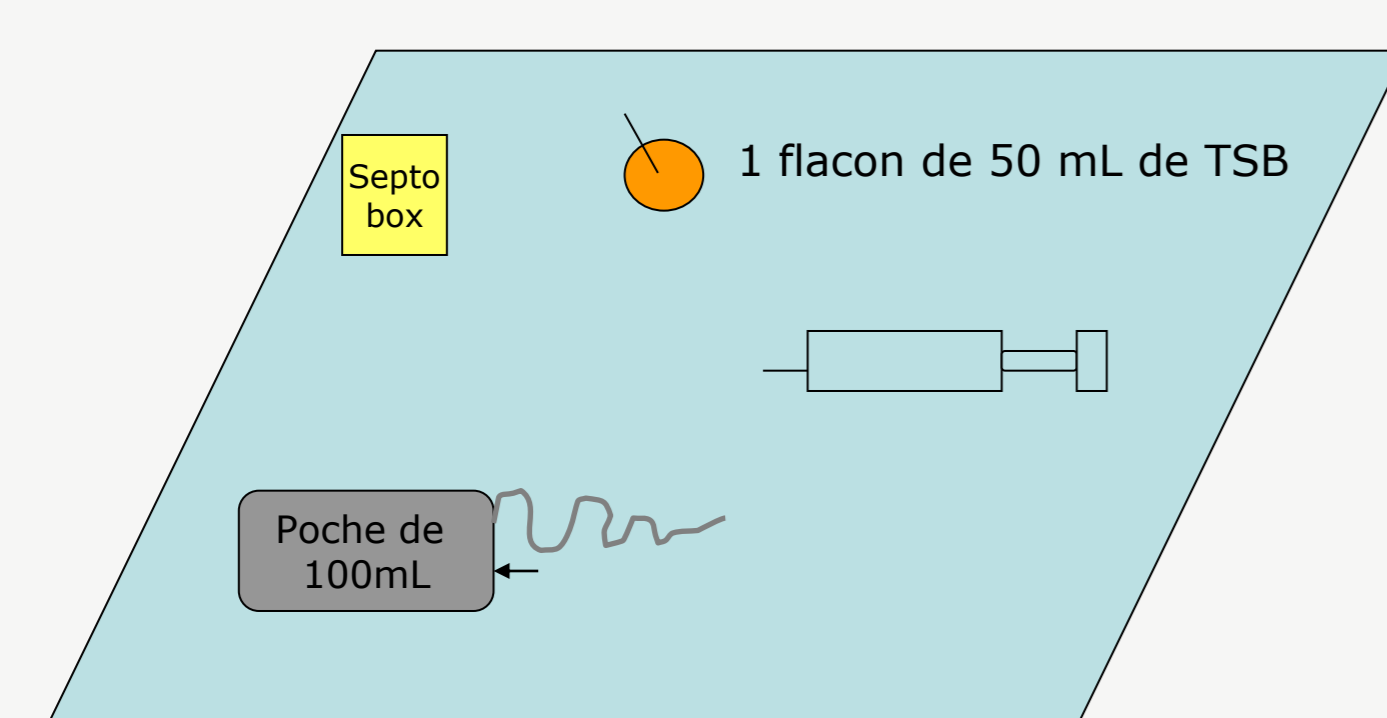


Un témoin positif (contamination de la poche avec un inoculum d'*E.Coli*) et un témoin négatif (poche de TSB stérile) ont été réalisés pour chaque MT.

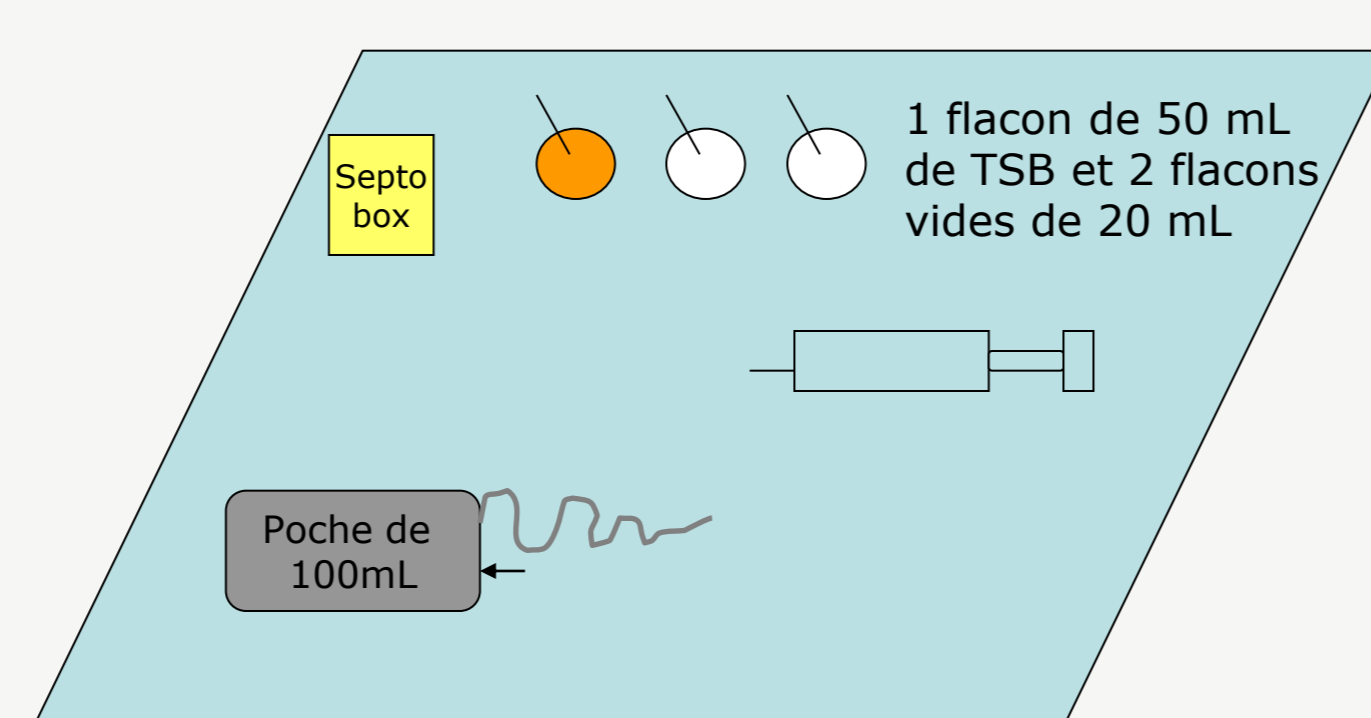
Les MT ont été effectuées dans les **conditions usuelles de fabrication** sous hotte à flux laminaire verticale et sont illustréesci-dessous (seules 2 MT sont détaillées). Le but était de **simuler** la fabrication en vie réelle (en se plaçant toujours dans le "worst-case" : considérant le plus grand nombre d'étapes).

2)

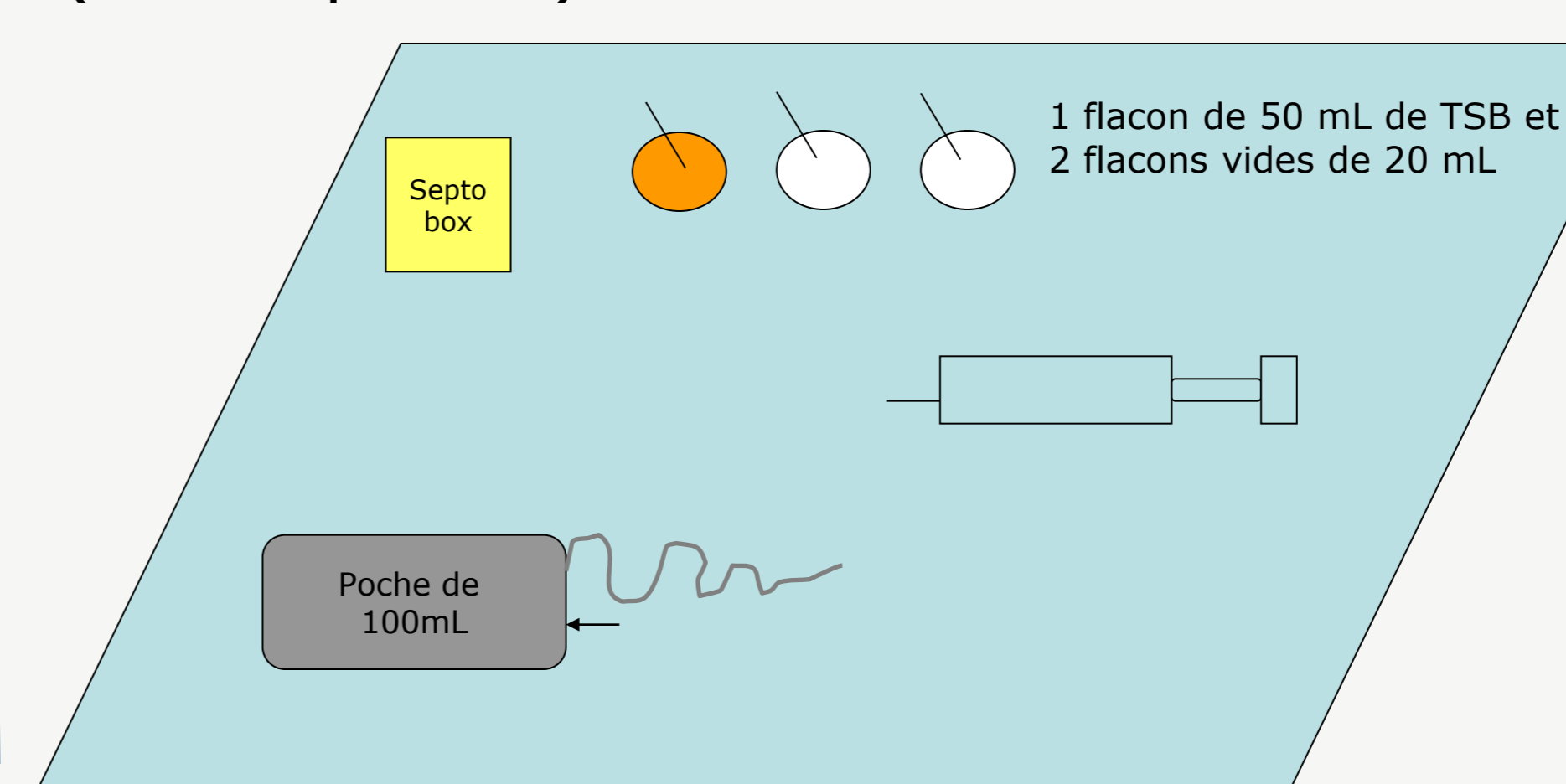
a) 1 seul flacon prêt à l'emploi (ex: 5FU, Bevacizumab)



b) 3 flacons prêt à l'emploi et petits volumes à ajouter dans la poche (ex: Oxaliplatine)

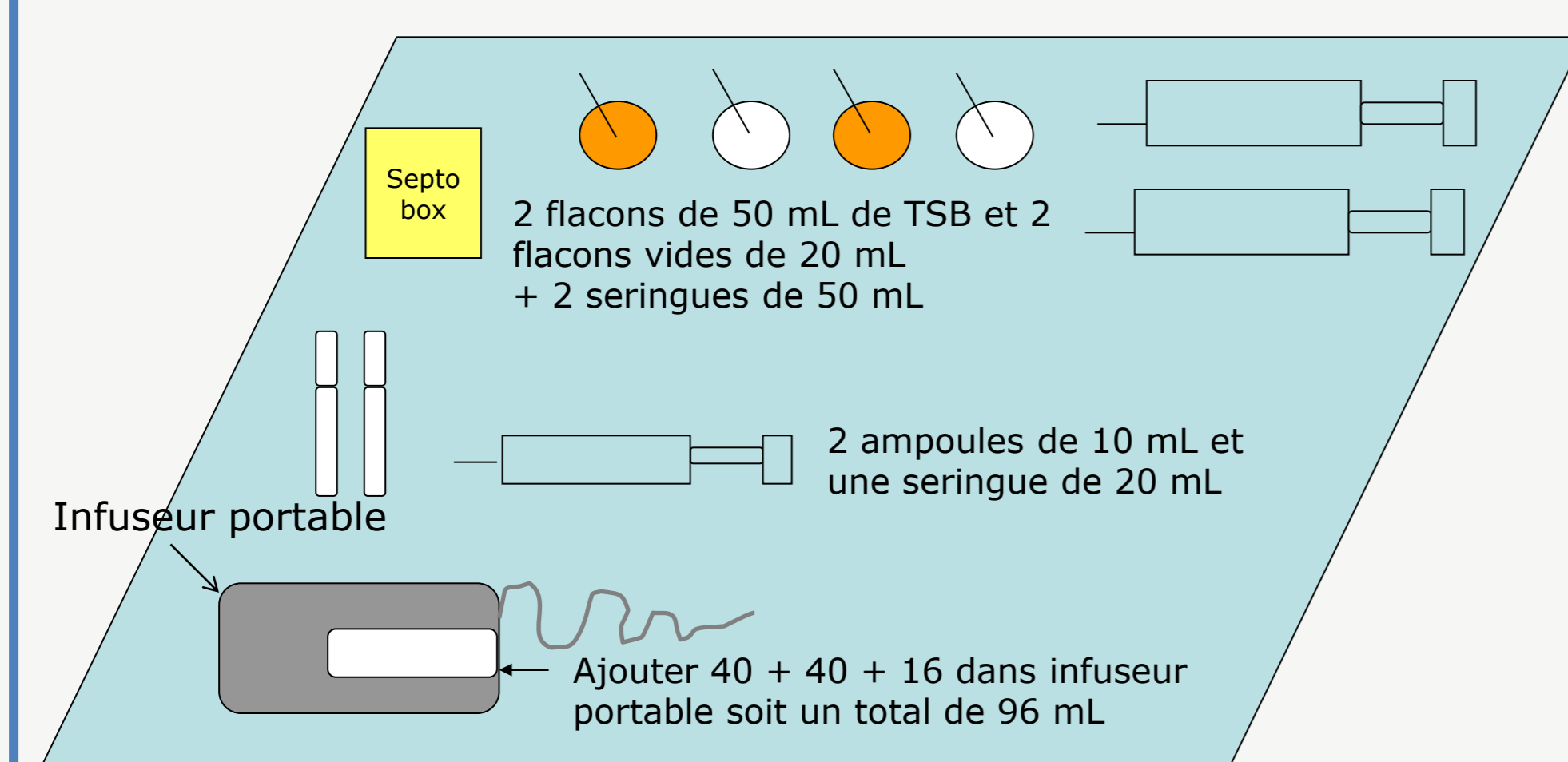


c) 3 flacons prêt à l'emploi et gros volumes à ajouter dans la poche (ex: Cisplatine)



-Retirer de la poche le volume de TSB équivalent à ce qui sera ajouter ensuite soit 3x mL,
-Prélever avec une seringue x mL de chaque flacon,
-Puis ajouter 3x mL dans la poche.

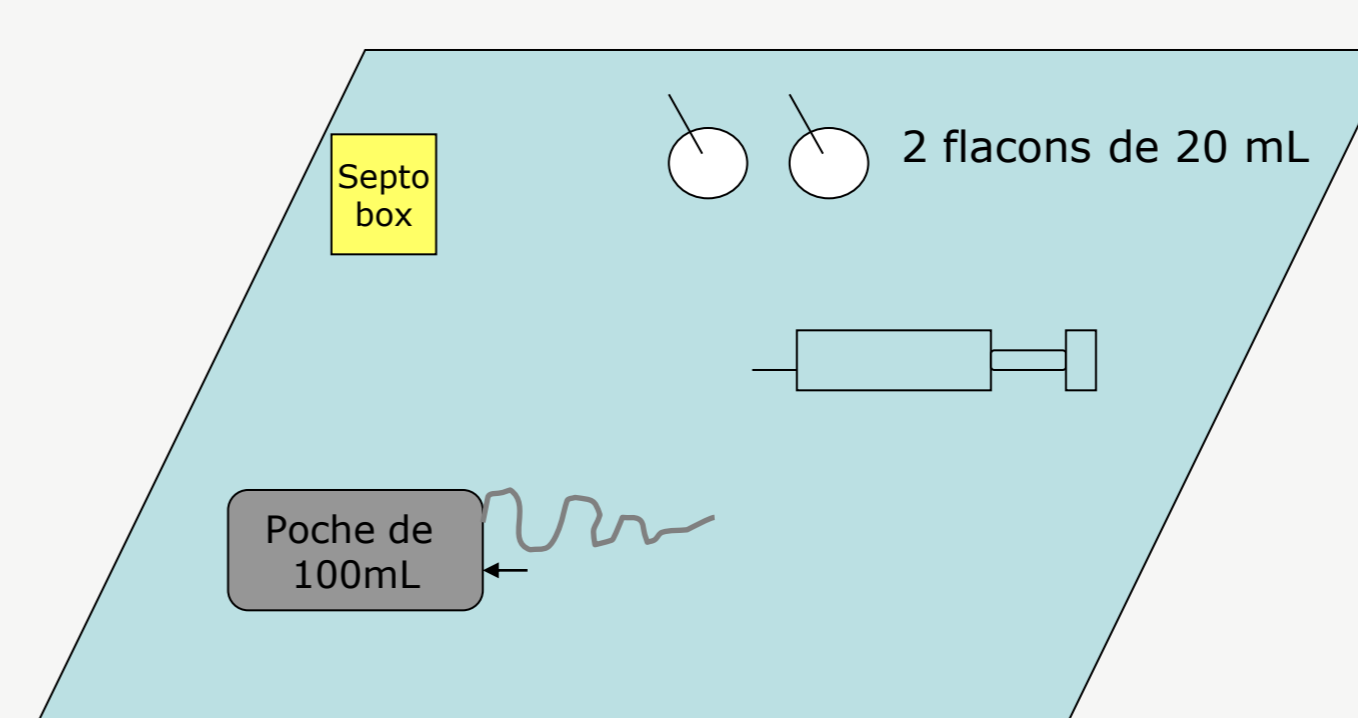
d) Infuseur portable sur 2 jours de 5-Fluoro Uracile (5FU)



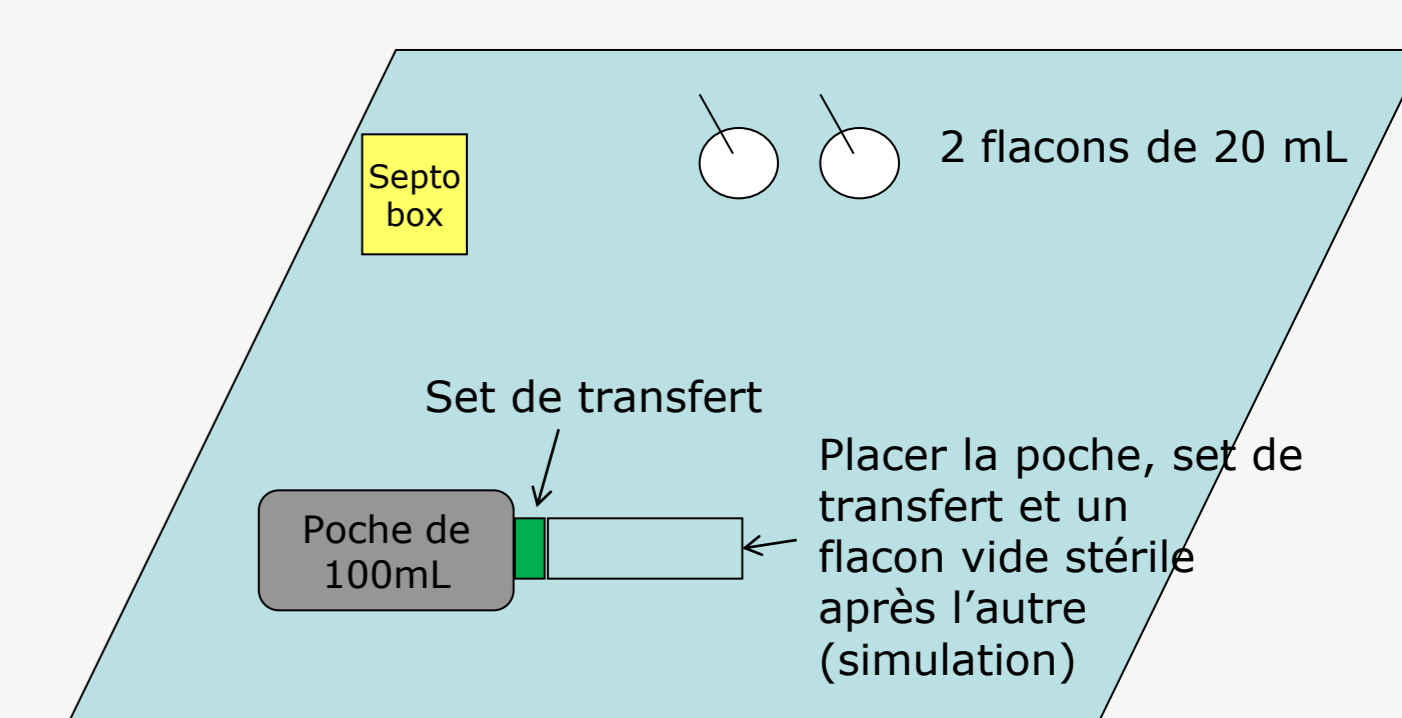
-Prélever 40 mL du 1^{er} flacon plein de 50 mL avec une seringue.
-Puis, ajouter 10 mL de cette seringue dans le 1^{er} flacon vide de 20 mL et reprélever le tout (simulation d'avoir un 2^{ème} flacon prêt à l'emploi) = 1^{ère} seringue est prête.

- Procéder de la même façon avec la 2^{ème} seringue et les 2 autres flacons restants.
- Prélever 16 mL avec une seringue de 20 mL à partir des 2 ampoules de 10 mL (simulation de 2 ampoules de NaCl) = la 3^{ème} seringue est prête.
- Ajouter le volume de chacune de ces 3 seringues dans l'infuseur portable.

e) Flacons de poudre à diluer pour injection sans set de transfert (ex: Pemetrexed)



f) Flacons de poudre à diluer pour injection avec set de transfert (ex: Folate)

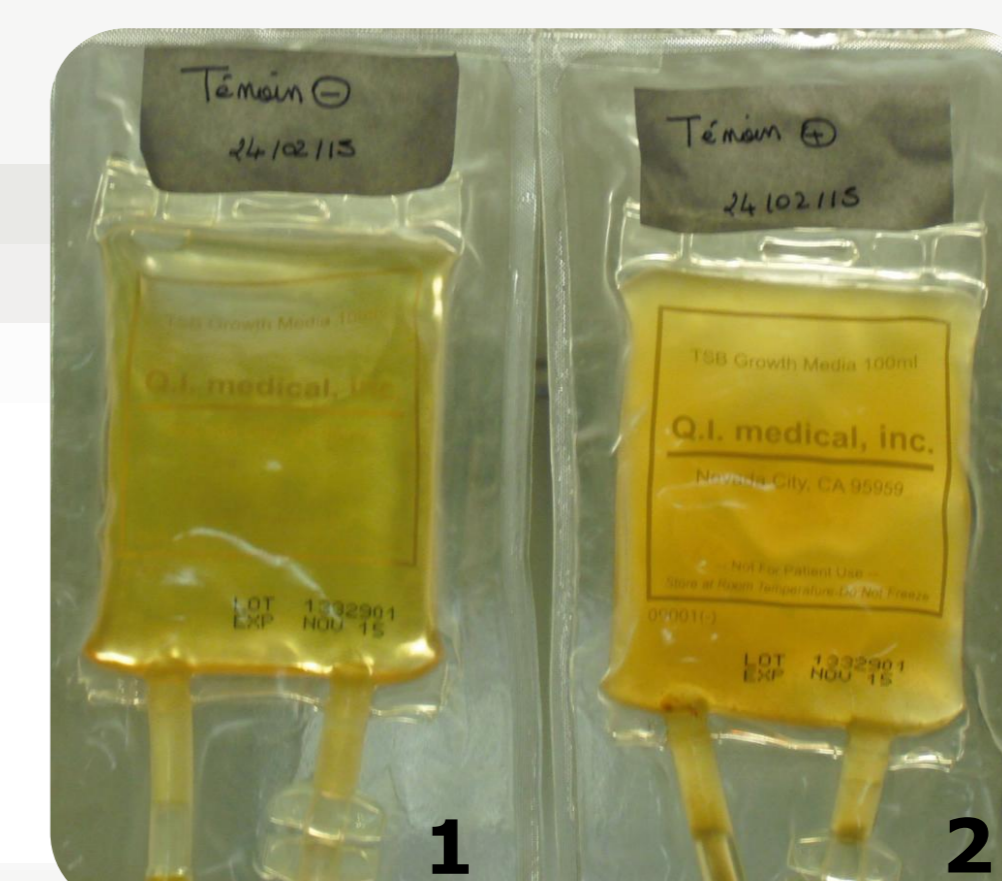


Légende : ● flacon de 50 mL de TSB ○ flacon stérile vide de 20 mL
□ hotte à flux laminaire verticale ▮ ampoule stérile

3)

Incubation des produits finis pendant 72h à 36° C puis 11 jours à 22.5° C. Un **contrôle visuel** était réalisé **une fois par jour** : si une turbidité dans le milieu de culture était observée = contamination. Une identification du germe était réalisée pour chaque résultat positif.

RESULTATS : Pour ces 60 préparations (représentant 97% des PAI réalisées en 2013), aucune contamination n'a été observée.



1 Echantillon témoin négatif
2 Echantillon témoin positif
3 Echantillon

CONCLUSION : Ce test permet une validation microbiologique à posteriori de notre procédé de fabrication pour les MT testées. Cependant, le **coût élevé** du kit rend son utilisation en routine impossible. Il semble plus pertinent de tester régulièrement (1 ou 2 fois/an) les manipulateurs sur une préparation réalisée en utilisant ce kit.