



**Sylvie
GUYOMARD**
ACM Pharma
MicrobioPharma

sylvie.guyomard@acmpharma.com

Traitement des résultats hors spécification (OOS)

Le traitement des résultats hors spécification (OOS) en microbiologie diffère-t-il des OOS en physico-chimie ?
Non, même s'il est plus difficile de définir un résultat OOS en microbiologie et si quelques particularités existent, la démarche pour les traiter est très proche. Les quelques différences au niveau de la démarche portent sur la ré-analyse et/ou le re-contrôle parfois impossible, sur le fait qu'une contamination microbiologique par l'environnement de travail ne peut pas être exclue et que pour certaines analyses de produits finis comme l'essai de stérilité, la démarche à suivre pour traiter un résultat OOS est très précisément décrite dans les Pharmacopées.

Définition

Quelle définition peut-on donner d'un résultat hors spécification (OOS) en microbiologie ?

Le guide pour l'industrie de la FDA (Food and Drug Administration) « Investigating out of specification (OOS) test results for pharmaceutical production » publié en 2006, donne la définition suivante : « Tous les résultats suspects qui ne sont pas conformes aux spécifications ou aux critères d'acceptation établis dans les dossiers d'enregistrement (IND, NDA), dans les Pharmacopées ou par le fabricant sont des OOS.

En simplifiant, à partir du moment où une limite définie (que ce soit une spécification d'un dossier d'enregistrement, d'une pharmacopée ou une limite d'alerte/action) est dépassée sur un résultat microbiologique, ce résultat

est suspect et il doit y avoir des investigations sur ce résultat hors limite pour le confirmer ou l'invalider en cas d'erreur du laboratoire de microbiologie (contamination accidentelle, erreur de dilution ou de calculs...) Le terme « hors spécification » n'est donc pas approprié. Un terme plus approprié serait « résultat hors limite » que l'on pourrait traduire en anglais par OOL.

Le terme de OOS, bien qu'étant un terme anglo-saxon et non approprié parce que trop restrictif, sera néanmoins employé ici pour des raisons d'usage international. Cette définition va encore plus loin avec le terme de « suspect ». Est-ce qu'un résultat hors tendance rentre dans la définition d'un résultat OOS ? Prenons l'exemple du suivi d'une eau pour préparation injectable conditionnée (produit fini) par l'essai des endotoxines

bactériennes en méthode quantitative. Si l'eau PPI est de bonne qualité, le résultat des endotoxines bactériennes va donner un résultat autour de la limite de quantification de la méthode, par exemple 0,005 UE ou UI/mL pratiquement toute l'année. La spécification donnée par les Pharmacopées (USP et Ph Eur) pour ce type d'eau est <0,25 UE ou UI/mL. Le jour où le résultat de l'essai sera 0,10 UE ou UI/mL, il sera en dessous des spécifications, mais il sera néanmoins suspect car hors tendance (OOT) et devra faire l'objet d'une enquête comme un OOS. Avec cet exemple, on peut remarquer que la valeur du résultat est relative puisqu'il peut être OOT sur un site et non sur un autre.

Domaine d'application :

Cette définition est-elle suffisante ? Non car il faut définir son champ d'application. Le guide de la FDA

indique un champ d'application très large : Principes actifs, excipients, autres composants (par exemple contenant primaires), produits finis et contrôle en cours.

Le domaine d'application doit être clairement défini dans la procédure opératoire de traitement des résultats OOS.

Est-ce qu'un résultat supérieur à la limite d'action obtenu sur la numération des microorganismes aérobies viables totaux lors du suivi périodique d'une eau pharmaceutique est un OOS ? La réponse à cette première question est oui puisqu'une limite d'action est définie et la procédure opératoire du traitement des résultats OOS doit décrire les eaux vrac de fabrication dans le champ d'application.

Par contre si une analyse microbiologique est réalisée pour une meilleure connaissance du produit ou de l'environnement, il ne faut pas se fixer de limite même dite « interne ». Pour ce type d'analyse le résultat est noté et c'est l'ensemble des résultats accumulés pour ce produit qui permettra de

fixer les futures spécifications ou limite d'action, si ce paramètre s'avère critique.

De même, pour un test de développement, par exemple, la détermination de la concentration minimale efficace pour le choix de conservateur dans la formulation (essai d'efficacité de la protection antimicrobienne), on ne déclarera pas un OOS pour les concentrations inefficaces. Ces 2 analyses microbiologiques dans ce contexte seront hors du champ d'application de la procédure.

Traitement des résultats hors spécification :

Enquête de laboratoire

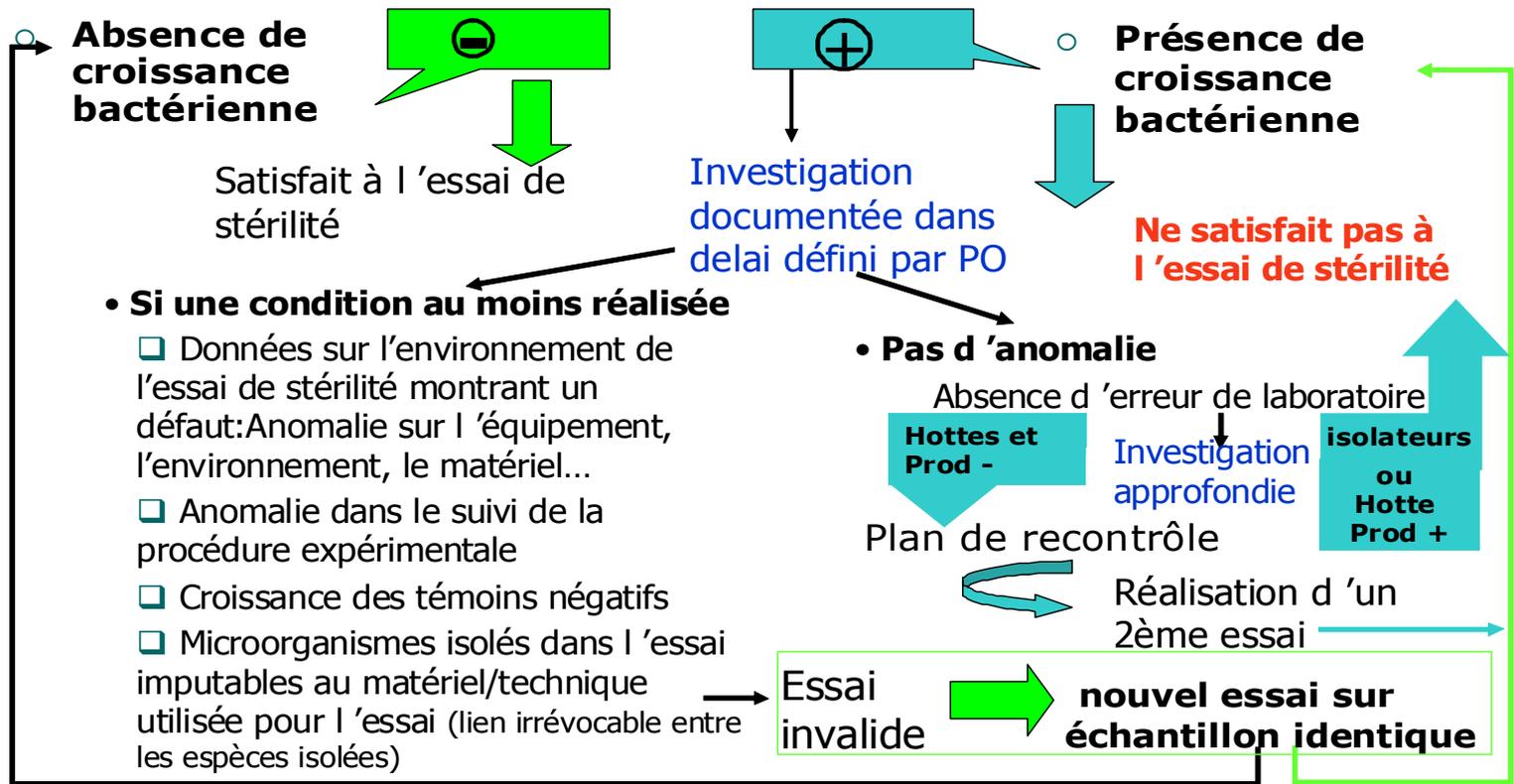
Dés prise de connaissance d'un résultat OOS en microbiologie, l'analyste doit informer son responsable et enclencher l'enquête au niveau du laboratoire pour déceler une éventuelle erreur de laboratoire. En microbiologie, avec les techniques traditionnelles basées sur la croissance microbienne, le résultat OOS n'est déclaré qu'au minimum 5 jours après la réalisation de l'analyse, ce qui ne facilite pas la recherche

d'une erreur de laboratoire. De plus une ré-analyse pour investigation est souvent impossible, l'échantillon prélevé n'étant pas forcément stable « microbiologiquement » dans le temps et une nouvelle opération de prélèvement ne donnera pas forcément un échantillon représentatif de celui initialement analysé.

- Si l'erreur de laboratoire est identifiée, le résultat obtenu est invalidé. Une ré-analyse de l'échantillon initial ou d'un prélèvement représentatif de l'échantillon initial est réalisée si c'est possible (produits microbiologiquement stables : produits finis par exemple). Seul le résultat de cette analyse sera pris en compte et l'OOS est clôturé.

L'investigation menée au laboratoire doit être documentée et doit montrer un lien de cause à effet entre la faute de laboratoire et le résultat OOS. Ce lien de cause à effet est décrit de façon explicite pour les essais de stérilité (Ph Eur 2.6.1- ICH) fig 1.

Figure 1



S'il est impossible de ré-analyser l'échantillon initial et si aucun nouveau prélèvement représentatif de l'échantillon initial ne peut être réalisé (biocharge avant filtration stérilisante), il sera impossible de donner un résultat à cette analyse et une déviation sera réalisée afin de justifier cette absence de résultat. L'utilisation de méthodes alternatives rapides permet une répétition de l'essai sur l'échantillon initial et la production d'un résultat.

Enquête approfondie

- Dans le cas où une erreur de laboratoire n'est pas identifiée, une enquête plus complète est réalisée à la source du produit en cause (fabrication du PA ou du PF, système de production d'eau, locaux etc..) mais aussi au niveau des maintenances des équipements de fabrication où des locaux de manière à trouver l'origine de ce résultat OOS. Cela implique une équipe pluridisciplinaire : Microbiologie, Contrôle Qualité, Assurance Qualité, Fabrication pharmaceutique et Maintenance.
- Si cette enquête approfondie arrive à trouver un lien entre le résultat OOS et une erreur au niveau de la production, l'OOS est confirmé et la décision de libérer le lot de produit sera étudiée au cas par cas par le département Assurance de la Qualité (AQ).
- Si l'enquête ne montre aucune anomalie, cet OOS ne reflète pas la qualité du produit, un plan de re-contrôle pourra être décidé en accord avec l'AQ. Ce plan de re-contrôle n'est pas autorisé pour les essais de stérilité et notamment ceux réalisés sous isolateur et il n'est possible que pour une catégorie de produits où l'échantillon est stable dans le temps.

On peut donc séparer le traitement des OOS en 3 catégories et rédiger un logigramme comportant des

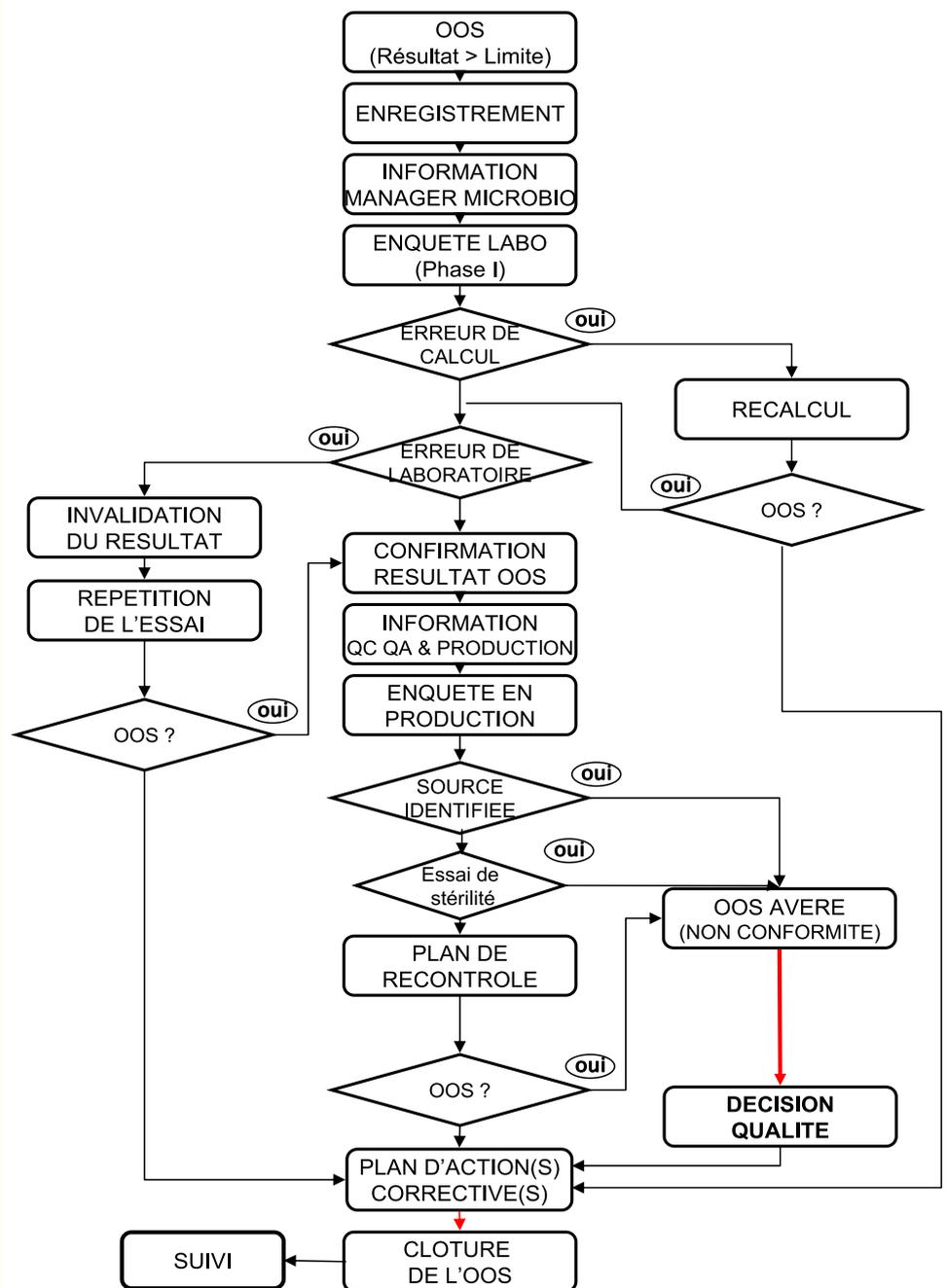
variantes par rapport à la démarche à suivre.

La première catégorie correspond aux produits microbiologiquement stables, la deuxième, aux résultats obtenus lors de suivi périodique et la troisième aux résultats obtenus lors des contrôles en cours de fabrication (IPC). Dans la première catégorie figurent les produits finis conditionnés et les principes actifs, dans la deuxième les contrôles d'environnement des locaux de fabrication pharmaceutique et spécialement de fabrication stérile, le contrôle des eaux

pharmaceutiques et dans la troisième le contrôle de la contamination microbienne avant stérilisation.

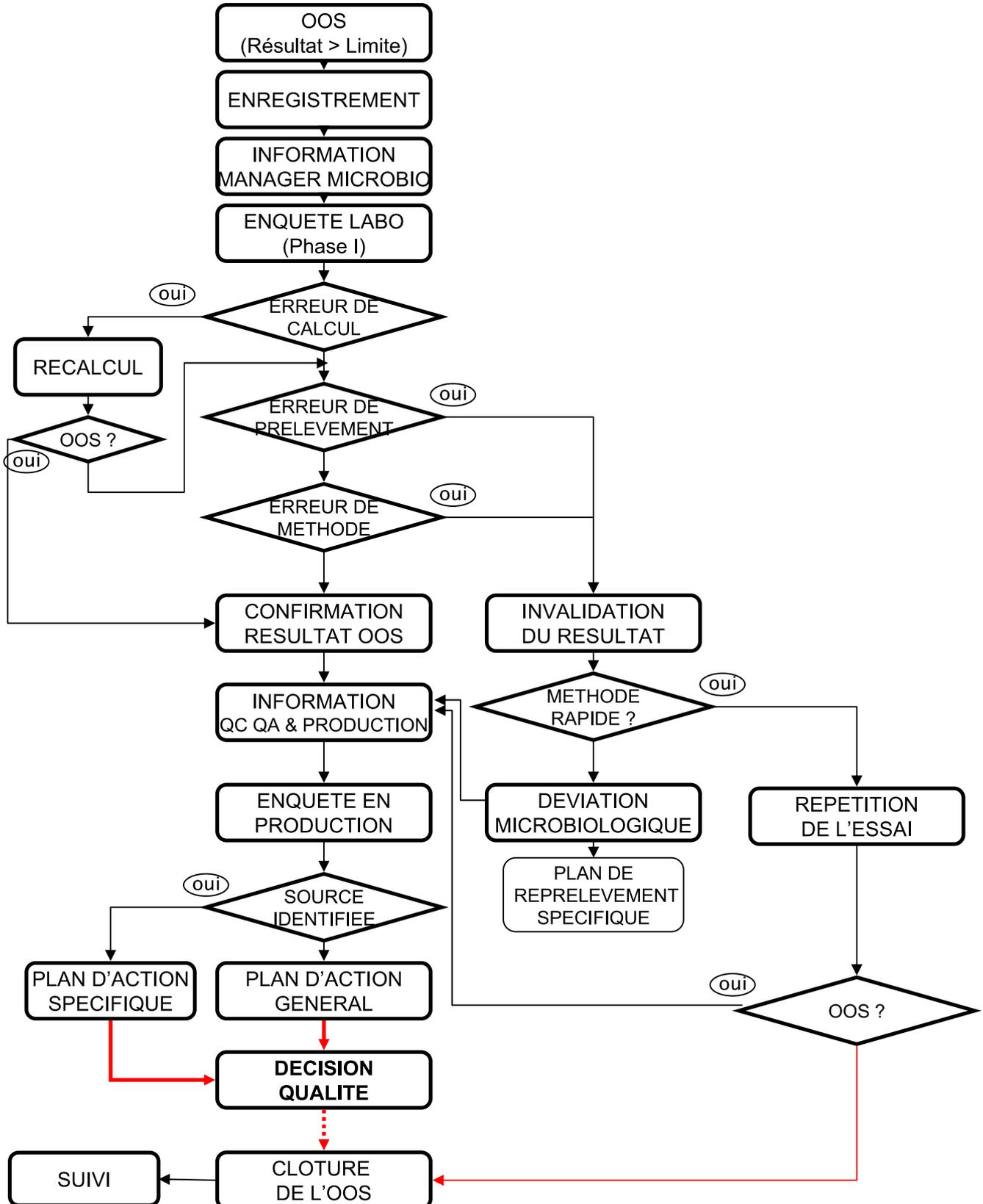
Pour chaque catégorie, la possibilité de ré-analyse peut être différente si le laboratoire d'analyse microbiologique utilise ou non des méthodes rapides en microbiologie, très utiles pour les ré-analyses à des fins d'investigation ou pour des re-contrôles. Pour illustrer ce procédé un peu théorique de gestion des résultats OOS microbiologiques, des logigrammes par catégorie sont donnés dans les figures 2,3 et 4.

Fig 2: PRODUITS FINIS ET API (ECHANTILLONS STABLES)



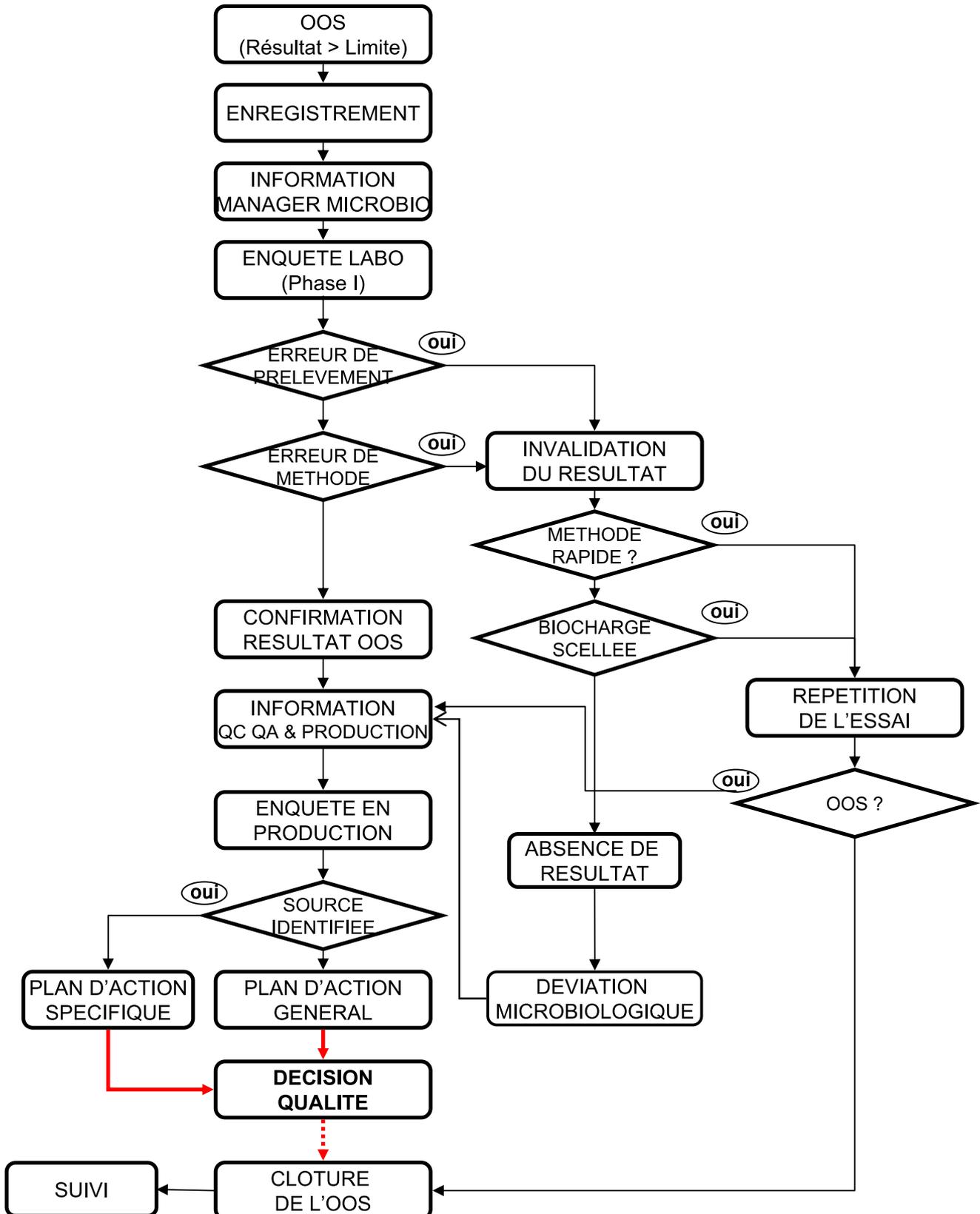
Exemple de logigramme n'engageant pas la responsabilité des auteurs

Fig 3: RESULTATS « MONITORING: ENVIRONNEMENT-EAU »



Exemple de logigramme n'engageant pas la responsabilité des auteurs

Fig 4 : BIOCHARGES avant stérilisation ou autre en cours (IPC)



Exemple de logigramme n'engageant pas la responsabilité des auteurs

Clôture :

Comme pour la chimie, les résultats OOS doivent être clôturés dans un délai défini. Pour le suivi qualité, il est difficile d'avoir un délai différent de la chimie, classiquement 28 jours calendaires. Ce délai est souvent trop court pour réaliser des investigations microbiologiques nécessitant la croissance bactérienne, ce qui nécessite de justifier la non clôture de l'OOS quand ce délai est dépassé. Une autre solution est d'enlever la durée d'incubation de l'analyse considérée, de la durée définie, mais cela nécessite un suivi rigoureux.

Mesures post OOS

Quelle que soit la conclusion d'un résultat OOS, confirmé ou non, elle doit s'accompagner de mesures préventives et/ou correctives pour éviter de générer à nouveau des résultats OOS, des actions permettant de vérifier l'impact de cet OOS sur d'autres produits et le suivi de ces actions. Par exemple si le résultat OOS correspond à une valeur hors limite sur l'eau PPI, il faudra étudier l'impact sur la libération de tous les lots fabriqués avec cette eau pendant la période critique. Si une action est mise en place par exemple par rapport au bec de prélèvement des points d'utilisation d'eau PPI, il faut vérifier que ces actions soient mises en place et suivies.

OOS et libération de lot

Un OOS confirmé n'entraîne pas automatiquement un rejet de lot. La décision du rejet devra prendre en compte l'analyse du risque patient. C'est le cas pour les résultats OOS des contrôles microbiologiques d'environnement ou de suivi des eaux pharmaceutiques, où la criticité et l'ensemble des résultats aideront à la décision d'accepter ou non un lot. Pour conclure, vu la lourdeur des enquêtes microbiologiques, il faut rappeler aux analystes microbiologiques qu'il ne faut pas générer d'OOS. Cela peut sembler encore une Lapalissade mais il ne faut pas négliger de le répéter. Si une erreur est réalisée en cours d'analyse, pouvant entraîner un risque de créer un résultat OOS, il faut arrêter cette analyse avant de générer un résultat. Le plus courant en microbiologie est une faute d'asepsie dans les dénombrements microbiologiques ou pire dans la réalisation d'un essai de stérilité mais cela peut être aussi une simple erreur de dilution pour un essai des endotoxines bactériennes. Dans ce cas, les milieux de culture ou la dilution de travail ne sont pas mis à incuber, ce qui ne donne pas lieu à un résultat, l'essai est recommencé après prise des mesures correctives. La traçabilité est assurée dans le registre de laboratoire.

Procédure opératoire pour le traitement des résultats OOS en microbiologie

1. Forme :

La procédure opératoire pour le traitement des résultats OOS en microbiologie peut être :

- commune à la procédure du traitement des résultats OOS en physico-chimie avec une partie spécifique pour la microbiologie, prenant en compte les différences qui sont principalement : le risque de contamination microbienne accidentelle, le délai de plusieurs jours avant d'avoir le résultat et l'impossibilité d'avoir le même échantillon pour les contrôles en cours de fabrication et les essais de suivi de contamination microbienne (monitoring microbiologique) dans le cadre des environnements et des eaux de fabrication.
 - indépendante de la procédure du traitement des résultats OOS en physico-chimie. Dans ce cas, il faut néanmoins garder la même logique décisionnelle que celle de la procédure physico-chimique
 - une procédure analytique « chapeau » décrivant les généralités communes à tous les essais et dosages microbiologiques avec référence à des procédures analytiques spécifiques (stérilité, contamination microbienne, endotoxines bactériennes, titrage d'antibiotiques etc..). Dans ces méthodes générales, un paragraphe est dédié au traitement des résultats hors spécification avec notamment un plan de recontrôle standard adapté spécifiquement à l'essai.
- Ces 3 cas ont leurs avantages et leurs inconvénients et le choix dépend essentiellement de l'organisation documentaire du site. L'élément important est surtout d'avoir un document formalisé pour le traitement hors spécification des résultats microbiologiques et que ce document soit applicable. Ce document ou l'ensemble de ces documents (procédure générale et procédures spécifiques) doivent comporter un certain nombre d'informations donné dans le paragraphe suivant.

2. Contenu :

- Objectif du document :

Introduction définissant ce que l'on va trouver dans ce document, par exemple : procédure opératoire spécifique pour le traitement des OOS en microbiologie, ou procédure opératoire spécifique pour le traitement des OOS en microbiologie complétant la procédure générale de traitement des résultats hors spécification...

- Champ d'application :

Définir

- à quel type de résultats s'applique la procédure :
 - type de produits :Principes actifs, produits finis, contrôle en cours de fabrication (biocharge avant filtration), suivi microbiologique des eaux vracs (eau PPI, eau purifiée et hautement purifiée), suivi microbiologique des environnements...
 - type d'analyses par exemple, études de stabilité à T° de stockage long terme et exclusion des stabilités accélérées, libération de lots cliniques et non lots de développement etc
- à quelle échelle s'adresse cette procédure pour les grands groupes industriels pharmaceutiques : niveau local (un site), national ou international.

- Définitions :

Définir les termes employés notamment dans le paragraphe concernant les différentes étapes à suivre pour traiter un résultat OOS afin d'avoir un langage commun entre les différents intervenants. Ces définitions peuvent être adaptées aux habitudes d'un site ou bien prises dans des textes de référence, par exemple le guide de la FDA sur les résultats OOS

- Procédé général à suivre pour traiter un résultat hors limite : texte + logigramme

- Partie « chapeau »
- Partie spécifique à chaque essai

- Responsabilités

Définir les rôles de chaque intervenant dans le processus, du technicien microbiologiste ayant généré l'OOS, jusqu'à l'Assurance Qualité qui libérera ou non le lot.

- Documentation

Définir les documents à rédiger sur papier ou par un logiciel adapté, pour la traçabilité du traitement des résultats OOS

- Textes de références

Définir les textes réglementaires ou les guides utilisés dans la procédure ; par exemple guide de la FDA, Ph Eur 2.6.1 (ICH) pour l'essai de stérilité, annexe 1 des BPF européennes etc.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

Pharmacopée Européenne

Essai de stérilité - Chapitre 2.6.1 (ICH)

European Agency for the Evaluation of Medicinal products (EMEA) -1995

Note for guidance on manufacture of the finished dosage form –
CPMP/QWP/486/95

European Commission - Enterprise DG Pharmaceuticals and Cosmetics - 2004

EudraLex volume 4 : Medicinal products for human and veterinary use : Good Manufacturing Practice.

Food Drug Administration (FDA).

Investigating Out of Specification (OOS) -Test results for pharmaceutical production
Guidance for Industry. 2006

Food Drug Administration (FDA).

Quality systems approach to pharmaceutical current good manufacturing practice regulations
Guidance for Industry.

Hoinowski A.M., Motola S., Davis R.J., McArdle J.V. - 2002

Investigation of out-of-specification results
Pharma. Technol. Janvier 2002 : 40 – 50

Duhem P.- 2000

Les résultats microbiologiques d'environnement hors limites d'action :
Processus d'enquête
STP Pharma Pratiques 10 (5) : 260-265

ADRESSES INTERNET

ISO : <http://www.iso.ch/>

FDA : <http://www.fda.gov/>

EMEA : <http://www.emea.eu.int/>



ACM Pharma est aujourd'hui le partenaire privilégié des industriels de la pharmacie, de la cosmétique et du dispositif médical.

Laboratoire indépendant à taille humaine, **ACM Pharma, expert en microbiologie traditionnelle et alternative**, met à votre service une équipe de pharmaciens, scientifiques et techniciens spécialisés.

Professionalisme, proximité, disponibilité et réactivité sont les ingrédients de notre réussite, rejoignez-nous dès aujourd'hui !

Pour vos besoins en formation : le partenariat **ACM Pharma** et **UPS Consultants** vous garantit la mise en œuvre de formations adaptées à vos attentes (programmes disponibles sur www.acmpharma.com).



ACM Pharma SAS
34-36, av. du 21 Août 1944
45270 Bellegarde

Tél. : (+33) 02 38 90 41 01
Fax : (+33) 02 38 90 41 10

info@acmpharma.com

www.acmpharma.com

