

**Maïté RIDON**

Définition d'une stratégie de monitoring environnemental fiable et robuste des Zones  
à Atmosphère Contrôlée : le cas de l'industrie du vaccin

Sous la direction de Lionel CALIPPE

Mémoire de fin d'étude de seconde année de Master 2017-2018

Master Ingénierie de la Santé, parcours Qualité Environnement Santé Toxicologie

*Soutenu le 04 Octobre 2018*

Composition du jury :

- M. Franck-Olivier DENAYER, Président du jury,
- M. Lionel CALIPPE, Directeur de mémoire,
- M. David ROUZE, Troisième membre du jury.

Faculté Ingénierie et Management de la Santé (ILIS)

42 rue Ambroise Paré

59120 LOOS



# REMERCIEMENTS

En premier lieu, je remercie Lionel Calippe, Responsable Sénior Validation à GSK et directeur de ce mémoire, pour l'aide apportée et la qualité de ses conseils. Je tiens par ailleurs à remercier Dominique Josson pour m'avoir accueillie au sein de son service dans le cadre de mon contrat de professionnalisation.

Je remercie également David Rouzé, Manager Assurance de Stérilité à GSK, pour avoir accepté de faire partie du jury de ma soutenance ainsi que pour le temps accordé dans la lecture de ce mémoire.

J'adresse mes remerciements à l'ensemble de l'équipe pédagogique et à la scolarité d'ILIS pour leur accompagnement et la qualité des enseignements dispensés.

Enfin, je souhaiterais remercier mes proches pour leur soutien et leur accompagnement dans la rédaction de ce mémoire.

# LISTE DES ABREVIATIONS

AMDEC : Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

BCG : Bacille Calmette et Guérin

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

cGMP : current Good Manufacturing Practices

CRR : Contamination Recovery Rate

CSP : Code de la Santé Publique

EMA : European Medicines Agency

FDA : Food and Drug Administration

FMECA : Failure Mode, Effects and Criticality Analysis

GAVI : Global Alliance for Vaccines and Immunization

GMP : Good Manufacturing Practices

HACCP : Hazard Analysis and Critical Control Points

HAZOP : Hazard Operability Analysis

HEPA : Haute Efficacité pour les Particules de l'Air

HVAC : Heating, Ventilation and Air Conditioning

ICH : International Conference on Harmonization

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PDA : Parenteral Drug Association

PIC/S : Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme

QC : Qualification de Conception

QI : Qualification d'Installation

QO : Qualification Opérationnelle

QP : Qualification de Performance

UFC : Unité Formant Colonies

USP : United States Pharmacopeia

UNICEF : United Nations of International Children's Emergency Fund

ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

# GLOSSAIRE

**Antigène** : Substance étrangère à l'organisme déclenchant la fabrication d'anticorps et provoquant une réponse immunitaire.

**Apyrogénicité** : Absence de substances pyrogènes susceptibles d'induire de la fièvre.

« **Au repos** » : Etat selon lequel un local et les équipements de production sont présents et fonctionnels sans qu'il n'y ait pour autant d'activité dans la salle (absence d'opérateurs) (ANSM, 2015).

**Biofilms** : Amas structuré de cellules bactériennes adhérant à une surface.

« **En activité** » : Etat pour lequel un local et les équipements de production fonctionnent selon un mode opératoire défini et en présence d'opérateurs (ANSM, 2015).

**Incubation** : Maintien des cultures de microorganismes dans des conditions favorables à leur croissance (température, humidité).

**Isotechnie** : Recours à un isolateur permettant de séparer le produit du personnel et de l'environnement extérieur en vue de limiter les risques de contamination.

**Microbiote** : Ensemble de microorganismes vivant dans un milieu déterminé.

**Spores** : Cellules formées par des bactéries présentant une résistance élevée aux facteurs environnementaux défavorables (température, absence d'éléments nutritifs, etc.), aux agents physiques et chimiques.

**Surface critique** : Surface entrant en contact avec un produit stérile (COMMISSION EUROPENNE, 2015).

**Zone critique** : Zone conçue pour maintenir la stérilité des matériaux (COMMISSION EUROPENNE, 2015).

# TABLE DES MATIERES

Remerciements .....	
Liste des abréviations.....	
Glossaire .....	
Introduction.....	1
Partie 1 : L'industrie du vaccin.....	2
1.1. L'industrie du vaccin, un domaine d'activité stratégique.....	2
1.1.1. Quelques chiffres.....	2
1.1.2. Poids au sein de l'industrie pharmaceutique.....	3
1.2. Les vaccins.....	4
1.2.1. Histoire de la vaccination .....	5
1.2.2. Définition et composition d'un vaccin .....	7
1.2.3. Cycle de développement d'un vaccin.....	9
1.2.4. Paysage de la vaccination .....	13
1.3. Conclusion.....	17
Partie 2 : Maitrise et surveillance de l'environnement de production .....	19
2.1. Les contaminations .....	19
2.1.1. Contamination particulière .....	20
2.1.2. Biocontamination.....	20
2.1.3. Contamination chimique.....	21
2.1.4. Conclusion .....	22
2.2. Locaux de production : les Zones à Atmosphère Contrôlée.....	22
2.2.1. Objectifs visés par les Zones à Atmosphère Contrôlée.....	22
2.2.2. Conception et fonctionnement des Zones à Atmosphère Contrôlée .....	25
2.2.3. Recours à l'isotechnie .....	29
2.2.4. Qualification des Zones à Atmosphère Contrôlée .....	29
2.3. Monitoring environnemental .....	33

2.3.1. Définition et objectifs .....	33
2.3.2. Cadre réglementaire .....	34
2.3.3. Principes du monitoring environnemental .....	34
2.3.4. Apports du monitoring environnemental.....	36
2.4. Conclusion.....	36
Partie 3 : Etablissement d'un programme de Monitoring Environnemental .....	38
3.1. Réalisation de l'analyse de risque .....	39
3.1.1. Objectifs .....	39
3.1.2. Méthodes .....	39
3.1.3. Livrables.....	41
3.2. Définition des points de prélèvement .....	42
3.2.1. Localisation des points de prélèvement non viables .....	42
3.2.2. Localisation des points de prélèvement viables .....	43
3.3. Méthodes de prélèvement.....	45
3.3.1. Prélèvements non viables .....	45
3.3.2. Prélèvements viables .....	45
3.4. Détermination des fréquences de prélèvements .....	48
3.5. Traitement des données.....	50
3.5.1. Définition des seuils d'alerte et d'action .....	50
3.5.2. Analyse des résultats .....	51
3.5.3. Tendances .....	52
3.6. Conclusion.....	53
Partie 4 : Discussion.....	54
4.1. Influence du facteur humain .....	54
4.1.1. Contamination de l'environnement de production .....	54
4.1.2. Surestimation de la contamination .....	55
4.2. Limites techniques.....	55

4.2.1. Limites de détection et de quantification .....	55
4.2.2. Limites de réactivité .....	56
4.3. Limites organisationnelles .....	57
Conclusion.....	59
Bibliographie.....	60
Annexes.....	65

## TABLE DES FIGURES

Figure 1: Production de vaccins dans le monde (d'après Vaccines Europe, 2016) ....	3
Figure 2 : Repères historiques de l'histoire des vaccins (d'après Vaccination Info Service, 2018) .....	7
Figure 3: Etapes de fabrication d'un vaccin (LEEM, 2018) .....	10
Figure 4: Moyens nécessaires à la mise en œuvre des BPF (d'après les BPF, 2015) .....	12
Figure 5 : Impact de la vaccination (LEEM, 2017) .....	14
Figure 6 : Evolution de l'adhésion à la vaccination en pourcentage parmi les 18-75 ans de 2010 à 2017 (Vaccination Info Service, 2018b) .....	16
Figure 7 : Disposition des ZAC .....	23
Figure 8 : Régimes d'écoulement de l'air en salle propre (AFNOR, 2001) .....	27
Figure 9: Phases de qualification.....	31

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: Nombre maximal de particules par m <sup>3</sup> autorisé en fonction de la classe (d'après les BPF, 2015).....	23
Tableau 2 : Nombre maximal d'UFC par échantillon autorisé en fonction de la classe .....	24
Tableau 3 : Equivalence des classes de propreté particulaire définies par l'ISO 14644-1 et les Bonnes Pratiques de Fabrication .....	30
Tableau 4 : Méthodes de gestion des risques (d'après les BPF, 2015).....	40

Tableau 5 : Méthodes de prélèvement d'air actif (d'après AFNOR, 2004a).....	46
Tableau 6 : Méthodes pour les prélèvements de surface (d'après PDA, 2001).....	47
Tableau 7 : Recommandations des fréquences de prélèvements pour les contrôles environnementaux (d'après l'OMS, 2012).....	49
Tableau 8 : Recommandations des fréquences de prélèvements pour les contrôles environnementaux (d'après l'USP, 2013) .....	49
Tableau 9 : Taux de récupération de contamination initiaux suggérés dans des environnements aseptiques (USP, 2013) .....	51
Tableau 10 : Nombre de points de prélèvement en fonction de la surface de la salle (AFNOR, 2015a).....	66
Tableau 11 : Essais de qualification des Zones à Atmosphère Contrôlée (d'après AFNOR, 2006).....	68

# INTRODUCTION

Chaque année, la vaccination permet de sauver des millions de vie. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) reconnaît cette intervention comme étant la plus efficace dans la lutte contre les maladies infectieuses (OMS, 2010). S'adressant à un jeune public et à un public en bonne santé, la vaccination représente un enjeu de santé publique majeur. Ainsi les standards envers ce type de produit exigent une maîtrise de sa fabrication et de son environnement à chaque étape de production.

La garantie de fournir des vaccins de qualité ne peut uniquement reposer sur des contrôles des produits mais doit s'appuyer sur des moyens de maîtrise pour y parvenir. Dans le cadre de la fabrication de médicaments stériles tels que les vaccins, la qualité est fortement influencée par l'environnement de production. En effet, ce dernier, s'il n'est pas adapté, est susceptible de concourir à la contamination des produits et ainsi présenter un risque pour les patients.

De ce fait, les industriels doivent disposer de moyens en vue de maîtriser les contaminations relatives à l'environnement de production. Ils doivent également être en mesure de surveiller, de manière efficace, que ces dispositions permettent l'atteinte des objectifs visés, à travers un programme de monitoring environnemental. Ce dernier faisant l'objet de nombreuses interprétations et étant enclin à la subjectivité, il est alors intéressant de s'interroger quant à la définition d'une stratégie de surveillance efficace.

Afin de répondre à cette problématique, une présentation de l'industrie du vaccin et de son produit sera effectuée en premier lieu. Nous aborderons ensuite les moyens requis pour atteindre une maîtrise de l'environnement de production et présenterons les attentes générales relatives à un programme de monitoring environnemental. Enfin, une revue de la littérature et des réglementations applicables sera effectuée afin d'apporter des éléments de réponse et permettra d'ouvrir la discussion.

# PARTIE 1 : L'INDUSTRIE DU VACCIN

L'industrie pharmaceutique comprend l'ensemble des activités de recherche, de développement, de production et de distribution des médicaments à usage humain ou vétérinaire. Cette industrie est un élément clé des systèmes de santé, par la mise à disposition de médicaments visant à prévenir ou traiter des maladies et affections diverses. Produit de cette industrie, le vaccin y occupe une place particulière.

L'Organisation Mondiale de la Santé considère la vaccination comme étant l'une des interventions sanitaires la plus efficace et l'une des plus rentables en santé, au vu du nombre de personnes touchées par celle-ci et des bénéfices apportés (OMS, 2013). Fortement marquée par cette dimension, l'industrie du vaccin est également un secteur caractérisé par l'innovation, concentrant de nombreuses activités de recherche et impactant profondément la santé publique. Ainsi, l'industrie du vaccin représente un enjeu stratégique à plus d'un titre.

Avant de présenter le produit de cette industrie et les enjeux sanitaires associés, il est important de spécifier l'influence économique de ce secteur ainsi que sa place au sein de l'industrie pharmaceutique.

## 1.1. L'industrie du vaccin, un domaine d'activité stratégique

### 1.1.1. Quelques chiffres

L'industrie du vaccin connaît depuis ces dernières années une forte croissance. Estimé à 20,3 milliards d'euros en 2012, le chiffre d'affaires de l'industrie du vaccin a atteint plus de 42 milliards d'euros à l'échelle mondiale en 2016 et pourrait dépasser les 80 milliards d'euros d'ici 2025 (LEEM, 2015).

Ce secteur particulièrement dynamique est concentré en Europe où se joue un rôle essentiel pour la recherche et le développement de vaccins. En effet, 80% des vaccins utilisés dans le monde y sont fabriqués (Figure 1). L'Europe se place ainsi devant l'Amérique du Nord, qui concentre 11% de la production mondiale, et l'Asie avec 4%.

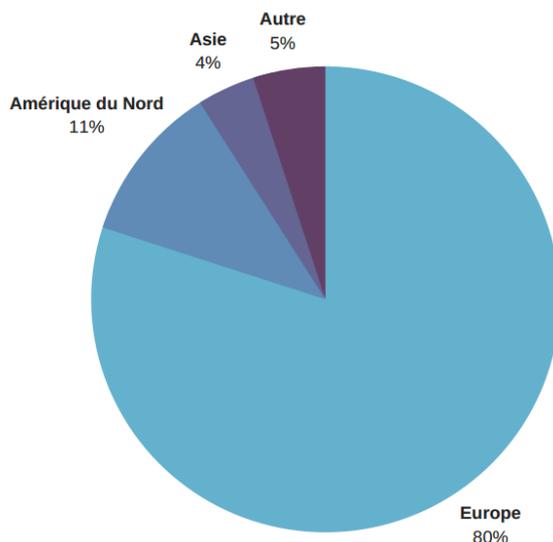


Figure 1: Production de vaccins dans le monde (d'après Vaccines Europe, 2016)

Plus de la moitié des projets de recherche s'y effectuent. L'investissement pour la recherche et le développement en Europe a été estimé à près de 2 milliards d'euros en 2014 (VACCINES EUROPE, 2016).

Enfin, la majeure partie de la production européenne est destinée à l'export. En outre, 84% de cette production, soit 3,5 milliards de doses, sont exportées chaque année dans d'autres pays développés ou dans des pays en voie de développement. Par ailleurs, la moitié de ces exportations est destinée à des groupes humanitaires, tels que le GAVI (Global Alliance for Vaccines and Immunization), l'UNICEF (United Nations of International Children's Emergency Fund), ou encore l'OMS (VACCINES EUROPE, 2016).

#### 1.1.2. Poids au sein de l'industrie pharmaceutique

Les vaccins représentent près de 5% du marché mondial du médicament qui a été évalué à 882 milliards d'euros en 2016 (LEEM, 2017a). Bien que les vaccins ne constituent pas la branche la plus lucrative au sein de l'industrie pharmaceutique, ce secteur n'en demeure pas moins stratégique. En effet, forte d'une croissance annuelle s'élevant à 11,5% par an (LEEM, 2015), l'industrie du vaccin représente l'un des secteurs les plus dynamiques du marché du médicament, qui, à la même période, présentait une hausse moindre de l'ordre de 3%.

L'industrie du vaccin se distingue donc de l'industrie du médicament par son dynamisme et sa croissance. Ceci peut en partie être expliqué par la limite de certains médicaments, qui, face à des maladies infectieuses émergentes, montrent des limites et ne constituent pas un traitement suffisant. Enfin, cette industrie est typique de la nouvelle économie, fondée sur la recherche et axée sur les biotechnologies et les plateformes technologiques (LEEM, 2015). Son produit, faisant appel à des savoirs faire pointus et des technologies de pointe, lui confère une stabilité en comparaison avec d'autres médicaments. Entre autres, les vaccins ne peuvent, jusqu'à présent, faire l'objet de génériques. Leur complexité leur prodigue un avantage et une protection, en les empêchant de tomber dans le domaine public, pouvant alors représenter une perte financière considérable pour les laboratoires pharmaceutiques. Ainsi, pour ces derniers, les vaccins représentent un « *relais de croissance* », présentant des enjeux locaux et mondiaux, « *au moment où la consommation pharmaceutique a tendance à ralentir dans les pays développés* » (BAIL J-N., 2008).

Si l'industrie du vaccin représente un acteur clé pour l'économie et pour le marché pharmaceutique, notamment européen, son rôle dans la sécurité sanitaire d'un pays place son produit au centre des politiques et stratégies de santé. Afin d'appréhender les enjeux portés par les vaccins, il est important de comprendre ce qu'est un vaccin et de remonter à ses origines. A la suite de ces propos, une présentation des vaccins et de leur processus de fabrication sera effectuée. Une image du paysage de la vaccination sera également dressée.

## 1.2. Les vaccins

Le terme « vaccin » est issu du latin « *vaccinus, de vaca* » signifiant « *vache* », et est étroitement lié à la variole, une maladie infectieuse d'origine virale. Véritable fléau et autant redoutée que la peste ou le choléra, la variole a été responsable de nombreuses épidémies depuis des millénaires, provoquant la mort ou la défiguration des personnes atteintes. En 1971, l'OMS a associé à la variole un taux de mortalité de 20 à 40%. Elle aurait alors provoqué la mort de plusieurs millions de personnes à travers le monde (OMS, 1971).

### 1.2.1. Histoire de la vaccination

Si la vaccination apparaît pour la première fois à la fin du 18<sup>ème</sup> siècle, ses principes fondateurs furent identifiés dès l'antiquité. Au 5<sup>ème</sup> siècle avant Jésus Christ, les témoins des grandes épidémies rapportaient que les personnes ayant survécu une première fois à une maladie résistaient lors d'épidémies postérieures. Au 4<sup>ème</sup> siècle en Chine, l'on relevait la même observation pour la variole (INSERM, 2014). Une primo infection permettait donc, à priori, de contracter une protection en cas de nouveau contact avec le virus.

#### 1.2.1.1. De la variolisation à la vaccination

Alors qu'au 17<sup>ème</sup> siècle la variole est responsable d'épidémies meurtrières, les prémices de la vaccination naissent avec la variolisation. Apparue en Turquie et introduite en Europe à partir de 1721 par l'intermédiaire de Lady Montagu, épouse de l'ambassadeur britannique en Turquie, cette technique consistait à prélever la lympho de pustule de personnes atteintes de la variole, et de l'inoculer par scarification à des personnes saines dans le but de les protéger. Cette technique très répandue n'était pourtant pas sans danger puisqu'elle provoquait la mort chez 2% des sujets inoculés. De plus, elle pouvait être responsable de surinfections (INSERM, 2014).

La variolisation a participé à l'émergence de l'idée d'une protection active contre les maladies infectieuses et a servi l'une des découvertes les plus notables dans l'histoire de la vaccination, celle d'Edward Jenner.

A la fin du 18<sup>ème</sup> siècle, ce médecin anglais remarque alors que les personnes en contact avec des bovins atteints de la vaccine, maladie bovine proche de la variole et provoquant une réaction bénigne, ne contractaient pas la variole. Il expérimenta alors cette observation en 1796 sur un jeune garçon, James Phipps, à qui il transmit la vaccine, puis inocula la variole. L'enfant ainsi exposé au virus ne développa pas la maladie. En démontrant ses observations, Edward Jenner donna naissance à la vaccination et mit en avant les avantages de cette méthode par rapport à la variolisation, à savoir la bénignité de la maladie provoquée et l'impossibilité de créer de nouveaux foyers épidémiques de variole. La vaccination se répandit alors rapidement à l'échelle mondiale (MOULIN A-M., 1996).

### 1.2.1.2. Les avancées de Louis Pasteur

L'histoire de la vaccination se poursuit avec la découverte des vaccins par Louis Pasteur au 19<sup>ème</sup> siècle. Alors que ses recherches portaient sur le choléra des poules, maladie d'origine bactérienne, il découvrit que l'inoculation d'anciennes cultures de la bactérie incriminée à des poules ne les tuait pas et qu'elles résistaient à l'inoculation de germes frais. Il créa alors le premier vaccin atténué artificiel en 1879. Enfin, il énonça le principe de la vaccination et des vaccins. Il s'agit alors de « *microbes affaiblis ayant le caractère de ne jamais tuer, de donner une maladie bénigne qui préserve de la maladie mortelle* » (MOULIN A-M., 1996).

A la suite de ces observations, Louis Pasteur chercha à atténuer de manière volontaire des agents infectieux afin de conférer une protection face aux souches virulentes. Il approfondit ses recherches en étudiant notamment le charbon des moutons<sup>1</sup>, puis se porta sur des infections humaines. En 1881, il s'intéressa à la rage, maladie fréquente à l'époque, transmissible de l'animal à l'Homme et fortement redoutée. En effet, cette dernière était mortelle et aucun traitement ne permettait de la contrer (BAZIN H., 2008). Grâce à ses travaux, Louis Pasteur parvint à atténuer le virus et l'injecta, en 1885, à Joseph Meister qui avait été mordu par un chien enragé. Quelques semaines après l'inoculation, l'enfant survécut. Le premier traitement prophylactique anti rabique était alors créé.

Cette avancée majeure dans l'histoire des vaccins entraîna la communauté scientifique à poursuivre les recherches axées sur de nouveaux agents pathogènes et sur le développement de vaccins associés. De nombreux scientifiques ont ainsi poursuivi son œuvre et permis, entre autres, la découverte des vaccins suivants : le vaccin contre la fièvre typhoïde, le vaccin contre la tuberculose ou vaccin BCG (Bacille Calmette et Guérin), les vaccins contre la coqueluche et la diphtérie, ou encore contre la poliomyélite.

Une frise chronologique reprenant les principales dates dans l'histoire de la découverte des vaccins est proposée ci-dessous.

---

<sup>1</sup>Charbon : Maladie infectieuse aiguë causée par la bactérie *Bacillus anthracis* affectant la peau, les intestins, les méninges, les systèmes conjonctifs et lymphatiques (source : <http://www.fao.org/ag/fr/magazine/0112sp.htm>).

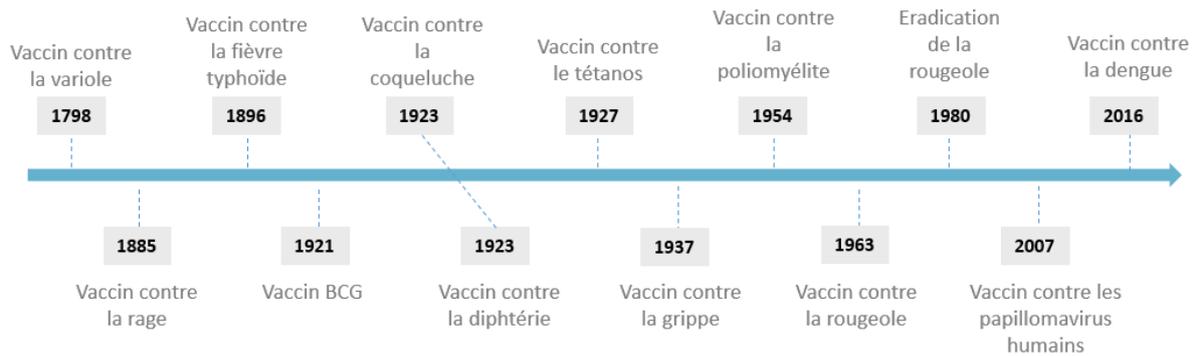


Figure 2 : Repères historiques de l'histoire des vaccins (d'après Vaccination Info Service, 2018)

## 1.2.2. Définition et composition d'un vaccin

### 1.2.2.1. Définition

Au sens juridique, le vaccin est défini, selon l'article L5121-1 du Code de la Santé Publique (CSP), comme étant un agent « *utilisé en vue de provoquer une immunité active ou passive ou en vue de diagnostiquer l'état d'immunité* ».

### 1.2.2.2. Mécanisme d'action

Le principe d'action des vaccins repose sur la mémoire du système immunitaire adaptatif. Celui-ci produit une réponse spécifique à un antigène<sup>2</sup>. Contrairement au système immunitaire inné produisant une réponse locale et rapide face à une agression, le système immunitaire adaptatif ou acquis garde en mémoire la réponse à l'antigène et permet ainsi, en cas de contact ultérieur avec ce dernier, une réponse plus efficace et plus rapide.

Lorsqu'ils sont introduits dans l'organisme, les vaccins déclenchent une réaction immunitaire afin de développer une immunité à plus long terme dirigée contre les antigènes d'agents pathologiques. En d'autres termes, les vaccins reproduisent une infection naturelle permettant de développer une immunité sans entraîner les pathologies associées.

<sup>2</sup> Antigène : Substance étrangère à l'organisme déclenchant la fabrication d'anticorps et provoquant une réponse immunitaire.

Les vaccins présentent donc la spécificité d'être administrés à des sujets sains afin de prévenir une maladie. Ils permettent une protection individuelle mais également collective, en limitant la propagation des infections.

Différentes voies d'administration sont possibles, les voies parentérales, telles que les injections intradermiques, intramusculaires ou sous-cutanées, l'administration par voie orale ou par voie nasale.

#### 1.2.2.3. Composition d'un vaccin

Le composant majeur d'un vaccin est l'antigène, substance active d'origine biologique. L'antigène peut être présent sous diverses formes, conditionnant le type du vaccin. Nous retrouvons ainsi quatre types de vaccins :

- Des vaccins vivants atténués, dérivés des agents pathogènes. Ces vaccins provoquent une réaction proche de l'immunité naturelle et s'avèrent particulièrement efficaces. Cependant, du fait de la présence de microorganismes vivants, cette forme de vaccin peut présenter des risques d'instabilité (réversion à la forme virulente) et sont ainsi contre-indiqués pour les personnes immunodéprimées et les femmes enceintes.
- Des vaccins inactivés, contenant des microorganismes tués par réactions physiques ou chimiques. Si ces vaccins sont reconnus pour leur sécurité et leur stabilité, ne pouvant induire la maladie qu'ils préviennent, ils peuvent se montrer moins efficaces que les vaccins vivants atténués et nécessitent des injections répétées afin de procurer l'immunité recherchée.
- Des vaccins sous-unitaires, contenant des fragments antigéniques inactivés de l'agent pathogène. Tout comme les vaccins inactivés, ce type de vaccin présente une stabilité élevée mais une réponse immunitaire moindre comparée aux vaccins vivants atténués.
- Des vaccins à base d'anatoxines, pour lesquels les toxines sécrétées par les microorganismes étant responsables des symptômes de la maladie sont rendues inoffensives et sont utilisées en tant qu'antigène. Leur profil est également apparenté aux vaccins inactivés (OMS, 2016).

Dans un souci d'efficacité, les vaccins peuvent être associés à des adjuvants qui ont pour objectif d'améliorer la réaction immunitaire en stimulant la production d'anticorps.

S'il existe de nombreux types d'adjuvants, les sels d'aluminium sont principalement utilisés.

A ces préparations sont également ajoutés des conservateurs, des stabilisants et des antibiotiques afin d'éviter la contamination des vaccins et d'en maintenir la qualité (OMS, 2016).

### 1.2.3. Cycle de développement d'un vaccin

Les vaccins sont parmi les produits pharmaceutiques les plus difficiles et les plus longs à développer. Leur mise au point peut demander jusque vingt ans, contre quinze ans en moyenne pour un médicament dit « classique » (INSERM, 2013). Cette situation peut notamment être expliquée par la complexité inhérente au produit et le travail à partir d'une substance biologique, un environnement particulièrement réglementé ainsi qu'une expérimentation clinique longue.

Le cycle de vie d'un vaccin peut être caractérisé selon les principales étapes suivantes :

- La recherche et déploiement, comprenant les phases de recherches scientifiques et les essais cliniques aboutissant à la soumission du dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). L'obtention de l'AMM constitue la garantie, donnée par les autorités compétentes (en France, il s'agit de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM)), que le vaccin présente le niveau de qualité, d'efficacité et de sécurité requis pour le patient. Elle conditionne également le lancement de la production commerciale des vaccins,
- La production du principe actif (production primaire) et le conditionnement (production secondaire),
- La libération des lots ainsi que leur distribution.

La production des vaccins ainsi que la qualité associée feront l'objet des paragraphes ci-après.

### 1.2.3.1. Production

La production de vaccin est caractérisée selon deux processus distincts : la fabrication biologique et biochimique, également appelée production primaire, aboutissant à la production de l'antigène, et la fabrication secondaire dite fabrication pharmaceutique. Les principales étapes de ces processus sont synthétisées sur le schéma suivant.

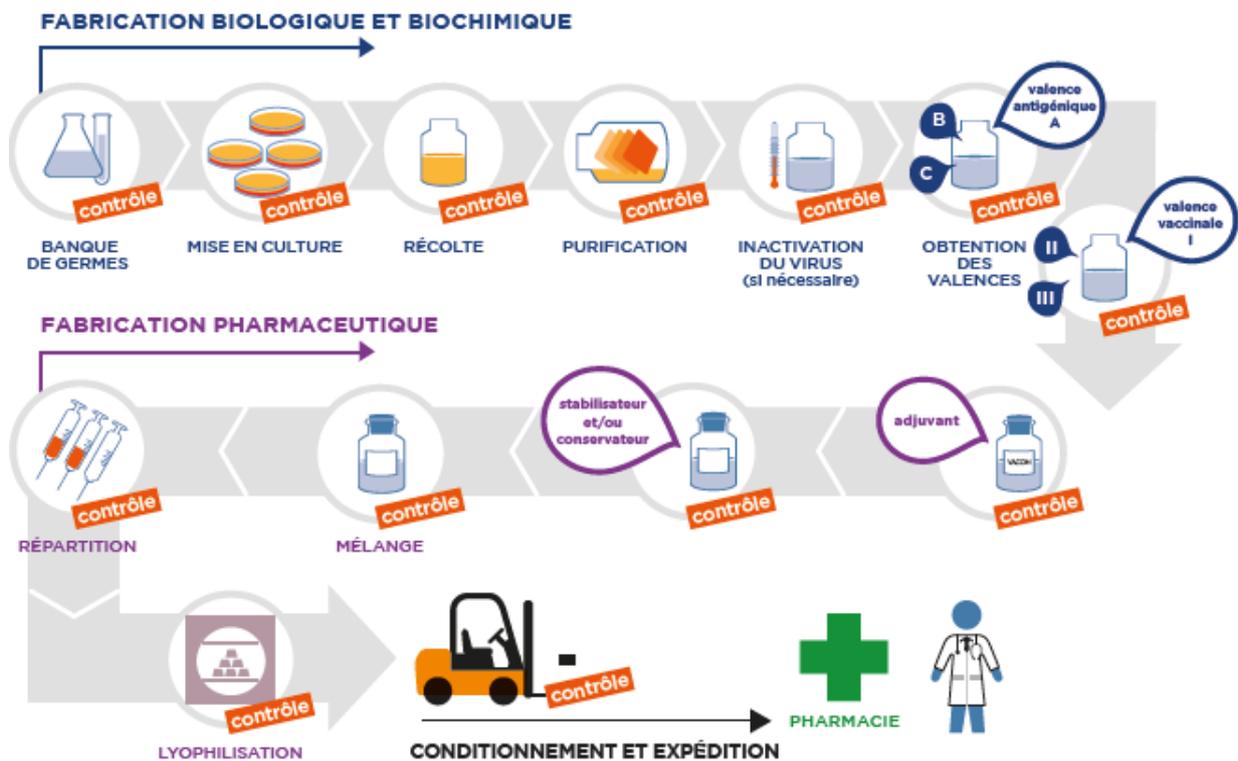


Figure 3: Etapes de fabrication d'un vaccin (LEEM, 2018)

La maîtrise de la qualité pendant ces étapes de production est essentielle. C'est pourquoi le cycle de développement d'un vaccin est particulièrement marqué par les contrôles qualité qui y sont associés. En effet, on estime que 70% du temps de production d'un vaccin est consacré au contrôle de la qualité (LEEM, 2012).

### 1.2.3.2. Les Bonnes Pratiques de Fabrication

Pour garantir la qualité des produits pharmaceutiques et satisfaire aux exigences formulées au travers de l'AMM (à savoir la qualité, l'efficacité, et la sécurité), les industriels doivent gérer les risques susceptibles d'impacter la qualité de leurs produits.

La qualité est définie, selon la norme ISO 9000, comme étant l'aptitude d'un produit à satisfaire les exigences spécifiées. En industrie pharmaceutique, ces exigences sont décrétées en textes législatifs (CSP) et spécifiées en France par les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), ou Good Manufacturing Practices<sup>3</sup> (GMP). Celles-ci sont définies, selon la Directive 2003/94/CE comme étant « *l'élément d'assurance de la qualité qui garantit que les médicaments sont fabriqués et contrôlés de façon cohérente selon les normes de qualité adaptées à leur emploi* ». En d'autres termes, les BPF réglementent les pratiques et établissent les obligations des fabricants afin de limiter les risques liés au produit et garantir ainsi la sécurité des patients. Elles s'appliquent à l'ensemble des étapes de fabrication des produits pharmaceutiques, de la production au contrôle de la qualité, et constituent l'élément central de la gestion de la qualité en industrie pharmaceutique.

Le guide des BPF est construit autour de trois parties.

Les deux premières parties sont, respectivement, relatives aux bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain et aux substances actives utilisées en tant que matières premières. La 3<sup>ème</sup> partie présente quant à elle les référentiels Q9 et Q10 de l'International Conference on Harmonization (ICH)<sup>4</sup> portant sur la gestion du risque qualité ainsi que sur le système qualité pharmaceutique (ANSM, 2015). L'ICH Q9 présente le processus général de gestion du risque qualité ainsi que les outils associés. L'application de ce référentiel permet de formaliser une approche systémique de la gestion du risque qualité. Quant à l'ICH Q10, ce référentiel « *décrit un modèle de système de qualité pharmaceutique* » pouvant être « *appliqué à l'ensemble du cycle de vie d'un produit* » (ANSM, 2015). Trois objectifs principaux sont associés à la mise en œuvre de ce référentiel : assurer la réalisation du produit, établir et maintenir une phase de maîtrise et faciliter l'amélioration continue.

Enfin, des annexes appelées « lignes directrices » complètent ce référentiel.

---

<sup>3</sup> A l'échelle européenne, les Bonnes Pratiques de Fabrication sont connues sous le nom de « Good Manufacturing Practices (GMP) et sont publiées par l'Agence Européenne des Médicaments (European Medicines Agency – EMA). Aux Etats-Unis, l'équivalent de ce guide porte le nom de « current Good Manufacturing Practices » (cGMP) qui sont publiées par la Food and Drug Administration (FDA).

<sup>4</sup> International Conference of Harmonization : Association internationale sans but lucratif ayant pour objectif l'harmonisation des réglementations au travers de recommandations. Ces recommandations visent à assurer la sécurité, l'efficacité ainsi que la qualité des médicaments (Source : <http://www.ich.org/home.html>).

Ces annexes permettent d'approfondir des domaines d'activité spécifiques. Dans le cadre de la production de vaccins, les lignes directrices n°1 « Fabrication des médicaments stériles » et n°2 « Fabrication des substances actives et des médicaments biologiques à usage humain » s'appliquent. Enfin, d'autres lignes directrices apportent des précisions sur des activités liées à des processus spécifiques, telles que les lignes directrices n°11 (systèmes informatisés) et n°15 (qualification et validation).

L'application et le respect des exigences formulées dans le cadre des Bonnes Pratiques de Fabrication sont conditionnés par la mise à disposition des moyens nécessaires suivants : personnel, milieu, matériel, matière et méthode (Figure 4). La maîtrise de ces éléments apparaît donc essentielle.



Figure 4: Moyens nécessaires à la mise en œuvre des BPF (d'après les BPF, 2015)

Dans le cadre de la production de médicaments stériles, la maîtrise de ces éléments concourt notamment à « réduire au minimum les risques de contamination microbienne, particulière et pyrogène » (ANSM, 2015). Un accent marqué est porté sur l'environnement de production. Des exigences particulières, dont le recours à des locaux de production spécifiques, y sont abordées. Ce point particulier fera l'objet de la deuxième partie de cet écrit.

## 1.2.4. Paysage de la vaccination

### 1.2.4.1. La vaccination, source de progrès

Au cours des six dernières décennies, l'espérance de vie mondiale a progressé de 40 ans, passant de 46,6 ans en 1950 à 76 ans en 2012 (INED, 2014). Cette augmentation de l'espérance de vie est appariée à une diminution considérable de la mortalité infantile. En 1970, on comptait 70 millions de décès par an chez les enfants de moins de cinq ans. En 2015, ce chiffre a été évalué à 4,3 millions de décès (OMS, 2010).

De toutes les avancées sanitaires et découvertes qu'a connu le 20<sup>ème</sup> siècle, l'Organisation Mondiale de la Santé s'accorde sur le fait qu'en dehors des vaccins, « à l'exception de l'eau potable, il n'y a rien d'autre [...] qui ait eu un effet si important sur la réduction de la mortalité ». L'organisation estime par ailleurs que la vaccination permet de prévenir, chaque année, 2,5 millions de décès chez les enfants de moins de cinq ans (OMS, 2010).

Parmi les avancées rendues possibles par les vaccins, nous pouvons rappeler l'éradication de la variole, mais également citer la diminution considérable du nombre de décès imputables à la rougeole. En effet, selon l'OMS, ces derniers ont participé à la réduction de l'ordre de 78% du nombre de décès liés à cette maladie.

Aujourd'hui, une vingtaine de maladies infectieuses majeures sont couvertes par des vaccins. Leurs impacts sur les populations sont décisifs et rapides. Afin de mesurer l'efficacité des vaccins et l'impact de ces derniers, l'infographie présentée ci-dessous se montre particulièrement représentative. Celle-ci illustre qu'à l'exception du vaccin contre la rubéole, les principaux vaccins sur le marché ont permis une réduction de 87 à 99% la prévalence des maladies ou infections associées à l'échelle nationale.

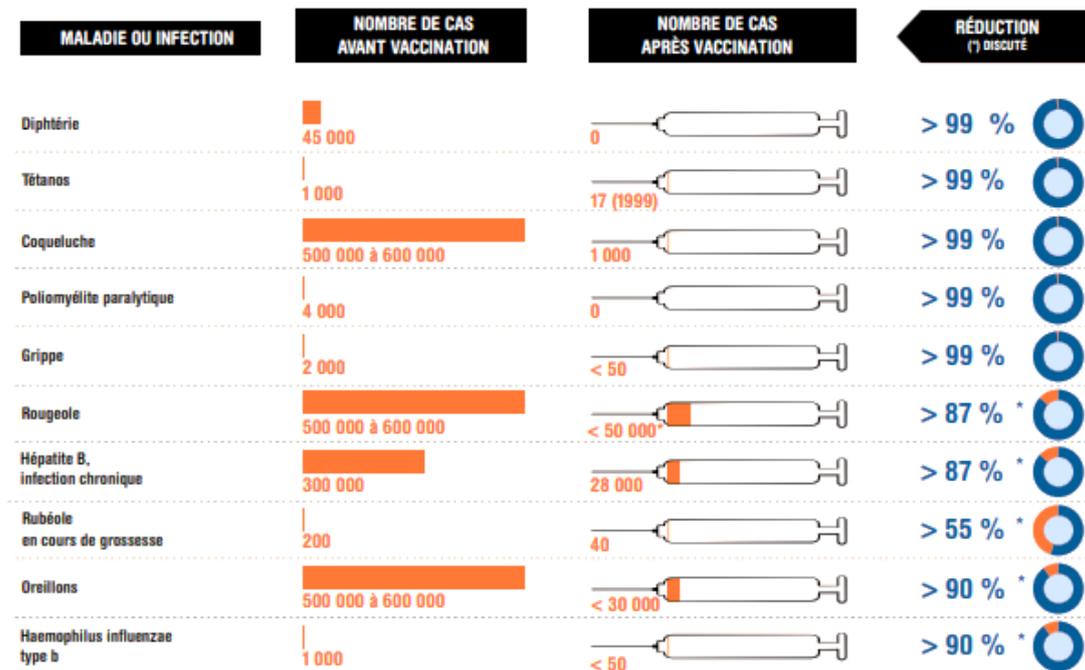


Figure 5 : Impact de la vaccination (LEEM, 2017)

Enfin, de prochains défis se dessinent.

Face aux maladies émergentes et aux pathologies pour lesquelles la médecine thérapeutique se montre insuffisante, les recherches menées tendent au développement de nouveaux vaccins. Ceux-ci portent sur des publics davantage ciblés et permettent une personnalisation des stratégies de vaccination. Les femmes enceintes, les personnes âgées et les immunodéprimés sont les principales cibles de ces futurs vaccins (LAUNAY O., 2017). Une autre catégorie de vaccins se profile également, les vaccins thérapeutiques, essentiellement dirigés contre des cibles non infectieuses telles que les cancers ou les maladies neurologiques.

L'impact qu'ont les vaccins sur l'état de santé des populations fait alors de la vaccination un axe clé des politiques de santé.

#### 1.2.4.2. La vaccination, instrument des politiques de santé

La vaccination constitue un enjeu de santé publique et fait l'objet de programmes mondiaux et nationaux. L'Organisation Mondiale de la Santé émet des

recommandations destinées aux états membres afin de les orienter sur les politiques de vaccination.

En France, afin de préserver la santé des populations et de lutter contre des épidémies susceptibles de réapparaître, une politique de vaccination est, selon l'article L. 3111-1 du Code de la Santé Publique, élaborée par le ministère chargé de la santé. Cette politique fixe les conditions d'immunisation, émet des recommandations et est traduite au travers du calendrier vaccinal.

Depuis le 1<sup>er</sup> Janvier 2018, onze vaccinations sont rendues obligatoires pour les enfants contre trois auparavant. Il s'agit des vaccinations contre la diphtérie, le tétanos, la poliomyélite, la coqueluche, les infections invasives à *Haemophilus influenzae* de type b, l'hépatite B, les infections à pneumocoque, les infections invasives à méningocoque de séro groupe C, la rougeole et les oreillons (LEGIFRANCE, 2017b).

Si la vaccination revêt un caractère obligatoire et est ancrée dans les politiques de santé, cet instrument de santé publique est également enclin aux débats et peut faire l'objet de réticences de la part de la population.

#### 1.2.4.3. La vaccination, sujet de controverses

De nombreuses controverses alimentent le débat autour de la vaccination, remettant notamment en cause l'efficacité voire la sécurité des vaccins. La vaccination peut revêtir un caractère sensible dans l'opinion des populations. Ainsi, bien que la majorité des français soient favorables à la vaccination, on observe depuis 2010 une augmentation des opinions défavorables (Figure 6). En 2017, selon des études menées par Santé Publique France, ces opinions concernaient 21,3 % de la population étudiée contre 8,5% en 2000 (VACCINATION INFO SERVICE, 2018b).



Sources : Baromètres santé 2000, 2005, 2010, 2014, 2016, 2017, Santé publique France.

Figure 6 : Evolution de l'adhésion à la vaccination en pourcentage parmi les 18-75 ans de 2010 à 2017 (Vaccination Info Service, 2018b)

Historiquement, les controverses liées aux vaccins ont été alimentées par des scandales sanitaires mettant en cause la qualité des produits. Nous pouvons ainsi citer, entre autres, le désastre de Lübeck ou encore l'accident de Cutter.

Le désastre de Lübeck a constitué le plus grand accident du 20<sup>ème</sup> siècle survenu dans le cadre de la campagne de vaccination préventive contre la tuberculose. En 1929, au cours des deux mois ayant suivi les vaccinations dans un hôpital de Lübeck en Allemagne, les nouveau-nés développèrent différentes formes cliniques de la maladie et près de 30% en moururent. L'enquête conclut à une contamination des vaccins lors de la fabrication. En cause, un personnel non qualifié et des locaux non adaptés (INSERM, 2014).

Ce scandale a été suivi par celui de Cutter. En 1955, des enfants ayant reçu un vaccin contre la poliomyélite issu des laboratoires Cutter développèrent la maladie et provoquèrent une épidémie, touchant plusieurs milliers de personnes. Un processus d'inactivation du virus ainsi que des contrôles qualité défectueux avaient été mis en cause (INSERM, 2014).

Ces scandales sanitaires ont participé au renforcement de la réglementation et des contrôles qualité. Aussi, les exigences émises au travers des Bonnes Pratiques de

Fabrication permettent d'éviter ces types d'accidents et contaminations. Par ailleurs, tout effet secondaire identifié présente l'obligation d'être communiqué aux autorités compétentes dans le cadre de la pharmacovigilance.

D'autres controverses ont plus récemment touché le cadre de la vaccination. Ainsi, les associations suspectées de certains vaccins avec le développement de maladies telles que la sclérose en plaques ou encore l'autisme ont alimenté la défiance des patients, bien qu'aucun lien de causalité n'ait pu être mis en évidence (INSERM, 2014).

Une autre controverse est également liée à la présence de sel d'aluminium dans les vaccins. Un lien a par ailleurs été établi entre l'exposition à l'aluminium présent dans les vaccins et le développement de myofasciite à macrophages, maladie caractérisée par des lésions musculaires provoquant alors des douleurs musculaires et articulaires, de la fatigue ainsi que troubles cognitifs (GHERARDI RK. & *al.*, 2001).

L'ensemble de ces éléments a alimenté les méfiances et les débats. Ces derniers ont un impact d'autant plus fort que le public possède une faible tolérance vis-à-vis des manifestations post vaccinales indésirables. En effet, les vaccins présentent la spécificité d'être administrés à des personnes saines, le degré d'acceptation des effets indésirables est alors bien moindre face à des traitements pour lesquels la maladie visée a un impact réel sur la personne (tels que les traitements anticancéreux par exemple). C'est pourquoi le niveau de sécurité escompté pour les vaccins est particulièrement élevé.

### 1.3. Conclusion

Cette première partie dressant le cadre de la vaccination a permis de mettre en avant les enjeux qu'elle représente. Élément névralgique des politiques de santé publique, la vaccination constitue un véritable enjeu sanitaire à l'échelle mondiale. Cependant, nous avons pu voir que le contexte relatif aux vaccins, notamment l'émergence des réticences, accentue les exigences de qualité pour ce produit qui sont maximales.

La garantie de fournir un produit de qualité ne peut uniquement reposer sur les contrôles qualité effectués, car destructifs, mais passe également par la maîtrise des procédés de fabrication dans leur globalité. Pour atteindre ces exigences, une parfaite

maitrise de la contamination et de la qualité à tous les stades de développement est requise.

Dans le cadre de la fabrication d'unités stériles telles que les vaccins, l'environnement de production est un élément essentiel au maintien de la qualité des produits. Ainsi, la maitrise de cet environnement de même que sa surveillance jouent un rôle capital.

# PARTIE 2 : MAITRISE ET SURVEILLANCE DE L'ENVIRONNEMENT DE PRODUCTION

La maîtrise de l'environnement de production ainsi que sa surveillance apparaissent comme étant des éléments essentiels pour la délivrance de vaccins répondant aux plus hautes exigences de qualité. Un tel environnement doit permettre des conditions de production optimales limitant tout risque de contamination. Pour répondre à ce besoin, la conception de locaux de production adaptés ainsi que les procédures associées jouent un rôle capital.

Dans un premier temps, une présentation des contaminations susceptibles d'être rencontrées dans les environnements de production sera réalisée. Les moyens nécessaires à la maîtrise de cette contamination seront par la suite exposés. Enfin, afin de s'assurer que les dispositions mises en œuvre sont et se maintiennent efficaces dans le temps, nous aborderons la notion de surveillance des environnements de production.

## 2.1. Les contaminations

Parmi les qualités requises des médicaments, trois s'avèrent majeures : l'apyrogénicité, soit l'absence de substances pyrogènes susceptibles d'induire de la fièvre, l'absence de particules et de micro-organismes. Ces caractéristiques relèvent d'exigences réglementaires et permettent de définir et de poser le cadre de la contamination. Selon les Bonnes Pratiques de Fabrication, cette dernière est définie comme étant une « *introduction non intentionnelle d'impureté de nature chimique ou microbiologique, ou de matière étrangère, à l'intérieur ou à la surface d'une matière première, d'un intermédiaire, ou d'une substance active, pendant la production, l'échantillonnage, le conditionnement ou le reconditionnement, le stockage ou le transport* ».

Cette définition permet ainsi de mettre en avant trois catégories de contamination contre lesquelles l'industrie pharmaceutique doit se prémunir :

- La contamination particulaire,
- La biocontamination,

- La contamination chimique.

La maîtrise de tous risques passe par la connaissance et la documentation préalables de ces derniers. Afin de présenter les risques de contamination, ces derniers seront appréciés selon une approche « source-vecteur-cible ». Nous identifierons par conséquent les principales sources de contaminations ainsi que leurs vecteurs associés susceptibles d'avoir un impact sur le produit pharmaceutique.

#### 2.1.1. Contamination particulaire

La contamination particulaire est caractérisée par la présence de particules non viables ou inertes. Celles-ci comprennent, entre autres, des poussières, des fibres textiles ou encore des particules biologiques telles que des cheveux ou des fragments de peau. Les particules sont caractérisées par leur diamètre. Cette taille conditionne leur comportement dans l'environnement. Ainsi, des particules de plus grande taille auront tendance à sédimenter davantage que des particules de tailles inférieures qui seront, quant à elles, retrouvées en suspension dans l'air.

L'Homme est le principal réservoir de la contamination particulaire. L'émission de particules inertes par l'Homme est par ailleurs amplifiée selon ses activités. Ainsi, une personne en mouvement génère davantage de particules qu'une personne stationnaire. La contamination particulaire peut également être émise par les équipements en mouvement, matériels et matières premières entrantes ou encore provenir de l'air extérieur. Enfin, ces particules sont essentiellement véhiculées par l'air ambiant.

Prises indépendamment, les particules non viables ne constituent pas un danger sanitaire pour les patients. Cependant, celles présentant un diamètre de l'ordre de 5µm s'avèrent être suffisamment grosses afin de transporter les bactéries et représentent ainsi un vecteur de la biocontamination.

#### 2.1.2. Biocontamination

La biocontamination est définie, selon la norme ISO 14698 comme étant la « *contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des particules viables* ». Celle-ci est caractérisée par la

présence de bactéries, de virus, de moisissures ou de levures. L'United States Pharmacopeia (USP)<sup>5</sup> renseigne quant aux principales souches recherchées dans le cadre de la fabrication de médicaments stériles. Il s'agit notamment de germes pathogènes, de germes induisant des spores<sup>6</sup>, de germes responsables de la formation de biofilms<sup>7</sup> ou encore de moisissures. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer entre autres : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium sporogenes*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis* (USP, 2011). Par ailleurs, la dégradation de certaines bactéries peut amener à la production d'endotoxines, substances pyrogènes susceptibles d'entraîner des réponses inflammatoires chez les patients.

Là encore, l'Homme constitue le principal vecteur et source de contamination. A titre illustratif, il est admis que l'Homme est porteur de plus de 100 000 milliards de microorganismes au travers de microbiotes<sup>8</sup>. Ces microorganismes sont alors susceptibles d'être transportés par l'intermédiaire de particules inertes après fixation à celles-ci. Ainsi, une présence importante de particules élève le risque de contamination microbiologique. Une corrélation positive entre le nombre de particules viables et non viables a par ailleurs été mise en évidence en montrant notamment que des pics de contamination microbienne ont été associés à des pics de contamination particulaire (PARAT S. & al., 1999).

La biocontamination peut également avoir pour origine les matériels entrant dans les locaux de production issus d'industries à moindres exigences que l'industrie pharmaceutique.

### 2.1.3. Contamination chimique

Enfin, la contamination chimique peut être caractérisée par la présence de composés chimiques susceptibles de présenter un risque pour le produit final et le patient. Cette contamination s'apparente à une contamination croisée et est davantage associée à

---

<sup>5</sup> United States Pharmacopeia : Pharmacopée américaine établissant des normes relatives à la qualité, la sécurité et l'efficacité des produits thérapeutiques.

<sup>6</sup> Spores : Cellules formées par des bactéries présentant une résistance élevée aux facteurs environnementaux défavorables (température, absence d'éléments nutritifs, etc.) et aux agents physiques et chimiques.

<sup>7</sup> Biofilms : Amas structuré de cellules bactériennes adhérant à une surface.

<sup>8</sup> Microbiote : Ensemble de microorganismes vivant dans un milieu déterminé.

des défauts organisationnels ou techniques. Elle porte notamment sur la présence de produits tels que des substances actives, excipients, produits semi-finis ou encore des produits d'entretien et de maintenance, au sein d'un produit dans lequel ils ne sont pas attendus.

#### 2.1.4. Conclusion

Le personnel, l'environnement, ou encore le matériel utilisé apparaissent comme étant les principaux vecteurs de la contamination. La survenue d'un tel événement peut avoir de lourdes conséquences pour le patient, en impactant la sécurité et l'efficacité du produit, mais également pour l'entreprise, qui devrait alors faire face à des pertes économiques, des sanctions pénales mais également à une perte de confiance de la part de ses clients.

Pour éviter toute contamination des médicaments stériles et garantir des conditions de production aseptiques, les Bonnes Pratiques de Fabrication imposent que ces derniers soient conçus dans des Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC). Ces locaux doivent être maintenus à un niveau de propreté approprié, alimentés en air filtré et faire l'objet de procédures d'entrée et de sortie particulières.

## 2.2. Locaux de production : les Zones à Atmosphère Contrôlée

### 2.2.1. Objectifs visés par les Zones à Atmosphère Contrôlée

Les Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC), également appelées « salles propres », sont définies selon la norme ISO 14644-1 comme étant des salles dans lesquelles « *la concentration en nombre de particules en suspension dans l'air est maîtrisée et classée, et qui est construite de façon à minimiser l'introduction, la production et la rétention des particules à l'intérieur de la pièce* ». Plus généralement, ces locaux de production particuliers ont pour objectif la maîtrise de la contamination, qu'elle soit particulière ou microbiologique.

Les ZAC destinées à la fabrication de médicaments stériles sont classées en fonction de la criticité des opérations de production qu'elles hébergent. Nous retrouvons ainsi quatre classes :

- ZAC de classe A, zones les plus propres, dans lesquelles les opérations à hauts risques sont effectuées, telles que le point de remplissage, les activités réalisées sur les unités ouvertes ou encore les raccordements aseptiques,
- ZAC de classe B, constituant l'environnement immédiat des classes A et pour lesquelles des opérations de préparation et de remplissage aseptiques sont menées,
- ZAC de classe C et D, accueillant des étapes de la fabrication de médicaments stériles considérées comme étant moins critiques (ANSM, 2015).

Comme présenté dans le schéma ci-dessous, les ZAC sont disposées de sorte à ce que les zones de grades inférieurs constituent l'environnement immédiat des grades supérieurs. Par exemple, une ZAC de grade B constitue l'environnement immédiat d'une ZAC de grade A.

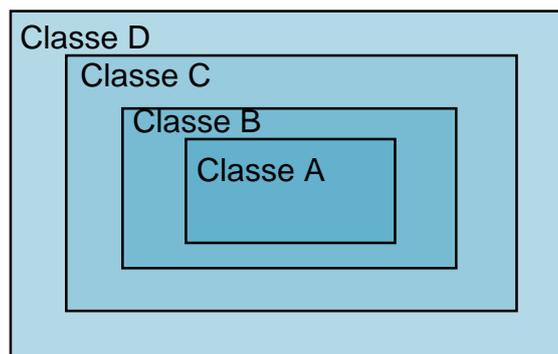


Figure 7 : Disposition des ZAC

Au plus la criticité pour le produit est importante, au plus les ZAC doivent démontrer des qualités requises pour l'environnement élevées. Concernant la propreté particulière, des niveaux de propreté doivent être maintenus « en activité »<sup>9</sup> et « au repos »<sup>10</sup>. Ces exigences, qui concernent les particules de 0,5µm et 5µm de diamètre sont reprises dans le tableau suivant. Celles-ci s'expriment en nombre de particules maximal autorisé par m<sup>3</sup> d'air.

<sup>9</sup> « En activité » : Etat pour lequel un local et les équipements de production fonctionnent selon un mode opératoire défini et en présence d'opérateurs (ANSM, 2015).

<sup>10</sup> « Au repos » : Etat selon lequel un local et les équipements de production sont présents et fonctionnels sans qu'il n'y ait pour autant d'activité dans la salle (absence d'opérateurs) (ANSM, 2015).

Tableau 1: Nombre maximal de particules par m<sup>3</sup> autorisé en fonction de la classe (d'après les BPF, 2015)

Classe	Au repos		En activité	
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3 520	20	3 520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	Non défini	Non défini

Les exigences relatives à la propreté microbiologique sont quant à elles présentées dans le tableau ci-dessous. Ces limites sont exprimées en Unités Formant Colonies (UFC) et sont fonction du type de recueil. Ces limites doivent être respectées « en activité ». Nous notons une différence entre les exigences européennes, françaises et américaines, ces dernières étant davantage exigeantes.

Tableau 2 : Nombre maximal d'UFC par échantillon autorisé en fonction de la classe

Classe	Prélèvement d'air actif (UFC/m <sup>3</sup> )		Prélèvement par sédimentation (UFC/4h)		Prélèvement de surface (UFC/plaque)		Empreintes de gants (UFC/gants)	
	EMEA / BPF	FDA	EMEA / BPF	FDA	EMEA / BPF	FDA	EMEA / BPF	FDA
A	<1	1	<1	1	200	100	<1	Non défini
B	10	7	5	3	<1	Non défini	5	Non défini
C	100	10	50	5	5	Non défini	Non défini	Non défini
D	200	100	100	50	25	Non défini	Non défini	Non défini

Les moyens mis en œuvre pour atteindre et maintenir les qualités requises de l'environnement sont multiples. La réduction et la maîtrise de la contamination passe avant tout par la conception même des ZAC, devant répondre à des exigences spécifiques. Afin de rencontrer une efficacité optimale, la conception des ZAC est couplée à des facteurs techniques et organisationnels.

Les paragraphes suivants détaillent l'ensemble des moyens déployés au sein des zones à atmosphère contrôlée afin d'aboutir à la maîtrise de l'environnement de production.

## 2.2.2. Conception et fonctionnement des Zones à Atmosphère Contrôlée

### 2.2.2.1. Conception

Les Zones à Atmosphère Contrôlée doivent répondre à des exigences relatives à leur conception visant à limiter l'accumulation de contaminants et à faciliter les opérations de nettoyage. Il s'agit de paramètres propres à l'architecture avec notamment la séparation des zones, les matériaux utilisés ainsi que les équipements présents en vue de limiter la fixation et le relargage de particules. Ces exigences sont énoncées dans les Bonnes Pratiques de Fabrication et reprises au niveau de la partie 4 de la norme ISO 14644, relative à la conception, à la construction et à la mise en fonctionnement des salles propres. Ces spécifications portent sur l'enceinte des salles propres (sols, murs, plafonds). Une attention particulière est portée sur le choix des matériaux qui la composent, ces derniers devant présenter des propriétés de résistance, de durabilité et de nettoyabilité.

Les principales attentes concernant les ZAC sont les suivantes :

- Présenter des surfaces lisses apparentes, imperméables et sans fissures,
- Être exemptes d'endroits difficiles à nettoyer ou facilitant l'accumulation de poussières, tels que des recoins ou des orifices non scellés. De même, les étagères, placards et divers matériels doivent être limités au maximum,
- Présenter des faux plafonds scellés afin de contenir les contaminations provenant d'un espace supérieur,
- Être exemptes de canalisations d'évacuation pour ce qui est des classes A et B. Concernant les classes inférieures, des systèmes antiretours doivent être installés,
- Être munies d'un système d'accès par sas pour les personnes, matières et équipements (ANSM, 2015).

Il est cependant à noter qu'il s'agit ici de lignes directrices générales non exhaustives et que l'élaboration de toute salle propre doit être réalisée en consultation avec

l'utilisateur et selon un cahier des charges défini (AFNOR, 2001), afin de correspondre aux besoins de l'entreprise et à l'activité prévue.

#### 2.2.2.2. Système de traitement de l'air

Parallèlement à la conception de l'enceinte d'une ZAC, un système de traitement de l'air avec filtration, également connu sous la dénomination HVAC (Heating, Ventilation and Air Conditioning), doit être implémenté. Ce système de traitement de l'air doit préserver le local de toute contamination extérieure et éliminer efficacement la contamination générée à l'intérieur.

Le traitement de l'air est assuré au travers de fonctions essentielles que sont la filtration et la diffusion de l'air, le recyclage ou brassage de l'air, ainsi que le contrôle des paramètres d'ambiance (pression, température, humidité) (ER2i INGENIERIE, 2015).

##### *2.2.2.2.1. Filtration de l'air*

La filtration de l'air et son renouvellement sont indispensables afin de garantir la qualité de l'air au contact des produits. La filtration est réalisée par l'intermédiaire de filtres à Haute Efficacité pour les Particules de l'Air (HEPA), permettant de maîtriser le niveau de particules viables et non viables. Ces filtres sont capables de retenir, à hauteur de 99%, les particules d'au moins 0,3µm de diamètre (FDA, 2004).

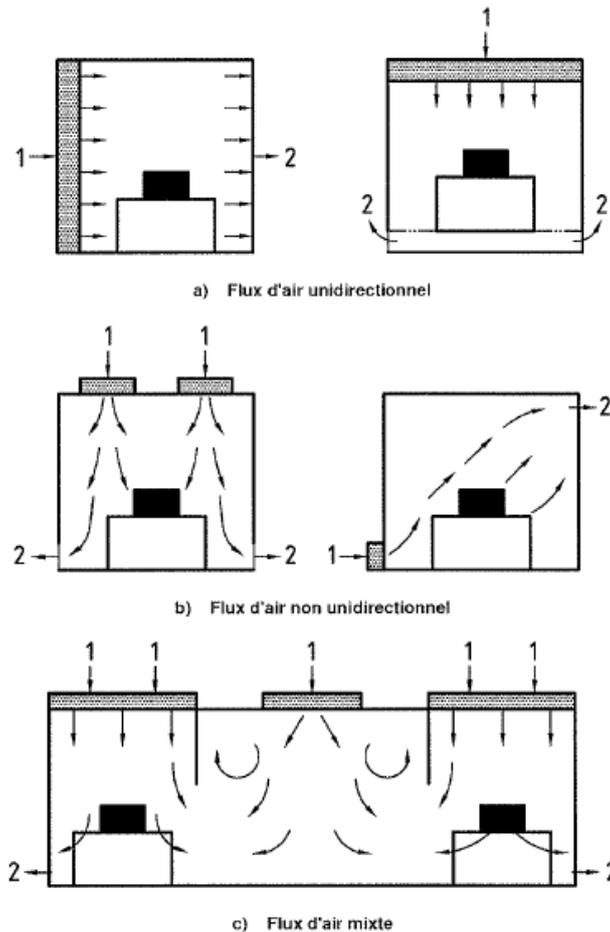
##### *2.2.2.2.2. Diffusion de l'air*

Trois régimes distincts d'écoulements d'air sont retrouvés au sein des zones à atmosphère contrôlée :

- Les flux d'air unidirectionnels ou flux laminares, définis comme étant des flux d'air « *maîtrisés [...] possédant une vitesse régulière et des filets à peu près parallèles* » (AFNOR, 2001). Ces flux peuvent être horizontaux ou verticaux et sont rencontrés dans les ZAC les plus propres. Les flux horizontaux permettent une production optimale du produit tandis que les flux verticaux sont davantage destinés à la protection des opérateurs.

- Les flux d'air non unidirectionnels ou turbulents, définis comme étant « *un régime de distribution de l'air où l'air soufflé dans la zone propre se mélange à l'air déjà présent* » (AFNOR, 2001).
- Enfin, une combinaison de ces deux régimes d'écoulement d'air peut être retrouvée, on parle alors de flux d'air mixte.

Le schéma suivant illustre les régimes de diffusion de l'air.



Légende  
 1 Air soufflé  
 2 Air repris

Figure 8 : Régimes d'écoulement de l'air en salle propre (AFNOR, 2001)

### 2.2.2.2.3. Paramètres d'ambiance

Enfin, un système de cascade de pression doit être maintenu. Selon les Bonnes Pratiques de Fabrication, un écart de pression entre 10 et 15 pascals est requis entre deux locaux adjacents de classes différentes, les locaux les plus propres étant en

suppression. Ainsi, les locaux de classe A présentent une pression supérieure que les locaux de classes B, C et D. Cette cascade de pression permet une diffusion de l'air d'une zone plus propre vers une zone moins propre, limitant ainsi le risque de contamination. Le système en place doit par ailleurs être capable de maintenir les cascades de pression en cas d'ouverture de portes.

Toutefois, cette cascade de pression n'est pas applicable dans le cadre de la manipulation de produits dangereux afin d'éviter leur expansion.

Parallèlement, le système de traitement de l'air doit assurer une température et une humidité relative dans les locaux adaptées aux opérations de production afin de ne pas affecter le produit (prolifération de bactéries, etc.).

#### 2.2.2.3. Procédures associées

En complément des dispositions techniques mises en œuvre, des dispositions organisationnelles et humaines sont indispensables afin d'assurer le bon fonctionnement des zones à atmosphère contrôlée. Celles-ci se traduisent notamment par la mise en œuvre de procédures réglementant les entrées et sorties en ZAC, que ce soit pour le personnel ou le matériel. Celles-ci sont effectuées par l'intermédiaire de sas.

Concernant le personnel, des procédures strictes d'habillement sont implémentées et un niveau élevé d'hygiène personnelle est requis. Le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication reprend les obligations applicables :

- Les bijoux et le maquillage sont interdits,
- La tenue vestimentaire est adaptée à l'activité et est fonction de la classe de propreté exigée. Celle-ci peut comprendre, entre autres, le port d'une sous tenue et d'une combinaison, le port d'une charlotte, d'un masque, de gants, de lunettes de sécurité, ou encore de sur-chaussures.
- Une hygiène rigoureuse est attendue, comprenant notamment un lavage et une décontamination des mains.

Enfin, tout personnel pénétrant ces locaux de fabrication doit-être formé. Rappelons que l'Homme est la principale source de contamination de l'environnement de production. Dans ce contexte, le facteur humain, englobant la dimension de

comportement et de gestuelle, apparaît comme étant un élément central dans la maîtrise de la contamination.

Pour finir, des procédures de nettoyage et de désinfection des locaux et des équipements, ainsi qu'une maîtrise des matériels entrants, sont attendues et doivent être retranscrites dans un programme (ANSM, 2015).

### 2.2.3. Recours à l'isotechnie

L'isotechnie est définie comme étant le recours à un isolateur, soit à un espace confiné. Le produit est séparé du personnel et de l'environnement extérieur, limitant ainsi les possibilités de transfert d'une contamination. Le recours à cette technologie permet de réduire considérablement le risque de contamination microbiologique des produits fabriqués de façon aseptique (ANSM, 2015). L'environnement d'un isolateur est équivalent à celui d'une ZAC de grade A.

### 2.2.4. Qualification des Zones à Atmosphère Contrôlée

A la réception d'une zone à atmosphère contrôlée, une série de tests sont requis afin de « *démontrer que l'installation est en tout point terminée et qu'elle fonctionne conformément à toutes les exigences de maîtrise de la contamination* » (AFNOR, 2001). Ici, la démonstration de la conformité peut être traduite par la qualification et la validation, qui constituent une obligation réglementaire au regard des Bonnes Pratiques de Fabrication (ligne directrice n°15).

Selon ces dernières, la qualification représente une « *opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus* ». Cette notion rejoint fortement celle de la validation, définie comme étant « *l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés* » (AFNOR, 2015). La différence entre ces deux notions repose sur leurs champs d'application. En effet, la qualification s'applique aux équipements, installations et locaux, dont les zones à atmosphère contrôlée, tandis que la validation s'applique aux procédés et procédures dans leur globalité.

Ces approches, toutes deux basées sur le risque, permettent de démontrer qu'un procédé ou équipement est capable de produire systématiquement des produits de qualité et traduit la robustesse de ce dernier. Dans le cadre des zones à atmosphère contrôlée, la qualification permet d'attester que les classes de propreté attendues sont atteintes et maintenues.

#### 2.2.4.1. Référentiel applicable

Les Bonnes Pratiques de Fabrication requièrent que les zones à atmosphère contrôlée soient qualifiées conformément à la norme ISO 14644-1, relative à la classification de la propreté particulaire de l'air des salles propres et des environnements maîtrisés apparentés. Cette norme a été publiée en 1999 et a fait l'objet d'une révision en 2015.

Le comptage de particules présentant un diamètre compris en 0,1µm et 5µm permet d'attribuer un numéro de classe à la salle étudiée. Neuf classes sont définies selon cette norme. Les classes ISO 5, 7 et 8 sont applicables aux zones à atmosphère contrôlées conçues pour l'industrie pharmaceutique et trouve leur équivalence avec les classes définies par les BPF (classes A, B, C et D) (Tableau 3).

*Tableau 3 : Equivalence des classes de propreté particulaire définies par l'ISO 14644-1 et les Bonnes Pratiques de Fabrication*

Classes BPF	Equivalence classe ISO			
	Au repos		En activité	
	0,5µm	5µm	0,5µm	5µm
A	ISO 5	Non défini	ISO 5	Non défini
B	ISO 5	Non défini	ISO 7	ISO 7
C	ISO 7	ISO 7	ISO 8	ISO 8
D	ISO8	ISO 8	Non défini	Non défini

#### 2.2.4.2. Phases de qualification

Le processus de qualification comprend les phases suivantes, réalisées dans l'ordre chronologique schématisé ci-dessous :



Figure 9: Phases de qualification

##### *2.2.4.2.1. Qualification de conception (QC)*

Cette qualification est réalisée avant le lancement des travaux. Elle apporte la « *preuve documentée que la conception projetée des locaux, des équipements ou des systèmes, est bien adaptée à l'utilisation prévue* » (ANSM, 2015). Elle permet notamment de s'assurer du respect des besoins formulés par l'utilisateur (performances à atteindre, conditions spécifiques et contraintes à respecter).

##### *2.2.4.2.2. Qualification d'installation (QI)*

Cette qualification est définie comme étant la preuve documentée que les équipements correspondent à la conception préalablement approuvée et aux exigences de l'utilisateur (ANSM, 2015). Il s'agit d'un contrôle réalisé sans mise en fonctionnement à la réception de l'installation.

##### *2.2.4.2.3. Qualification opérationnelle (QO)*

La qualification opérationnelle apporte quant à elle la preuve que les équipements installés fonctionnent correctement et permettent d'atteindre les exigences de propreté énoncées (ANSM, 2015). Cette qualification est réalisée sans activité et est également connue sous le terme de « qualification au repos ».

##### *2.2.4.2.4. Qualification de performance (QP)*

Enfin, la qualification de performance prodigue la « *preuve documentée que les équipements et les systèmes auxiliaires, une fois raccordés ensemble peuvent*

*fonctionner de manière efficace et reproductible, sur la base de la méthode opératoire et des spécifications approuvées* » (ANSM, 2015). Contrairement à la qualification fonctionnelle, celle-ci est réalisée dans des conditions réelles de production, soit en activité et en présence d'opérateurs.

#### *2.2.4.2.5. Qualifications périodiques*

Les qualifications d'installation et de performance font l'objet de qualifications périodiques. Les BPF imposent que les ZAC soient classifiées selon la norme ISO 14644 à la mise en service (on parle alors de qualification initiale), mais également suite à tout changement significatif survenant au sein de cet espace, telle qu'une modification de l'activité ou des équipements présents par exemple. De plus, la conformité de ces locaux doit être revue périodiquement selon une fréquence définie (six mois pour les ZAC de classes B et un an pour les ZAC de classes C et D<sup>11</sup>).

#### 2.2.4.3. Essais de qualification

Les essais de qualification d'une zone à atmosphère contrôlée sont présentés au travers de la partie 3 de la norme ISO 14644, relative aux méthodes d'essais. Si cette partie spécifie que seule la classification particulière par comptage des particules en suspension dans l'air est requise, d'autres tests, ne présentant pas de caractère obligatoire, sont présentés. Il s'agit notamment d'essais de performance portant sur le traitement de l'air. Nous pouvons ainsi citer les essais suivants :

- Mesure du débit d'air et du flux d'air,
- Mesure de la pression différentielle de l'air,
- Recherche de fuite sur les éléments de filtration,
- Mesure de la température et de l'humidité,
- Essais électrostatique et essai d'un générateur d'ions,
- Essai de sédimentation des particules,
- Essai de récupération,
- Essai de fuite de confinement (AFNOR, 2006).

---

<sup>11</sup> *N.B : La qualification périodique selon une fréquence définie n'est pas applicable pour les ZAC de grade A car celles-ci font l'objet d'une surveillance continue (voir § 3.4.).*

Les principes de la classification particulière selon la norme ISO 14644-1 sont présentés en **Annexe 1**. Les principes et techniques utilisées dans le cadre des autres essais sont quant à eux exposés en **Annexe 2**.

Les qualifications, initiales et périodiques, des zones à atmosphère contrôlée permettent de fournir une première démonstration discontinue du maintien de la classe de propreté requise. En parallèle, une surveillance de ces locaux en activité doit être réalisée afin de définir si l'ensemble des dispositions mises en place pour la maîtrise de la contamination se maintiennent efficaces. On parle alors de « monitoring environnemental ».

## 2.3. Monitoring environnemental

### 2.3.1. Définition et objectifs

Le monitoring environnemental renvoie à la notion de surveillance des environnements maîtrisés et a pour objectif d'assurer que les seuils de propreté particulière et microbiologique pour une classe définie soient respectés. Il permet ainsi de documenter l'état de contrôle des installations mais il est important de noter qu'il ne porte pas directement sur la qualité du produit.

La notion de monitoring environnemental est apparue dans un premier temps dans la norme fédérale américaine 209E « Airborne Particulate Cleanliness Classes in Cleanrooms and Clean Zones » publiée en 1998, puis abrogée au profit de la norme ISO 14644. Cette norme définissait alors le monitoring environnemental comme étant la « *détermination routinière de la concentration en particules aéroportées ainsi que des autres conditions associées dans les salles blanches et zones propres* » (CASSART A., 2011). Cette surveillance est considérée par la FDA comme étant l'une des plus importantes, permettant notamment de rendre compte de la qualité d'un procédé aseptique. Il s'agit également d'un outil puissant dans l'identification des voies de contamination possibles et dans la définition des actions de correction en vue de la prévention des contaminations (FDA, 2004).

### 2.3.2. Cadre réglementaire

Le monitoring environnemental constitue un requis réglementaire au regard des guides de bonnes pratiques de fabrication applicables (BPF, GMP, cGMP). L'annexe 1 des GMP européennes précise que celui-ci ne se substitue pas à la qualification des zones à atmosphère contrôlée et que la distinction entre les deux doit être effectuée, bien que les deux notions soient étroitement liées. En complément de ces guides, les normes ISO des séries 14644 et 14698 se sont imposées pour le contrôle de l'environnement des salles propres.

Ces principaux guides se rejoignent sur les principes de base applicables au monitoring environnemental. Ceux-ci sont exposés ci-après.

### 2.3.3. Principes du monitoring environnemental

#### 2.3.3.1. Analyse de risque

Le monitoring environnemental doit faire l'objet d'un programme basé sur un rationnel afin de le rendre représentatif du milieu surveillé. Sur base d'une analyse de risque documentée, ce programme doit définir les plans de prélèvements comprenant la localisation des points de prélèvement, les types de prélèvements à effectuer ainsi que leur fréquence de réalisation.

#### 2.3.3.2. Tests requis

Les tests portent sur les contaminations particulières et viables. Il est admis que les contaminations impliquant des microorganismes sont davantage préoccupantes, notamment dans le cadre de la production de médicaments stériles. Toutefois, la propreté particulière constitue un indicateur pertinent du bon fonctionnement du système de contrôle environnemental (PDA, 2001).

Les prélèvements requis pour le contrôle de l'environnement doivent porter sur l'air ainsi que sur les surfaces (sols, mur, équipements) et être réalisés en « activité » (FDA, 2004 ; ANSM, 2015). Enfin, les contrôles peuvent s'étendre au personnel présent en zone de production et s'effectuent au travers du contrôle des gants, sur lesquels les empreintes sont recueillies (ANSM, 2015).

#### 2.3.3.3. Définition de limites d'alertes et d'actions

Des limites d'action et d'alertes doivent être définies afin de statuer sur les résultats obtenus. Ces seuils sont à différencier des limites réglementaires applicables qui ont été présentées précédemment dans le cadre de la qualification des locaux (Tableaux 1 et 2).

Contrairement aux seuils définis par la réglementation, les limites d'alertes et d'action sont définies par les industriels et ont pour objectif de détecter toutes dérives potentielles susceptibles d'aboutir au dépassement des limites réglementaires applicables. Les limites d'alerte constituent des seuils pour lesquels tout dépassement doit déclencher une surveillance particulière afin de s'assurer de l'absence de dérive. Les limites d'actions, quant à elles, normalement au-dessus des limites d'alertes, permettent de déclencher une investigation approfondie et la mise en œuvre d'actions correctives afin de retrouver un niveau de propreté acceptable (OMS, 2012).

Ces deux seuils, propres à chaque industriel, constituent donc un élément important dans la prévention et la maîtrise des risques de contamination et sont susceptibles d'être régulièrement réévalués.

#### 2.3.3.4. Gestion des données générées

Les prélèvements réalisés dans le cadre d'un programme de monitoring environnemental génèrent de nombreuses données qu'il est important d'exploiter et de suivre dans le temps.

Les résultats issus des prélèvements peuvent donner lieu à des variabilités. Celles-ci peuvent notamment être imputables aux méthodes de prélèvements employées. En effet, les techniques employées tout comme les appareillages utilisés peuvent présenter des biais (limites de détection, influence du facteur humain, etc.) (RAMOND B., 2016). Ainsi, prises individuellement, ces données sont susceptibles de manquer de significativité. Il est de ce fait important de les traiter en tant qu'ensemble afin de pouvoir générer des tendances. Ces tendances peuvent, en outre, permettre la détection d'un changement significatif du profil particulière et microbiologique d'un environnement de production, même si ce dernier reste acceptable au vue des différents seuils applicables ou définis.

Tout comme la définition de limites d'alertes et d'action, le suivi et le traitement des données du monitoring environnemental constituent des outils fondamentaux dans la maîtrise des risques de contamination.

#### 2.3.4. Apports du monitoring environnemental

La présentation du monitoring environnemental a permis de mettre en avant les enjeux d'un tel programme. Lorsqu'il est correctement déployé et adapté à la structure concernée, le monitoring environnemental constitue un outil puissant pour la maîtrise de la contamination des environnements de production des médicaments stériles. En effet, celui-ci permet la détection précoce des contaminations et joue également un rôle important dans la prévention de ces dernières.

De plus, les données issues du monitoring environnemental revêtent une importance concernant la libération des lots. Ces derniers ne pouvant être contrôlés en intégralité car générant une destruction des produits en question, les données relatives à la qualité et au contrôle de l'environnement de production doivent alors « être prise en compte lors de la libération des dossiers de lots en vue de la libération des produits finis » (ANSM, 2015).

## 2.4. Conclusion

Différentes contaminations sont susceptibles d'affecter la qualité et la sécurité des produits pharmaceutiques. Dans le cadre de la production de médicaments stériles, celles-ci sont principalement bactériologique et particulaire et ont, pour la plupart, une origine humaine et environnementale. Ainsi, l'environnement de production occupe une place centrale dans la délivrance d'unités stériles répondant aux exigences de qualité et de sécurité attendues.

En vue de limiter les risques de contamination des produits, la réglementation impose la mise en œuvre de moyens de maîtrise. Cette obligation se traduit par la mise à disposition de locaux de production dédiés, appelés « Zones à Atmosphère Contrôlée », pourvus de système de traitement de l'air et de procédures d'entrées associées afin d'atteindre les exigences de propreté particulaire et microbiologique requises.

Si les performances de ces locaux de production sont démontrées de façon discontinue au travers de leurs qualifications, ces derniers doivent également faire l'objet d'un programme de surveillance continue, également appelé « monitoring environnemental ». Ce programme permet d'apporter la preuve de la qualité de l'environnement de production mais également de détecter et de prévenir les risques de contaminations. À condition d'être représentatif et adapté à l'activité, un tel programme s'avère être un outil particulièrement puissant dans la maîtrise de la contamination. Ainsi, la question de l'efficacité et de la robustesse d'un programme de monitoring environnemental se pose.

## PARTIE 3 : ETABLISSEMENT D'UN PROGRAMME DE MONITORING ENVIRONNEMENTAL

De nombreux documents de référence traitent du monitoring environnemental. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer les guides des Bonnes Pratiques de Fabrication (ANSM, EMA, FDA), les normes ISO des séries 14644 et 14698, ou encore les recommandations issues des pharmacopées ou institutions de conseil telles que l'USP, la « Parenteral Drug Association » (PDA), ou la « Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme » (PIC/S). Toutefois, l'absence de lignes directrices strictes offre la possibilité à chaque organisation de définir un programme de monitoring environnemental adapté à sa structure et au plus proche de la réalité. Cette flexibilité accordée, permettant au monitoring environnemental d'être un outil puissant pour la maîtrise de la contamination, peut également être source de subjectivité et de limites.

En effet, contrairement à la qualification des locaux qui est particulièrement encadrée et fait l'objet d'une norme internationale limitant les divergences d'interprétations, le monitoring environnemental est soumis à une obligation de résultats et non pas à une obligation de moyens. Ainsi, de nombreuses traductions peuvent résulter des recommandations émises par les autorités compétentes. De plus, la réalisation même d'une analyse de risque, conditionnant l'élaboration d'un programme de surveillance, est sujette à de nombreuses disparités de par l'importance du facteur humain.

Cette situation tend à limiter l'efficacité d'un tel programme. Le sujet fait par ailleurs l'objet des principales déviations relevées lors d'inspections menées par la FDA (RAMOND B., 2016). Définir une stratégie de surveillance de l'environnement fiable et robuste relève donc d'une problématique capitale pour les organisations.

Afin de répondre à cette problématique, une revue des réglementations et de la littérature sera effectuée pour chaque étape de la mise en œuvre d'un programme de monitoring environnemental. Cette recherche aura pour objectif d'apporter une vision globale des attentes relatives au monitoring environnemental.

## 3.1. Réalisation de l'analyse de risque

### 3.1.1. Objectifs

Une analyse de risque est un processus systémique d'identification des dangers et des risques associés. Appliquée au monitoring environnemental, l'analyse de risque a pour objectif de « *comprendre, d'évaluer et documenter les risques d'incidence de contamination indésirable* » (AFNOR, 2015b), et ainsi d'identifier des points critiques pouvant affecter la capacité à maîtriser la propreté particulière et microbiologique d'une zone à atmosphère contrôlée.

### 3.1.2. Méthodes

La méthodologie employée pour la réalisation de l'analyse de risque doit être basée sur des concepts scientifiquement reconnus (FDA, 2004). Ainsi, il est possible de se référer à l'ICH Q9 du Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (voir § 1.2.3.2) qui présente les différentes méthodes de gestion des risques. Parmi ces méthodes, nous pouvons citer :

- L'Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité (AMDEC) ou Failure Mode, Effects and Criticality Analysis (FMECA),
- L'Arbre des Défaillances,
- L'Analyse des Risques et maîtrise des Points Critiques ou Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP),
- L'Analyse des Risques et d'Opérabilité ou Hazard Operability Analysis (HAZOP),
- L'Analyse Préliminaire des Risques.

Ces méthodes sont par ailleurs conseillées par la norme ISO 14644-2 relative à la surveillance des performances des salles propres. Il appartient alors à chaque organisation de sélectionner la méthode s'adaptant au mieux à ses activités.

Une présentation succincte de ces méthodes d'analyse de risques et de leurs applications est proposée ci-dessous (Tableau 4).

Tableau 4 : Méthodes de gestion des risques (d'après les BPF, 2015)

	Objectifs	Principes	Principales étapes	Applications
AMDEC	Identification et appréciation des modes de défaillances, de leurs effets et de leur criticité	Cotation des risques relatifs à chaque mode de défaillance selon leur gravité, leur occurrence et leur détectabilité	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 – Préparation</li> <li>2 – Identification et analyse des défaillances</li> <li>3 – Cotation de la criticité et hiérarchisation des défaillances</li> <li>4 – Mise en place et suivi d'un plan d'action</li> </ol>	Application aux défaillances et risques associés aux processus de fabrication
Arbre des Défaillances	Evaluation des défaillances possibles des systèmes	Etablissement des liens entre les défaillances et leurs principales causes imputables	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 – Identification de la défaillance</li> <li>2 – Analyse du système</li> <li>3 – Réalisation de l'arbre de défaillance comprenant l'évènement sommet (défaillance), des événements intermédiaires (causes) et des connecteurs logiques</li> </ol>	Utilisation dans le cadre d'enquête sur des réclamations ou des dérives
HACCP	Approche systémique, proactive et préventive destinée à garantir la fiabilité, la sécurité et la qualité d'un produit	Identification des points de contrôle critiques d'un procédé	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 – Analyse des dangers et identification des mesures préventives à chaque étape du processus</li> <li>2 – Détermination des points de contrôles critiques</li> <li>3 – Etablissement des limites critiques</li> <li>4 – Création d'un système de surveillance des points de contrôles critiques</li> <li>5 – Elaboration d'actions correctives</li> <li>6 – Mise en place d'un système de vérification de l'efficacité</li> <li>7 – Mise en place d'un système d'enregistrement</li> </ol>	Identification et gestion des risques associés aux dangers d'origine physique, chimique et biologique
HAZOP	Evaluation des risques liés à la sécurité des procédés	Identification et analyse des dérives potentielles des procédés	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 – Définition des mots clés</li> <li>2 – Association des mots clés aux paramètres pertinents d'un processus</li> <li>3 – Identification et analyse des dérives potentielles</li> <li>4 – Détermination des moyens de détection et des barrières de sécurité (prévention de l'occurrence et de la gravité)</li> <li>5 – Elaboration et mise en place d'actions correctives</li> </ol>	Application aux procédés de fabrication, aux équipements et aux locaux de production
Analyse Préliminaire des Risques	Identification des dangers, des situations de risques ou des événements susceptibles de générer des dommages et de leur probabilité d'apparition	Outil d'analyse basé sur l'expérience et la connaissance d'un risque ou d'une non-conformité	<ol style="list-style-type: none"> <li>1 – Identification de l'éventualité d'apparition d'un risque</li> <li>2 – Evaluation quantitative des conséquences possibles sur la santé publique</li> <li>3 – Hiérarchisation des risques selon leur gravité et probabilité d'apparition</li> <li>4 – Identification des mesures correctives</li> </ol>	Application à la conception de locaux, de procédés ou de produits

L'Agence Européenne du Médicament, fournit, dans le cadre de la révision de l'Annexe 1 des GMP, des pistes de réflexion afin de mener à bien l'analyse de risques. Ainsi, les éléments suivants doivent être pris en considération :

- Les éléments d'entrée du processus (matières premières, consommables), et les risques dus aux matériaux utilisés lors de la production, tels que ceux impliquant des microorganismes ou des substances radiopharmaceutiques pouvant accroître les dangers biologiques et chimiques,
- Les équipements présents dans le local de production,
- L'activité et les opérations y étant menées,
- La connaissance du profil microbien et particulière du local,
- Les régimes d'écoulement d'air (COMMISSION EUROPEENNE, 2015).

Enfin, les données issues des essais de qualification doivent être considérées (ANSM, 2015).

### 3.1.3. Livrables

L'aboutissant de l'analyse de risques réside en un plan de surveillance. Au sens de la norme ISO 14644-2, il convient d'y faire apparaître les éléments suivants :

- La liste et la justification des paramètres à surveiller,
- La localisation des points de prélèvements,
- Les méthodes de mesurage à utiliser,
- La fréquence de prélèvement,
- Le format d'enregistrement des données et leur traitement (analyse, communication),
- La définition des limites d'acceptation, d'alerte et d'alarme ainsi que les actions requises en cas de dépassement,
- La fréquence de revue du plan de surveillance (AFNOR, 2015b).

Ce dernier point fait écho à une exigence formulée dans les GMP européennes qui précisent que l'analyse de risques doit être revue de façon périodique ou en cas de changements survenant dans les locaux. Cette revue périodique permet de s'assurer que le programme en place se maintient efficace.

## 3.2. Définition des points de prélèvement

La détermination de la localisation des points de prélèvement est le résultat direct de l'analyse de risques. Les localisations retenues doivent permettre de fournir des « *données significatives et interprétables* » afin de rendre possible l'identification de problèmes actuels ou potentiels de contamination (PDA, 2001). Il s'agit ainsi d'un élément central du programme de surveillance. En effet, les prélèvements effectués en des points non représentatifs de l'activité n'auront que peu de valeur lors de l'exploitation des données du monitoring environnemental puisque non déterminants pour la découverte aussi précoce que possible de toutes défaillances survenant dans les zones classées. Ainsi, les localisations posant le plus grand risque de contamination devront être identifiées et investiguées. La norme ISO 14644-2 précise que les localisations retenues doivent être définies avec précision selon les trois dimensions afin de permettre la reproductibilité des prélèvements.

### 3.2.1. Localisation des points de prélèvement non viables

La classification particulière selon la norme ISO 14644-1 décrit une stratégie concernant la détermination du nombre de points de prélèvements et de leur localisation (**Annexe 1**). Il s'agit d'une approche selon laquelle un nombre de points minimal est requis en fonction de la surface de la salle, lesquels points sont par la suite répartis uniformément au sein de surfaces de taille égale (maillage).

Cette approche par échantillonnage systématique semble en premier lieu avantageuse dans la mesure où elle permet de suivre la contamination sur l'ensemble de la zone et qu'elle est déjà implémentée dans le cadre de la qualification des locaux. Néanmoins, elle ne s'appuie pas sur l'analyse de risque préalablement réalisée et est susceptible de causer des difficultés d'ordre logistique du fait du nombre potentiellement élevé de prélèvements à réaliser. La localisation des points de prélèvement en des zones à plus haut risque est donc à privilégier. Cette stratégie est reprise par le « Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme » qui précise que le monitoring environnemental des points non viables ne doit pas spécifiquement être réalisé selon la norme ISO 14644-1 mais peut l'être avec un nombre de points de prélèvement réduit (PIC/S, 2011).

Les principaux textes de références ne fournissent pas davantage d'informations pour l'aide à la sélection de ces points non viables. Il convient alors de se reporter aux études menées lors des essais de qualification des locaux et de retenir les points ayant présenté une contamination particulière plus élevée. Les essais portant sur les régimes d'écoulement d'air et sur leur visualisation se montrent également nécessaires. L'identification de zones mortes, présentant un écoulement d'air non uniforme, devraient alors être surveillées.

### 3.2.2. Localisation des points de prélèvement viables

Ici encore, les localisations retenues doivent être représentatives des plus grands risques de contamination. Afin d'accompagner les organisations dans l'identification de ces points critiques, la « Parenteral Drug Association » dresse une série de questions auxquelles il est intéressant de réfléchir en premier lieu, à savoir :

- À quels endroits une contamination microbiologique aurait le plus d'effets sur la qualité des produits ?
- Quels endroits sont susceptibles de montrer des contaminations les plus élevées ?
- Quels endroits sont susceptibles de présenter une prolifération bactérienne la plus importante ?
- Quelles activités contribuent à la diffusion de la contamination ?
- Quels sites sont les plus difficiles ou inaccessibles à nettoyer et désinfecter ? (PDA, 2001).

Cette série de questions permet d'orienter notre réflexion et d'identifier trois principaux facteurs à prendre en compte : la connaissance des zones et des surfaces critiques, la prise en compte du facteur humain, ainsi celle des facteurs propres au processus de production et à la conception des locaux.

#### 3.2.2.1. Identification des zones et des surfaces critiques

D'une façon générale, les autorités et organismes compétents requièrent des prélèvements en des zones et surfaces critiques. Les zones critiques sont des zones conçues pour maintenir la stérilité des matériaux tandis que les surfaces critiques sont des surfaces entrant en contact avec un produit stérile. Ces surfaces sont stérilisées

en amont des opérations de production et des conditions de stérilité doivent y être maintenues (COMMISSION EUROPENNE, 2015).

Cette surveillance des zones et surfaces critiques se traduit par des prélèvements au niveau des surfaces à proximité ou en contact avec le produit (récipients, système de fermeture des récipients, etc.) (USP, 2013). La version révisée des GMP européennes précise que des contrôles sur les surfaces stériles, notamment en grade A, sont nécessaires afin de démontrer le maintien de conditions aseptiques (COMMISSION EUROPENNE, 2015).

#### 3.2.2.2. Prise en compte de l'activité humaine

L'humain étant la première source de biocontamination (Cf. § 2.1.2.), il est important de sélectionner des localisations capables d'évaluer l'impact de ce dernier. La localisation et les mouvements du personnel étant corrélés avec le risque de contamination de l'environnement, l'USP recommande le recueil d'informations concernant les mouvements et les positions des opérateurs. Ces données peuvent notamment être recueillies par observations lors des essais de qualification des locaux (USP, 2013).

#### 3.2.2.3. Prise en compte des facteurs liés aux processus et à la conception des locaux

Enfin, certains paramètres inhérents aux processus de fabrication doivent faire l'objet d'une attention particulière. La FDA recommande de tenir compte des potentielles difficultés d'installation, de la durée des traitements effectués et des impacts des interventions (FDA, 2004).

La conception des locaux peut également être déterminante dans la définition de points critiques pour la contamination. En effet, la présence d'endroits difficilement atteignables pour l'entretien des locaux ou encore la présence de points d'eau ou de vapeur peuvent ainsi favoriser la prolifération des microorganismes lors des productions.

## 3.3. Méthodes de prélèvement

### 3.3.1. Prélèvements non viables

Pour la réalisation des prélèvements particuliers non viables, il convient d'appliquer la méthodologie requise pour la classification des locaux et d'utiliser un compteur de particules dont le fonctionnement est basé sur la diffusion de la lumière. La norme ISO 14644-1 précise que les appareils de mesure utilisés doivent être accompagnés d'un certificat d'étalonnage valide et être adaptés à la taille des particules recherchées. Ces installations peuvent être fixes ou portables.

Le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication attire l'attention sur le risque de réalisation de faux comptages particuliers. En effet, ceux-ci peuvent être liés au bruit de fond électronique ou aux interférences lumineuses (ANSM, 2015).

### 3.3.2. Prélèvements viables

Différentes méthodes sont envisageables en fonction de la cible à investiguer (air, surface, personnel). Il existe un consensus sur les méthodes applicables. Celles-ci sont particulièrement décrites dans les guides fournis par l'United States Pharmacopeia et la Parenteral Drug Association ainsi que dans la norme ISO 14698.

#### 3.3.2.1. Prélèvements d'air

##### *3.3.2.1.1. Prélèvement d'air passif*

Les prélèvements d'air passif sont réalisés via l'utilisation de plaques de sédimentation. Cette technique fournit une évaluation qualitative et quantitative de la contamination des produits par voie aérienne et donne une indication sur la vitesse à laquelle les microorganismes se déposent sur les surfaces (AFNOR, 2004a). Cette méthode de prélèvement présente l'avantage d'être peu coûteuse et ne nécessite que peu de matériels. Elle est en revanche relativement longue, puisqu'il est demandé de laisser en place les plaques de sédimentation pendant plusieurs heures (PDA, 2001).

### 3.3.2.1.2. Prélèvement d'air actif

Les prélèvements d'air actif permettent d'apprécier la qualité microbiologique de l'air. Un volume minimum d'air à prélever est requis afin d'être représentatif de la zone considérée. Les Bonnes Pratiques de Fabrication recommandent un volume minimal de 1m<sup>3</sup> pour les prélèvements réalisés en classe A (ANSM, 2015).

Plusieurs dispositifs de prélèvement sont disponibles. La norme ISO 14698-1 prône l'utilisation d'échantillonneurs par impaction ou par filtration. Leurs principes de fonctionnement ainsi que leurs avantages et inconvénients sont retranscrits dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Méthodes de prélèvement d'air actif (d'après AFNOR, 2004a)

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients
Prélèvement d'air par impaction	Aspiration puis impaction de l'air sur un milieu de culture sur lequel les particules viables se développent	Facilité d'utilisation Prélèvement rapide	Altération de la viabilité des microorganismes si vitesse d'impaction ou temps de prélèvement trop élevés Coût élevé
Prélèvement d'air par filtration	Aspiration de l'air à travers un filtre sur lequel les particules viables sont recueillies. Après manipulation, le filtre est placé dans un milieu de culture	Facilité d'utilisation Prélèvement rapide	Altération possible de la viabilité des microorganismes en fonction des conditions de filtration (eg : déshydratation) Manipulation du filtre aseptique requise pour le placer dans un milieu de culture

### 3.3.2.2. Prélèvements de surface

Trois principales méthodes sont reconnues pour l'évaluation de la contamination des surfaces : l'utilisation de boîtes de contact, de films souples et d'écouvillons. Les principes, avantages et inconvénients de ces techniques sont synthétisés dans le tableau ci-après.

Tableau 6 : Méthodes pour les prélèvements de surface (d'après PDA, 2001)

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients
Boîtes de contact	Le milieu de culture contenu dans la boîte est pressé contre la surface à investiguer	Facile d'utilisation	N'est pas applicable aux surfaces irrégulières Confluence possible des microorganismes si le milieu de culture est mouillé, rendant l'analyse difficile Présence de résidus de milieu de culture après utilisation
Films souples	Le milieu de culture est déposé sur un substrat flexible puis pressé contre la surface à investiguer	Facile d'utilisation	N'est pas applicable aux surfaces irrégulières Confluence possible des microorganismes si le milieu de culture est mouillé, rendant l'analyse difficile Présence de résidus de milieu de culture après utilisation
Écouvillons	L'écouvillon est frotté contre la surface à investiguer	Utilisable sur surfaces irrégulières	Manipulation nécessaire pour mise en culture de l'échantillon

Ces méthodes permettent un renseignement qualitatif et quantitatif. Toutefois, les résultats obtenus sont fortement dépendants de la gestuelle appliquée lors de leur réalisation. La formation du personnel afin de limiter l'influence du facteur humain est alors importante.

#### 3.3.2.3. Contrôle du personnel

Des échantillons microbiologiques à la surface des gants des opérateurs sont prélevés. Lorsqu'applicables, les techniques présentées dans le tableau 6 sont utilisées.

#### 3.3.2.4. Incubation et identification

Après recueil, les échantillons microbiologiques sont placés dans un milieu de culture et incubés<sup>12</sup> à différentes températures afin de permettre le développement d'un large éventail de bactéries, de levures et de moisissures. Les pharmacopées américaines

<sup>12</sup> Incubation : Maintien des cultures de microorganismes dans des conditions favorables à leur croissance (température, humidité).

et européennes recommandent comme milieu de culture le TSB (Tryptic Soy Broth). La FDA et l'OMS recommandent de procéder respectivement à une incubation entre 30 et 35°C pendant 48 à 72h puis à une incubation entre 20 et 25°C pendant 5 à 7 jours (FDA, 2004 ; OMS, 2012).

Concernant l'identification, la FDA préconise l'utilisation de méthodes génotypiques, plus précises que les méthodes biochimiques ou phénotypiques. Au mieux, une identification de l'espèce doit être recherchée. Toutefois, une identification du genre est tolérée si appropriée (FDA, 2004).

#### 3.3.2.5. Méthodes alternatives

Des méthodes alternatives, visant à réduire les délais d'identification des microorganismes, peuvent être utilisées. Celles-ci sont tolérées par l'ensemble des autorités à condition qu'elles aient été validées et qu'une efficacité équivalente aux méthodes de références ait été démontrée.

### 3.4. Détermination des fréquences de prélèvements

Des fréquences de prélèvement, permettant l'identification des défaillances potentielles, doivent être établies.

Concernant les locaux de grade A, la réglementation impose un contrôle continu pendant la production et recommande l'application de principes similaires pour les locaux adjacents de grade B (ANSM, 2015).

Les fréquences de prélèvements pour les autres grades devront être déterminées en fonction de paramètres tels que le type d'activité, la conception des locaux, le poids de l'intervention humaine, la revue des données ultérieures de prélèvements environnementaux ou encore le recours ou non à la stérilisation du produit après son passage dans le local de production considéré (PDA, 2001). L'OMS ajoute par ailleurs qu'un renforcement de la fréquence de prélèvement devra être mis en place pour les locaux davantage utilisés et pour lesquels la circulation est importante (OMS, 2012).

Les fréquences de prélèvements appliquées sont donc amenées à varier en fonction du niveau de risque de contamination identifié. Ainsi, des locaux de même grade

pourront présenter des fréquences différentes, tout comme différents points de prélèvement au sein d'un même local.

Toutefois, certains organismes avancent des recommandations de fréquences. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer les recommandations formulées par l'OMS et l'USP (Tableaux 7 et 8).

*Tableau 7 : Recommandations des fréquences de prélèvements pour les contrôles environnementaux (d'après l'OMS, 2012)*

Grade	Prélèvement d'air actif (non viable)	Prélèvement d'air actif (viable)	Prélèvement d'air passif (viable)	Prélèvement de surface (viable)	Empreinte de gants (viable)
A	Pendant toute la durée de l'opération	Une fois par poste de travail	Une fois par poste de travail	Une fois par poste de travail	Une fois par poste de travail
B	Journalier	Journalier	Journalier	Journalier	Journalier
C	Hebdomadaire	Hebdomadaire	Hebdomadaire	Hebdomadaire	Non requis
D	Non requis	Mensuel	Mensuel	Non requis	Non requis

*Tableau 8 : Recommandations des fréquences de prélèvements pour les contrôles environnementaux (d'après l'USP, 2013)*

Grade	Prélèvement d'air actif (viable)	Prélèvement de surface (viable)
A	Une fois par poste de travail	A la fin de l'opération
B	Une fois par poste de travail	Une fois par poste de travail
C	Hebdomadaire	Hebdomadaire
D	Hebdomadaire	Hebdomadaire

Nous remarquons des divergences entre les différentes recommandations, celles formulées par l'USP étant davantage contraignantes. Il est cependant à noter que ces indications n'ont pas de valeurs réglementaires et qu'il appartient à chaque organisation de définir ses propres fréquences de prélèvements en fonction du niveau de risque identifié.

## 3.5. Traitement des données

### 3.5.1. Définition des seuils d'alerte et d'action

Les limites d'alarme et d'action doivent être définies entre les plages de fonctionnement normales et les limites réglementaires (§ 2.2.1.). Afin que celles-ci soient appropriées et spécifiques à chaque local, voir à chaque point de prélèvement, les GMP européennes recommandent que les limites soient établies à partir des résultats issus des qualifications de performance ou à partir de données historiques (COMMISSION EUROPEENNE, 2015). La FDA ajoute qu'un recours aux données issues des études de désinfection ou d'études sur des opérations similaires peut être bénéfique (FDA, 2004).

La Parenteral Drug Association livre des approches destinées à traiter ces données :

- L'approche par seuil de coupure : Cette méthode consiste à rassembler les données des prélèvements effectués en amont et de déterminer les 95<sup>ème</sup> et 99<sup>ème</sup> percentiles. Le 95<sup>ème</sup> percentile représente alors le seuil d'alerte tandis que le 99<sup>ème</sup> percentile est retenu comme seuil d'action.
- L'approche par distribution normale : Cette méthode est uniquement destinée aux comptages élevés et est donc difficilement applicable au traitement des données de prélèvements viables. Elle consiste à déterminer la moyenne ( $\bar{X}$ ) et l'écart type ( $\sigma$ ) de l'ensemble des données. Les formules suivantes déterminent les seuils :
  - o  $Seuil\ d'alerte = \bar{X} + 2 * \sigma$
  - o  $Seuil\ d'action = \bar{X} + 3 * \sigma$  (PDA, 2001).

Ces méthodes sont compatibles avec les recommandations des GMP européennes qui prévoient que les seuils d'alerte doivent être inférieurs aux seuils d'action (COMMISSION EUROPEENNE, 2015).

La norme ISO 14644-2 attire l'attention sur l'utilisation de limites trop restrictives, notamment concernant les résultats particuliers, susceptible d'aboutir à des déclenchements d'alarmes intempestifs. Cette situation pourrait mener à une absence de considération de ces dernières et ainsi limiter leur utilité.

### 3.5.2. Analyse des résultats

Les résultats du monitoring environnemental doivent dans un premier temps être considérés individuellement et comparés aux différentes limites établies. En effet, il n'est pas pertinent de traiter les moyennes des résultats, cette pratique aurait pour risque de lisser les résultats et d'occulter une contamination.

En cas de dépassement des limites, des actions doivent être entreprises. Celles-ci doivent être définies et documentées (ANSM, 2015).

Une autre approche, conseillée par l'USP, consiste en l'utilisation du taux de récupération de contamination (Contamination Recovery Rate, CRR) qui caractérise la fréquence à laquelle une contamination est détectée. Il est davantage destiné au suivi des contaminations microbiologiques. Ce taux est calculé selon la formule suivante :  $CRR = \frac{\text{Nombre de résultats positifs}}{\text{Nombre total d'échantillons}}$  (USP, 2013).

Afin d'orienter les entreprises dans l'interprétation de ces CRR, l'USP émet des recommandations de CRR initiaux à atteindre dans les milieux aseptiques (Tableau 9).

Tableau 9 : Taux de récupération de contamination initiaux suggérés dans des environnements aseptiques (USP, 2013)

Classe ISO	Prélèvement d'air actif (%)	Prélèvement d'air passif (%)	Prélèvement par boîte de contact ou par écouvillon (%)	Empreinte de gants (%)
ISO 5	<1	<1	<1	<1
ISO 6	<3	<3	<3	<3
ISO 7	<5	<5	<5	<5
ISO 8	<10	<10	<10	<10

Un changement observé dans ces CRR devrait être traité par la mise en place d'actions correctives.

### 3.5.3. Tendances

Nous avons vu précédemment que les résultats obtenus, particulièrement les résultats viables, étaient soumis à une forte variabilité du fait des limites techniques existantes. Ainsi, pris individuellement, un résultat de monitoring environnemental ne représente pas un indicateur quantitatif fiable de la contamination d'un local.

Toutefois, un regroupement des données par local, par secteur d'activité et par intervalle de temps permet de mettre en évidence des contaminations difficilement détectables ainsi que de possibles faux positifs. Cette centralisation des données, généralement représentée à l'aide de graphiques, permet de relever des tendances.

L'Agence Européenne des Médicaments identifie différents types de tendances :

- Augmentation du nombre de dépassements des limites d'alerte ou d'action,
- Dépassements consécutifs des limites d'alertes,
- Dépassements des limites réguliers et isolés,
- Changement du profil microbiologique (COMMISSION EUROPEENNE, 2015).

Une observation de telles tendances doit déclencher la mise en œuvre d'actions préventives et/ou correctives. Celles-ci peuvent être, en autres, un renforcement de la formation du personnel, la revue du programme de désinfection ou encore du plan de surveillance.

### 3.6. Conclusion

La définition d'un programme de monitoring environnemental représente un exercice complexe pour les entreprises. Face à une réglementation non exhaustive, il leur incombe de définir une stratégie permettant d'obtenir une évaluation représentative des risques de contamination existants dans leurs locaux de production. Cette recherche de représentativité nécessite une parfaite connaissance des processus de production, des flux de matières et de personnes ou encore de la conception des locaux. Chaque stratégie de monitoring environnemental appelle donc à être unique. Il n'existe ainsi pas de bonne ou de mauvaise stratégie, néanmoins, toutes doivent permettre d'atteindre l'objectif de prévention et de maîtrise des contaminations.

L'efficacité d'un tel programme est conditionnée par le suivi régulier des données générées, la mise en place d'actions de correction et de prévention si nécessaire et l'évaluation de l'efficacité de ces dernières. De plus, il ne s'agit pas d'un système statique. Face à l'évolution des réglementations, des pratiques et des comportements, mais également des résultats obtenus, une stratégie de monitoring environnemental est amenée à évoluer régulièrement.

# PARTIE 4 : DISCUSSION

La troisième partie de ce mémoire a permis d'exposer l'importance de la maîtrise de l'environnement de production et la nécessité de mettre en œuvre une stratégie de surveillance de ce dernier.

Le choix a été fait de se porter sur l'application du monitoring environnemental à l'industrie du vaccin. Ce médicament injectable, nécessitant des conditions parfaitement maîtrisées de production, est soumis aux règles les plus strictes. Ainsi, les stratégies de monitoring environnemental y sont fortement challengées afin de démontrer leur robustesse et leur fiabilité. En effet, si le monitoring environnemental peut s'avérer être un outil puissant pour la maîtrise de l'environnement de production, il est également sujet à de nombreuses interprétations et subjectivités, c'est pourquoi il fera l'objet de cette discussion.

Outre les difficultés relatives aux lectures pouvant être faites des réglementations applicables, il est intéressant d'orienter la réflexion sur des éléments susceptibles de représenter des freins ou des leviers à l'implémentation d'une stratégie de monitoring environnemental efficace. Cette discussion sera ainsi articulée autour de l'influence des facteurs humains, techniques et organisationnels.

## 4.1. Influence du facteur humain

### 4.1.1. Contamination de l'environnement de production

Un premier élément à prendre en compte est le risque de contamination de l'environnement de production en raison des activités de prélèvements.

En effet, cette activité est différente d'une activité de routine et nécessite l'apport de matériels spécifiques (milieux de cultures, équipements de mesure, etc.). De plus, cette activité est susceptible de renforcer la présence humaine dans les locaux de production. L'Homme étant la première source de contamination, cette activité peut être synonyme de risque de contamination supplémentaire.

Il est important de veiller à ce que les prélèvements n'induisent pas de risques supplémentaires pour les produits, notamment aux localisations jugées les plus

critiques. Nous avons pu voir qu'il s'agit cependant de localisations d'intérêt. Les industriels se retrouvent alors face à une problématique de choix. En effet, on peut se demander s'il est préférable de prendre le risque de contaminer le produit en surveillant au plus près l'environnement de production, ou de faire le choix d'une stratégie moins risquée mais également moins représentative et moins significative. Il s'agit alors pour les industriels de se positionner et de se justifier quant à la perte en significativité qu'ils peuvent accepter.

#### 4.1.2. Surestimation de la contamination

Ce second risque est relatif à la génération de résultats faussement positifs. Cette problématique s'adresse particulièrement aux prélèvements viables qui sont sujets à des manipulations et donc fortement influencés par le facteur humain. Ces manipulations peuvent être à l'origine d'une contamination des échantillons faussant ainsi les résultats. Cette situation présentera un risque moindre pour le produit, mais pourra empêcher, ou du moins retarder, la libération des lots, impactant alors la production et entachant les performances de l'entreprise. Face à cela, le renforcement de la formation et de la qualification du personnel en vue de la fiabilisation des pratiques humaines semblent indispensables. Les entreprises peuvent également faire le choix de méthodes nécessitant moins de manipulations ou avoir recours à des systèmes clos.

Les risques de contamination ou de surestimation de la contamination demandent donc de maîtriser l'ensemble des processus relatifs à la prise d'échantillons en zone (personnel formé, matériel désinfecté).

## 4.2. Limites techniques

Le monitoring environnemental doit également faire face à des limites techniques. Encore une fois, les prélèvements viables sont particulièrement concernés.

#### 4.2.1. Limites de détection et de quantification

L'une des principales limites techniques est relative à la détection et à la quantification des microorganismes. En effet, seuls les microorganismes recherchés sont susceptibles d'être retrouvés et identifiés. Par ailleurs, l'obtention d'un résultat négatif

ou en deçà des limites établies ne signifie pas qu'il n'y a pas de contamination, mais simplement qu'aucune contamination n'ait été détectée là où les prélèvements ont été effectués.

#### 4.2.2. Limites de réactivité

##### 4.2.2.1. Développement des méthodes d'identification rapides

Les délais d'identification des contaminations peuvent mettre à mal la réactivité d'un programme de monitoring environnemental. Ces délais peuvent, dans un premier temps, être imputables aux méthodes de prélèvement et d'identification utilisées. En effet, les principales méthodes d'identification recommandées par les pharmacopées font appel à des délais d'incubation de 5 à 7 jours. Ainsi, une contamination peut être mise en évidence une semaine après les prélèvements et peut s'être propagée, d'autant plus si les germes en question sont particulièrement résistants et nécessitent des programmes de désinfection spécifiques. Il est alors difficile de mettre en avant la réactivité et l'efficacité d'un tel programme.

Face à cette situation, on assiste au développement de nouvelles méthodes qui permettent une détection rapide voire immédiate des contaminations. Parmi celles-ci, nous pouvons citer le recours à la cytométrie de flux, à la spectrométrie de masse ou encore la recherche d'endotoxines bactériennes (ROEHRIG G., 2018).

Ces méthodes présentent des avancées certaines en améliorant le traitement des contaminations mais également en réduisant les coûts liés au stockage des échantillons et en diminuant les délais de mise sur le marché (ROEHRIG G., 2018). Toutefois, il s'agit de méthodes destructives face auxquelles les méthodes traditionnelles apportent des précisions supplémentaires. De plus, leurs recours ne sont que peu encouragés par les autorités et sont soumis à une validation de leurs usages, représentant un investissement financier et en temps conséquent pour les industriels (DUREUIL A., 2016).

Le développement des méthodes d'identification rapides semble ainsi être limité, bien qu'elles permettent, appliquées au monitoring environnemental, de le rendre davantage réactif et efficace.

#### 4.2.2.2. Développement des solutions de monitoring en continu

Enfin, les fréquences retenues pour la réalisation des prélèvements peuvent également être remises en cause. En effet, celles-ci peuvent ne pas permettre la détection d'une contamination ou d'une défaillance du système de traitement de l'air. Pour illustrer ces propos, prenons l'exemple d'une contamination se développant entre deux prélèvements et ayant été traitée par les procédures de nettoyage en place. Celle-ci n'aura pas été détectée mais aura tout de même été traitée. Les résultats du monitoring environnemental pourront alors apparaître comme non représentatifs de la qualité de l'environnement de production.

Pour pallier à cette situation, il pourrait être intéressant d'étendre le recours à un système de monitoring environnemental en continu à l'ensemble des grades de zones à atmosphère contrôlée, alors que la réglementation requiert actuellement un monitoring continu pour les ZAC de grade A.

Certains systèmes automatisés (systèmes *Keos* disponible chez BiiON, *viewLinc* de Vaisala, *IVtracer* de Netceler) sont capables d'enregistrer et de traiter les données de paramètres environnementaux en continu, tels que la pression, la température, l'humidité, et la propreté particulaire et microbiologique de l'air. Ainsi, ils permettent de mettre en évidence et d'alerter lorsque des conditions à risque pour les produits sont rencontrées. Dans cette optique, un système de monitoring environnemental apparaît comme étant un « *outil proactif de l'assurance qualité* » (CASSART A., 2011), en permettant une réaction rapide face à une contamination ou à un facteur de risque de contamination.

### 4.3. Limites organisationnelles

Enfin, le monitoring environnemental doit faire face à des limites organisationnelles. En effet, le déploiement d'un programme de surveillance nécessite la mobilisation et la coordination de nombreuses ressources, qu'il s'agisse de la définition de la stratégie de surveillance ou de la réalisation de cette dernière.

Tout d'abord, la charge de travail portée par le monitoring environnemental peut être conséquente face à un nombre de locaux de production important à surveiller. Dans les industries comptant plusieurs dizaines ou centaines de locaux, l'on s'oriente

davantage vers un traitement des données en procédant par découpage de zone (regroupement des locaux par activité, par flux, etc.). Toutefois, la question de l'adéquation du découpage retenu peut-être soulevée. Celui-ci doit pouvoir permettre l'identification de tendances. Ainsi, il apparaît qu'au plus un programme de monitoring environnemental est conséquent, au plus il est susceptible de perdre en finesse et en précision.

De plus, la réalisation de ce programme peut être complexe pour les entreprises dans la mesure où elle intègre de nombreux processus (formation du personnel, entrée matériel, procédés de production). Tout changement au sein de ces processus, qu'il s'agisse de changement relatif aux matériels ou aux activités, doit être pris en considération et maîtrisé. En effet, ces changements sont susceptibles de perturber les flux et d'apporter ainsi des modifications dans les localisations critiques des salles à surveiller.

Ainsi, la mise en place et la réalisation d'un programme de monitoring environnemental peut s'avérer particulièrement complexe et nécessite de nombreux investissements de la part des entreprises. La gestion de ce programme, et plus globalement la maîtrise de la contamination, est par ailleurs sous la gestion d'un service dédié appelé « assurance de stérilité ».

# CONCLUSION

La maîtrise de l'environnement de production est essentielle pour garantir la qualité des produits et assurer la sécurité des patients. Elle fait l'objet d'un processus global demandant de nombreuses ressources et dont le périmètre d'action est large (conception des locaux de production, traitement de l'air, formation du personnel, gestion des flux matériels et humains).

En parallèle de ce processus et afin de s'assurer qu'il se maintienne efficace, une surveillance de l'environnement est requise. Les données issues de ce programme de monitoring environnemental sont précieuses dans la mesure où elles permettent de statuer sur l'état de maîtrise de l'environnement mais également de détecter et de prévenir toutes dérives potentielles. Elles permettent par ailleurs d'apporter la démonstration que les conditions de fabrication des vaccins ont été respectées tout au long du processus. De plus, elles constituent l'un des éléments nécessaires à la libération des lots.

Cependant, le monitoring environnemental reste un outil qualité. En tant que tel, il est à appréhender et à déployer efficacement afin de capitaliser pleinement ses avantages. La revue des réglementations et des recommandations applicables a permis de mettre en avant la complexité et la subjectivité entourant cet outil. Les principaux éléments de réponse dans la définition d'une stratégie de monitoring efficace résident dans les notions de spécificité et de représentativité, faisant donc appel à une parfaite connaissance des activités de production. Toutefois, en dépit de l'application des dispositions présentées afin de convenir d'une stratégie efficace, il est important de traiter les données générées avec recul. En effet, celles-ci sont principalement issues de prélèvements discontinus, et fournissent alors, en l'état, une image à un instant donné de l'environnement de production. C'est pourquoi il est indispensable de mettre ces résultats en perspective de l'activité de production.

Face à ces limites, on assiste à un développement d'améliorations techniques tendant à la fiabilisation des résultats (prélèvements en continu et automatisés) et à la prise de décision. Ainsi, le monitoring environnemental est un processus dynamique, dont l'amélioration et l'affinement en continu sont nécessaires.

# BIBLIOGRAPHIE

AFNOR, 2001. NF EN ISO 14644-4. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés, *Partie 4 : Conception, construction et mise en fonctionnement.*

AFNOR, 2004a. NF EN ISO 14698-1. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. *Maitrise de la biocontamination, Partie 1 : Principes généraux et méthodes.*

AFNOR, 2004b. NF EN ISO 14698-2. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. *Maitrise de la biocontamination, Partie 2 : Evaluation et interprétation des données de biocontamination.*

AFNOR, 2006. NF EN ISO 14644-3. Salles propres en environnements maîtrisés. *Partie 3 : Méthodes d'essais.*

AFNOR, 2015a. NF EN ISO 14644-1. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. *Partie 1 : Classification de la propreté particulière de l'air.*

AFNOR, 2015b. NF EN ISO 14644-2. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés. *Partie 2 : Surveillance du maintien des performances de la salle propre pour la propreté particulière de l'air.*

ANSM, 2015. Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication.

BAIL J-N, 2008. Vaccination : Enjeux de santé publique et perspectives économiques. *Editions John Libbey Eurotext.* pp. 13-23.

BAZIN H., 2008. L'histoire des vaccinations. *Editions John Libbey Eurotext.* 471p.

CASSART A., 2011. Déploiement d'une solution de monitoring environnemental en continu. *Salles propres, n°0077.* [En ligne]. Disponible sur : <http://processpropre.fr/Imprimer/fiche/?id=934&from=actualites&type=archive>. (Consulté le 28/07/2018).

COMMISSION EUROPEENNE, 2003. Directive 2003/94/CE de la commission du 8 octobre 2003 établissant les principes et lignes directrices de bonnes pratiques de fabrication concernant les médicaments à usage humain et les médicaments expérimentaux à usage humain. [En ligne]. Disponible sur : [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir\\_2003\\_94/dir\\_2003\\_94\\_fr.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2003_94/dir_2003_94_fr.pdf). (Consulté le 15/06/2018).

COMMISSION EUROPEENNE, 2015. Eudralex. The rules governing medicinal products in the european union. *Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products (revision).* Vol. 4. [En ligne]. Disponible sur :

[https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/gmp/2017\\_12\\_pc\\_annex1\\_consultation\\_document.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/gmp/2017_12_pc_annex1_consultation_document.pdf). (Consulté le 20/07/2018).

DUREUIL A., 2016. Enquête contrôle microbiologique : les méthodes rapides et traditionnelles s'équilibrent. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.industriepharma.fr/les-methodes-rapides-et-traditionnelles-s-equilibrent,75746>. (Consulté le 02/09/18).

ER2i INGENIERIE, 2015. Conception des installations et équipements pour salles propres. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.er2i.eu/wp-content/uploads/2015/01/Salles-propres-Conception-des-installations-et-%C3%A9quipements2.pdf>. (Consulté le 10/07/2018).

FDA, 2004. Guidance for Industry. *Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice*.

GHERARDI RK., COQUET M., CHERIN P., BELEC L., MORETTO P., DREYFUS PA., PELLISSIER JF., CHARIOT P., AUTHIER FJ., 2001. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain*, Vol. 124. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11522584>. (Consulté le 07/08/2018).

INED, 2014. La durée de vie dans le monde. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.ined.fr/fr/tout-savoir-population/memos-demo/focus/la-duree-de-vie-dans-le-monde/>. (Consulté le 16/06/2018).

INSERM, 2013. Développement du médicament. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/medicament-developpement>. (Consulté le 15/06/2018).

INSERM, 2014. Vaccinations. *Séminaires Ketty Schwartz*. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/seminaires/sks-vaccinations>. (Consulté le 10/06/2018).

LAUNAY O., 2017. Les vaccins de demain. *Médecine*, Vol. 13, numéro 3. [En ligne]. Disponible sur : [https://www.jle.com/fr/revues/med/e-docs/les\\_vaccins\\_de\\_demain\\_309323/article.phtml](https://www.jle.com/fr/revues/med/e-docs/les_vaccins_de_demain_309323/article.phtml). (Consulté le 15/06/2018).

LEEM, 2012. Le parcours du vaccin. [En ligne]. Disponible sur : [https://www.leem.org/sites/default/files/parcours\\_vaccins.pdf](https://www.leem.org/sites/default/files/parcours_vaccins.pdf). (Consulté le 15/06/2018).

LEEM, 2015. Quel est le poids de l'industrie du vaccin ? [En ligne]. Disponible sur : <https://www.leem.org/media/quel-est-le-poids-de-lindustrie-du-vaccin-0>. (Consulté le 31/05/2018).

LEEM, 2017a. Marché mondial. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.leem.org/marche-mondial>. (Consulté le 31/05/2018).

LEEM, 2017b. Vaccins. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.leem.org/vaccins>. (Consulté le 16/06/2018).

LEEM, 2018. Plateforme vaccins. *Faire de la France la référence européenne de la politique vaccinale, Nos 15 axes de propositions*. [En ligne]. Disponible sur : [https://www.leem.org/sites/default/files/2018-04/LEEM\\_Plateforme\\_Vaccins2018\\_EXE3.pdf](https://www.leem.org/sites/default/files/2018-04/LEEM_Plateforme_Vaccins2018_EXE3.pdf). (Consulté le 15/06/2018).

LEGIFRANCE, 2016. Article L5121-1. *Code de la Santé Publique*. [En ligne]. Disponible sur : [https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=B4F2360994D25477655BFDFD61DAC367.tplqfr30s\\_2?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000033621108&dateTexte=20180619&categorieLien=id#LEGIARTI000033621108](https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do;jsessionid=B4F2360994D25477655BFDFD61DAC367.tplqfr30s_2?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000033621108&dateTexte=20180619&categorieLien=id#LEGIARTI000033621108). (Consulté le 11/06/2018).

LEGIFRANCE, 2017a. Article L. 3111-1. *Code de la Santé Publique*. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006687777&dateTexte=&categorieLien=cid>. (Consulté le 16/06/2018).

LEGIFRANCE, 2017b. Article L. 3111-2. *Code de la Santé Publique*. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000006687781>. (Consulté le 16/06/2018).

MOULIN A-M., 1996. L'aventure de la vaccination. *Editions Fayard*. 492p.

OMS, 1971. La variole. [En ligne]. Disponible sur : [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67497/WHO\\_SE\\_71.28\\_fre.pdf;jsessionid=8AD3220274CBF5F96F53656948AFF162?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67497/WHO_SE_71.28_fre.pdf;jsessionid=8AD3220274CBF5F96F53656948AFF162?sequence=1). (Consulté le 10/06/2018).

OMS, 2010. Vaccins et vaccinations : situation dans le monde. *Troisième édition*. [En ligne]. Disponible sur : [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44209/9789242563863\\_fre.pdf;jsessionid=0B48DE113BC1BF9D05931FA164FE6A3A?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44209/9789242563863_fre.pdf;jsessionid=0B48DE113BC1BF9D05931FA164FE6A3A?sequence=1). (Consulté le 16/06/18).

OMS, 2012. Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities. *Points to consider for manufacturers of human vaccines*. [En ligne]. Disponible sur : [http://www.who.int/immunization\\_standards/vaccine\\_quality/env\\_monitoring\\_cleanrooms\\_final.pdf](http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/env_monitoring_cleanrooms_final.pdf). (Consulté le 01/08/2018).

OMS, 2013. Plan d'actions mondial pour les vaccins, 2011-2020. [En ligne]. Disponible sur : [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/79315/9789242504989\\_fre.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/79315/9789242504989_fre.pdf?sequence=1). (Consulté le 31/05/2018).

OMS, 2016. Les bases de la sécurité des vaccins, *Manuel d'apprentissage*. 208p.

PARAT S., PERDRIX A., MANN S., BACONNIER P., 1999. Contribution of particule counting in assesment of exposure to airborne microorganisms. *Atmospheric Environment*, Vol 33. pp. 951-959.

PDA, 2001. Technical Report N°13. Fundamentals of an Environmental Monitoring Program. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, Vol. 55, N°5. 36p.

PIC/S, 2011. Recommendation on the aseptic processes. [En ligne]. Disponible sur : <https://picscheme.org/en/publications>. (Consulté le 27/08/2018).

RAMOND B., 2016. Environmental monitoring program : hot topics in microbiology & best pratices. *La Vague*, n°48. pp. 37-41.

ROEHRIG G., 2018. Les methodes rapides en microbiologie : une opportunité pour tout à chacun au sein de l'entreprise. [En ligne]. Disponible sur : <https://a3p.org/les-methodes-rapides-en-microbiologie-une-opportunite-pour-tout-un-chacun-au-sein-de-lentreprise-la-vague-48/>. (Consulté le 02/09/2018).

UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2011. USP 71 Sterility tests. [En ligne]. Disponible sur : [http://biotadiag.com/wp-content/uploads/2015/08/USP34-NF29\\_71\\_Sterility\\_Test.pdf](http://biotadiag.com/wp-content/uploads/2015/08/USP34-NF29_71_Sterility_Test.pdf). (Consulté le 28/07/2018).

UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2013. USP 1113 Microbiological control and monitoring of aseptic processing environments. [En ligne]. Disponible sur : <https://pdfs.semanticscholar.org/a5cd/55a711792f1e7beef67b5132bd452c06115d.pdf>. (Consulté le 20/08/2018).

VACCINES EUROPE, 2016. The UE Vaccine Industry in figures. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.vaccineseuropa.eu/about-vaccines/vaccines-europe-in-figures/>. (Consulté le 31/05/2018).

VACCINATION INFO SERVICE, 2018a. Vaccins d'hier à aujourd'hui. [En ligne]. Disponible sur : <http://vaccination-info-service.fr/Generalites-sur-les-vaccinations/Histoire-de-la-vaccination/Vaccins-d-hier-a-aujourd-hui>. (Consulté le 15/06/2018).

VACCINATION INFO SERVICE, 2018b. Perception et adhésion à la vaccination en France. [En ligne]. Disponible sur : <http://professionnels.vaccination-info->

[service.fr/Aspects-sociologiques/Perception-et-adhesion-a-la-vaccination/Perception-et-adhesion-a-la-vaccination-en-France](http://service.fr/Aspects-sociologiques/Perception-et-adhesion-a-la-vaccination/Perception-et-adhesion-a-la-vaccination-en-France). (Consulté le 07/08/2018).

# ANNEXES

Annexe 1 : Classification particulière selon la norme ISO 14644-1, Annexe A.....	66
Annexe 2 : Essais de qualification des Zones à Atmosphère Contrôlée.....	68

**Annexe 1** : Classification particulière selon la norme ISO 14644-1, Annexe A

**1. Définition du nombre de points de prélèvement**

Le nombre minimal de point de prélèvement ( $N_L$ ) en fonction de la surface du local est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10 : Nombre de points de prélèvement en fonction de la surface de la salle (AFNOR, 2015a)

Surface du local (m <sup>2</sup> ) inférieure ou égale à	Nombre minimal de points de prélèvement ( $N_L$ )
2	1
4	2
6	3
8	4
10	5
24	6
28	7
32	8
36	9
52	10
56	11
64	12
68	13
72	14
76	15
104	16
108	17
116	18
148	19
156	20
192	21
232	22
276	23
352	24
436	25
636	26
1000	27

Lorsque la surface de la salle est supérieure à 1000 m<sup>2</sup>, il convient d'utiliser la formule suivante :

$$N_L = 27 \times \frac{A}{1000}$$

Avec A = Surface de la salle en m<sup>2</sup>

## **2. Localisation des points de prélèvements**

- Diviser la salle en  $N_L$  sections de surface égale
- Choisir au sein de chacune des sections un point représentatif

## **3. Détermination des volumes élémentaires et des durées de prélèvement**

Le volume élémentaire  $V_s$ , exprimé en litres, est calculé selon la formule suivante :

$$V_s = \frac{20}{C_{n,m}} \times 1000$$

Avec  $C_{n,m}$  = limite de classe visée en nombre de particules par  $m^3$

La norme requiert un volume minimal de 2 litres et au moins une minute de prélèvement.

## **Annexe 2** : Essais de qualification des Zones à Atmosphère Contrôlée

Tableau 11 : Essais de qualification des Zones à Atmosphère Contrôlée (d'après AFNOR, 2006)

Essais	Objectif / Principe	Matériel(s) à utiliser
Classification particulaire	Comptage des particules en suspension dans l'air	Compteur de particules
Mesurage du débit d'air	Détermination du débit-volume de l'air soufflé (flux d'air non directionnel) ou de la distribution des vitesses de l'écoulement de l'air (flux d'air unidirectionnel)	Balomètre
Mesurage de la pression différentielle de l'air	Vérification de la capacité de l'installation à maintenir la pression différentielle de l'air spécifiée entre l'installation et son environnement	Micromanomètre électronique Manomètre à tube incliné Manomètre mécanique de pression différentielle
Test de l'intégrité des filtres	Vérification de l'absence de fuites et de défauts au niveau des filtres	Photomètres linéaires ou logarithmiques Compteur de particules
Mesurage du flux d'air (direction et visualisation)	Mesure de la vitesse d'écoulement de l'air et de son uniformité	Anémomètre à hélices Anémomètre thermique Anémomètre à ultrasons
Mesurage de la température et de l'humidité	Démonstration la capacité du système de traitement de l'air à maintenir les niveaux d'humidité et de température spécifiés	Thermomètre et hygromètre
Essai électrostatique et essai d'un générateur d'ions	Evaluation des niveaux de tensions électrostatiques présents sur les objets, des propriétés de dissipation de charge de matériaux et des performances des générateurs d'ions	Voltmètre électrostatique Ohmmètre à grande résistance
Essais de sédimentation des particules	Mesure de la quantité de particules déposées sur les surfaces par sédimentation	Photomètre ou compteur de sédimentation Compteur de particules superficielles
Essais du temps de récupération	Vérification de la capacité du système à revenir à la classe de propreté voulue et en une durée définie après exposition à un aérosol composé de particules	Compteur de particules
Essai de recherche de fuite de confinement	Vérification de l'absence d'entrée d'air non filtré dans la salle classée	Compteur de particules

DÉFINITION D'UNE STRATÉGIE DE MONITORING ENVIRONNEMENTAL FIABLE ET ROBUSTE DES ZONES À ATMOSPHERE CONTRÔLÉE : APPLICATION À L'INDUSTRIE DU VACCIN
--

Les **vaccins** sont des médicaments stratégiques et complexes pour lesquels les exigences relatives aux conditions environnementales de fabrication sont parmi les plus strictes. Afin de prévenir les risques de **contaminations** particulaires et microbiologiques, la réglementation impose le recours à des locaux de production spécifiques : les **Zones à Atmosphère Contrôlée**. Ces locaux font l'objet d'un programme de **monitoring environnemental**, dont l'ambition est de détecter et de prévenir les dérives potentielles afin de maîtriser les **risques** de contamination. Une revue de la réglementation et des recommandations applicables a permis d'identifier les notions essentielles à considérer dans l'application de cet outil. Toutefois, afin que celui-ci se montre pleinement efficace, une recherche de **représentativité** et de spécificité, propre à chaque entreprise, doit guider l'ensemble des étapes de définition d'une stratégie de monitoring environnemental.

Mots clés : vaccins, contaminations, zones à atmosphère contrôlée, monitoring environnemental, risques, représentativité

DEFINITION OF A RELIABLE AND ROBUST ENVIRONMENTAL MONITORING STRATEGY FOR CONTROLLED ATMOSPHERIC AREAS : APPLICATION TO THE VACCINE INDUSTRY
---

**Vaccines** are strategic and complex medicines for which requirements relating to environmental conditions of manufacture are among the most stringent. In order to prevent risks of particulate and microbiological **contaminations**, regulations require the use of specific production facilities : **Controlled Atmosphere Areas**. These premises are subject to an **environmental monitoring** program. The aim of this program is to detect and prevent potential failures in order to control **risks** of contamination. A review of the applicable regulations and recommendations made it possible to identify the essential concepts to be considered in the application of this tool. However, in order to be fully effective, a search of **representativeness**, specific to each company, must guide all the steps in defining an environmental monitoring strategy.

Key words : vaccines, contaminations, controlled atmosphere areas, environmental monitoring, risks, representativeness