MODE OPÉRATOIRE

SECTEUR PHARMACEUTIQUE — BPF

Prélèvements bactériologiques en secteur pharmaceutique

1

CADRE

Objet, contexte et dispositifs de prélèvement

Objet

L'essai a pour but d'**évaluer et de maîtriser la biocontamination** (en activité) dans le cadre de l'application des technologies des salles propres, d'assurer une **surveillance cohérente** des zones à risque et d'appliquer les mesures de maîtrise adaptées au degré de risque concerné. La détection et la surveillance de la contamination microbienne de l'air s'effectuent en prélevant des **particules viables** à l'aide de dispositifs appropriés, selon un **plan d'échantillonnage**, pour une zone à risque après construction et au repos, et de façon régulière en fonctionnement normal.

Contexte réglementaire

- **NF EN ISO 14698-1 et -2** — maîtrise de la biocontamination (normes retirées, remplacées par la **NF EN 17141:2020**) À vérifier.
- **Décision du 27 octobre 2010** (AFSSAPS).
- **Bonnes pratiques de fabrication** du 1er octobre 2013.

Dispositifs de prélèvement

Par contact
Biocontamination des **surfaces**.

Par impaction
Biocontamination de **l'air**.

Dispositifs de prélèvement par contact

Boîtes contact ou tout dispositif permettant à un milieu nutritif, en récipient souple ou rigide, d'entrer en contact avec la surface à échantillonner. Surface de contact accessible **W = 20 cm²**. Le milieu est appliqué pendant quelques secondes, en exerçant une **pression uniforme et constante**, sans mouvement circulaire ni linéaire ; le dispositif est remis dans son conteneur et la surface échantillonnée est nettoyée pour éliminer tout résidu nutritif.

Reproduction et diffusion interdites

2 RÉALISATION
Échantillonneur, moment et matériel du prélèvement

Échantillonneur par impaction

- **a)** vitesse d'impact de l'air sur le milieu de culture : compromis entre une vitesse suffisante pour piéger les particules viables de taille supérieure à environ **1 µm**, et une vitesse assez faible pour préserver la viabilité (pas d'altération mécanique, pas de rupture des agrégats de bactéries ou de micromycètes) ;
- **b)** volume de prélèvement : compromis entre un volume suffisant pour détecter de très faibles niveaux de biocontamination et un volume assez petit pour éviter la dégradation du milieu ; en zone de biocontamination élevée, choisir la méthode et le volume de manière à obtenir des **colonies séparées**.
- Exigences minimales : débit suffisant pour prélever **1 m³** dans un laps de temps raisonnable sans dessèchement important du milieu ; vitesse d'impact appropriée.

Moment du prélèvement

Pour les prélèvements « en activité » (pharmacie, stérilisation, thérapie cellulaire) : dans les **conditions normales (optimales)** d'utilisation et d'occupation des locaux ; il convient d'en tenir compte pour l'interprétation des résultats.

Matériel

- **Biocollecteur** (avec certificat d'étalonnage en cours de validité — cf. **FMA-03A**) et tête(s) d'échantillonnage stérilisée(s) ou préalablement nettoyée(s)-désinfectée(s).
- Milieux gélosés : pour les **bactéries**, géloses type TSA, R2A, PCA ou autre milieu suivant référentiel ; pour les **champignons filamenteux**, gélose au malt, de Sabouraud ou autre milieu suivant référentiel.

Réalisation du prélèvement

Respecter les règles d'hygiène et de sécurité afférentes au lieu du prélèvement et au prélèvement lui-même (procédure d'accès, habillage, hygiène des mains, désinfection du matériel…).

Reproduction et diffusion interdites

3 RÉALISATION
Prélèvement avec un échantillonneur par impaction (biocollecteur)

Préparation préalable du matériel
Désinfection des mains par **friction hydro-alcoolique (FHA)** ; déposer les géloses dans un bac fermé préalablement nettoyé-désinfecté avec un détergent-désinfectant de surfaces.

Sur le lieu de prélèvement
FHA ; revêtir une **tenue conforme** au protocole d'habillage de la zone (tunique-pantalon, masque chirurgical, charlotte, sabots…) ; vérifier que l'installation à contrôler est **fonctionnelle** : différentiel de pressions (manomètre, affichage électronique…), à défaut **test de la feuille** (feuille aspirée par les bouches de reprise, repoussée par les bouches de soufflage et sous les portes) ; reporter sur la fiche de prélèvement ; réaliser une FHA.

Réalisation du prélèvement — méthode la plus couramment utilisée
Le prélèvement s'effectue **à hauteur de l'activité, tête vers le haut** : FHA des mains ; nettoyer-désinfecter le biocollecteur et le positionner sur une surface plane (chariot, table…) ou sur le trépied fourni ; placer la gélose ouverte dans son logement ; poser le couvercle de la gélose face externe sur le support ; visser la tête d'échantillonnage stérile ; mettre en marche l'appareil et régler le volume d'air à prélever à **1 m³** ; identifier le prélèvement et le déposer couvercle vers le bas dans le contenant de transport.

Gestes du prélèvement

1

Friction hydro-alcoolique des mains

2

Positionnement de la boîte de Pétri

3

Remise en place du crible

4

Appareil prêt pour la mesure

Reproduction et diffusion interdites

SUITE ET RÉSULTATS

4 Identification, transport et interprétation des résultats

Identification du prélèvement

Écrire seulement le **numéro d'échantillon**, en tout petit, sur un bord ou sur le fond de la boîte, et non sur le couvercle ; compléter la **fiche de prélèvement**.

Conditions de transport et délai d'acheminement

- Assurer la **survie des micro-organismes** collectés.
- Assembler les boîtes avec du ruban adhésif ou du Parafilm, ou utiliser des boîtes spécifiques.
- Positionner les **couvercles vers le bas** (condensation sur le couvercle).
- **Ne pas réfrigérer**.
- Délai d'acheminement : **24 heures maximum** à température ambiante, ou se référer aux conditions du laboratoire.
- Conditionnement évitant tout risque de contamination externe.



Boîte préparée pour le transport.

Interprétation des résultats

LIMITES RECOMMANDÉES DE CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE (VALEURS MOYENNES) — BPF 2013

Classe	Échantillon d'air (UFC/m³)	Boîte de Pétri Ø 90 mm (UFC / 4 h)	Gélose de contact Ø 55 mm (UFC/plaque)	Empreinte de gant, 5 doigts (UFC/gant)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	—
D	200	100	50	—

Lecture
Échantillon d'air en UFC/m³, boîtes de Pétri de 90 mm exposées 4 heures, géloses de contact de 55 mm, empreinte de gant à 5 doigts. Valeurs moyennes recommandées par l'annexe 1 des BPF 2013.

Reproduction et diffusion interdites