

Maîtrise Universitaire en Pharmacie

Travail de Diplôme

Contamination externe des flacons de cytotoxiques : étude de la propagation dans une unité de fabrication hospitalière et identification de mesures correctives

présenté à la

Faculté des sciences de
l'Université de Genève

par

Sébastien Mosset

Responsable

Prof. André Pannatier

Superviseurs

Dr. Grégory Podilsky
Dr. Markoulina Berger
Stéphanie Maier

Genève
2009

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier très chaleureusement le Docteur Grégory Podilsky, Pharmacien responsable de l'Unité de Fabrication Cytotoxique, pour sa supervision active, son investissement, sa disponibilité, son soutien, sa relecture attentive, ses précieux conseils et sa sympathie qui ont fait de ce travail une expérience des plus enrichissantes et des plus agréables. Je remercie également Stéphanie Maier, Pharmacienne responsable des Préparations des Nutritions Parentérales pour son investissement, sa supervision, son intérêt et son regard critique toujours pertinent.

Je souhaite remercier sincèrement le Docteur Markoulina Berger, Pharmacienne responsable du Contrôle Qualité pour son aide précieuse pour la partie validation et la mise à disposition des locaux et du matériel nécessaire à cette étude.

Je souhaite remercier sincèrement le Professeur André Pannatier, Pharmacien-Chef du Service de Pharmacie pour la confiance qui m'a accordée et pour l'intérêt qu'il a témoigné tout au long de ce travail.

Je souhaite spécialement remercier toute l'équipe des préparatrices de l'unité de fabrication de la pharmacie du CHUV qui ont participé aux simulations, en particulier Tiffany Montandon, Stéphanie Guignet, Lynda Gassouma, Cindy Cosenza et Stéphanie Montandon, pour leur accueil chaleureux, leur collaboration, leurs commentaires ainsi que pour les heures supp. "chocolat" consenties pour cette étude.

Je remercie cordialement Jean-Christophe Devaud, Pharmacien étudiant en DESS pour ses conseils, son aide et son expérience, ainsi que Stéphanie Berthouzoz, Pharmacienne étudiante en DESS pour son intérêt et sa collaboration. Merci à eux-deux ainsi qu'à la bande du bureau 516 pour leur sympathique compagnie et leurs petits conseils prodigués tout au long de ce travail.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire de Contrôle Qualité pour son accueil cordial et ses coups de pouce ponctuels.

J'adresse également mes remerciements au Docteur Marc Voeffrey, Pharmacien responsable de la Fabrication pour son assistance "documentaire" et pour l'intérêt qu'il a témoigné pour ce travail.

J'aimerais remercier messieurs Althaus et Sahingoz du Service Technique pour la rapidité et la qualité avec laquelle ils ont pu répondre aux problèmes matériels qui leur ont été soumis.

Merci à ma camarade de volée Jennifer Gygli pour sa compagnie et les échanges de bons procédés de dernière minute.

Merci encore à tous les collaborateurs de la pharmacie du CHUV pour l'excellente ambiance de travail.

Je remercie également mon amie Patricia pour les heures consacrées à la relecture de ce travail et à l'écoute des récits du déroulement de cette étude.

Je souhaite pour terminer remercier ma famille pour son soutien tout au long de mes études et durant ce travail de diplôme et sans laquelle je ne serais peut-être pas là où j'en suis aujourd'hui.

Table des matières

Définitions et abréviations	2
Résumé.....	4
1. Introduction.....	5
1.1. Risque cytotoxique pour les préparateurs	5
1.2. Contamination cytotoxique	5
1.3. Description du processus de fabrication à la pharmacie du CHUV	6
1.3.1. Opérations hors des locaux de fabrication.....	6
1.3.2. Habillement.....	6
1.3.3. Opérations dans les locaux de fabrication (ZAC).....	7
1.3.3.1. Avant le travail dans le cytoebox	7
1.3.3.2. Dans l'enceinte du cytoebox	7
1.3.3.3. Après le travail dans le cytoebox	7
2. Objectifs du travail	8
3. 1^{ère} partie : Etat des lieux	8
3.1. Matériel et méthode	8
3.1.1. Cadre de l'étude	8
3.1.2. Choix de la méthode	8
3.1.3. Traceur.....	9
3.1.4. Simulations	9
3.1.4.1. Contamination	9
3.1.4.2. Protocole de simulation	10
3.1.4.3. Protocole Media Fill.....	10
3.1.5. Analyse qualitative	11
3.1.6. Analyse quantitative	11
3.1.6.1. Matériel	11
3.1.6.2. Technique de quantification	12
3.2. Résultats.....	14
3.2.1. Blanc.....	14
3.2.2. Media Fill.....	14
3.2.3. Simulations Type A – Type B	16
3.3. Discussion	19
3.3.1. Contamination.....	19
3.3.2. Méthode.....	21
4. 2^e partie : Mesures correctives	22
4.1. Identification des mesures correctives	22
4.1.1. Matériel et méthode d'analyse.....	22
4.1.2. Protocoles.....	22
4.1.3. Résultats.....	23
4.1.4. Discussion.....	27
4.2. Validation de l'efficacité des mesures	29
4.2.1. Matériel et méthode d'analyse.....	29
4.2.2. Protocole.....	29
4.2.3. Résultats.....	30
4.2.4. Discussion.....	32
5. Conclusion et perspectives	35
5.1. Etat des lieux	35
5.2. Mesures correctives.....	35
5.3. Méthode de fluorescence UV	36
5.4. Perspectives	36
6. Bibliographie.....	38
7. Annexes	40

Définitions et abréviations

Abréviations

CATO [®]	Computer Aided Therapy for Oncology (Cato Software Solutions, Vienne, Autriche) : système informatique permettant la gestion du processus de fabrication cytotoxique, intégrant notamment le contrôle <i>in process</i> de la préparation des chimiothérapies à l'aide d'une balance[1].
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CHUV	Centre Hospitalier Universitaire Vaudois
FASOL	FABrication de SOLution. Secteur de la fabrication de la pharmacie dédié à la fabrication des médicaments injectables. L'unité de fabrication des agents cytotoxiques en fait partie. Les locaux FASOL où il n'y a pas de fabrication sont en zone propre non classée (annexe I : Plan FASOL).
GC	Gas Chromatography
LC	Liquid Chromatography
MS	Mass Spectroscopy
N/A	Non Applicable
NQ	Non Quantifiable
PEQ	Pharmacie EQUIPement
PSB	Poste de Sécurité Biologique
SFSTP	Société Française des Sciences et Techniques Pharmaceutiques
SUVA	Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accidents
UV	Ultra-Violet
V/V	Volume/Volume
ZAC	Zone à Atmosphère Contrôlée

Définitions

Désinfectant :	Le désinfectant utilisé est du Solarsept® (Borer Chemie AG, Zuchwil, Suisse) dilué 1/3 avec de l'eau déminéralisée. Chaque fois que le terme "désinfectant" est utilisé, il se réfère à ce produit.
Cytobox :	Poste de sécurité biologique de classe A utilisé spécifiquement pour la préparation de chimiothérapie. Les deux installations à pression négative utilisées à la pharmacie sont nommées "PEQ010" et "PEQ011" d'après le code interne attribué au CHUV (annexe II : Plan des locaux de fabrication cytotoxiques, annexe III : Plan d'un cytobox).
Sites	Ce terme désigne ici exclusivement les points où une contamination s'est déposée.
Consommables	Ce terme désigne le matériel jetable nécessaire à la fabrication d'une chimiothérapie, y compris leur emballage (champs, seringues, tampons, etc...).
Equipement permanent	Il s'agit du matériel non jetable utilisé pour la fabrication de chimiothérapie (ciseaux, balances, bac, etc...).
Kit	Set préparé contenant différents consommables et médicaments rangés dans un bac fermé en vue d'une utilisation ultérieure.
Préparateurs/trices	Il s'agit du personnel réalisant les préparations de chimiothérapie. Autre terme employé : opérateurs.

Résumé

Plusieurs études récentes ont révélé la présence de cytotoxiques à la surface externe de flacons de médicaments anticancéreux livrés aux pharmacies d'hôpital. Dans la mesure où l'impact de cette contamination sur la santé du personnel travaillant dans une unité de reconstitution centralisée de cytotoxiques est inconnu, le principe de précaution doit être appliqué.

L'étude poursuivait un double objectif :

- 1) Evaluer la propagation de cette contamination dans les zones de fabrication à l'aide d'un traceur fluorescent.
- 2) Mettre en place et valider des mesures correctives simples afin de limiter la propagation de la contamination.

Pour évaluer la propagation, un traceur fluorescent sous UV, le tinopal CBS-X a été déposé par sprayage et séchage d'une solution alcoolique sur des flacons simulant des cytotoxiques. Ceux-ci ont été introduits dans le circuit de préparation et utilisés par les préparatrices de l'unité. Une fois les activités journalières terminées, les locaux ont été examinés sous lumière UV. Le matériel et les déchets de chaque essai ont été collectés et également observés sous UV. Après évaluation de la propagation, les mesures suivantes ont été prises :

- 1) Utilisation de lingettes imbibées de désinfectant en remplacement du sprayage.
- 2) Utilisation d'un bac à 2 compartiments dans le sas d'entrée, l'un pour les flacons de cytotoxiques et l'autre pour le reste du matériel et les autres produits.

L'efficacité des mesures a été testée et validée sur les mêmes préparations simulées par 5 préparateurs différents.

Dans les locaux, la contamination s'est propagée sur le sol, les tables de préparation, les claviers, souris et écrans d'ordinateur ainsi que sur le téléphone. Dans les postes de sécurité biologique (PSB), les sas d'entrée du matériel étaient contaminés, ainsi que le plan de travail et le petit matériel. Les gants latex à l'extérieur et à l'intérieurs des PSB étaient également contaminés. Les préparations de simulation montraient différents niveaux de contamination, ainsi que l'ensemble du matériel jetable et des déchets d'emballage. Après la mise en place des mesures, aucune contamination n'a été observée à l'extérieur des PSB ni dans les sas, ni sur aucune préparation finale. Seuls le petit matériel, les gants en latex et les déchets d'emballages ne sortant pas du PSB et destinés à l'incinération présentaient des traces, mais dans une proportion significativement plus faible qu'auparavant.

La principale étape de propagation de la contamination s'est révélée être la désinfection par sprayage du matériel et des flacons de médicaments avant l'entrée dans les sas des PSB. L'environnement à l'extérieur des PSB était contaminé par les gants imbibés de désinfectant dans lequel le traceur s'était dissous. A l'intérieur des PSB, le matériel de fabrication et des préparations finales était contaminé dans les bacs des sas d'entrée du matériel, au contact direct des flacons imbibé de désinfectant. La manipulation des objets avec des gants souillés a également contribué à la propagation, mais dans une moindre proportion.

Grâce à ces simulations, des mesures correctives simples ont permis de maîtriser la propagation de la contamination externe des flacons de cytotoxiques dans les locaux de fabrication.

1. Introduction

1.1. Risque cytotoxique pour les préparateurs

Depuis de nombreuses années, les agents cytotoxiques utilisés pour la préparation de chimiothérapies ont aux doses thérapeutiques un profil de toxicité bien documenté. Les préparateurs sont, après les patients, les personnes les plus exposées à ces agents. S'agissant d'une problématique délicate à gérer au niveau de la santé et de la sécurité au travail, la SUVA a édité une brochure de recommandations lors de l'emploi de produits cytotoxiques [2]. S'appuyant sur une revue de la littérature, ses auteurs mettent en évidence que lorsque les mesures de protection sont insuffisantes ou inexistantes, des effets génotoxiques et un risque sérieux lors de la grossesse sont observés. A l'inverse, des effets ne sont pas observés lorsque des PSB sont utilisés pour la préparation des chimiothérapies. Toujours selon eux, des études épidémiologiques menées sur des préparateurs en pharmacie n'ont pas montré d'augmentation significative de l'incidence de cas de cancer sur cette population si les mesures étaient correctement appliquées. Néanmoins, le nombre limité de ces études (3), ainsi que les tailles limitées de leur collectifs, mène à prendre cette observation avec précaution. Par ailleurs, aucune étude ne décrit les effets ni ne propose des valeurs "seuil" de toxicité quant à une exposition régulière à de la contamination cytotoxique résiduelle.

Les mesures de protection recommandées par la SUVA visent donc à protéger le personnel tant dans les unités de préparation que dans les unités de soins. Leur but est de garantir, en maintenant des niveaux d'exposition les plus bas possible, que les travailleurs ne courent aucun risque génotoxique, aucun risque accru de cancer et n'aient pas à craindre de maladies professionnelles aiguës ou chroniques. En l'absence de loi ou de règlement précis à ce sujet, ces recommandations sont l'outil de base pour encadrer les méthodes de travail en zone de fabrication cytotoxique.

1.2. Contamination cytotoxique

Malgré la mise en application de mesures de protection, différentes études ont montré qu'une contamination cytotoxique persistait dans les locaux de production, en particulier à l'extérieur des cytoebox [2-6]. Les points de contamination mis en évidence hors des PSB sont les sols, les tables, les sièges, les étagères de stockage des produits, les containers de transport et les chariots à matériel. En dehors des techniques de travail propres à chaque établissement, plusieurs auteurs s'accordent à dire qu'il existe une autre source de contamination que celle provenant du contenu des flacons pour expliquer ces observations [5,6].

La surface externe des flacons de produits originaux provenant directement de l'industrie pourrait constituer cette autre source. Plusieurs études font état de quantités variables d'agents cytotoxiques présentes sur l'extérieur des vials. Les quantités vont de 1 ng/vial à plus de 300 ng/vial selon le type d'agent et le mode de conditionnement, mais tous les emballages ne sont pas forcément contaminés [7,8]. Les industriels contactés affirment pour leur part que les procédés de remplissage sont étudiés de sorte à diminuer le plus possible

la contamination externe. Une partie d'entre eux a d'ailleurs mis en place des systèmes de nettoyage des flacons (annexe IV : Déclarations fabricants sur le nettoyage des flacons).

Cette source de contamination peut se révéler problématique dans le sens où les mesures préconisées par la SUVA ne l'intègrent pas dans ses recommandations. Compte-tenu des risques liés au travail sans protection et de l'incertitude quant aux seuils limites d'exposition répétée à ces agents cytotoxiques, le principe de précaution doit être appliqué au niveau de l'unité de fabrication. Pour y parvenir, il faut pour cela étudier la propagation de cette contamination.

1.3. Description du processus de fabrication à la pharmacie du CHUV

Cette étude s'est déroulée au sein de la sous-unité de production des médicaments cytotoxiques de la pharmacie du CHUV. Cette unité produit environ 10'000 chimiothérapies par années, ce qui fait une moyenne journalière d'environ 27 préparations. Idéalement, quatre préparatrices sont affectées à cette unité, soit trois dans la ZAC dont deux sur les cytoibox, la dernière les assistant, et une à l'extérieur de la zone pour préparer les kits de fabrication, gérer les prescriptions et planifier l'activité.

Afin de saisir tous les éléments concernant l'activité de routine évoqués dans ce travail, il est important de préciser quelques informations sur les pratiques habituelles en vigueur à la pharmacie du CHUV concernant la fabrication de cytotoxiques (annexe I : Plan FASOL, annexe II : Plan des locaux de fabrication cytotoxiques).

1.3.1. *Opérations hors des locaux de fabrication*

Lorsqu'une chimiothérapie est confirmée et validée dans le logiciel CATO[®], l'assistante imprime un protocole contenant toutes les informations nécessaires à la fabrication. Le kit est alors préparé. Les consommables requis sont pris des étagères de stockage et mis en vrac dans un bac plastique. Compte-tenu des informations récentes sur la contamination externe des flacons de cytotoxiques, les flacons de médicaments sont soit sortis de leur boîte par le bouchon avec une paire de gants en vinyle, soit sortis directement de leur boîte en carton dans le bac en plastique sans le toucher. Le protocole est posé par dessus et le bac est fermé par un couvercle en plastique. Il est ensuite désinfecté à l'aide d'une lingette imbibée de désinfectant et introduit dans la ZAC via un sas d'entrée matériel.

1.3.2. *Habillement*

L'habillement de protection pour se rendre dans le local de fabrication consiste en une tenue verte de bloc opératoire, des chaussettes d'usine jetables et des sabots. Lors de l'entrée dans le vestiaire de la salle de fabrication, une cagoule et un masque sont mis, puis les mains et les avant-bras sont lavés et désinfectés. Des gants en latex stériles puis une blouse jetable et enfin des surbottes jetables sont enfilés dans cet ordre précis. Le but de cette tenue est avant tout de protéger l'environnement contre toute contamination microbienne et particulière engendrée par le personnel, mais également de protéger le personnel contre le contact avec des produits cytostatiques [9].

1.3.3. *Opérations dans les locaux de fabrication (ZAC)*

1.3.3.1. *Avant le travail dans le cytoebox*

Le kit de fabrication est sorti du sas. Le protocole de fabrication est affiché au dessus de l'enceinte de travail, sur la paroi du cytoebox. L'ordinateur est allumé. Le matériel du kit, soit les seringues, les aiguille, etc. est sprayé au désinfectant au-dessus d'une poubelle de déchets spéciaux puis mis dans une corbeille en acier inoxydable, dans le sas "IN" du cytoebox. Les flexs stériles sont déballés directement dans le sas, sans sprayage, de même que les gants intérieurs en latex et le champ de travail stérile jetable. Les flacons de médicaments sont sprayés de la même manière que le matériel. Durant toutes ces opérations, le matériel est manipulé à pleine main, avec les gants de l'habillement de base. Le sas "IN" du cytoebox est alors fermé. Un champ stérile est placé dans le cytoebox "OUT". La préparatrice utilise le clavier et la souris pour lancer le programme CATO[®].

1.3.3.2. *Dans l'enceinte du cytoebox*

Les gants en latex sont enfilés par-dessus ceux du PSB. Le champ est déplié et la corbeille en inox du cytoebox contenant le matériel est posée sur le champ. Les flacons sont placés sur la champ. Le matériel est déposé et déballé du côté "OUT" du flux. Une partie des emballages est mis dans la corbeille en inox côté "IN", le reste jeté dans une petite poubelle située dans le cytoebox. La balance est allumée.

Toutes les opérations sont faites à pleine main, en manipulant tous les objets, à savoir : emballages, consommables (seringues, aiguilles), champ, conditionnement final (flex, tubulure, seringues). S'il y a suspicion de fuite de produit actif, le matériel contaminé (gants, champ, etc.) est immédiatement jeté. Le champ n'évite pas forcément le contact entre le matériel et le plan de travail, la zone protégée par le champ étant limitée et certains objets posés à l'extérieur. Les flacons de principe actifs vides sont mis dans le sac poubelle en plastique. Le produit final est mis dans le sas "OUT" du cytoebox. Une personne à l'extérieur le sort et le met sur la table d'emballage, elle-même recouverte de champs de protection.

Après le travail, les gants intérieurs en latex sont enlevés, tous les déchets sont mis dans un petit sac poubelle en plastique. Ce dernier est placé dans le sas "OUT" du cytoebox, sur le champ stérile, pour peu qu'il n'y ait plus le produit final. Les surfaces du cytoebox sont nettoyées à l'alcool 70% (V/V), à savoir le plan de travail en inox, les vitres, les manchons et les gants du PSB.

1.3.3.3. *Après le travail dans le cytoebox*

Avant le conditionnement, le produit final est posé sur un champ stérile sur la table d'emballage pour vérification. Les seringues sont emballées dans une première gaine, puis dans un emballage noir si le produit est sensible à la lumière, puis dans une seconde gaine. Les flex sont mis dans un emballage noir si besoin, puis dans une gaine finale. L'emballage noir est fermé avec du scotch, les gaines avec une thermo-scelleuse. Les étiquettes d'identification sont collées sur l'emballage primaire et sur la gaine extérieure. Le bac plastique du kit est occasionnellement nettoyé à l'aide d'une lingette imbibée et les produits finaux emballés y sont replacés. Le tout est placé dans le sas "OUT" de la ZAC.

2. Objectifs du travail

Considérant que la contamination des surfaces externes de flacons de cytotoxiques est un fait avéré, le but de ce travail est, dans un premier temps d'évaluer sa propagation au cours du processus de fabrication cytotoxique de la pharmacie du CHUV. L'étude qualitative et quantitative de sa propagation est réalisée au moyen d'un traceur déposé sur des flacons utilisés pour préparer des chimiothérapies.

Dans un second temps et suite à cet état des lieux, des mesures correctives simples seront mises en place afin de limiter cette contamination, et leur efficacité sera validée dans le cadre de l'activité quotidienne de l'unité de fabrication cytotoxique.

3. 1^{ère} partie : Etat des lieux

3.1. Matériel et méthode

3.1.1. *Cadre de l'étude*

L'observation de la propagation s'est focalisée sur le processus de fabrication dans la ZAC. Les étapes préliminaires telles que la réception lors de la livraison, le stockage dans l'unité de logistique ou la préparation des kits dans FASOL n'ont pas été abordés, de même que la livraison des préparations finales et leur administration par le personnel soignant.

3.1.2. *Choix de la méthode*

Sur la base de la littérature et des contraintes liées à l'organisation de l'unité, la méthode d'investigation se devait d'interférer le moins possible avec l'activité de routine de l'équipe. Elle devait par ailleurs permettre d'obtenir une image la plus exhaustive possible de la propagation de la contamination et pouvoir ainsi mettre en évidence l'efficacité des éventuelles mesures correctives. Elle se devait également d'être simple et rapide à mettre en œuvre afin de pouvoir collecter dans un délai raisonnable un échantillon suffisamment représentatif de la propagation.

Par ailleurs, l'information recherchée était prioritairement qualitative, à savoir où et comment la contamination se répandait. L'information quantitative était quant à elle secondaire ; le but était d'avoir un ordre de grandeur de la contamination présente sur les différents sites, et non une quantité exacte et précise. Il fallait également que la méthode puisse fournir des points de comparaison objectifs du niveau de contamination.

Au vu de ces différentes conditions, l'utilisation d'un traceur fluorescent révélé sous éclairage UV s'est imposée après quelques essais avec un traceur coloré (rouge carmin). Cette méthode a l'avantage d'être simple à mettre en œuvre, d'offrir de résultats visibles et de n'induire aucun biais dans les manipulations des préparatrices, car le traceur est précisément invisible à la lumière ambiante. Associée à l'imagerie numérique, elle permet également une analyse qualitative, certes moins sensible, précise et exacte qu'une méthode analytique conventionnelle (LC, MS, etc.), mais donnant toutefois des résultats acceptables par rapport aux objectifs souhaités [10]. Différents travaux ont fait appel à cette technique

depuis une vingtaine d'années et ont montré qu'elle était tout à fait valable dans le cadre d'études de contamination [11-16].

Ce type d'approche peu courant n'a apparemment jamais été employé dans un secteur de production hospitalière. S'agissant dès lors d'une étude pilote, les observations ont porté sur des simulations de préparations et non des préparations réelles. Ainsi, aucun patient n'a été impliqué directement ou indirectement dans cette étude. Il n'a donc pas été nécessaire de solliciter la commission d'éthique ni les services d'oncologie.

3.1.3. *Traceur*

Après plusieurs tests de différents traceurs fluorescents (quinine, riboflavine, fluorescéine, saccharine sodique), le traceur retenu est le Tinopal CBS-X ou Fluorescent Brightener 28 (CAS 4404-43-7, Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Allemagne). Ce composé appartenant à la classe des stilbènes fluorescents est largement répandu dans la vie de tous les jours, et ne présente pas de toxicité notoire [17]. Ces molécules sont utilisées dans l'industrie du papier et des textiles comme agent blanchissant. De plus, ce produit en particulier a été utilisé à plusieurs reprises dans différentes études faisant appel au type de méthode retenu [10-12]. Ses propriétés fluorescentes sont clairement décrites. Sa longueur d'onde d'excitation est de 365nm, soit un rayonnement de type UV A, le moins énergétique et le moins nocif. En solution ou sous forme humide, sa longueur d'onde d'émission est de 435nm, soit une coloration bleue. Sous forme de résidu sec, il émet dans le domaine jaune-vert de manière intense. Ce phénomène serait dû à un changement de conformation de la molécule selon le milieu dans lequel elle se trouve [10].

Ses caractéristiques physico-chimiques et son comportement contaminant ne représentent évidemment pas l'ensemble des produits cytotoxiques manipulés dans l'unité. En effet, on compte une soixantaine de principes actifs différents, ayant tous des propriétés physico-chimiques différentes. Il serait illusoire de vouloir reproduire le comportement de chaque spécialité, le but étant de tracer une contamination au sens large, et non de simuler la propagation d'un produit particulier (annexe V : Fiche technique Tinopal CBS-X).

3.1.4. *Simulations*

3.1.4.1. *Contamination*

Deux formes de chimiothérapies ont été simulées afin de servir de support à la contamination, à savoir une préparation d'une perfusion de cyclophosphamide et d'une seringue de vincristine. Le choix s'est porté sur ces deux chimiothérapies, car il s'agit de deux préparations parmi les plus exécutées par l'unité. De plus, l'une et l'autre font appel à des manipulations différentes couvrant de manière complémentaire les gestes réalisés par les préparatrices. La première a été nommée "Chimio Placebo A" et la seconde "Chimio Placebo B", ou plus simplement type A ou type B. La simulation de type A est la reconstitution d'une substance sèche suivie de sa dilution dans un flex pour perfusion. La simulation de type B est la dilution d'une forme liquide dans une seringue.

Les flacons en verre ont été contaminés par sprayage d'une solution alcoolique de Tinopal sur leur surface extérieure à l'aide d'un spray en verre pour révélateur CCM, puis mis dans un emballage carton et stockés sur les rayonnages de la zone de stockage. Ils étaient dépourvus d'étiquette dans le but d'éviter des interférences avec les agents blanchissants qu'ils contenaient.

La quantité de traceur déposée a été évaluée par spectrophotométrie UV à 355nm. Chaque fiole a été rincée avec environ 20ml d'éthanol. Le solvant a été évaporé par rotavapor R-200/205 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suisse). Le résidu a été reconstitué avec respectivement 12.0ml d'éthanol pour les fioles de type A et 4.0ml pour les fioles de type B. Les solutions obtenues ont été analysées à l'aide d'un spectrophotomètre UV/VIS Cary Bio 50 (Varian Australia Pty Ltd, Mulgrave, Australie). La quantité moyenne déterminée sur une fiole de la simulation A est de 234.59µg (CV 4%, n=3), et de 75.03µg (CV 6%, n=3) pour celles de la simulation B (annexe VI, Protocole de contamination, annexe VII : Quantification UV de la charge de Tinopal déposée).

3.1.4.2. *Protocole de simulation*

Les données des simulations de type A et B ont été introduites dans le logiciel d'assistance à la production CATO[®] afin d'être réalisées dans les mêmes conditions que les préparations réelles. Les préparatrices ont exécuté les simulations sur la base de protocole standard (annexe VIII: Exemples de protocole de simulation). Elles devaient lors de chaque essai enfiler à l'extérieur des cytoibox une deuxième paire de gants en latex par dessus la première. Cette seconde paire qui n'a alors servi qu'aux simulations a été recueillie. Les déchets issus des essais ont été triés selon s'ils provenaient de l'extérieur ou de l'intérieur du PSB. Les fioles originales de produits ont été recueillies séparément de sorte à éviter une contamination ultérieure. Un certain nombre de consignes ont été données afin d'isoler les essais des autres préparations de routine (annexe IX : Consignes générales).

De cette manière, un essai a pu être effectué chaque fois en fin de journée, à raison de deux simulations par essai : une par personne et par cytoibox. En fonction des interférences observées, notamment avec les étiquettes de certains flacons présents dans la salle, et afin de les minimiser, les deux protocoles de simulation ont été adaptés au fur et à mesure du déroulement des essais. Avant et après chaque essai, les équipements et les cytoibox ont subi un nettoyage complet identique à celui effectué à la fin de la journée.

Le choix des personnes et de simulations a été laissé aux préparatrices, selon leur organisation et l'activité du jour.

3.1.4.3. *Protocole Media Fill*

Un biais potentiel de l'exécution des simulations est que les préparatrices savent très bien qu'elle n'ont pas affaire à de vraies préparations de routine. A partir de là, leur manière de travailler peut se trouver modifiée. Pour évaluer ce phénomène, des simulations en aveugle ont été réalisées à l'aide d'un test Media-Fill. A l'origine, ce test a pour but de valider au niveau microbiologique la qualité du travail de l'opérateur. Il doit accomplir une série de manipulations en utilisant des flacons remplis d'un milieu de culture. Après l'essai, les fabrications réalisées sont mises en culture afin d'en valider la stérilité.

Les flacons de ce test ont servi de support au traceur car ils permettaient aux préparatrices de faire des préparations contaminées en aveugle sans que celles-ci soient destinées à un patient. Seule la partie qualitative de l'essai a été étudiée, car l'application des consignes particulières nécessaires à la collecte des déchets aurait révélé son véritable but.

Deux préparatrices ont chacune réalisé un test le même jour en fin d'après-midi. Chacune des séries de tests a été réalisée dans chacun des deux PSB. Ce test simule trois préparations différentes selon des instructions précises.

3.1.5. Analyse qualitative

La contamination a été observée dans les locaux vides, une fois les simulations terminées et les préparatrices sorties. Les lumières ont été éteintes et les traces de Tinopal ont été révélées à l'aide d'une lampe UV 350nm Universal TL-900V (Camag, Muttenz, Suisse). Une observation des locaux à blanc a été effectuée avant de commencer la série afin d'identifier les traces fluorescentes parasites et d'éviter les confusions. Par ailleurs, après chaque observation en fin de journée, toutes les traces observées ont été nettoyées.

La propagation de la contamination a été évaluée en recensant visuellement de manière exhaustive les sites présentant des dépôts de traceur. Vu la configuration des lieux et le déroulement des simulations, les sites ont été classés en trois groupes, à savoir les sites dans les locaux, à l'extérieur des PSB, les sites à l'intérieur du cytoibox PEQ010 et les sites à l'intérieur du cytoibox PEQ011. Au niveau des cytoibox, les sites ont été divisés en trois catégories : surface, matériel extérieur, et matériel intérieur (figure 1).

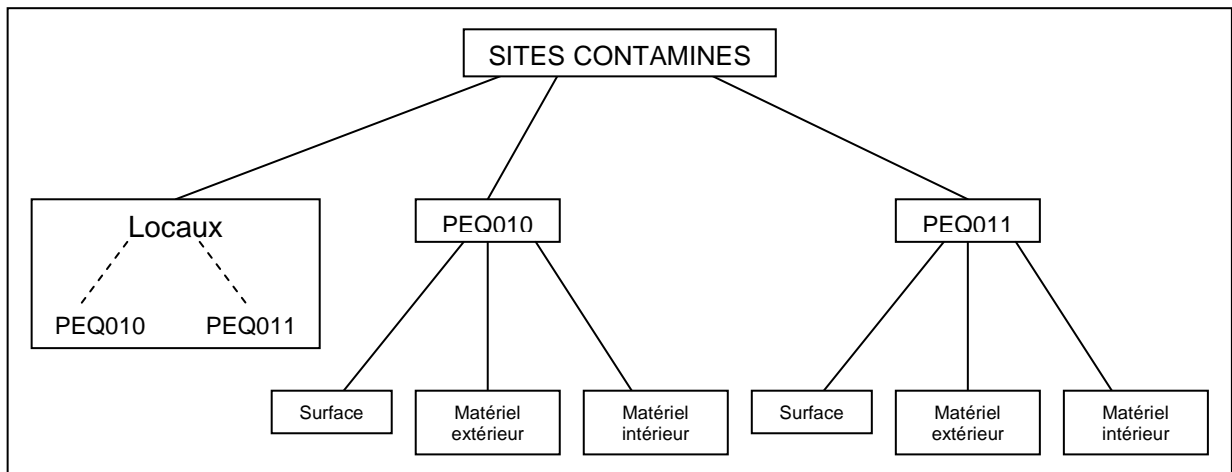


Figure 1 : Classification des différents sites contaminés

Chaque site ayant présenté un résidu de traceur au moins une fois a été recensé. Les sites pour lesquels aucune contamination n'a été observée n'ont pas été retenus, à l'exception de certaines zones où la contamination aurait pu raisonnablement être attendue.

Pour chaque site, la contamination a été notée *Observée* ou *Non Observée* selon qu'elle était présente ou non, indépendamment de son étendue ou de son intensité. La contamination a été reportée sur un plan des locaux afin de représenter plus clairement les résultats observés (annexe II : Plan des locaux de fabrication cytotoxiques).

3.1.6. Analyse quantitative

3.1.6.1. Matériel

La quantification des traces de Tinopal s'est faite par imagerie numérique et traitement informatique. Les traces observées ont été révélées à l'aide d'une lampe UV 350nm Universal TL-900V (Camag, Muttenz, Suisse). Sur le support de la lampe, un bras a été monté afin de fixer un appareil photographique numérique Nikon COOLPIX 885 (Nikon Corporation, Tokyo, Japon) utilisé pour la prise d'image (annexe X : Montage lampe-appareil photo). L'analyse informatique a été réalisée à l'aide du logiciel libre ImageJ (National Institutes of Health, USA)[18]. Les calculs ont été réalisés à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2003.

3.1.6.2. Technique de quantification

Le principe de la quantification repose sur le fait que la quantité de produit est corrélée à l'intensité de la fluorescence sous UV. La trace fluorescente à quantifier est placée sous la lampe UV dans un environnement sans lumière ambiante. Un filtre UV en polycarbonate est placé devant l'objectif car les capteurs de l'appareil sont sensibles aux longueurs d'onde UV. Cela permet d'éviter les interférences créées par la réflexion des rayons de la source sur l'objet mesuré [15]. Une image 8bit en noir et blanc (niveaux de gris), avec des réglages fixes de l'appareil est prise. Chaque pixel de l'image affiche un niveau de gris, sur une échelle de 0 (noir) à 255 (blanc). Plus le niveau de gris est élevé, plus l'intensité de la fluorescence est importante et plus la quantité de traceur est élevée [14] (annexe XI : Réglages photographiques).

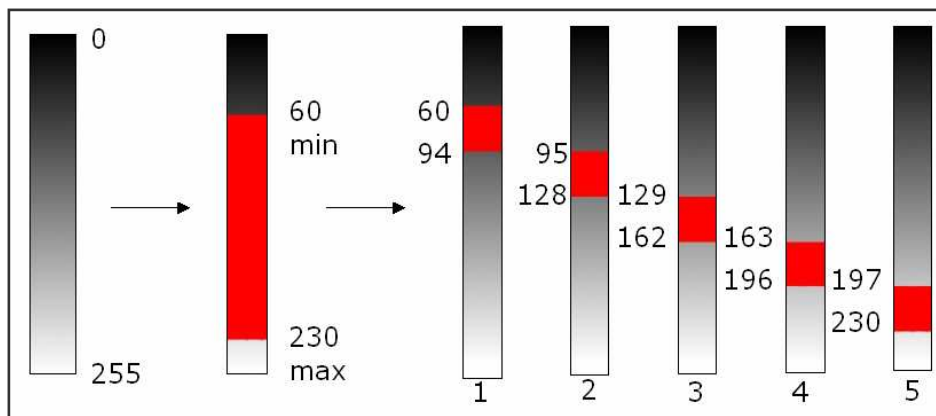


Figure 2 : Champ de quantification et groupes de niveaux de gris

La quantification à proprement parler se fait par une méthode de scoring inspirée des travaux d'Aragón et al. [11]. Le niveau de gris inférieur seuil, c'est-à-dire le niveau de gris où la fluorescence du traceur commence à se confondre avec le bruit de fond a été déterminé. Le niveau supérieur, c'est-à-dire celui qui correspond au plus clair pixel sur l'image a lui aussi été fixé. Cet intervalle est le champ de quantification. Il a ensuite été découpé en cinq intervalles de niveaux de gris, du plus faible au plus élevé comme le montre la figure 2.

A chacun des intervalles a été attribué un score. Sur une zone de l'image donnée, ImageJ permet de compter le nombre de pixel appartenant à chacun des groupes. En donnant un repère métrique, le logiciel peut convertir ce nombre en unité de surface, en l'occurrence des cm². La figure 3 montre un exemple de cette opération pour un spot fluorescent type.

Score	1	2	3	4	5	Total
Aire [cm ²]	0.014	0.025	0.259	0.063	0.004	0.365

Figure 3 : Exemple de mesure de surface selon le score

En multipliant chaque surface par le score de chaque intervalle, puis en divisant la somme par la surface totale mesurée, on obtient un score moyen de l'intensité de la fluorescence comme le montre la figure 4.

<u>Score total</u>		→	<u>Score final</u>	
0.014	* 1 = 0.014		$1.1130/0.365 = \mathbf{3.049}$	
0.025	* 2 = 0.050			
0.259	* 3 = 0.777			
0.063	* 4 = 0.252			
<u>0.004</u>	* 5 = <u>0.020</u>			
Total	1.1130			

Figure 4 : Exemple de calcul du score moyen

Ce score est une fonction logarithmique de la quantité de traceur par unité de surface, comme le montre la figure 5. Ce graphe a été obtenu en analysant trois séries de spots de quantité croissante obtenus par dépôt de 5 solutions alcooliques de Tinopal CBS-X de concentrations croissantes. Sur une surface en latex, des spots de 10µl de chaque solution ont été déposés côte à côte puis évaporés à l'aide d'un sèche-cheveux. Une image de chaque série en entier a été prise puis analysée par ImageJ.

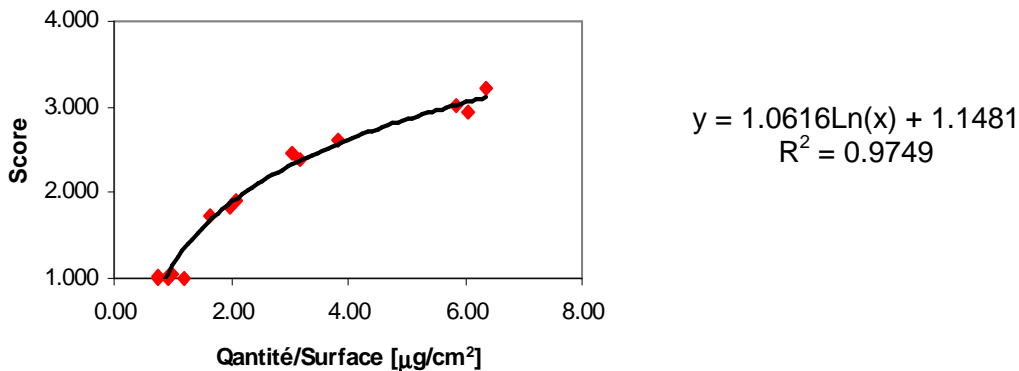


Figure 5 : Relation score – quantité par unité de surface sur latex

La réponse varie en fonction du type de surface sur lequel le traceur est déposé. La méthode a été validée à titre indicatif sur trois surfaces différentes, à savoir le latex, le plastique transparent (polypropylène) et le champ de travail, selon les recommandations de la Société Française de Science et Technique Pharmaceutique sur les protocoles expérimentaux [19]. Compte tenu de l'usage peu répandu de cette méthode d'analyse pharmaceutique, les critères de validation ont été fixés de manière arbitraire par rapport au niveau attendu de l'information obtenue (annexe XII : Validation de la méthode). Dans la ZAC étudiée, les différents types de surface présents ne se limitent pas aux trois retenus pour la validation. C'est pourquoi une comparaison visuelle et par imagerie numérique avec les types de surface a été établie pour définir celui auquel il se rapprochait le plus. De ce fait, si pour ces surfaces l'ordre de grandeur est respecté, un niveau d'exactitude élevé ne peut cependant être garanti pour tous les sites mesurés.

Les résultats quantitatifs obtenus lors des simulations sont issus de mesures uniques de la quantité de Tinopal de chaque trace observée. Les quantités de traceur sur certains objets tels que les emballages papier et les emballages plastique ont été additionnées pour donner un résultat global de la catégorie.

3.2. Résultats

3.2.1. Blanc

L'observation des locaux avant les essais a révélé quelques faibles traces fluorescentes sur les sites mentionnés dans le tableau 1. Ces interférences proviennent des différentes étiquettes que portent tous les types de flacons utilisés dans l'unité, tels que flacons d'alcool 70% (V/V), NaCl 0,9%, etc. Elles contiennent toutes des agents blanchissants qui sont plus ou moins solubles dans les solvants utilisés comme désinfectants.

Le tableau 1 indique les sites portant des traces fluorescentes avant le déroulement des simulations.

Tableau 1 : Sites présentant des traces fluorescentes dans les locaux à blanc

Sites
Clavier d'ordinateur PEQ010
Souris d'ordinateur PEQ010
Bac inox PEQ010
Tiroir sas IN PEQ010
Bac inox PEQ011
Tiroir sas IN PEQ011

3.2.2. Media Fill

Une des six préparations n'a pas été effectuée le soir-même mais le lendemain. La préparatrice n'avait pas eu le temps de la faire. Cette préparation n'a pas pu être prise en compte. Cela n'a pas porté à conséquence, la charge totale de traceur mise en jeu étant déjà passablement importante et les résultats attendus étant d'ordre qualitatif.

Le tableau 2 indique les sites où le traceur a été observé. Seuls les locaux ont été évalués. Les déchets sont absents des résultats car ils n'ont pas pu être récoltés, le secret de l'essai aurait alors été révélé.

Tableau 2 : Sites contaminés après l'essai Media-Fill

Sites	
Sol, pied du cytoibox PEQ010	Tiroir sas IN PEQ010
Sol, pied du cytoibox PEQ011	Tiroir sas IN PEQ011
Clavier d'ordinateur PEQ010	Téléphone
Souris d'ordinateur PEQ010	Plan de travail PEQ010
Ecran PEQ010	Bord intérieur PEQ010
Ecran PEQ011	Sac poubelle PEQ010
Bac inox PEQ010	Sac poubelle PEQ011
Bac inox PEQ011	Emballage de bouchon PEQ011

Pour une meilleure visualisation, la figure 6 montre au niveau des locaux de quelle manière la contamination se propageait.

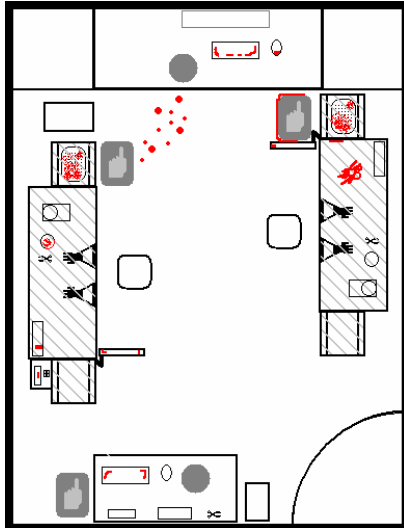


Figure 6 : Représentation de la contamination après l'essai Media-Fill

Plusieurs types de traces ont été observés que l'on peut répartir en quatre catégories. Ce sont les traces de gouttes, les traces de contact, les coulures et les imprégnations (annexe XIII : Types de traces). Toutes ont pour origine une propagation de la contamination par un vecteur liquide. Aucun transfert du traceur sous forme solide n'a été observé. Les traces de gouttes se sont majoritairement retrouvées sur le sol. Les traces de contact se sont retrouvées sur les objets manipulés par les préparatrices, à savoir les claviers, les souris, les écrans, les poubelles de travail dans les PSB et le téléphone. Les coulures se sont retrouvées dans les bacs et sur les tiroirs des sacs des cytoibox. Une coulure mal nettoyée a été observée sur le plan de travail du cytoibox PEQ010. Les traces d'imprégnation sont consécutives à la contamination d'objet de nature fibreuse par un liquide. La seule trace de ce type observée ici est un emballage papier d'un bouchon de seringue non utilisé, placé dans le bac du sas du cytoibox PEQ011.

3.2.3. Simulations Type A – Type B

Les essais 1 et 2 de type A ont eu lieu dans le PEQ010 et le 3 dans le PEQ011, et inversement pour les essais de type B. Les résultats qualitatifs des essais sur les sites des locaux sont présentés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Essais type A et B, sites contaminés du groupe "locaux"

Lieu	Site	Essai		
		1	2	3
Pièce	Sol	X	X	X
	Table de préparation	X	X	X
	Téléphone	—	—	—
PEQ010	Clavier	X ^A	—	X ^B
	Souris	—	—	—
	Ecran	X ^A	X ^A	X ^B
	Porte du sas	—	—	—
	Panneaux sous le sas	—	—	—
	Gants du cytoebox	—	—	—
	PEQ011	Clavier	—	—
Souris		—	—	—
Ecran		X ^B	X ^B	X ^A
Porte du sas		—	—	X ^A
Panneaux sous le sas		—	—	X ^A
Gants du cytoebox		—	—	—

X Contamination Observée; —, Contamination Non Observée
^A, Simulation type A; ^B, Simulation type B

Pour des raisons de clarté, les sites présentés au tableau 4 sont classés selon leur type de simulation et non selon le PSB dans lequel elle a été réalisée.

Tableau 4 : Sites contaminés des groupes "intérieurs PSB Type A" et "intérieurs PSB type B"

Catégorie	Site	Essai					
		A			B		
		1	2	3	1	2	3
Surface	Bac inox	X	X	X	X	X	X
	Tiroir	X	X	—	—	X	—
	Plan de travail	X	X	X	—	—	—
	Poubelle	X	X	X	X	X	X
	Ciseaux	—	X	X	—	—	X
	Commande CATO [®]	—	—	—	—	—	X
	Gants/manchons	—	—	—	—	X	—
Matériel extérieur	Gants latex	—	—	—	X	—	—
	Emballages divers	X	X	X	—	X	X
Matériel intérieur	Champ de travail	X	X	X	X	X	X
	Préparation finale	X	X	X	—	—	—
	Seringues	—	—	—	—	—	—
	Gants latex	X	X	X	X	X	X
	Emballages divers	X	X	X	X	X	X
	Tampons	X	X	X	X	X	X

X, Contamination Observée; —, Contamination Non Observée

La figure 7 permet de localiser les traces observées dans les locaux et les cytoebox (en rouge). Le matériel retiré des locaux après les simulations n'est pas représenté.

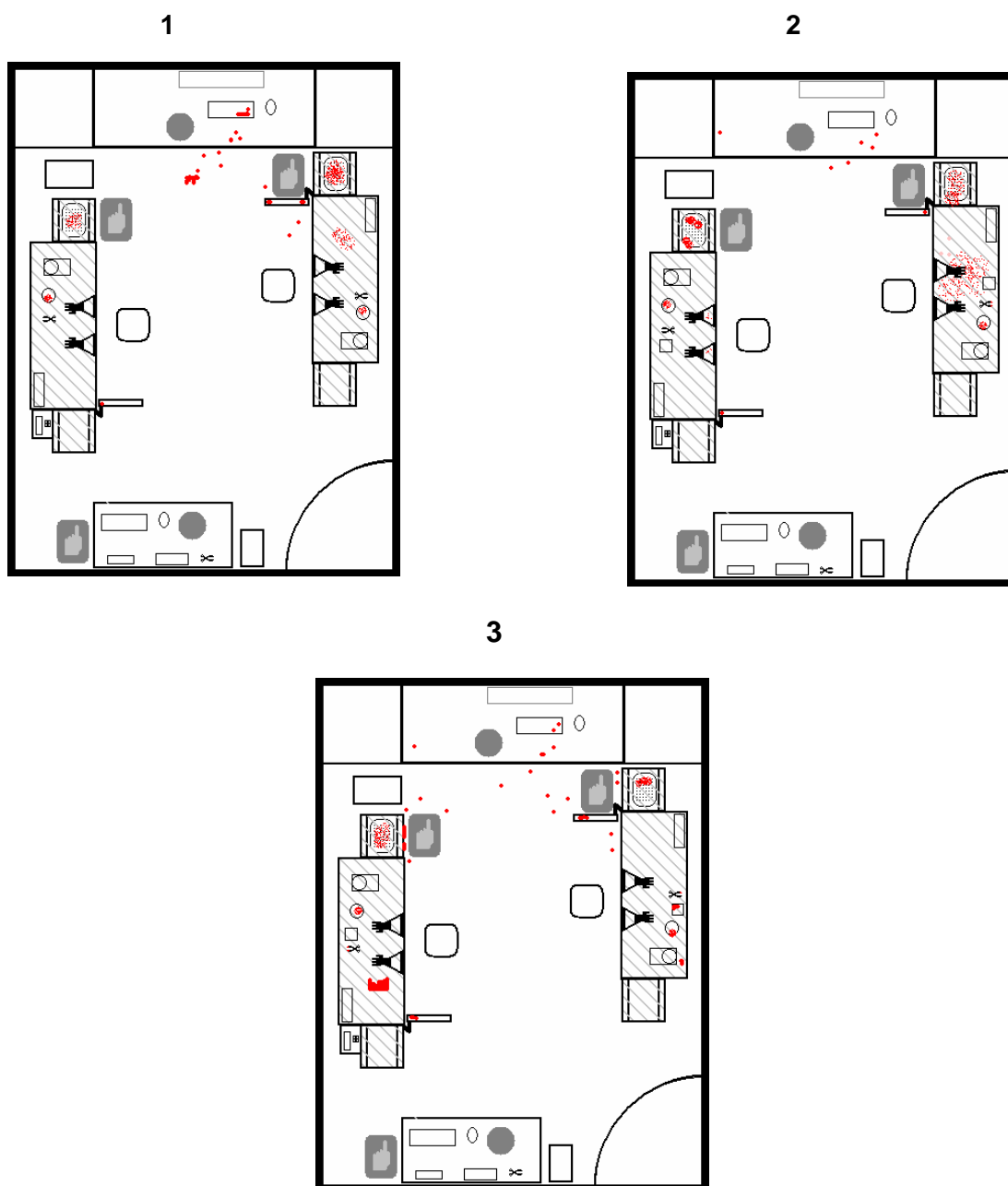


Figure 7 : Représentation de la contamination des locaux lors de l'état des lieux. (essai 1, 2 et 3)

Sur le sol, seules des traces de gouttes ont été observées. Des traces de contact ont été observées sur les claviers, souris et écrans d'ordinateur, ainsi que sur les télécommandes CATO[®], les paires de ciseaux et les gants en latex. Les traces de coulure ont été essentiellement observée sur les bacs des sas, les tiroirs et les panneaux des sas et des PSB. Les traces d'impregnation ont été observées avant tout sur les emballages divers et les champs de travail. Les traces présentes sur les préparations finales étaient avant tout des traces de coulures. Aucune contamination des bacs kit n'a été observée.

Les résultats quantitatifs de ces 3 essais sont présentés au tableau 5. A noter que lorsque l'intensité de la fluorescence était insuffisante ou que les conditions de prise d'image étaient non optimales, la mesure de la contamination de certains sites n'a pas été possible.

Tableau 5 : Quantité traceur en µg selon les sites contaminés lors de l'état des lieux (essais 1,2 et 3)

Catégorie	Sites	Affiliation	Essai				
			1	2	3		
Locaux	Sol	L	5.17	NQ*	3.08		
	Table de préparation	L	0.99	NQ*	NQ*		
	Clavier PEQ010	P	7.69	—	NQ*		
Type A	Surface	Bac Inox	P	35.21	16.04	57.02	
		Tiroir	P	NQ*	NQ*	—	
		Plan de travail	N/A	NQ*	NQ*	NQ*	
		Poubelle	N/A	NQ**	NQ**	NQ**	
		Ciseaux	N/A	—	NQ*	NQ*	
		Commande CATO®	N/A	—	—	—	
		Manchons/Gants PSB	N/A	—	—	—	
		Mat. ext.	Gants extérieur	L	—	—	—
	Emballages papier		C	0.83	—	12.05	
	Emballages plastique		P	3.78	86.79	7.23	
	Mat. int.	Préparation finale	P	24.32	0.29	1.32	
		Sac poubelle	P	14.07	—	—	
		Gants intérieur	L	0.40	NQ*	0.37	
		Champ de travail	C	15.49	NQ***	55.40	
		Tampons	C	7.31	3.28	0.42	
		Emballages papier	C	18.76	12.44	10.72	
		Emballages plastique	P	2.63	—	—	
		Type B	Surface	Bac Inox	P	NQ*	47.76
	Tiroir			P	NQ*	NQ*	—
	Plan de travail			N/A	—	—	—
	Poubelle			N/A	NQ**	NQ**	NQ**
Ciseaux	N/A			—	—	NQ*	
Commande CATO®	N/A			—	—	NQ*	
Manchons/Gants PSB	N/A			—	NQ**	—	
Mat. ext.	Gants extérieur			L	NQ*	—	—
	Emballages papier		C	—	0.11	5.47	
	Emballages plastique		P	—	—	—	
Mat. int.	Préparation finale		P	—	—	—	
	Sac poubelle		P	—	0.65	3.55	
	Gants intérieur		L	0.04	0.81	0.33	
	Champ de travail		C	1.28	0.53	2.35	
	Tampons		C	6.49	NQ*	2.72	
	Emballages papier		C	6.48	3.44	—	
	Emballages plastique		P	33.88	8.61	—	

Affiliation : L=Latex, P=Plastique, C=Champ, N/A=Non applicable

NQ, Non Quantifiable; —, Non Observé

* Intensité trop faible, ** Conditions de prise d'image non optimale, ***Surface non adéquate

Un certain nombre de sites du groupe "locaux" ne sont pas présentés dans le tableau ci-dessus et dans les autres tableaux présentant les résultats quantitatifs car ils n'ont fait l'objet d'aucune tentative de quantification, tant les conditions de prise d'image étaient défavorables. Il s'agit notamment des surfaces verticales des cytoibox, des gants et manchons, et des écrans CATO[®]. Le clavier PEQ011 quant à lui n'apparaît pas car aucune contamination n'y a été observée.

Le tableau 6 reporte pour chaque simulation les sommes sur trois jours des quantités observées selon le type de surface affilié.

Tableau 6 : Quantités de traceurs en µg sur les trois jours selon le type de surface

Simulation	Type de surface			Total
	Latex	Plastique	Champ	
A	0.77	140.43	136.70	386.17
B	1.18	46.69	28.87	147.79

3.3. Discussion

3.3.1. Contamination

Les interférences détectées lors du blanc n'ont finalement pas causé de problèmes majeurs dans la mesure où leur intensité était relativement faible par rapport aux traces laissées par le Tinopal. Il était cependant nécessaire de les identifier afin d'éviter toute confusion.

Les premiers éléments recueillis des premières simulations permettent une comparaison entre l'essai Media Fill réalisé en aveugle et les simulations ouvertes. Les mêmes zones présentent le même genre de contamination. Le sol est contaminé de la même manière dans les deux types d'essais, de même que les bacs, les plans de travail et les appareils électroniques. Il n'y a manifestement pas de biais important lié au design "ouvert" de l'essai. Le fait que les locaux aient été contaminés de manière similaire laisse penser qu'il pourrait en être de même pour les déchets de l'essai Media Fill qui n'ont pu être collectés.

D'une manière générale, on remarque que la contamination n'est pas reproductible. D'un essai à l'autre certains sites sont contaminés, d'autres pas, et ce dans des proportions très variables. Il est toutefois possible de cerner la contamination de manière assez précise.

Dans les locaux, la contamination se situe essentiellement dans la zone de réception des kits et où le matériel est mis en place dans les sas, du côté "IN" des PSB. Au niveau du sas "OUT" où sortent les préparations, aucune contamination n'a été observée sur le sol, la table d'emballage ou les gaines. Vu la nature des traces, à savoir des traces de gouttes, il est évident que le principal vecteur de propagation de la contamination est la désinfection par sprayage. Le désinfectant dissout le traceur qui devient de ce fait très mobile et se propage facilement dans l'environnement. D'après l'observation des techniques de travail des préparatrices, les principaux gestes effectués après la désinfection des flacons avec les gants souillés semblent être les premiers responsables. La mise en place du matériel dans le sas du cytoibox, le lancement du processus de fabrication dans CATO[®] en utilisant le clavier et la mise en place de l'écran sont la cause des traces de contact observées sur ces différents objets. Les mouvements et les déplacements de la personne entre chacun de ces gestes sont responsables des traces observées sur le sol et la table de préparation, le

désinfectant contaminé tombant sous forme de goutte des gants de la personne. Le fait que le clavier PEQ011 n'ait pas été contaminé s'explique par le fait que la télécommande CATO[®] à l'intérieur du cytoebox était fonctionnelle, contrairement au PEQ010. Les préparatrices n'avaient donc pas besoin de lancer les processus de fabrication au clavier. L'absence de trace observée dans les bacs kit pourrait provenir du fait que lorsque le flacon s'y trouve, il n'est pas encore mouillé par le désinfectant. Un transfert par ce moyen ne peut alors pas avoir lieu. En revanche, s'il y a une contamination par transfert du traceur sous forme de résidu sec, celui-ci est très faible et n'est pas observable ici.

Après le premier jour, le nettoyage des traces dans les locaux a été laissé au soin des nettoyeurs habituels. Il s'est avéré lors des observations du lendemain qu'au lieu d'être totalement éliminé, le traceur a été étalé sur le sol dans la zone contaminée la veille. De plus, bien que les plans de travail dans les cytoebox aient été nettoyés selon les procédés habituels, des traces restaient visible. Les techniques de nettoyage pratiquées actuellement ne semblent donc pas en mesure de limiter la contamination observée.

Le fait que pratiquement aucune contamination n'ait été observée sur les gants latex utilisés à l'extérieur des PSB peut s'expliquer par les "rinçages" successifs dus à la désinfection ultérieure par sprayage du reste des consommables.

Ces résultats coïncident avec les observations faites dans de précédentes études. En règle générale, les mêmes sites sont contaminés à savoir les sols, les tables et plan de travail des PSB [3,4,20]. Ils montrent donc que la présence de principes actifs sur la surface extérieure des flacons de cytotoxiques livrés par l'industrie peut tout à fait être une des causes potentielles de la contamination observée [6].

L'observation de la mise en place du matériel dans le sas du PSB donne des indications sur le mode de propagation à cette étape du processus. La nature des traces observées est essentiellement de type "coulure" et "imprégnation", signe que le transfert se fait majoritairement par contact direct des flacons mouillés par le désinfectant. Ici l'ordre de mise en place prend alors une réelle importance. La plupart des consommables est mis avec son emballage, les flex contenant la préparation finale sont pelés au-dessus du bac. Si les flacons contaminés sont placés juste après ces derniers, les objets sont en contact direct les uns avec les autres et le transfert est important, comme ce fut le cas le premier jour pour la simulation type A. Le troisième jour, lors de la simulation A, les flacons ont été les premiers objets mis dans le sas et n'ont pas été en contact direct avec les flex. On note une contamination plus faible, propagée probablement par la manipulation avec les gants intérieurs en latex souillés (1,32 µg le troisième jour contre 24.32 µg le premier jour).

La raison pour laquelle aucune contamination n'a été observée sur les préparations finales des simulations de type B tient au fait que les seringues ne sont seulement déballées qu'à l'intérieur du PSB, en fin de préparation. Elles ne sont de ce fait jamais en contact direct avec la source de contamination. Cela montre combien les gestes et l'ordre dans lequel ils sont réalisés ont leur importance. De même, aucune contamination n'a été observée sur les préparations finales des essais Media-Fill probablement à cause du même phénomène. Bien qu'il y avait également un flex dans le lot, il n'a pas été contaminé car il se trouvait être d'un type différent et restait emballé lors de son introduction dans le sas.

La contamination du produit fini est un phénomène qu'il faut toutefois replacer dans son contexte. Lors de l'administration au patient, le personnel soignant se protège à l'aide de gants et n'entre donc pas en contact direct avec l'emballage primaire de la chimiothérapie. Par ailleurs, il faut noter que le patient à qui l'on administre le médicament devient lui aussi une source de contamination importante au niveau de l'unité de soin par ses *excreta* (salive,

sueurs, vomissures, etc.), à niveau semblable sinon supérieur à celui causé par les préparations [21].

On note qu'une quantité relativement importante de traceur se retrouve sur les emballages papier et sur les champs de travail, notamment pour les simulations de type A. Malgré ceci, le champ devient inefficace en cas de mauvaise utilisation. Les flacons ont vraisemblablement été posés à même le plan de travail, raison pour laquelle des traces y ont été observées. Par ailleurs, le nettoyage de fin de journée de l'intérieur du PSB semble insuffisant, du moins pour ce qui est de la contamination chimique, puisque ces traces importantes de Tinopal ont persisté à cet endroit.

En comparant les schémas de la figure 7 et les valeurs du tableau 6 entre les groupes de sites des simulations A et B, on remarque une contamination plus importante de la simulation type A. Que ce soit en nombre de sites contaminés (31 contre 25, sur trois jours) ou en quantité absolue au niveau des types de surface "champ" et "plastique", la simulation de type A est la plus contaminatrice. Cela s'explique par le fait que la charge initiale de traceur est plus élevée que pour la simulation B, que la surface sur laquelle il est déposé est plus grande et que le nombre de gestes exécutés pour réaliser la préparation est plus important. Cependant, concernant la contamination des locaux, bien qu'il ne soit pas possible d'attribuer exactement chaque trace à chaque simulation, il semble que chacune des simulations A et B y participe de manière similaire. Finalement, pour les essais de mesures correctives, seule la simulation A a été utilisée dans l'optique de rester dans les conditions les plus contaminatrices.

Les deux enseignements principaux de cet état des lieux sont d'une part que la désinfection par sprayage est le facteur de mobilité majeur de la contamination, et que d'autre part les gestes à l'extérieur du PSB lors de la mise en place du matériel dans le sas ont une grande importance dans la propagation. Il en résulte que les causes majeures semblent être les gants souillés par le désinfectant contaminé en ce qui concerne les locaux à l'extérieur des PSB, et les flacons en eux-mêmes pour la contamination du matériel à l'intérieur des PSB.

3.3.2. *Méthode*

La méthode utilisant un traceur fluorescent étant novatrice pour son utilisation dans ce genre d'étude, en particulier au niveau de son utilisation quantitative, quelques remarques à ce sujet s'imposent.

A la vue des premiers résultats, la propagation du traceur sous forme solide est indécélable. De ce fait, si elle existe, elle est certainement très faible. La méthode ne permet alors pas d'étudier toutes les voies de transfert de la contamination de manière exhaustive [22]. Certaines consistent en des dépôts de microscopiques poussières volatiles, ou de microscopiques aérosols. Les traces observées dans cette étude sont, elles, importantes et représentent la majeure partie de la charge déposée. Par là, la méthode ne permet pas d'évaluer l'ampleur d'une contamination en quantité infiniment faible sur une durée prolongée.

Concernant la quantification, les quantités mesurées sur les objets affiliés à une surface plastique semblent plus élevées que les quantités effectives. En effet, la quantité totale pour ce type de surface est très importante par rapport au nombre de sites contaminés. Le plastique étant transparent, des phénomènes de réfraction et diffusion dans le corps de l'objet amplifient l'intensité lumineuse mesurée. De plus, ces interférences varient avec le type de plastique observé. Dans ces conditions, un bilan global mettant ensemble tous les

résultats quantitatifs tout type de surface confondu est peu pertinent. C'est pour cette raison que les quantités ne sont comparées qu'au sein d'un même type d'affiliation à une surface et d'une même catégorie d'objets comme celles affichées dans le tableau 6. Le résultat n'est alors peut-être pas exact, mais les conditions de prise d'image et d'analyse étant toujours identiques, l'erreur est toujours la même et les différences observées, notamment les réductions, restent donc valables.

En dehors de cela, les méthodes d'investigation utilisées dans de précédentes études sont aveugles sur la forme que prend cette contamination dans le sens où les résultats sont obtenus en essuyant un chiffon sur une surface donnée et en analysant par GC-MS et LC-MS les traces de principes actifs récoltés. La méthode par révélation UV quant à elle permet de mettre une image sur cette contamination et non plus seulement un chiffre (annexe XIV : Images de la contamination).

4. 2^e partie : Mesures correctives

4.1. Identification des mesures correctives

4.1.1. *Matériel et méthode d'analyse*

La méthode utilisée pour cette partie prospective correspond à celle décrite au point 3.1. Aucune modification n'y a été apportée. Les essais de cette partie se sont déroulés à la suite des précédents.

4.1.2. *Protocoles*

Les mesures testées visaient à interrompre le processus de contamination en éliminant les gestes et les étapes critiques en amont de la propagation. Un certain nombre de modification dans les gestes exécutés a été testé. Le tableau 7 présente dans l'ordre chronologique les mesures testées dans chaque essai. Chacun d'eux s'est déroulé sur un jour, à raison de deux simulations de type A, réalisées par deux préparatrices différentes, sur chacun des deux PSB. En fonction des résultats obtenus, les mesures efficaces ont été conservées et de nouvelles ont été testées. Les mesures inefficaces n'ont pas été retenues. Les résultats observés ont également permis de préciser et de confirmer les scénarii de propagation de la contamination ébauchés dans la partie précédente.

Selon la mesure corrective testée, une variante de la manipulation a pu être essayée. Le cas échéant, elle a été notifiée dans la colonne "Variante" du tableau 7.

A noter que cette réflexion a été menée de concert avec les préparatrices afin que les mesures appliquées puissent s'intégrer au mieux à leurs pratiques sans en préjudicier l'ergonomie et le rendement.

Tableau 7 : Mesures correctives testées lors des 5 essais

Essai	Mesures de base	Mesures additionnelles	Variante
1	Dans le sas, flacons déposés à côté du bac, sur un champ stérile (champ de transfert)	—	—
2	Flacons mis en premier, 2 ^e paires de gants retirées après manipulation	—	Flacons mis en dernier (PEQ011)
3	Dans le sas, flacons déposés à côté du bac, sur un champ stérile (champ de transfert)	Flacons mis en premier, 2 ^e paires de gants retirées après manipulation	—
4	Flacons désinfecté à l'aide de lingettes imbibées de désinfectant non dégoulinantes	Dans le sas, flacons déposés à côté du bac, sur un champ stérile	Flacons déposé dans le bac avec le reste du matériel (PEQ011)
5	Flacons désinfecté à l'aide de lingettes imbibées de désinfectant non dégoulinantes	Dans le sas, flacons déposés à côté du bac, sur un champ stérile(champ de transfert)	Champs de protection disposés sur la table de préparation

4.1.3. Résultats

Les résultats qualitatifs observés suite aux cinq essais au niveau du groupe "Locaux" sont présentés au tableau 8.

Tableau 8 : Sites contaminés du groupe "Locaux" en fonction des mesures correctives appliquées

Lieu	Site	Essai				
		1	2	3	4	5
Pièce	Sol	X*	—*	X	—	—
	Table de préparation	—	—*	X	X	—
	Téléphone	—	—	—	—	—
PEQ010	Clavier	—	X	X	—	—
	Souris	—	—	—	—	—
	Ecran	X	X	—	—	—
	Porte du sas	—	—	—	—	—
	Panneaux sous le sas	—	—	—	—	—
	Gants du cytoebox	—	X	—	—	—
	PEQ011	Clavier	—	—	—	—
Souris		—	—	—	—	—
Ecran		X	—	—	—	—
Porte du sas		—	—	—	—	—
Panneaux sous le sas		—	—	—	—	—
Gants du cytoebox		—	—	—	—	—

X, Contamination Observée; —, Contamination Non Observée
*, Dans la zone concernée (demi essais sur 2 jours)

Le tableau 9 présente les résultats observés au niveau des groupes "PEQ010" et "PEQ011" en fonction de chaque essai.

Tableau 9 : Sites contaminés à l'intérieur des cytoibox en fonction des mesures correctives appliquées

Catégorie	Site	Essai									
		1		2		3		4		5	
		010	011	010	011	010	011	010	011	010	011
Surface	Bac inox	—	—	X	X	—	—	—	X	—	—
	Tiroir	—	—	X	X	—	—	—	—	—	—
	Plan de travail	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Poubelle	X	X	X	X	X	X	—	—	—	—
	Ciseaux	—	X	—	—	X	X	—	—	X	X
	Commande CATO [®]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Gants/manchons	X	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Matériel extérieur	Gants latex	X	—	—	X	X	X	X	X	—	N/A
	Emballages divers	X	X	X	X	—	—	X	X	—	—
Matériel intérieur	Champ de travail	X	X	X	X	X	X	—	X	X	—
	Champ de transfert	X	X	N/A	N/A	X	X	X	N/A	X	X
	Préparation finale	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Seringues	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Gants latex	X	X	X	X	X	X	—	X	X	—
	Emballages divers	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Tampons	N/A	X	X	X	X	X	X	X	X	X

X, Contamination Observée; —, Contamination Non Observée; N/A, Non Applicable
 010, cytoibox PEQ010; 011, cytoibox PEQ011

Les figures 8 et 9 représentent les zones de contamination dans la ZAC respectivement pour les essais 1 et 2, puis pour les essais 3 à 5. Les essais 1 et 2 ont été réalisés sur deux jours, de manière croisée à raison d'une simulation chaque jour à cause d'imprévus dans l'activité journalière de l'unité. Ils sont donc notés respectivement "1-2" et "2-1" afin d'indiquer dans quel PSB a eu lieu quel essai. En l'occurrence, l'essai 1 a eu lieu dans le PEQ011 le premier jour et dans le PEQ010 le deuxième, et inversement pour l'essai 2.

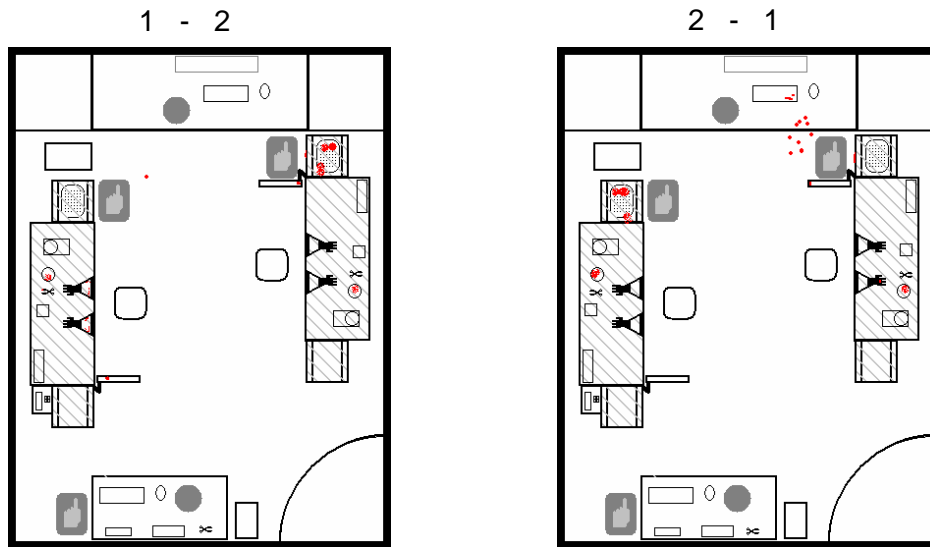


Figure 8 : Représentation de la contamination dans les locaux après les essais 1 et 2.

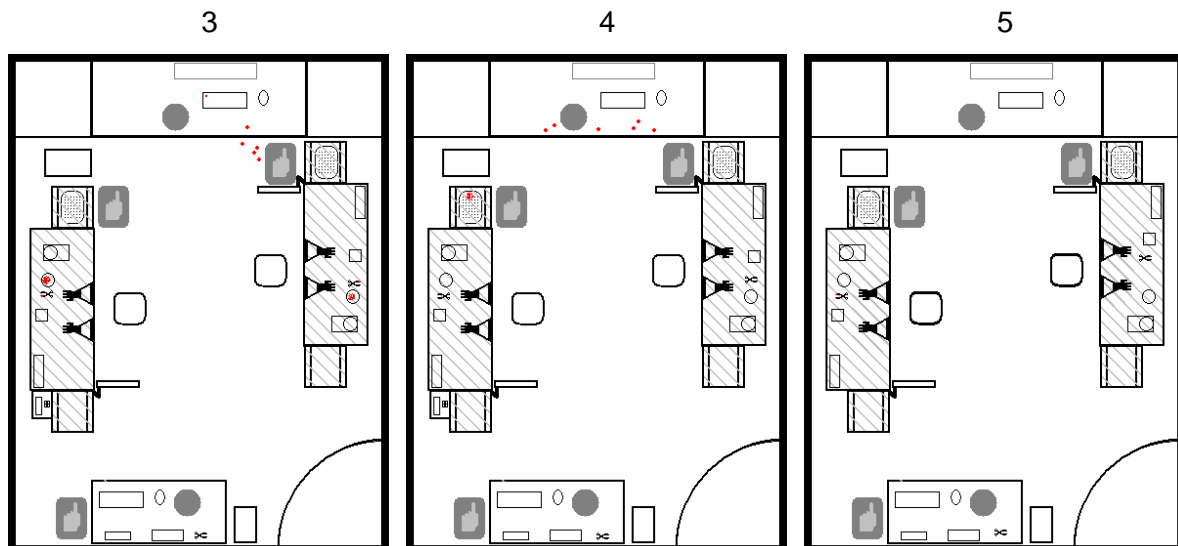


Figure 9 : Représentation de la contamination dans les locaux pour les essais 3 à 5.

Le tableau 10 présente les quantités de traceur mesurées dans les locaux et sur le matériel après chaque simulation.

Tableau 10 : Quantité de traceur en µg sur les différents sites en fonction des mesures appliquées

Catégorie	Sites	Affiliation	Essai					
			1	2	3	4	5	
Locaux	Sol	L	NQ*	0.72	3.98	—	—	
	Table de préparation	L	NQ*	NQ*	0.09	NQ*	—	
	Clavier PEQ010	P	NQ*	—	2.07	—	—	
PEQ010	Surface	Bac Inox	P	—	80.53	8.95	—	—
		Tiroir	P	—	17.91	—	—	—
		Plan de travail	N/A	—	—	—	—	—
		Poubelle	N/A	NQ**	NQ**	NQ**	—	—
		Ciseaux	N/A	—	—	NQ*	—	NQ*
		Commande CATO®	N/A	—	—	—	—	—
		Manchons/Gants PSB	N/A	—	—	—	—	—
	Mat. ext.	Gants extérieurs	L	—	—	0.35	NQ*	—
		Emballages papier	C	—	—	—	—	—
		Emballages plastique	P	2.05	0.40	—	—	—
	Mat. int.	Préparation finale	P	—	—	—	—	—
		Sac poubelle	P	—	—	—	—	—
		Gants intérieurs	L	NQ*	NQ*	—	—	0.19
		Champ de travail	C	0.69	8.15	0.07	—	NQ*
Champ de transfert		C	50.57	N/A	117.14	0.04	0.88	
Tampons		C	1.76	4.60	3.76	1.13	0.99	
Emballages papier		C	0.49	5.22	0.42	0.63	0.10	
Emballages plastique		P	NQ*	11.63	1.43	2.63	1.69	
PEQ011	Surface	Bac Inox	L	—	38.94	—	10.17	—
		Tiroir	P	—	—	—	—	—
		Plan de travail	N/A	—	—	—	—	—
		Poubelle	N/A	NQ**	NQ**	NQ**	—	—
		Ciseaux	N/A	NQ	—	NQ*	—	NQ*
		Commande CATO®	N/A	—	—	—	—	—
		Manchons/Gants PSB	N/A	NQ**	—	—	—	—
	Mat. ext.	Gants extérieurs	L	—	0.70	0.32	NQ*	N/A
		Emballages papier	C	—	NQ*	—	—	—
		Emballages plastique	P	—	2.40	—	—	—
	Mat. int.	Préparation finale	P	—	—	—	—	—
		Sac poubelle	P	8.87	—	—	2.78	—
		Gants intérieurs	L	NQ*	NQ*	0.28	0.28	—
		Champ de travail	C	0.72	5.97	0.94	0.15	—
Champ de transfert		C	9.38	N/A	187.21	N/A	0.23	
Tampons		C	1.95	4.60	3.15	0.31	0.09	
Emballages papier		C	1.12	5.21	3.05	1.56	0.02	
Emballages plastique		P	2.40	11.98	2.14	3.99	NQ*	

Affiliation : L=Latex, P=Plastique, C=Champ, N/A=Non applicable;

NQ, Non Quantifiable; —, Non Observé;

*, Intensité trop faible; **, Conditions de prise d'image non optimale;

4.1.4. Discussion

Les mesures efficaces ayant été conservées et intégrées aux essais successifs, les efforts ont pu être focalisés sur la contamination qui persistait. Les effets de cette approche s'observent particulièrement bien sur la contamination des locaux. Le tableau 8 montre une tendance vers la diminution du nombre de sites contaminés au fur et à mesure des essais, tendance qui s'avère plus distincte sur les schémas des locaux (figures 8 et 9).

La première mesure testée a consisté à séparer les flacons du reste des consommables dans le but de limiter la contamination par contact direct des préparations finales en premier lieu. La seconde mesure a été d'enlever la deuxième paire de gants directement après manipulation des flacons, ces derniers étant mis avec le reste du matériel. Les deux mesures semblent efficaces pour éviter la contamination des chimiothérapies finies puisque aucune trace n'y a été observée. Les emballages papier des consommables représentent un bon indicateur général de la contamination. Ils sont en effet les plus nombreux et les plus susceptibles d'être contaminés, se retrouvant à toutes les étapes clé de la propagation. La figure 10 montre une nette diminution des quantités mesurées à leur surface et indique que la mesure la plus efficace est l'isolement des flacons de principe actif du reste du matériel.

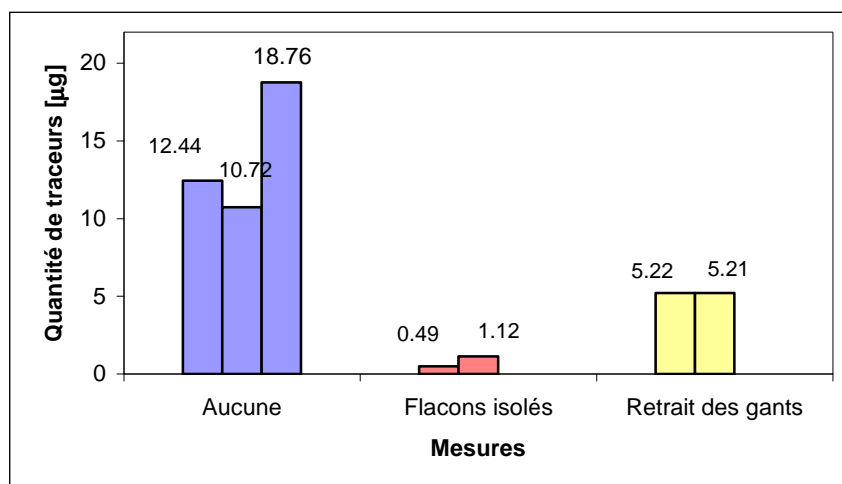


Figure 10 : Quantité de traceurs sur les emballages papier en fonction des mesures appliquées

Ce résultat confirme également l'hypothèse selon laquelle le principal élément propageant la contamination est le flacon lui-même. Les gants extérieurs jouent également un rôle, mais ne sont pas les premiers responsables. L'isolement des flacons a donc été retenue comme première mesure efficace. On remarque par ailleurs que le champ sur lequel étaient déposés les flacons dans le sas a absorbé des quantités très importantes de traceur véhiculées par les coulures du désinfectant qui de ce fait ne se sont alors pas propagées sur les sites de la catégorie "surface". Le fait d'éviter de contaminer ces sites revêt une grande importance car il s'agit d'objets présents en permanence dans l'environnement de travail. Des nettoyages moyennement efficaces comme observé lors de l'état des lieux au niveau de la décontamination chimique donnent alors lieu à une accumulation de produits cytotoxiques dans l'environnement de travail.

Concernant la contamination des locaux, le fait d'enlever les gants directement après la manipulation des flacons semble être efficace pour limiter la propagation à l'extérieur des PSB. Qualitativement, aucune contamination du sol ou de la table de préparation n'a été observée. Cette mesure a donc également été retenue. En revanche, le fait de mettre les flacons en premier ou en dernier ne semble pas influencer la contamination, aucune

variation majeure n'ayant été observée. Cependant, il a été décidé que les flacons seraient mis en premier afin de laisser plus de temps au désinfectant, vecteur de la contamination, pour sécher. La propagation à l'intérieur du PSB se retrouverait alors d'autant plus limitée.

L'essai 3 avait pour but d'appliquer conjointement les deux mesures. Le retrait des gants après manipulation n'a pas eu l'effet escompté : le sol et la table de préparation ont été contaminés. Ainsi, même si le nombre de gestes avec les gants souillés est restreint, la propagation peut toujours avoir lieu en raison de la mobilité du désinfectant liquide. Le problème principal, en amont de tous les gestes exécutés lors de la mise en place du matériel dans le sas est bel et bien l'étape de désinfection au spray. Le port puis le retrait de surgants s'étant avéré pénible et inefficace, d'autres mesures correctives ont été recherchées.

La désinfection des flacons par des lingettes humides a remplacé le srpayage et a été ajoutée aux mesures préalablement testées pour l'essai 4. Cette technique présente le double avantage de permettre une désinfection faisant appel à un volume passablement réduit de désinfectant d'une part, et d'autre part de nettoyer par frottement une partie du traceur. La quantité alors retirée n'a pas pu être évaluée car toutes les lingettes disponibles contenaient des agents blanchissants.

Cette mesure s'est révélée très efficace car aucune contamination du sol par des traces de gouttes n'a été observée. Les seules traces présentes ont été mises en évidences sur la table de préparation et étaient de faible intensité. Elles proviennent probablement des lingettes souillées, entre la prise en main de chaque flacon dans le bac kit pour les mettre dans le sas. L'effet de la suppression des coulures s'observe par une évidente diminution de la quantité de traceur sur le champ de transfert (figure 11).

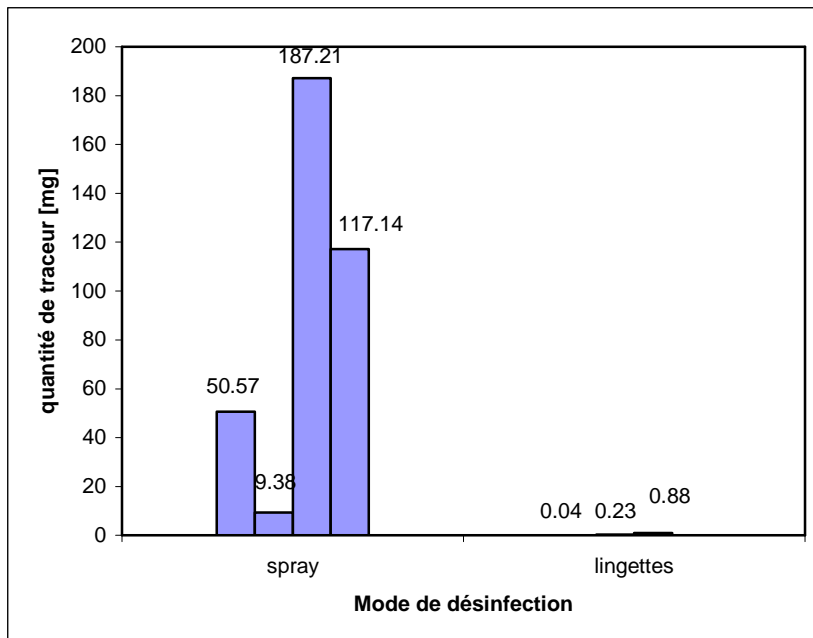


Figure 11 : Quantité de traceur sur le champ de transfert

Par contre, la variante consistant à remettre les flacons avec le reste des consommables contribue toujours à une contamination légèrement plus élevée sur le bac en inox.

L'ajout de champs de protection sur la table de préparation à ces deux mesures était l'objet de l'essai 5. L'objectif visé était d'éliminer définitivement la contamination à l'extérieur des PSB. Les résultats ont été positifs, aucune contamination n'a été observée dans les locaux, et elle a été drastiquement diminuée sur les sites de la catégorie "surface". La contamination générale concernant les consommables et leurs emballages a baissé de manière importante. En revanche, sur les gants extérieurs, elle a été observée plus fréquemment qu'avant l'application de ces mesures. Cela rejoint l'hypothèse évoquée pour expliquer le peu de traceur observé sur ces gants lors de l'état des lieux. Un rinçage par la désinfection par sprayage de quantités abondantes de désinfectant laverait les gants, contrairement à la désinfection par les lingettes. Avec ces dernières, le traceur sèche plus vite et finit par s'imprégner dans les gants. Connaissant la perméabilité relative de ces gants à différents cytotoxiques, le port d'une deuxième paire de gants prendrait alors tout son sens [23]. Cependant, cette mesure n'étant pas indiquée pour contrer la propagation de la contamination, mais devant être considérée comme une mesure de protection individuelle à part entière, elle n'a pas été retenue dans ce cadre précis. Indépendamment donc de la problématique de la contamination, une modification des instructions d'habillage à ce niveau serait en tous les cas fortement souhaitable.

4.2. Validation de l'efficacité des mesures

4.2.1. *Matériel et méthode d'analyse*

La méthode d'analyse utilisée pour cette partie est celle exposée au point 3.1. Aucune modification n'y a été apportée.

4.2.2. *Protocole*

Une fois les essais prospectifs réalisés, l'efficacité des mesures correctives retenues a été validée. Cette validation a été effectuée sur trois jours différents, à raison de deux simulations par jour, une par préparateur et par cytobox. Les mesures appliquées ont été les suivantes (annexe XV : Images des mesures correctives) :

- Disposition de champs de protection sur la table de préparation
- Désinfection des flacons par des lingettes humides.
- Isolement des flacons du reste du matériel au moyen d'un bac à deux compartiments, élaboré sur mesure (annexe XVI: Bac à deux compartiments)
- Mise en place dans un premier temps des flacons, puis dans un second temps du reste des consommables dans le sas du PSB

Avant chaque validation, un examen sous UV et un nettoyage des locaux a été effectué dans le but d'éviter toute interférence. Les simulations ont été surveillées afin de relever d'éventuelles déviations quant au déroulement de l'essai. Elles ont été exécutées par 5

personnes différentes. Trois étaient des préparatrices habituées à la fabrication quotidienne de chimiothérapies et deux étaient des pharmaciens de garde cytotatiques, ne fabricant des chimiothérapies qu'occasionnellement.

4.2.3. Résultats

Le tableau 11 présente pour chaque jour de validation les sites contaminés dans le groupe "Locaux".

Tableau 11 : Sites contaminés du groupe "Locaux" lors de la validation des mesures correctives

Lieu	Site	Essai		
		1	2	3
Pièce	Sol	—	—	—
	Table de préparation	—	—	—
	Téléphone	—	—	—
PEQ010	Clavier	—	—	—
	Souris	—	—	—
	Ecran	—	—	—
	Porte du sas	—	—	—
	Panneaux sous le sas	—	—	—
	Gants du cytoebox	—	—	—
	PEQ011	Clavier	—	—
Souris		—	—	—
Ecran		—	—	—
Porte du sas		—	—	—
Panneaux sous le sas		—	—	—
Gants du cytoebox		—	—	—

—, Contamination Non Observée

Le tableau 12 présente pour chaque jour de validation les sites contaminés des groupes "PEQ010" et "PEQ011".

Tableau 12 : Sites contaminés à l'intérieur des cytoebox selon les jours de validation des mesures

Catégorie	Site	Essai					
		1		2		3	
		010	011	010	011	010	011
Surface	Bac inox	—	—	—	—	—	—
	Tiroir	—	—	—	—	—	—
	Plan de travail	—	—	—	—	X	—
	Poubelle	—	—	—	—	—	—
	Ciseaux	—	X	—	—	X	—
	Commande CATO®	—	—	—	—	—	—
	Gants/manchons	—	—	—	—	—	—
	Matériel extérieur	Gants latex	X	X	—	—	X
Emballages divers		—	—	—	—	—	—
Matériel intérieur	Champ de travail	—	—	—	—	—	—
	Champ de transfert	X	X	—	X	—	X
	Préparation finale	—	—	—	—	—	—
	Seringues	—	—	—	—	—	—
	Gants latex	X	X	—	X	X	X
	Emballages divers	X	X	X	X	X	X
	Tampons	X	X	X	X	X	X

X, Contamination Observée; —, Contamination Non Observée
 010, cytoebox PEQ010; 011, cytoebox PEQ011

Le tableau 13 présente les quantités de traceur mesurées dans les locaux et sur le matériel après chaque validation.

Tableaux 13 : Quantité en µg de traceurs mesurées après validation

Catégorie	Sites	Affiliation	Essai			
			1	2	3	
Locaux	Sol	L	—	—	—	
	Table de préparation	L	—	—	—	
	Clavier PEQ010	P	—	—	—	
PEQ010	Surface	Bac Inox	P	—	—	—
		Tiroir	P	—	—	—
		Plan de travail	N/A	—	—	—
		Poubelle	N/A	—	—	—
		Ciseaux	N/A	—	—	NQ*
		Commande CATO®	N/A	—	—	—
		Manchons/Gants PSB	N/A	—	—	—
		Mat. ext.	Gants extérieur	L	NQ*	—
	Emballages papier		C	—	—	—
	Emballages plastique		P	—	—	—
	Mat. int.	Préparation finale	P	—	—	—
		Sac poubelle	P	—	—	—
		Gants intérieur	L	NQ*	—	NQ*
		Champ de travail	C	—	—	—
Champ de transfert		C	0.35	—	—	
Tampons		C	0.46	0.26	0.56	
Emballages papier		C	1.57	0.30	0.13	
Emballages plastique		P	1.54	3.41	1.73	
PEQ011	Surface	Bac Inox	P	—	—	—
		Tiroir	P	—	—	—
		Plan de travail	N/A	—	—	—
		Poubelle	N/A	—	—	—
		Ciseaux	N/A	NQ*	—	—
		Commande CATO®	N/A	—	—	—
		Manchons/Gants PSB	N/A	—	—	—
	Mat. ext.	Gants extérieur	L	NQ*	—	NQ*
		Emballages papier	C	—	—	—
		Emballages plastique	P	—	—	—
	Mat. int.	Préparation finale	P	—	—	—
		Sac poubelle	P	—	—	—
		Gants intérieur	L	NQ*	NQ*	0.10
		Champ de travail	C	—	—	—
		Champ sur transfert	C	0.03	NQ*	NQ*
		Tampons	C	0.26	0.33	0.04
		Emballages papier	C	0.13	1.04	0.17
		Emballages plastique	P	—	—	—

Affiliation : L=Latex, P=Plastique, C=Champ, N/A=Non applicable

NQ, Non Quantifiable; —, Non Observé

* Intensité trop faible,

La figure 12 permet de visualiser la contamination dans les locaux au cours des trois jours de validation.

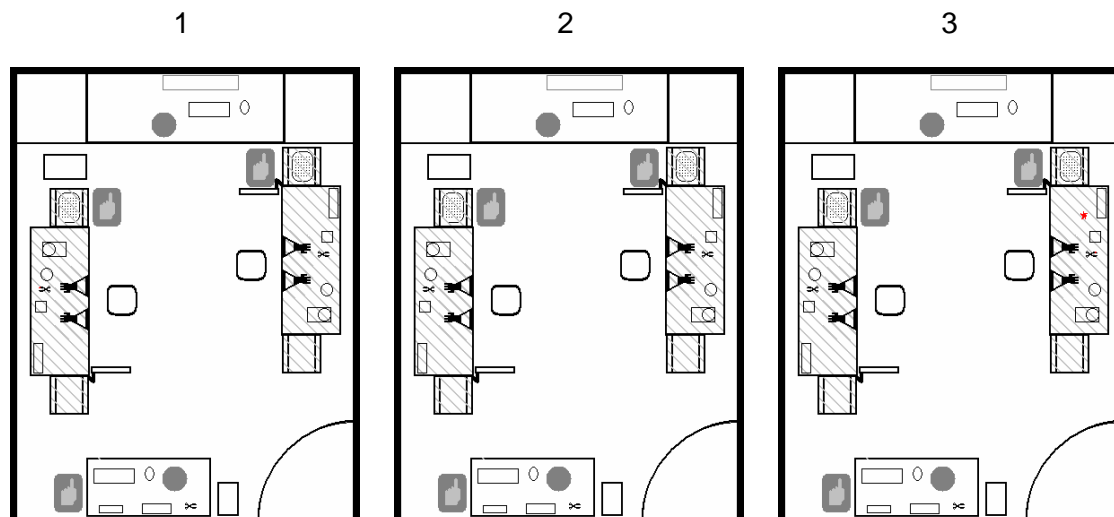


Figure 12 : Représentation de la contamination après les validations (jours 1,2 et 3).

4.2.4. Discussion

Aucune trace n'a été observée dans les locaux à l'extérieur des PSB lors des trois jours de validation. Les quatre mesures appliquées conjointement ont eu des effets probants sur la diminution de la contamination. Il faut toutefois rappeler que seule la contamination visible avec la méthode UV, donc relativement importante et propagée par le désinfectant, a été limitée. La contamination invisible propagée par des résidus solides microscopiques n'a pas pu être évaluée.

A l'intérieur des cytoibox, la contamination reste présente, mais elle est considérablement réduite. Les seuls sites présentant encore une contamination du même ordre que celle mise en évidence lors de l'état des lieux avant les mesures sont les emballages papier des consommables.

La trace observée sur le plan de travail du cytoibox PEQ010 du jour 3 de la validation ne provient très probablement pas des simulations. En effet, une chimiothérapie imprévue a dû être préparée après la simulation et avant que les lieux aient pu être examinés. Au cours de cette préparation, un flacon a été désinfecté par sprayage. Le désinfectant a dissout les agents blanchissants de son étiquette. Il a ensuite été posé en dehors du champ de travail, à l'endroit de la trace observée. Cette dernière peut donc être très vraisemblablement attribuée à cette chimiothérapie et non à la simulation exécutée auparavant.

Nonobstant ce point, la réduction de la contamination est en général très importante avec l'application des mesures correctives. La figure 13 montre que la réduction de la contamination sur les emballages papier, seul indicateur de quantité pouvant encore être comparé, est évidente, comme observé lors des recherches de la partie 4.1.

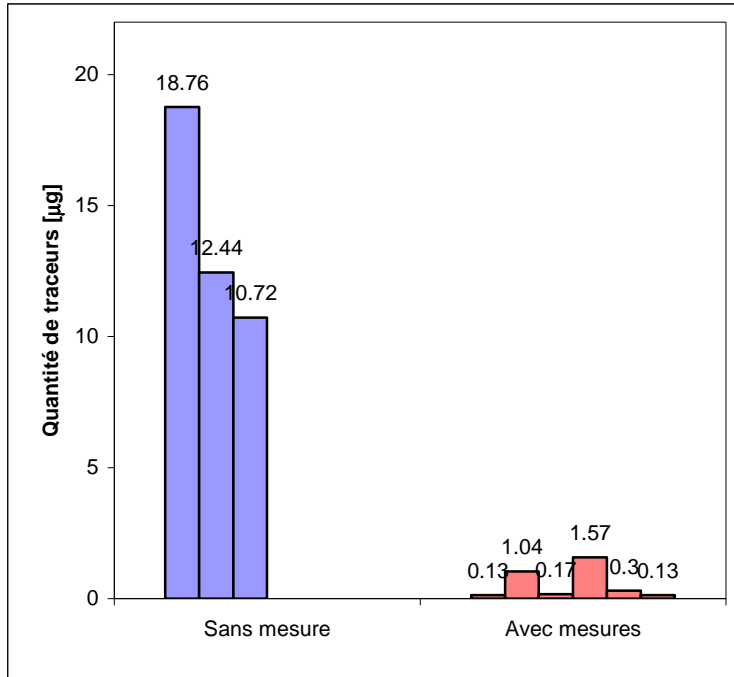


Figure 13 : Réduction de la contamination sur emballages papier

Une autre façon de rendre compte de la diminution générale de la contamination est de comparer le nombre de sites sur lesquels le traceur a été observé entre les trois jours de l'état des lieux sans mesures et les trois jours de validation avec mesures, comme exposé à la figure 14.

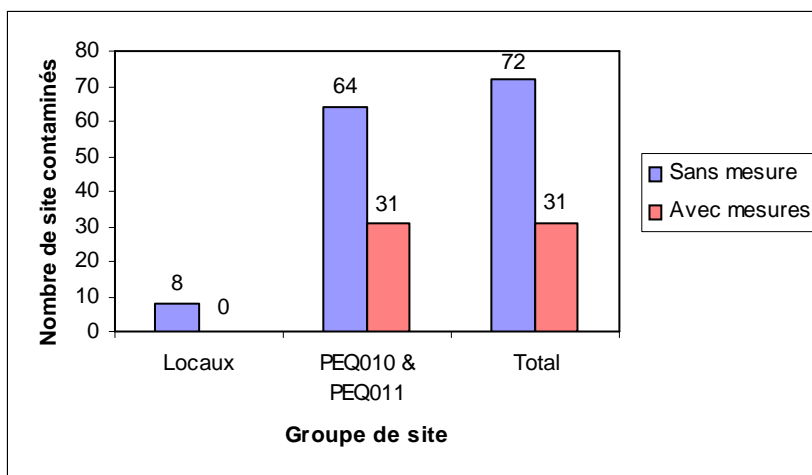


Figure 14 : Nombre de sites contaminés dans les locaux et les PSB

On observe une réduction de plus de 50 % du nombre de sites en général, et même une réduction totale pour ce qui est des locaux, comme noté précédemment. Ces résultats sont particulièrement probants si l'on compare les schéma des locaux lors de l'état des lieux et après l'application des mesures (figure 15).



Figure 15 : Représentation de la contamination des locaux avant et après l'application des mesures

Les mesures correctives destinées à limiter la propagation de la contamination externe des flacons de cytotoxiques dans les locaux de fabrication peuvent donc être considérées comme efficaces. Leur application au quotidien semble bien acceptée par les préparatrices. Ces nouvelles techniques ont en effet été appliquées pendant plusieurs jours dans l'activité de routine afin de s'assurer que leur mise en pratique soit effectivement applicable. Durant ce laps de temps, les seules réserves formulées ont concerné la construction des bacs à deux compartiments. Ils seraient lourds, peu pratiques à nettoyer avec des lingettes et le tranchant de leurs bords feraient mal aux poignets des préparatrices. Ces bacs étant des prototypes réalisés par le service technique du CHUV, ces remarques ont été notées pour le cas où de nouveaux bacs d'une meilleure finition devaient être commandés. En dehors de ça, aucune remarque ou plainte n'a été formulée concernant les autres changements de pratiques. Ces mesures correctives sont par ailleurs d'ores et déjà appliquées par les préparatrices bien qu'aucune directive officielle n'ait encore été émise.

5. Conclusion et perspectives

5.1. Etat des lieux

Grâce à l'utilisation du Tinopal CBS-X comme traceur chimique fluorescent, il a été mis en évidence qu'une contamination externe des flacons de cytotoxiques pouvait se propager d'une manière importante dans les locaux de production. Le point critique de cette propagation était l'étape de désinfection au spray, entre la sortie des flacons du kit de fabrication et leur mise en place de le sas du PSB. Par ce biais de propagation, le traceur a été détecté dans l'environnement extérieur aux cytoibox, sur les consommables et leurs emballages, sur les équipements permanents et sur les préparations finales. Les gestes effectués à l'extérieur des PSB avec des gants mouillés par le désinfectant souillé étaient la cause principale des traces observées dans les locaux. Le matériel et les préparations finales quant à eux ont été contaminés par contact direct avec les flacons mouillés par le désinfectant. Les gants à l'intérieur des PSB ont aussi participé à cette contamination, mais dans une moindre mesure.

Il ressort de ces observations que les points clé sur lesquels il est important d'intervenir sont la désinfection par sprayage et la disposition des fioles de médicaments dans le sas des cytoibox.

5.2. Mesures correctives

Une série de mesures correctives aussi peu contraignantes que possible pour le personnel et visant à limiter la propagation observée a alors été mise en place. Elles ont pour but d'une part d'empêcher la contamination de la zone à l'extérieur des cytoibox ainsi que celle des préparations finales et d'autre part de la limiter au niveau des sites où elle est toujours présente. Ces mesures sont la désinfection des flacons par des lingettes humides désinfectantes à la place du spray, l'utilisation dans les sas d'entrée des PSB de bacs à deux compartiments afin d'isoler les flacons du reste du matériel et l'utilisation de champ de protection sur la table de préparation avant la mise dans le sas. Parallèlement à ces mesures, l'introduction du matériel dans le sas d'entrée doit se faire dans un ordre précis, à savoir en premier les fioles de cytotoxiques et ensuite le reste du matériel.

Suite à ces mesures, les objectifs de réduction de la contamination ont été atteints. Leur efficacité a été testée et validée avec 5 personnes différentes. Il en ressort que la présence de traceur n'a plus été observée dans les locaux à l'extérieur des PSB, ni sur les préparations finales. Néanmoins, des traces sont toujours observées sur une partie des consommables et leurs emballages, ainsi que sur les équipements permanents confinés à l'intérieur des cytoibox.

Malgré toutes ces mesures correctives, une contamination de certains objets reste donc actuellement inévitable, raison pour laquelle, entre autres, les préparateurs utilisent des moyens de protection spécifiques. Les objets en question sont les emballages divers, les ciseaux, les tampons et les champs de transferts. Ils sont tous contaminés à l'intérieur des PSB. Il faut rappeler que si le rôle de ces appareils est de protéger la fabrication de la contamination microbiologique extérieure, ils servent également à protéger les préparatrices

de la contamination chimique. De plus si cette dernière a été réduite autant que possible, les objets concernés sont soit incinérés comme déchets spéciaux (consommables, emballages), soit confinés dans les PSB (équipement permanent).

5.3. Méthode de fluorescence UV

Au cours de ce travail, il est apparu que la fluorescence UV pouvait offrir un certain intérêt dans des domaines autres que celui du traçage de la contamination chimique. Le premier domaine est le nettoyage des locaux. Cette étude a en effet mis en évidence des lacunes à ce niveau, que ce soit dans les cyto-box ou sur le sol. Dans ce sens, l'utilisation de cette méthode dans un but didactique pourrait être intéressante dans le cadre de la formation du personnel. Elle est déjà appliquée dans le domaine de l'hygiène pour le lavage des mains [24]. Les résultats sont très visuels, rendent compte des déviations de manière flagrante et convainquent objectivement de la nécessité de bien effectuer le travail.

Un deuxième domaine où cette technique peut se révéler utile est l'étude de la contamination particulaire. En effet, des fibres provenant du papier ou de l'habillement et contenant des azurants optiques ont été observées en quantité sous UV dans l'ensemble des locaux. Cette méthode pourrait se révéler complémentaire aux techniques déjà employées pour évaluer et contrôler la qualité particulaire des locaux.

5.4. Perspectives

Le point principal à améliorer dans cette étude est la performance de la méthode de quantification par fluorescence UV et imagerie numérique. Moyennant le développement du dispositif d'éclairage et de prises d'images à l'aide d'un matériel adapté à cet objectif, et en explorant de manière plus détaillée la problématique de la variété des surfaces, la méthode peut assurément gagner en sensibilité et en exactitude.

En ce qui concerne la propagation de la contamination à proprement parler, le champ de l'étude présentée ici peut être élargi. Ainsi, même si des mesures sont déjà prises concernant la manipulation des emballages de médicaments à l'extérieur de la zone de fabrication lors de la préparation des kits, une étude de la contamination à cet endroit semble judicieuse vu que l'arsenal protecteur du personnel est largement inférieur à celui employé dans le local de fabrication.

Si cette étude a permis d'évaluer la problématique de la propagation de la contamination, un monitoring des taux effectifs de cytotoxiques dans la ZAC pourrait s'avérer complémentaire. En effet, cela permettrait de vérifier d'une part l'état réel de la contamination cytotoxique et d'autre part si les mesures améliorent la situation à ce niveau. Cependant, les locaux de fabrication cytotoxique du secteur FASOL de la pharmacie du CHUV sont récents. Ils ont été mis en activité durant l'été 2008 seulement. Il aurait été intéressant d'avoir un état des lieux de la contamination cytotoxique réelle dans les locaux avant cette étude et la mise en application des mesures testées ici.

Ce travail s'est cependant limité à la contamination externe des flacons de cytotoxiques. Si un monitoring de différents agents cytotoxiques devait révéler une contamination effective des locaux malgré l'application des mesures proposées, il serait alors difficile de déterminer si ces traces ont comme source la surface extérieure du flacon ou bien son contenu. Une étude de ces deux sources de contaminations simultanément au moyen de deux traceurs différents permettrait de mettre en relief l'impact réels des mesures introduites ici.

Cette méthode pourrait également être utilisée pour élaborer un nouveau protocole de qualification des préparateurs se basant sur les tests Media-Fill. En ajoutant un traceur fluorescent dans les milieux de culture, les qualités microbiologiques et chimiques des manipulations pourraient être contrôlées lors d'un seul et unique essai. Les techniques de travail des opérateurs seraient validées sur ces deux plans à la fois, dans le but perpétuel d'améliorer la qualité et la sécurité de la fabrication des chimiothérapies en milieu hospitalier.

6. Bibliographie

- [1] **Computer Aided Therapy for Oncology**, CATO Software Solutions, Vienne, Autriche
<http://www.cato.eu/> accédé le 14.05.2009
- [2] Jost, M., Rüegger, M., Liechti, B., and Gutzwiller, A., **Sécurité dans l'emploi des cytostatiques**. SUVA - Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accidents, Lucerne, 2004
- [3] A. Acampora, L. Castiglia, N. Miraglia, M. Pieri, C. Soave, F. Liotti, and N. Sannolo, **A case study: surface contamination of cyclophosphamide due to working practices and cleaning procedures in two Italian hospitals**, *Ann Occup Hyg*, 49 (2005) 611-618.
- [4] T. H. Connor, R. W. Anderson, P. J. Sessink, L. Broadfield, and L. A. Power, **Surface contamination with antineoplastic agents in six cancer treatment centers in Canada and the United States**, *Am J Health Syst Pharm*, 56 (1999) 1427-1432.
- [5] T. H. Connor, P. J. Sessink, B. R. Harrison, J. R. Pretty, B. G. Peters, R. M. Alfaro, A. Bilos, G. Beckmann, M. R. Bing, L. M. Anderson, and R. Dechristoforo, **Surface contamination of chemotherapy drug vials and evaluation of new vial-cleaning techniques: results of three studies**, *Am J Health Syst Pharm*, 62 (2005) 475-484.
- [6] S. Crauste-Manciet, P. J. Sessink, S. Ferrari, J. Y. Jomier, and D. Brossard, **Environmental contamination with cytotoxic drugs in healthcare using positive air pressure isolators**, *Ann Occup Hyg*, 49 (2005) 619-628.
- [7] H. J. Mason, J. Morton, S. J. Garfitt, S. Iqbal, and K. Jones, **Cytotoxic drug contamination on the outside of vials delivered to a hospital pharmacy**, *Ann Occup Hyg*, 47 (2003) 681-685.
- [8] O. Nygren, B. Gustavsson, L. Strom, and A. Friberg, **Cisplatin contamination observed on the outside of drug vials**, *Ann Occup Hyg*, 46 (2002) 555-557.
- [9] Vigneron, J., Cholvy-Laurelli, F., Noirez, V., Commun, N., Demoré, B., Protas, B., May, I., Perrin, A., Blaise, N., Castegnaro, M., Hoffman, M. A., and Hoffman, M., **Préparation et Administration des traitements Anticancéreux**. [2e édition], 69-71, Service Pharmacie Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Nancy, 1996
- [10] M. W. Roff, **Accuracy and reproducibility of calibrations on the skin using the FIVES fluorescence monitor**, *Annals of Occupational Hygiene*, 41 (1997) 313-&.
- [11] A. Aragon, L. Blanco, L. Lopez, C. Liden, G. Nise, and C. Wesseling, **Reliability of a visual scoring system with fluorescent tracers to assess dermal pesticide exposure**, *Annals of Occupational Hygiene*, 48 (2004) 601-606.

- [12] J. W. Cherrie, D. H. Brouwer, M. Roff, R. Vermeulen, and H. Kromhout, **Use of qualitative and quantitative fluorescence techniques to assess dermal exposure**, *Annals of Occupational Hygiene*, 44 (2000) 519-522.
- [13] R. A. Fenske, S. M. Wong, J. T. Leffingwell, and R. C. Spear, **A video imaging technique for assessing dermal exposure. II. Fluorescent tracer testing**, *Am Ind Hyg Assoc J*, 47 (1986) 771-775.
- [14] H. Hession, M. Byrne, S. Cleary, K. G. Andersson, and J. Roed, **Measurement of contaminant removal from skin using a portable fluorescence scanning system**, *Journal of Environmental Radioactivity*, 85 (2006) 196-204.
- [15] W. A. Ivancic, M. G. Nishioka, R. H. Barnes, Jr., E. C. Hubal, M. Morara, and S. M. Bortnick, **Development and evaluation of a quantitative video-fluorescence imaging system and fluorescent tracer for measuring transfer of pesticide residues from surfaces to hands with repeated contacts**, *Ann Occup Hyg*, 48 (2004) 519-532.
- [16] B. V. Rawson, J. Cocker, P. G. Evans, J. P. Wheeler, and P. M. Akrill, **Internal contamination of gloves: Routes and consequences**, *Annals of Occupational Hygiene*, 49 (2005) 535-541.
- [17] ETAD Fluorescent Whitening Agent Task Force, **Stilbene fluorescent whitening agents category, Test plan end category justification**. 2005
<http://www.scribd.com/doc/1625821/Environmental-Protection-Agency-c16115tp>
accédé le 18.02.2009
- [18] Rasband, W., **ImageJ**. National Institutes of Health, USA, <http://rsbweb.nih.gov/ij/>
accédé le 28.05.2009
- [19] Commission SFSTP, **Validation des procédures analytiques quantitatives - Harmonisation des démarches**. STP Pharma Pratiques 13[3], 101-138, Editions de Santé, Paris,
- [20] Metref L., **Mesure de la contamination des locaux par des agents cytostatiques**. Université de Genève, Genève, 2005
- [21] **Anticancéreux, utilisation pratique**. Dossier du CNHIM 25[août-septembre], 22, Office des Publications Administratives et Sociales, Le Kremlin Bicêtre, France, 2004
- [22] T. Schneider, R. Vermeulen, D. H. Brouwer, J. W. Cherrie, H. Kromhout, and C. L. Fogh, **Conceptual model for assessment of dermal exposure**, *Occupational and Environmental Medicine*, 56 (1999) 765-773.
- [23] P. E. Wallemacq, A. Capron, R. Vanbinst, E. Boeckmans, J. Gillard, and B. Favier, **Permeability of 13 different gloves to 13 cytotoxic agents under controlled dynamic conditions**, *Am J Health Syst Pharm*, 63 (2006) 547-556.
- [24] Dermalux System[®], KBD GMBH, Weinheim, Allemagne.
<http://www.uv-test.com/system/system.htm> accédé le 25.05.2009

7. Annexes

- I Plan FASOL**
- II Plan des locaux de fabrication cytotoxique**
- III Plan d'un cytoebox**
- IV Déclarations fabricants sur le nettoyage des flacons**
- V Fiche technique Tinopal CBS-X**
- VI Protocole de contamination**
- VII Quantification UV de la charge de Tinopal déposée**
- VIII Exemples de protocole de simulation**
- IX Consignes générales**
- X Montage lampe-appareil photo pour quantification**
- XI Réglages photographiques**
- XII Validation de la méthode**
- XIII Types de traces**
- XIV Images de la contamination**
- XV Images des mesures correctives**
- XVI Bac à deux compartiments**

ANNEXE I : Plan FASOL



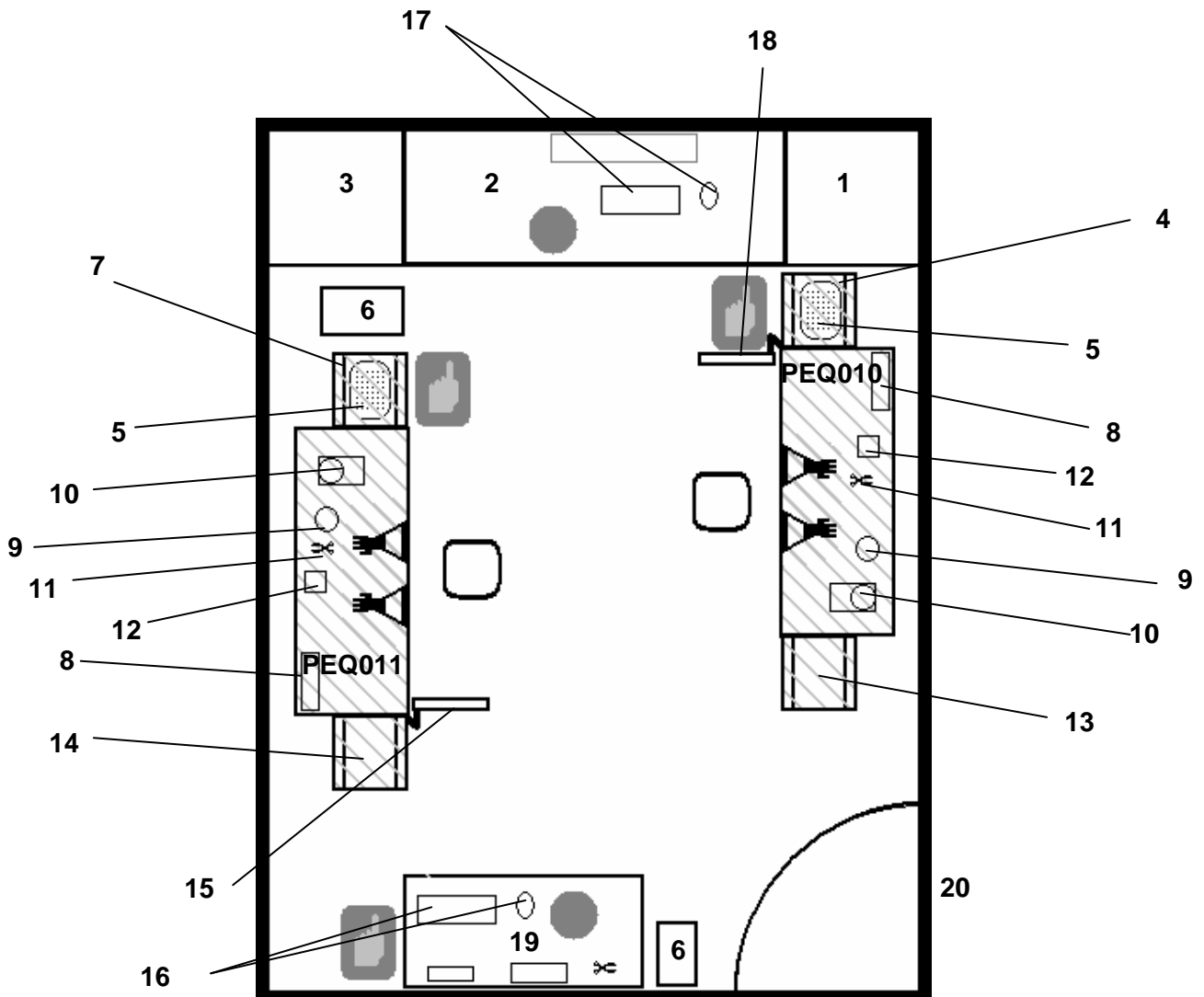
Figure 1 : Plan des locaux de fabrication des solutions injectables (FASOL)

Légendes

Zone FASOL	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #90EE90; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> <div>Zone non classée</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #FFFF00; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> <div>Sas d'habillage classe D</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #FFDAB9; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> <div>Zone de fabrication de cytotoxiques classe C (ZAC)</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #FF6347; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> <div>Cytobox classe A (PSB)</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #6495ED; border: 1px solid black; margin-right: 5px;"></div> <div>Autres locaux FASOL</div> </div> <div style="display: flex; align-items: center; margin-top: 5px;"> <div style="border-bottom: 2px solid red; width: 20px; margin-right: 5px;"></div> <div>Secteur concerné par l'unité de fabrication cytotoxique</div> </div>	
	<div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #808080; border: 1px solid black; margin: 0 auto;"></div>	Locaux extérieurs à FASOL

- 542/ 543** Vestiaires FASOL Femme/Homme
- 546** Zone de stockage et de préparation des kits de fabrication
- 550/551** Vestiaire ZAC
- 554/(553)** Locaux de fabrication des chimiothérapies (553 hors service)

ANNEXE II : Plan des locaux de fabrication cytotoxique



- | | | | |
|----|---------------------------|----|--|
| 1 | Sas ZAC "IN" | 11 | Ciseaux |
| 2 | Table de réception kit | 12 | Commande CATO [®] |
| 3 | Sas ZAC "OUT" | 13 | Sas isolateur PEQ010 "OUT" |
| 4 | Sas isolateur PEQ010 "IN" | 14 | Sas isolateur PEQ011 "OUT" |
| 5 | Bac inox isolateur PEQ010 | 15 | Ecran CATO [®] PEQ011 |
| 6 | Chariot à matériel | 16 | Clavier, souris CATO [®] PEQ011 |
| 7 | Sas isolateur PEQ011 "IN" | 17 | Clavier, souris CATO [®] PEQ010 |
| 8 | Bac à petit matériel | 18 | Ecran CATO [®] PEQ010 |
| 9 | Poubelle de travail | 19 | Table d'emballage |
| 10 | Balance CATO [®] | 20 | Porte d'entrée |



Poubelle cytotoxiques



Poubelle normale



Figure 1 : Table de préparation

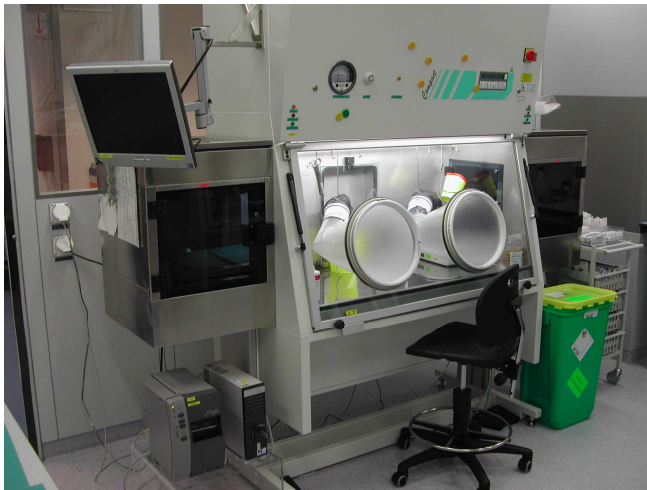


Figure 2 : Cytobox PEQ011

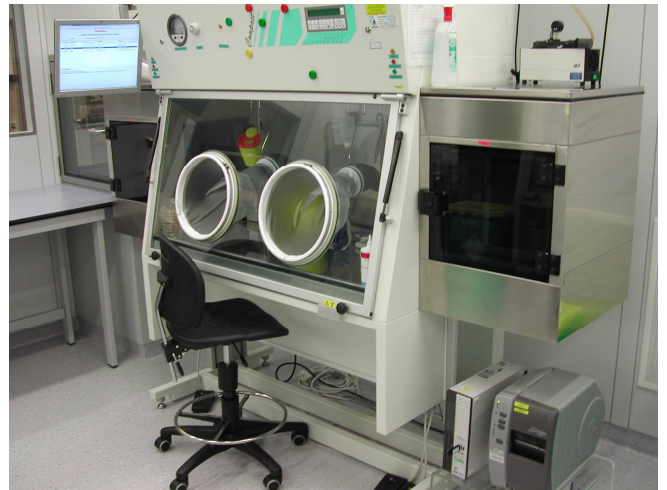
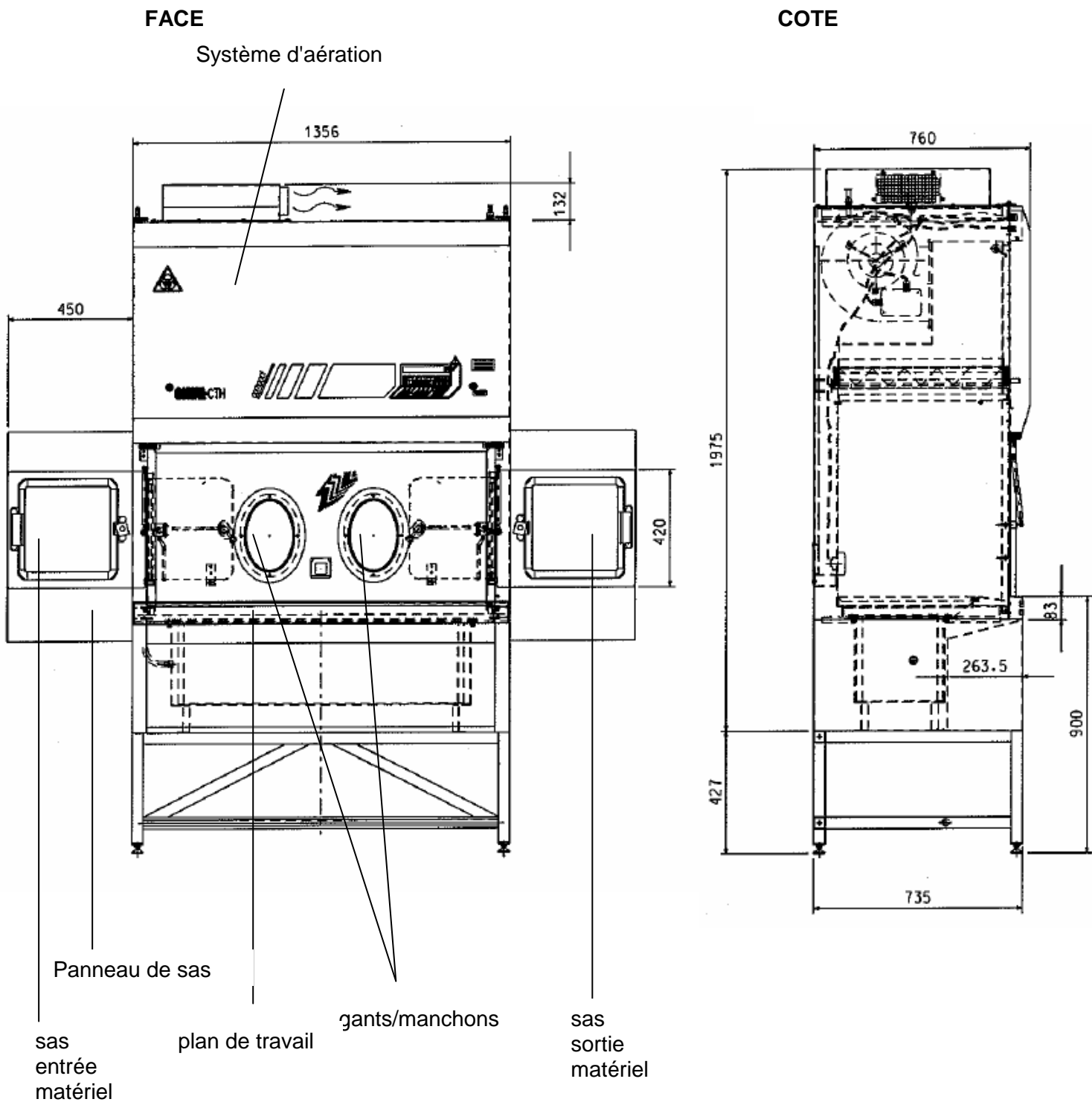


Figure 3 : Cytobox PEQ010



Figure 4 : Table d'emballage

ANNEXE III : Plan d'un cytoebox



ANNEXE IV : Déclarations fabricants sur le nettoyage des flacons

Ebewe

EBEWE Pharma



Unterach, August 29th, 2008

STATEMENT

To whom it may concern

Preventive actions for the decontamination of the outer surface of vials

After filling the vials are immediately cleaned in a fully automatic decontaminating machine (DAR from Seidenader, see fig. 1) connected with the filling plant. In this machine the outer surface of each vial is washed/rinsed with water and dried subsequently.

The decontamination procedure has been validated using HPLC detection of the substances.

Washing station (fig. 1):

In the first starwheel of the decontamination machine the filled and sealed vials (coming directly from the filling machine) are washed from the shoulders downwards via a smooth, exactly dosed jet of water, avoiding uncontrolled spraying. For the decontamination of the bottoms of the vials, water is sprayed from beneath.

Rinsing station (fig. 2):

Immediately after washing the vials are rinsed from the shoulders downwards with purified water. Again the bottoms of the vials are rinsed by a nozzle from beneath. During this process the vials rotate about its axes to ensure complete rinsing of the glass surface.

page 1 of 3

EBEWE Pharma Ges.m.b.H. NfG.KG
A-4866 Unterach, Mondseestraße 11
Tel: +43 76 65 81 23 0 · Fax: +43 76 65 81 23 11
e-Mail: office@ebewe.com

ISO 9001:2000
Landes- als Handelsgericht Wels
Firmenbuch Nr. FN 216233 s
DVR: 0088731

Bankverbindungen (Banks):

Oberbank
Bank für OÖ. und Salzburg, Fil. Vöcklabruck
Kto. 191-4209/00, BLZ 15120
IBAN AT681512000191420900, BIC OBKLA22L

BA-CA AG, Fil. Salzburg
Kto. 0996-65101/00, BLZ 12000
IBAN AT19110000996510100, BIC BKLAUTWW

Raiffeisen Landesbank OÖ
Kto. 2.660.561, BLZ 34000 (EUR)
IBAN AT07340000002660561, BIC RZOOAT2L
Kto. 701-02.660.561, BLZ 34000 (USD)
IBAN AT0534000070102660561, BIC RZOOAT2L
Raiffeisen Zentralbank Österreich AG
Kto. 1-00.441.642, BLZ 31000 (EUR)
IBAN AT033100000100441642, BIC RZBAATWW
Kto. 70-50.441.641, BLZ 31000 (USD)
IBAN AT813100007050441641, BIC RZBAATWW

EBEWE Pharma



page 2 of 3

Pre-Drying / Drying (fig 3):

After rinsing residual water is removed by compressed air. The clean outer surfaces of the vials finally are dried by warm air.

Optical inspection:

In a further production step a 100% optical inspection of every single container is performed by qualified and trained production personnel.

Summary:

In account for all listed precautions taken the risk of a contamination on the outer surface is most improbable.

Best regards

EBEWE Pharma Ges.m.b.H. Nfg.KG

Dr. G. Berliz
Head of QA/QC

EBEWE Pharma Ges.m.b.H. Nfg.KG
A-4866 Unterach, Mondseestraße 11
Tel: +43 76 65 81 23 0 · Fax: +43 76 65 81 23 11
e-Mail: office@ebewe.com

ISO 9001:2000
Landes- als Handelsgericht Wels
Firmenbuch Nr. FN 216233 s
DVR: 0088731

Bankverbindungen (Banks):

Oberbank
Bank für OÖ. und Salzburg, Fil. Vöcklabruck
Kto. 191-4209/00, BLZ 15120
IBAN AT681512000191420900, BIC OBKLABT2L

BA-CA AG, Fil. Salzburg
Kto. 0996-6510/00, BLZ 12000
IBAN AT191100009966510100, BIC BKALATWW

Raliffeisen Landesbank OÖ
Kto. 2.660.561, BLZ 34000 (EUR)
IBAN AT07340000002600561, BIC RZOOAT2L
Kto. 701-02.660.561, BLZ 34000 (USD)
IBAN AT053400070102660561, BIC RZOOAT2L

Raliffeisen Zentralbank Österreich AG
Kto. 1-00.441.642, BLZ 31000 (EUR)
IBAN AT033100000100441642, BIC RZBAATWW
Kto. 70-50.441.641, BLZ 31000 (USD)
IBAN AT613100007050441641, BIC RZBAATWW

EBEWE Pharma



page 3 of 3

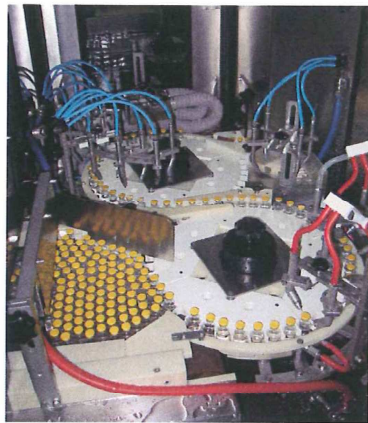


fig. 1: Processing Chamber of Decontamination machine (DAR Seidenader),

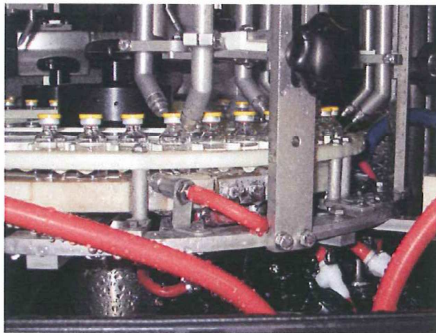


fig. 2: Washing and Rinsing of Containers



fig. 3: Removal of residual water by pressurized air.

EBEWE Pharma Ges.m.b.H. Nfg.KG
A-4866 Unterach, Mondseestraße 11
Tel: +43 76 65 81 23 0* - Fax: +43 76 65 81 23 11
e-Mail: office@ebewe.com

ISO 9001:2000
Landes- als Handelsgericht Wels
Firmenbuch Nr. FN 216233 s
DVR: 0088731

Bankverbindungen (Banks):

Oberbank
Bank für OÖ. und Salzburg, Fil. Vöcklabruck
Kto. 191-4209/00, BLZ 15120
IBAN AT681512000191420900, BIC OBKLAT2L

BA-CA AG, Fil. Salzburg
Kto. 0996-6510/00, BLZ 12000
IBAN AT191100009966510100, BIC BKALJATWW

Raiffeisen Landesbank OÖ
Kto. 2.660.561, BLZ 34000 (EUR)
IBAN AT07340000002660561, BIC RZOOAT2L
Kto. 701-02.660.561, BLZ 34000 (USD)
IBAN AT053400070102660561, BIC RZOOAT2L
Raiffeisen Zentralbank Österreich AG
Kto. 1-00.441.642, BLZ 31000 (EUR)
IBAN AT033100000100441642, BIC RZBAATWW
Kto. 70-50.441.641, BLZ 31000 (USD)
IBAN AT813100007050441641, BIC RZBAATWW

Pfizer



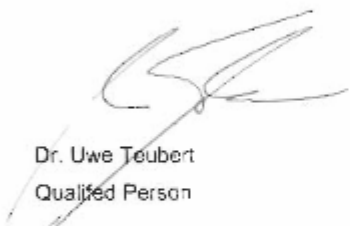
November, 2007

Declaration

Subject: Amsidyl

This is to declare that to avoid external contamination of Amsidyl manufactured by hameln pharma, a procedure is in place.

Anyway safety regulation for Amsidyl handling should be followed by the user.



Dr. Uwe Teubert
Qualified Person

Pfizer



January, 2006

Pfizer Italia S.r.l.
20014 Nerviano (MI) • Viale Pasteur, 10
Tel. +39 0331 58 3111 • Fax +39 0331 58 3455 • www.pfizer.it
Società diretta e coordinata da Pfizer Holding Italy S.p.A.
Stabilimento di Nerviano

Pfizer Global Manufacturing

DECLARATION

Subject: Cytotoxic Products

This is to declare that to avoid external contamination of Cytotoxic vial manufactured by Nerviano Plant, a procedure is in place.

Anyway safety regulation for cytotoxic handling should be followed by the user.

Site Quality Operations Leader - Nerviano Plant


Dr. Maria Cristina Ragusa

Capitale Sociale € 175.501.800.000 i.v.
Part. IVA 0170173591
Cod. Fisc. e Registro Imposte - Latina 0692/020157
R.L.A. Latina n. 110637
Sede Legale • 04100 Borgo S. a. Michelangelo (Latina) • S.S. 136 Km. 30
Sede Amministrativa • 00188 Roma • via Volturniana, 118

Pfizer



Pfizer (Perth) Pty Limited
ABN 32 051 624 956
15 Reside Hall Drive, Bentley WA 6102 Australia
PO Box 1007, Bentley Delivery Centre WA 6983 Australia
Tel 618 9362 0656 Fax 618 9472 8577
www.pfizer.com.au

Pfizer Global Manufacturing

04 October 2006

Pfizer France SA
23-25 avenue du Docteur Lannelongue
F-75688 Paris Cedex 14
France

TO WHOM IT MAY CONCERN

QUALITY ASSURANCE OF PFIZER PERTH ONCOLOGY PRODUCTS IN CYTOSAFE[®] FORMAT

Introduction

The information enclosed is in response to your request for further information regarding steps taken to ensure there is no residual contamination to the exterior of our oncology vials during the manufacturing process. Whilst we do not have conclusive data on levels of external vial contamination of Pfizer (Perth) products, we are not aware of any external vial contamination issues in respect of our products.

Steps taken in the manufacturing process to minimise/eliminate such external contamination of vials:

Design

The CytoSafe[®] oncology range of products manufactured at the Company's manufacturing site in Perth, Western Australia, are aqueous ready-to-use solutions aseptically filled into specially designed break resistant polypropylene plastic vials.

The ready to use solutions eliminate the need for reconstitution and hence reduce the risk of aerosolisation. In addition the CytoSafe[®] vial is significantly more resistant to breakage than glass reducing further the risk of accidental exposure to cytotoxic contamination from vial breakage during manufacture, transit, and handling of the finished product.

The outer secondary container, the CytoSafe[®] shipper has also been specifically designed for the cytotoxic range of products (the shipper meets the Australian Dangerous Goods Code standard: Packaging Group II) to further protect the product during transport and handling throughout the distribution chain. We continue to ensure that all packaging is clearly labelled to ensure that all personnel in the delivery chain are aware of the cytotoxic contents and how best to handle the product. Detailed handling precautions including requirements for personal protective equipment and information on spill clean up/disposal, are included in all Product Information and educational literature provided to personnel in the delivery chain, in particular to health workers.

Measures taken during the Manufacturing Process

Various measures are taken within the existing production processes at Pfizer (Perth) Pty Limited to minimise/eliminate the potential for external contamination of the finished product to ensure the safety of staff, distributors/intermediaries, and the health professionals handling the product.

Measures taken during the Filling Process

i) Process controls and Engineering design:

- For each vial size, validated minimum and maximum filling speeds have been established and specified in Standard Operating Procedures for the Vial Filler in consideration of operational performance, fill tolerances and spill/splashing minimisation. The process employed by Pfizer Perth's filling machine is such that each vial is filled in one action via one filling needle, specifically designed to prevent product foaming during filling. In addition, the dosing system used specifically prevents product from being dripped from the needles between each vial as they are filled. These processes together greatly reduce the opportunities for external contamination of vials to occur.
- In the highly unlikely event of a spill, the filling machine has also been engineered to contain and minimise the spread and impact of any contamination.

ii) Spill, detection and clean-down:

In the rare event of a liquid spill within the filling zone, the filling process is stopped and the area cleaned immediately by the filling room operator according to Standard Operating Procedures. Containment and cleaning of the entire area is performed, the contaminated vial is rejected and a line clearance undertaken to reject all nearby vials. The operator ensures that all traces of the spill are removed from the surfaces of the equipment. At the conclusion of batch filling, the equipment is de-natured with appropriate neutralising solutions and equipment fully cleaned as per Company procedures.

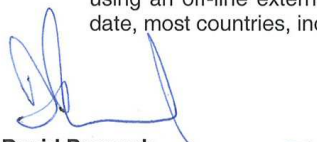
Measures taken Post - filling operation

i) In-line inspection of filled vials:

Immediately after the filling, stopper and crimp application processes are completed within the clean room, the vials exit by conveyor to the packing hall through a port, wherein a 100% visual inspection is performed by certified operators. In the unlikely event a vial with external contamination leaves the closely monitored filling environment, further inspections and procedures for dealing with the situation are in place with appropriately trained staff.

ii) Vial Washing:

In addition to the stringent controls existing within the facility, external vial washing using an off-line external vial washing machine can be performed on request. To date, most countries, including Ireland, have not requested this additional process.



David Peacock
Quality Operations Site Leader
Pfizer (Perth) Pty Limited

Teva



Measures to reduce outside contamination

Introduction

Health care professionals involved in preparation and administration of hazardous drugs are concerned about exposure to these drugs and the potential adverse health effect resulting.

Although safety precautions like the use of protective clothing and strict adherence to protocols on handling of hazardous drugs are common, environmental contamination with and exposure to such drugs is still reported in literature.

Hospital workers handling hazardous drugs demand that preventative measures are taken to avoid health risks from occupational exposure to these drugs. The preventative measures should include a review for possible unintentional releases of the drug into the working environment. The possibility of contamination on the outside of containers should be considered as part of this evaluation.

Appropriately designed studies should be performed to demonstrate that these drugs come in vials that are essentially free from outside contamination.

Outside contamination

Outside contamination of hazardous drug vials has been reported both in Europe and the US. The sources of this contamination are not well understood, but several potential sources have been suggested.

Vials with liquid drug solutions are filled via a filling needle that is lowered in the empty drug vial. After the proper amount of drug is injected into the vial, the flow of liquid stops and the filling needle is retracted. With improper adjustment of the filling equipment, a drop of drug solution may fall from the needle and contaminate the outside of a vial.

Also, aerosols of the drug solution may be present in the filling room. Handling of vials with contaminated gloves can be another source of contamination. Other more obvious causes of outside contamination include breakage of vials after filling, during capsulation and during transport or storage.

Manufacturers must ensure that outside contamination is minimized by preventing drug to spill on the surface of the vial during the entire manufacturing process. Decontamination of the vials (a process step in which vials are rinsed with solvent to remove potentially present residual contamination) provides assurance that the level of contamination is consistently low.

What are the amounts of substance found as outside contamination of hazardous drug vials? As a result of the decontamination procedures used at Teva's Pharmachemie plant in Haarlem, the amount of outside contamination is very low and can only be detected with very sensitive methods. Currently the traces found are in the nanogram (10^{-9} gram) range. This means that the amount on the outside is one millionth of the content (mg's) of the vial.

It is not known what the effects of exposure to such small amounts of hazardous drugs are, and what the risk is for health care professionals handling these drugs. Obviously it would be unethical to study this by deliberate exposure and assessment of the effects.

Teva acknowledges its responsibility to help minimize the risk of exposure to hazardous drugs, both for its own personnel as well as for health care workers that handle Teva products.

Teva



TevaGuard features and benefits

Purpose of TevaGuard

TevaGuard aims to increase safe handling of hazardous drugs.

TevaGuard is a transparent protective cover that is applied over Teva's oncology product vials manufactured at the Pharmachemie plant in Haarlem, the Netherlands.

The purpose of TevaGuard is to offer protection against exposure of health care workers to potential outside contamination on vials of hazardous drugs.

It also offers protection in case of vials being accidentally dropped on the floor in which case TevaGuard helps to minimize the damage of spills of glass and hazardous substances.

Production process

In the production process of injectable oncology products at Pharmachemie, the vials are filled with the product and subsequently closed with a rubber stopper and aluminum cap.

Next, the outside of the vials are decontaminated by a washing process.

After decontamination, a TevaGuard bottom part is placed under the vial, and the TevaGuard sleeve is put over the vial's body. By a shrinking process, the sleeve is crimped tightly around the vial body.

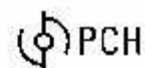
Material specifications

The sleeve and bottom part can be made of PVC (polyvinylchloride) or PET (polyethylene terephthalate). The thickness is in the decamicron range.

TevaGuard features and benefits

TevaGuard features	TevaGuard benefits
<ul style="list-style-type: none">• covers vial from top to bottom	<ul style="list-style-type: none">• optimal protection against outside contamination
<ul style="list-style-type: none">• fully transparent	<ul style="list-style-type: none">• enables visual inspection of contents
<ul style="list-style-type: none">• tightly shrunk around vials	<ul style="list-style-type: none">• no extra storage space• no extra, bulky hospital waste• vial handling unchanged (no new instructions needed for opening or using spikes)

Teva



SLEEVED VIALS

Influence of sterilisation with per acetic acid or peroxide on the quality of injection vial sleeves

Summary

The colour and structure of sleeves that were sterilised with per acetic acid or peroxide were compared with the colour and structure of unsterilised sleeves both visually and microscopically. From the comparison it can be concluded that sterilisation of sleeved injection vials with per acetic acid or peroxide has no influence on the quality of the sleeves.

Introduction

Sleeved injection vials are sterilised before use by different institutions. The sterilisation process is performed by treating the outside of the sleeved vials with per acetic acid or peroxide. Argenteuil Hospital and Gustave Roussy Institute use the former method while Biogal uses the latter method.

The before mentioned institutions have requested PCH Pharmachemie to examine if sterilisation of the outside of the sleeved vials with per acetic acid or peroxide has any influence on the quality of the sleeves. The colour and structure of sterilised and unsterilised sleeves are compared both visually and microscopically in order to assess if sterilisation with per acetic acid or peroxide alters the quality of the sleeves.

Test procedure

Compare sterilised sleeves from 10, 50 and 100 mL vials, filled with WFI, from Argenteuil Hospital, Gustave Roussy Institute and Biogal with an unsterilised sleeve.

- Examine the colour of the sleeves visually.
- Examine the sleeves under a microscope and take photos from the acquired images.

Performance

The tests were performed in accordance with the test procedure.

As reference material the sleeve of an unsterilised vial was used. The microscope was adjusted to an enlargement of 10x/1.25x/2.5x. A piece of sleeve was cut from the vial, examined under the microscope and the acquired images were photographed.

Results

Visually no colour difference is observed between the sleeves that have been sterilised with per acetic acid or peroxide and the sleeves that have not been sterilised. Microscopic comparison of the sleeves did not show any difference in structure between the sterilised sleeves and the unsterilised sleeve. Photos that were taken of the microscopic images of the sterilised sleeves are presented in attachment I, II and III. The relatively large 'spots' on some of the photos are caused by (non product related) particle contamination of the sleeve. One or more of the photos in attachment I, II and III could give the impression that the sterilisation of the vials has influence on the structure of the sleeves. However, additional photos of an unsterilised reference sleeve, which are presented in attachment IV, show that this is not the case.

Conclusion

Sterilisation of sleeved injection vials with per acetic acid or peroxide has no influence on the quality of the sleeves.

ANNEXE V : Fiche technique Tinopal CBS-X

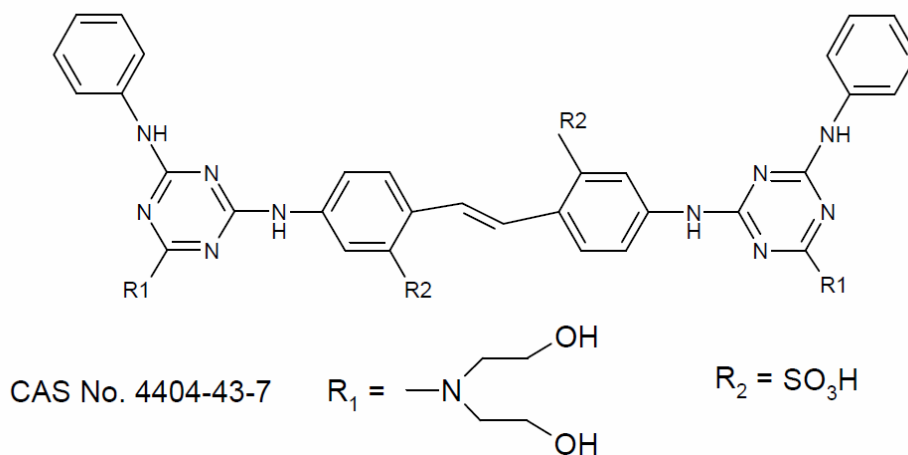


Figure 1 : Molécule de Tinopal CBS-X

Nom :	Tinopal CBS-X, Brightener 28
Formule brute :	$\text{C}_{40}\text{H}_{44}\text{N}_{12}\text{O}_{10}\text{S}_2$
Masse molaire :	916.98 g/mol.
Solubilité :	80 g/l
LogP :	3.23 (logiciel EPIWIN)
λ Absorbance Max :	365nm
λ Emission Max :	435nm

Sécurité

Risque	36 : Irritant pour les yeux
Sécurité	26 : Toxique par inhalation

ANNEXE VI : Protocoles de contamination

PROTOCOLE DE CONTAMINATION

TYPE A - Flex

Manipulations

Introduire environ 1g de glucose par flacon
Refermer chaque flacon avec capsule et septum
Sprayer une solution de Tinopal CBS-X 0,25g/l dans l'alcool I 94% à environ 15cm du flacon à l'aide d'un spray à poire pour révélateur CCM, ceci à raison de 4 sprayages sur chacun des 4 flancs du flacon. Cette opération est répétée 4 fois. (total, 4x4x4 coups de spray)
Laisser sécher les flacons dans un courant d'air (chapelle).
Conditionnez les flacons dans un emballage carton 10x10ml pour ampoules avec une feuille de papier pliée sur le bouchon simulant la notice d'emballage.
Coller une étiquette " Chimio_Placebo_A 1000mg– lot : SIMxxxxxA " sur la boîte.

PROCOLE DE CONTAMINATION

TYPE B - seringue

Manipulations

Dans environ 20ml d'eau, ajouter une pointe de spatule de rouge carmin
Introduire 3ml de cette solution chaque flacon 10ml
Refermer chaque flacon avec capsule et septum
Sprayer une solution de Tinopal CBS-X 0,25g/l dans l'alcool I 94% à environ 15cm du flacon à l'aide d'un spray à poire pour révélateur CCM, ceci à raison de 4 sprayages sur chacun des 4 flancs du flacon. Cette opération est répétée 4 fois. (total, 4x4x4 coups de spray)
Laisser sécher les flacons dans un courant d'air (chapelle).
Conditionnez les flacons dans un emballage carton 5x2ml pour ampoules avec une feuille de papier pliée sur le bouchon simulant la notice d'emballage.
Coller une étiquette " Chimio_Placebo_B 30mg – lot : SimxxxxxxB " sur la boîte

ANNEXE VII : Quantification UV de la charge de Tinopal déposée

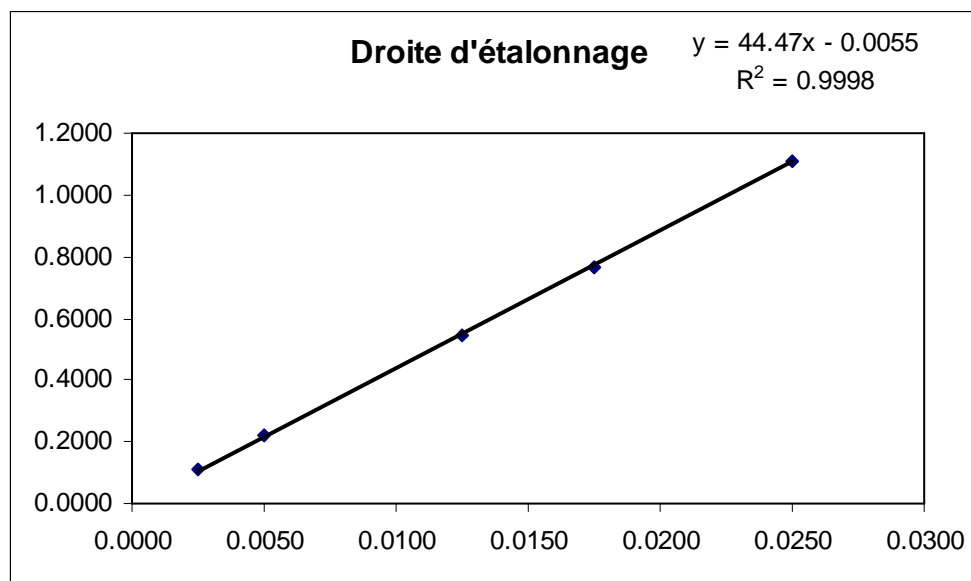


Figure 1 : droite d'étalonnage Tinopal CBS-X dans EtOH 94%, $\lambda=355\text{nm}$

Résidus après sprayage (4x4x4 sprays) d'un solution de Tinopal CBS-X 0.25g/l dans l'éthanol 94% :

Tableau 1 : Charge de Tinopal sur fioles 100ml

Fioles	Absorbance [UA]	Concentration [g/l]	Qté [µg]
1	0.9021	0.02016	242
2	0.8349	0.01865	224
3	0.8875	0.01983	238
Moyenne			235
Ecart-type			10
CV			4%

Tableau 2 : Charge de Tinopal sur fioles 10ml

Fioles	Absorbance [UA]	Concentration [g/l]	Qté [µg]
1	0.8013	0.01790	72
2	0.8923	0.01994	80
3	0.8252	0.01843	74
Moyenne			75
Ecart-type			4
CV			6%

ANNEXE VIII : Exemples de protocole de simulation

Essais ouverts

PROTOCOLE DE SIMULATION

TYPE A – "Chimio_Placebo_A" - Flex

Date : Préparatrice : Essai n°:
But : Détermination sites et quantités Cytobox : Q010 Q011

Prescriptions particulières

- **Enlever les étiquettes des flacons de NaCl**
- **Ne pas mettre les emballage cartons dans le kit**
- **Ne pas coller d'étiquettes sur les emballages finaux et sur les soldes**
- **A la fin, isoler les flacons de chimio placebo en les mettant dans une gaine**
- **Ne pas garder les chiffons du nettoyage final de l'isolateur**
- **Ne pas mettre les emballage cartons dans le kit**

Manipulations

Reconstituer 2 flacons " Chimio_Placebo_A Conc perf 1000mg " (lot SIM090409A) avec respectivement 20ml Eau ppi (de Eau ppi 100ml Miniflac B.BRAUN)
Prélever 22,7ml NaCl 0.9% du 1er 100ml PP Ecobag pour atteindre le volume final exact
Prélever 13ml du 1 ^{er} flacon " Chimio_Placebo_A 1000mg " (lot SIM 090409A)
Injecter toute la solution mère (13ml) dans le 100ml PP Ecobag NaCl 0,9%
Coller l'étiquette sur le 100ml PP Ecobag
Prélever 22,7ml NaCl 0.9% du 2e 100ml PP Ecobag pour atteindre le volume final exact
Prélever 7ml (le tout) du 1 ^{er} flacon " Chimio_Placebo_A 1000mg " (lot SIM090409A)
Prélever 6ml du 2 ^e flacon " Chimio_Placebo_A 1000mg " (lot SIM090409A)
Injecter toute la solution mère (13ml) dans le 100ml PP Ecobag
Coller l'étiquette sur le 100ml PP Ecobag

Essais ouverts

PROTOCOLE DE SIMULATION

TYPE B - "Chimio_Placebo_B" - seringue

Date : Préparatrice : Essai n°:

But : Détermination sites et quantités Cytobox : Q010 Q011

Prescriptions particulières

- **Enlever les étiquettes des flacons de NaCl**
- **Ne pas mettre les emballage cartons dans le kit**
- **Ne pas coller d'étiquettes sur les emballages finaux et sur les soldes**
- **A la fin, isoler les flacons de chimio placebo en les mettant dans une gaine**
- **Ne pas garder les chiffons du nettoyage final de l'isolateur**
- **Ne pas mettre les emballage cartons dans le kit**

Manipulations

Remplir chaque seringue 20ml PP BD avec respectivement 18,0ml NaCl 0,9%
Prélever 2,0ml du 1er flacon " Chimio_Placebo_B 30mg " (lot Sim090409B)
Injecter toute la solution mère (2,0ml) de la seringue dans la 1ère seringue 20ml PP BD
Coller l'étiquette sur la seringue PP BD
Prélever 1,0ml (le tout) du 1er flacon " Chimio_Placebo_B 30mg " (lot Sim090409B)
Prélever 1,0ml du 2e flacon " Chimio_Placebo_B 30mg " (lot Sim090409B)
Injecter toute la solution mère (2,0ml) de la seringue dans la 2e seringue 20ml PP BD
Coller l'étiquette sur la seringue PP BD

ANNEXE IX : Consignes générales

CONSIGNES GENERALES POUR LES SIMULATIONS

- Réaliser la préparation en dernier, à la fin de la journée
- Réaliser la préparation isolée des autres préparations de routine
- Dans la mesure du possible, ne pas mélanger les déchets des simulations avec ceux du travail de routine. Le cas échéant le signaler.
- Mettre une 2^e paire de gants sur la 1^{ère} paire juste avant de commencer la préparation
- Changer la poubelle dans le cytoebox
- Changer la paire de gants dans l'isolateur
- Changer le champ stérile
- Appliquer les prescriptions de chaque essai
- Remplir le protocole de simulation
- Signaler tout imprévu ou déviation

ANNEXE X : Montage lampe-appareil photo pour quantification

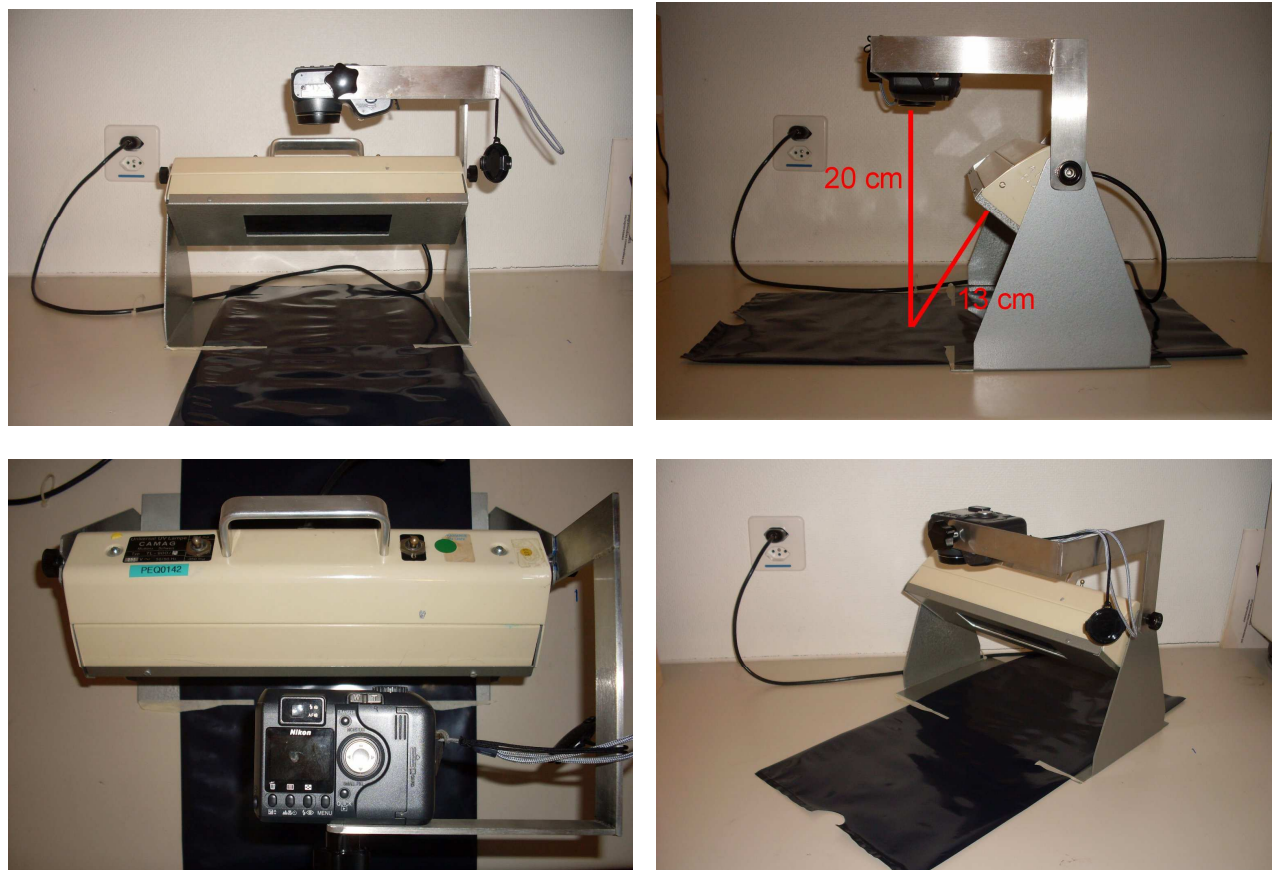


Figure 1 : Vue de face, de côté, de haut et de ¾ du montage

ANNEXE XI : Réglages photographiques

Environnements :	Chambre noire ou locaux éteints
Appareil :	Nikon COOLPIX 885
Mode :	Manuel
Mode chromatique :	Noir/Blanc
Ouverture :	Maximale
Sensibilité :	équivalent ISO 400
Temps d'exposition :	Champ : 1/8s Latex : 1/4s Plastique : 2s
Distance à l'appareil :	20cm (fixe)
Source UV :	Camag Universal UV Lampe 350nm TL-900V, Muttenz, Suisse
Distance de la source UV :	13cm (fixe)
Flash :	Non
Zoom :	Non
Autofocus :	Oui
Filtre UV :	Verre polycarbonate

ANNEXE XII : Validation de la méthode quantification

La méthode de quantification par mesure de l'intensité de la fluorescence par imagerie numérique a été validée d'après les recommandations du guide de la SFSTP et selon des critères arbitraires jugés suffisant pour les objectifs de l'étude.

La méthode a été validée sur 3 types de surface différents, ayant chacun des propriétés optiques différentes et représentatives des objets trouvés dans l'environnement de travail de l'unité.

La méthode a été validée à titre indicatif sur les critères suivants : fonction de réponse, limite de détection, répétabilité, fidélité intermédiaire, justesse et exactitude.

Fonction de réponse

La réponse analytique après traitement des images est le score moyen. Une relation logarithmique de ce score en fonction de la quantité de traceur par unité surface présente le meilleur coefficient de corrélation pour une courbe à 5 points (2.5, 0.125, 0.075, 0.0375, 0.025 µg déposé), pour chaque type de surface. Le tableau & donne les paramètres a et b de la fonction $y=a\text{Log}(x)+b$.

Tableau 1 : Fonction de réponse

Surface	Répétition	a	b	R ²
Plastique	1	1.1091	0.7967	0.9903
	2	1.1426	0.7445	0.9962
	3	1.2308	0.6310	0.9744
Latex	1	0.9897	1.591	0.9812
	2	1.1296	1.5960	0.9954
	3	1.1999	1.3510	0.9910
Champ	1	1.0277	2.9807	0.9639
	2	1.1599	2.7682	0.9568
	3	1.1648	2.9057	0.9617

Répétabilité et fidélité intermédiaire

La répétabilité a été évaluée sur 3 standards de validation (2.5, 0.75, 0.25µg déposés) le même jour. La fidélité intermédiaire a été évaluée sur 3 jours, à raison de 3 répétitions par jour.

Tableau 2 : Répétabilité et fidélité intermédiaire

Surface	Standard	Répétabilité		Fidélité intermédiaire	
		Ecart-type [µg]	CV [%]	Ecart-type [µg]	CV [%]
Plastique	2.5	0.2378	8.8	0.4383	16.5
	0.75	0.0611	10.1	0.0620	10.3
	0.25	0.0605	17.6	0.0729	20.4
Latex	2.5	0.3072	12.5	0.446	18.3
	0.75	0.0729	9.6	0.0836	11.1
	0.25	0.0805	30.7	0.0897	31.9
Champ	2.5	0.1469	6.4	0.1988	8.5
	0.75	0.0508	6.7	0.0630	8.2
	0.25	0.0097	3.7	0.0323	12.8

Justesse

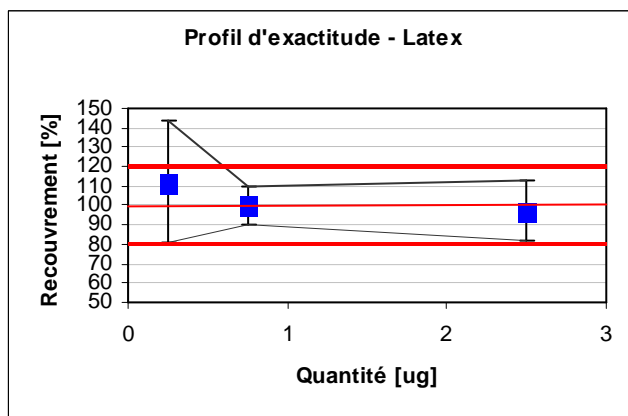
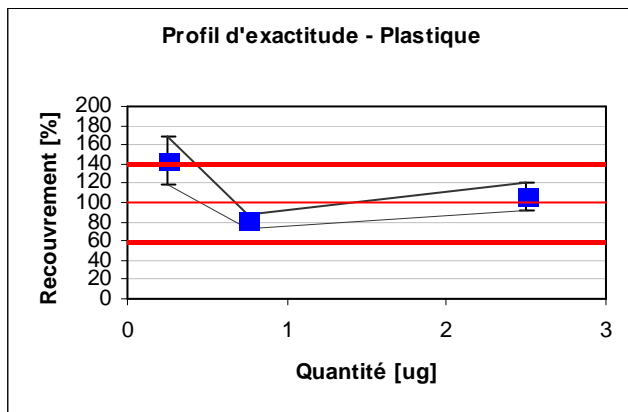
La justesse a été évaluée en comparant le recouvrement en pourcent de 3 standards de validation (2.5, 0.75 et 0.25µg déposés).

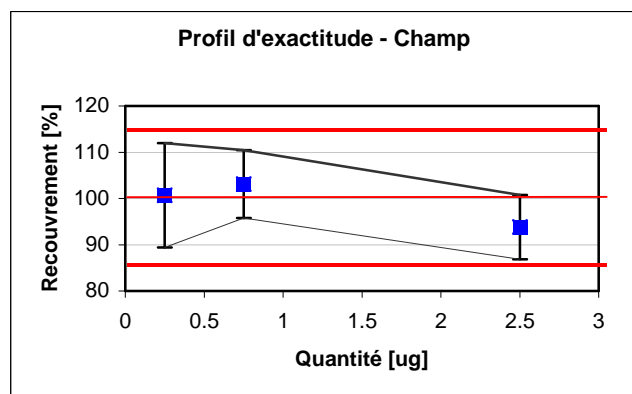
Tableau 3 : Justesse

Surface	Quantité déposée [µg]	Quantité mesurée [µg]	Erreur absolue [µg]	Erreur relative [%]	Recouvrement [%]
Plastique	2.50	2.65	0.15	6%	106%
	0.75	0.60	-0.15	-20%	80%
	0.25	0.36	0.11	43%	143%
Latex	2.50	2.43	-0.07	-3%	97%
	0.75	0.75	0.00	0%	100%
	0.25	0.28	0.03	12%	112%
Champ	2.50	2.35	-0.15	-6%	94%
	0.75	0.77	0.02	3%	103%
	0.25	0.25	0.00	1%	101%

Exactitude

Les profils d'exactitude ont été tracés sur la base des validations de la fidélité intermédiaire.





Vu le but indicatif de cette quantification et dans la mesure où elle n'est utilisée que pour mettre en évidence des réductions importantes de quantité mesurée, les profils d'exactitude ainsi que les paramètres de répétabilité et de fidélité intermédiaire ont été jugés acceptables dans le cadre de cette étude.

Seuil de détection

Il est plus judicieux d'exprimer le seuil de détection en niveau de gris qu'en quantité/surface. Pour les trois surfaces, l'arrière-plan des images se confond avec la fluorescence en dessous du niveau de gris 60.

Domaine de quantification

Le domaine de quantification est virtuellement infini en terme de quantité, et donc impossible à déterminer. En terme de quantité/surface, le tableau 4 donne les bornes inférieures et supérieures selon le score minimal de 1 et le score maximal de 5.

Tableau 4 : Domaine de quantification

Surface	Seuil inférieur [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]	Seuil supérieur [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]
Plastique	1.12	28.50
Latex	0.70	29.82
Champ	0.17	7.84

Limites

La limite de cette méthode est la grande variété de surfaces rencontrées. Chaque objet a été affilié au type de surface le plus proche de ses qualités optiques. Cependant, l'exactitude n'est pas garantie, tout type de surface mesurée n'étant pas exactement de la même nature que ceux validés ici.

ANNEXE XIII : Types de traces

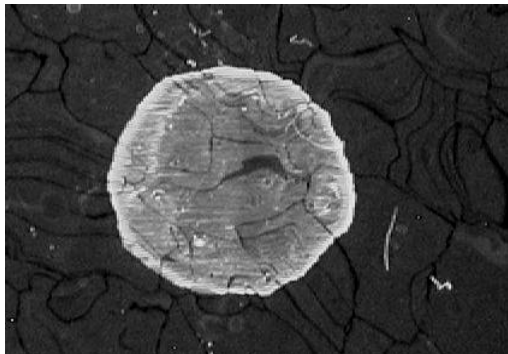


Figure 1 : Trace de type "goutte"

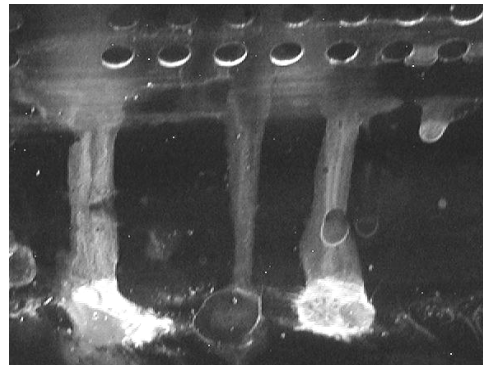


Figure 2 : Traces de type "coulures"

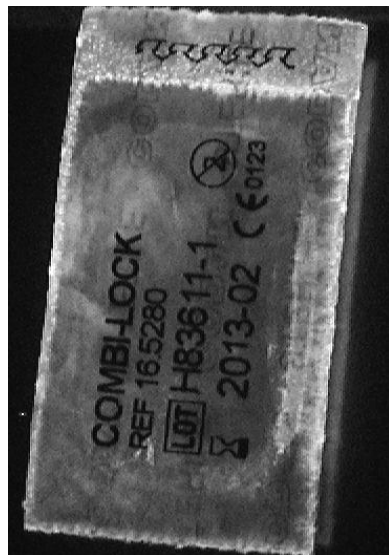


Figure 3 : trace de type "imprégnation"

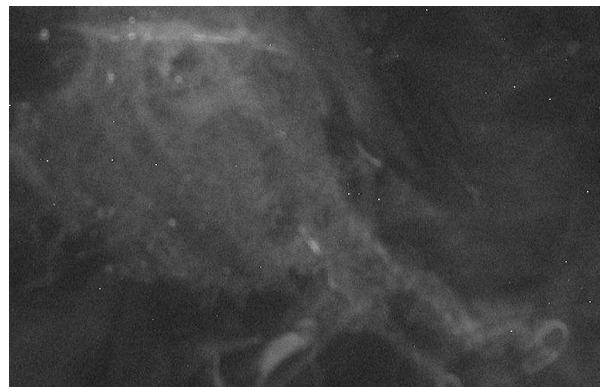


Figure 4 : trace de type dit "de contact"

ANNEXE XIV : Images de la contamination

Les figures présentées ici sont des montages réalisés avec un logiciel de retouche photographique à partir de plusieurs images de la contamination prises dans les locaux. Elles visent à restituer le rendu observé à l'œil nu lors de l'examen des locaux.



Figure 1 : Traces de Tinopal CBS-X sous UV – Montage photographique



Figure 2 : Traces de Tinopal CBS-X sous UV – Montage photographique

ANNEXE XV : Images des mesures correctives

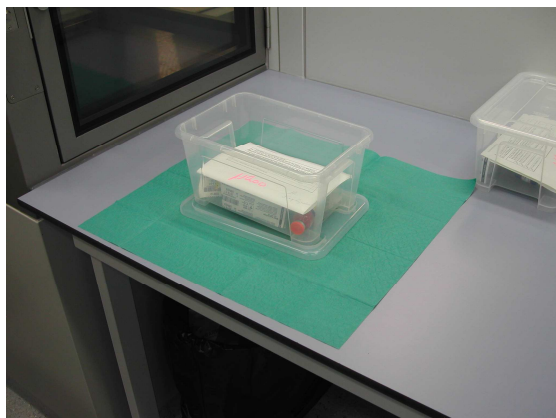


Figure 1 : Champ de protection sur la table de préparation

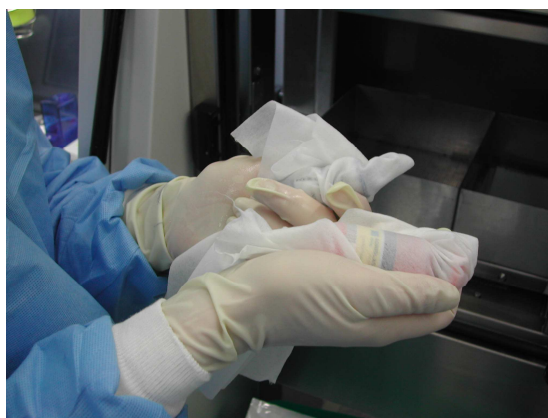


Figure 2 : Désinfection avec lingettes désinfectantes



Figure 3 Mise en place en premier des flacons de médicaments



Figure 4 : Mise en place du reste du matériel et isolement des flacons

ANNEXE XV : Bac à deux compartiments

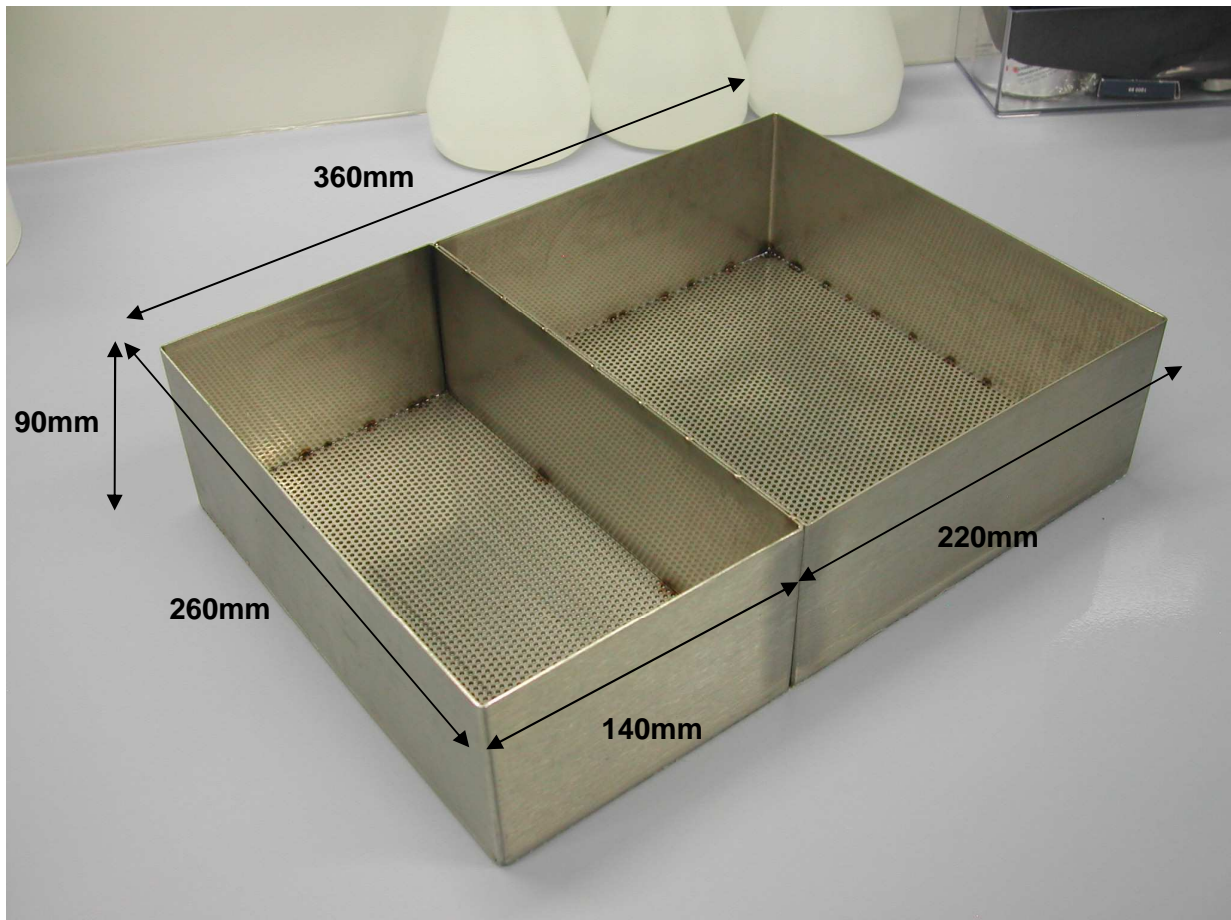


Figure 1 : Prototype de bac à deux compartiments