

**INTERLABOR  
BELP AG**

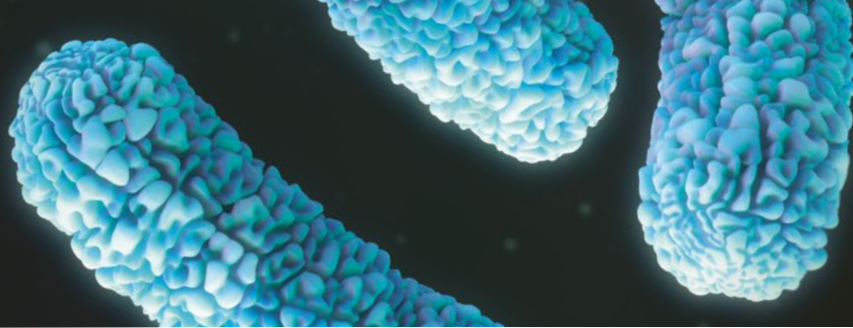
# **ANALYTICS**

N° 1  
Janvier 2020



Pharma 

**Objectionable  
microorganisms**



## Objectionable microorganisms

### Introduction

Une majorité des médicaments disponibles sur le marché est composée de produits pharmaceutiques non-stériles sous diverses formes galéniques, comme des crèmes, des sprays, des comprimés, des liquides ou des poudres. Comme leur nom l'indique, il n'est pas nécessaire que ces produits soient stériles. Toutefois, selon le domaine d'application, de strictes prescriptions sont imposées quant à leur charge microbiologique (bactéries, levures et moisissures) maximale. Ainsi par exemple, les produits à appliquer sur la peau doivent comporter selon les pharmacopées au maximum 200 UFC/g de bactéries aérobies mésophiles (TAMC; total aerobic microbial count) et au maximum 20 UFC/g de levures et de moisissures (TYMC; total yeasts and molds count)<sup>1</sup>. De plus, ils ne doivent pas contenir de bactéries potentiellement dangereuses des souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*<sup>1</sup>. Cela doit permettre d'empêcher que les patients qui utilisent le produit dans un but curatif contractent une infection due au médicament. Qu'en est-il toutefois des autres bactéries potentiellement dangereuses qui peuvent aussi être contenues dans le produit, mais dont la présence ne doit pas forcément être exclue par des analyses de laboratoire? Est-il possible de négliger la présence de bactéries détectées par les analyses de TAMC et TYMC tant qu'elles ne dépassent pas les

seuils de spécification? Que se passe-t-il si une analyse de recherche de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus* permet incidemment de détecter la présence d'autres bactéries? Les fabricants de produits pharmaceutiques devraient étudier ces aspects spécifiques aux processus et aux produits dans le cadre d'une évaluation des risques.

### Définition des «microorganismes indésirables» et de l'analyse de risque

Ce que l'on appelle les «microorganismes indésirables» n'est pas une catégorie précisément définie. Cela désigne d'une part des microorganismes dont la croissance ou la présence dans des produits non-stériles est dommageable au patient<sup>2</sup>. D'autre part, cela recouvre également les microorganismes pouvant influencer sur les propriétés physico-chimiques, fonctionnelles ou thérapeutiques du médicament<sup>2</sup>. En conséquence, différents microorganismes peuvent être concernés, selon le produit et sa destination. La bactérie fécale *Escherichia coli*, par exemple, n'est en principe pas critique dans une crème pour application cutanée, tant qu'elle n'influe pas sur le produit. Pour autant, une entreprise de production qui constaterait sa présence devrait tout de même contrôler d'où vient cette bactérie et comment elle est arrivée sur la ligne de pro-

Tableau 1:

Facteur de risque	Risque faible	Risque élevé
Qualité des matières premières	Matières premières stériles	Substances naturelles non transformées
Qualité de l'eau de processus	Eau pour injections (Ph. Eur. Mono. 0169)	Eau potable normale
Site de production	Remplissage stérile en isolateur	Vieux site de production
Air ambiant	Salle blanche avec air filtré par filtre HEPA	Air ambiant normal
Matrice du produit (composition)	<ul style="list-style-type: none"> <li>faible valeur <math>a_w</math></li> <li>pH inférieur à 3 ou supérieur à 9</li> <li>conservateurs</li> <li>présence d'antibiotiques, d'alcool, etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>valeur <math>a_w</math> élevée</li> <li>pH neutre</li> <li>tampon (forces ioniques physiologiques)</li> </ul>
Emballage	Cartouche à usage unique	Tubes de grands volumes qui seront ouverts plusieurs fois
Type d'utilisation	Maladies cutanées bénignes avec peau intacte	Inhalation, administration orale, injection, muqueuses
Utilisateurs	Adultes en bonne santé	Prématurés, enfants, personnes âgées, immunodéprimées, blessées, patients atteints de maladies fatales

duction ou dans le produit, afin d'endiguer le risque de contamination générale.

Puisque différents microorganismes sont considérés comme critiques selon le produit et la destination, il est impossible de définir des directives explicites. L'autorité de santé américaine FDA (Food and Drug Administration) prescrit ainsi seulement,<sup>3</sup>

- que des processus adaptés et documentés doivent être mis en place dans la production et observés pour prévenir la présence de «microorganismes indésirables» dans les produits non-stériles,
- que des analyses de laboratoire suffisantes doivent être effectuées sur chaque lot de produits devant être exempts de «microorganismes indésirables»,
- que chaque produit et son emballage ou le mécanisme de fermeture doivent être évalués en termes de risque microbiologique en ce qui concerne sa destination.

La FDA ne fournit toutefois pas de directives explicites au sujet de certains microorganismes qui ne doivent pas être présents dans un produit. Cela nécessite une analyse de risque autonome de la part du fabricant. Les pharmacopées indiquent pour cette raison aussi que dans certaines circonstances, d'autres microorganismes doivent être recherchés, en plus de leurs recommandations, selon le facteur de risque<sup>1</sup> (**tableau 1**).

Il est donc recommandé aux fabricants de produits pharmaceutiques d'observer la démarche suivante:

- **Action proactive:** procéder à une analyse de risque pour évaluer les microorganismes représentant un risque pour le produit concerné ou ses utilisateurs.
- **Action proactive:** procéder à une analyse de risque pour estimer les bactéries pouvant se trouver dans le produit en fonction des facteurs de risque (**tableau 1**).
- **Action réactive:** identifier les colonies formées présentes dans les analyses de laboratoire des matières premières et du produit fini ainsi que celles détectées par contrôle de l'environnement (eau de processus, air). Cela

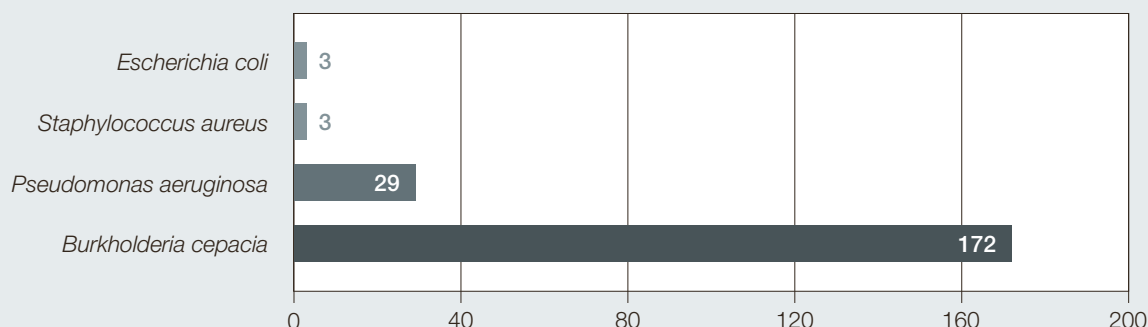
permettra de déterminer s'il se trouve parmi elles des «microorganismes indésirables» non pris en compte jusqu'alors, ou de remarquer si ce sont toujours les mêmes souches qui se retrouvent au fil du temps.

Sur la base des réflexions ci-dessus, il est possible de déterminer si un produit doit systématiquement être analysé à la recherche d'autres «microorganismes indésirables», permettant de compléter les prescriptions de la pharmacopée à ce sujet. Nous disposons à l'heure actuelle de techniques très efficaces pour ce faire. D'une part, la composition des biomolécules d'une colonie inconnue peut être déterminée par spectromètre de masse MALDI-TOF, et comparée par rapport à une base de données. D'autre part, les colonies peuvent être séquencées au niveau génétique, et la séquence de base peut également être comparée par rapport à des bases de données. Cela permet l'identification précise d'une multitude de microorganismes. Étant donné que les séquençages sont relativement coûteux, on procède généralement tout d'abord à une analyse par spectrométrie MALDI-TOF. Si cette première analyse ne donne pas de résultats, ou des résultats insuffisants, il est alors possible de procéder à un séquençage.

#### Exemple du «complexe *Burkholderia cepacia*»

Le complexe *Burkholderia cepacia* (CBC) décrit un groupe de différentes souches de *Burkholderia*, comme *Burkholderia cenocepacia* ou *Burkholderia multivorans*. Il s'agit d'un pathogène humain gram-négatif aérobie et opportuniste. Il est particulièrement dangereux pour les personnes immunodéprimées, les enfants, les personnes âgées et les patients souffrant de maladies pulmonaires. Les souches de CBC causent de graves infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose. C'est pour cette raison qu'elles ne doivent surtout pas être présentes dans les médicaments administrés par inhalation. De plus, les produits administrés par voie orale présentent aussi un risque lié à l'inhalation d'aérosols. Les contaminations par CBC ont déjà entraîné plusieurs cas de décès et de rappels de produits<sup>4</sup>.

#### 1 Rappels de produits de la FDA (1995 – 2019)<sup>5</sup>



La plupart des produits pharmaceutiques non-stériles ne sont pas encore régulièrement analysés spécifiquement à la recherche de souches de CBC, et les bactéries trouvées dans les analyses de laboratoire ne sont généralement pas identifiées. Il est ainsi possible qu'un produit affiche 50 UFC/g de bactéries aérobies mésophiles et qu'il soit mis en circulation sans identification de ces bactéries, puisqu'il respecte la valeur-seuil maximale de 200 UFC/g. Le produit pourra donc selon les circonstances contenir un «microorganisme indésirable», et n'aurait pas dû, selon sa destination, être mis sur le marché.

Par ailleurs, les bactéries listées systématiquement dans les pharmacopées et faisant obligatoirement l'objet d'une analyse sont rarement détectées. Elles sont toutefois étroitement surveillées en raison de leur histoire et de leur présence sur ces listes. À l'inverse, les contaminations par des microorganismes moins connus, ou totalement inconnus, sont moins remarquées. C'est pour cette raison que les statistiques qui portent sur les microorganismes qui entraînent des rappels de produits sont très intéressantes. Une évaluation par la FDA des rappels ayant eu lieu aux États-Unis entre 1995 et 2019 a montré que les bactéries typiquement recherchées, conformément aux pharmacopées, ne sont pas souvent présentes<sup>5</sup>: *Pseudomonas aeruginosa* (29 rappels), *Staphylococcus aureus* (3 rappels), *Escherichia coli* (3 rappels)<sup>5</sup>. À l'inverse, 172 rappels étaient dus à *Burkholderia cepacia*, qui n'est pas systématiquement recherchée. De très nombreux rappels ont eu lieu, en particulier au cours des 7 dernières années, à cause de *Burkholderia cepacia*, ce qui découle entre autres d'une plus grande sensibilisation des autorités, avec des analyses en conséquence plus ciblées. Il semblerait précisément que le CBC soit un problème plus important qu'il n'y paraissait jusqu'alors, et c'est pourquoi la pharmacopée américaine a introduit le 1er décembre 2019 une nouvelle méthode d'analyse spécifique au CBC<sup>6</sup>.

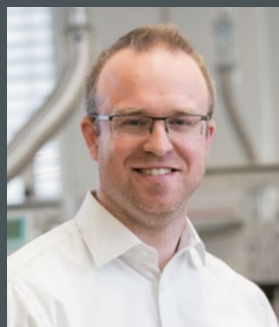
## Résumé

Les produits pharmaceutiques non-stériles peuvent contenir un certain nombre de microorganismes, mais pas de «microorganismes indésirables». Pour définir et contrôler ceux-ci, l'entreprise de production doit procéder à une analyse de risque poussée et le laboratoire de contrôle qualité doit faire des analyses complètes. C'est ainsi qu'il est possible d'empêcher les effets négatifs pour les patients et les pertes financières dues à des rappels de produits. □

## Références

1. Ph. Eur. (Pharmacopée européenne), version 10.0, chapitre 50104; harmonisée avec l'USP (Pharmacopée américaine), version 42 NF 37 2S, chapitre <1111>.
2. PDA (Parenteral Drug Association), technical report no. 67, 2014, Exclusion of Objectionable Microorganisms from Nonsterile Pharmaceuticals, Medical Devices, and Cosmetics.
3. FDA (U.S. Food and Drug Administration), Code of Federal Regulations, Title 21, §211.113, §211.165, §211.84
4. Cundell T., 2019, Excluding *Burkholderia cepacia* complex from aqueous, non-sterile drug products, *American Pharmaceutical Review*.
5. Jimenez L., 2019, Analysis of FDA Enforcement Reports (2012–2019) to Determine the Microbial Diversity in Contaminated Non-Sterile and Sterile Drugs, *American Pharmaceutical Review*.
6. USP (Pharmacopée américaine), version 42 NF 37 2S, chapitre <60>.

## Auteur



**Dr. Yannick Zimmermann**  
Directeur de la division Bioanalytique

# INTERLABOR BELP AG



### Interlabor Belp AG

Aemmenmattstrasse 16  
3123 Belp, Suisse  
Tél. +41 (0)31 818 77 77  
Fax +41 (0)31 818 77 78  
www.interlabor.ch  
info@interlabor.ch

### Heures d'ouverture

Du lundi au vendredi  
07.30 – 12.00 heures  
13.30 – 17.00 heures