

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement

le 19 Janvier 2012

Par Mademoiselle **Gaëlle Stella DATCHOUA**

MAITRISE DE CONTAMINATIONS ET
ISOTECHNIE DANS UNE ZONE DE
FABRICATION DES FORMES INJECTABLES

Membres du jury :

Président : Anne GAYOT

Professeur des universités, laboratoire de galénique - Lille II

Membre(s) extérieur(s) : Marie Dominique IBARRA

Chef de service du service de galénique Liquides-Pâteux-
Injectables au Centre de Recherche et Développement
Pierre Fabre de Toulouse

Louise MENDY

Responsable Assurance Qualité au Centre de Recherche et
Développement Pierre Fabre de Toulouse



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



Université Lille 2
Droit et Santé

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Christian SERGHERAERT
Vice- présidents :	Professeur Véronique DEMARS Professeur Marie-Hélène FOSSE-GOMEZ Professeur Régis MATRAN Professeur Salem KACET Professeur Paul FRIMAT Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE Professeur Patrick PELAYO Madame Claire DAVAL Madame Irène LAUTIER Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Rémy PAMART
Secrétaire général :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur :	Professeur Damien CUNY
Assesseurs :	Mme Nadine ROGER Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs :	Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mlle	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3

M.	IMBENOTTE	Michel	Toxicologie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie Générale
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	VION	Daniel	Droit et déontologie pharmaceutique

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M	BRUNET	Claude	Pharmacologie
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie et Virologie Cliniques
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GAMOT	André	Chimie Analytique
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LHERMITTE	Michel	Toxicologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)
M.	BONTE	Jean-Paul	Chimie Analytique et (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie Générale
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BOUTILLON	Christophe	Chimie Organique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie

M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mlle	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
M.	DE FOUCAULT	Bruno	Sciences végétales et fongiques
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLAMENT	Marie-Pierre	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Melle	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Virologie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Melle	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Pharmacie Galénique
M.	POMMERY	Jean	Toxicologie
Mme	POMMERY	Nicole	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
Mme	VITSE	Annie	Parasitologie
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Clinique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique
M.	CAZALET	Jean Bernard	Pharmacie Clinique
M.	CREN	Yves	Biomathématiques Information Médicale
M.	FIEVET	Pierre	Biomathématiques Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques - Pharmacie virtuelle

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique



Université Lille Nord de France

Pôle de Recherche
et d'Enseignement Supérieur



Université Lille 2
Droit et Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

REMERCIEMENTS

AUX MEMBRES DU JURY

Madame Anne GAYOT : Président du Jury

Pour l'honneur que vous nous faites en présidant cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de mon respect et de toute ma reconnaissance.

Madame Marie-Dominique IBARRA : Conseiller de Thèse

D'une part pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer le stage de fin d'études au sein de son service, et d'autre part pour m'avoir fait confiance, conseillée, encouragée pendant six mois...et signé pour quelques mois supplémentaires en prenant la Direction de cette thèse, malgré votre éloignement géographique.

Pour votre implication, sincères et chaleureux remerciements.

A Madame Louise MENDY

Pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de ma profonde reconnaissance pour votre disponibilité et ma sincère admiration pour votre compétence.

A MA FAMILLE

Mes chers parents

Considérez ce travail comme le symbole de l'aboutissement de mes études et mon départ dans la vie. Soyez assurés de ma profonde reconnaissance pour tout l'amour que vous m'avez donné.

Je vous dois mon éducation et je vous remercie pour toutes les valeurs que vous m'avez inculquées notamment celle du travail. Je vous remercie d'avoir pu m'offrir des études si prestigieuses. Vous êtes et vous resterez ma fierté à jamais.

Mes frères et sœurs : Inès et Matéo, Hervé et Liina, Edgar et Annie, Mireille, Vanessa,

Merci d'avoir toujours été présents à mes côtés. Vous avez essayé de me faciliter la vie tout au long de mes études du mieux que vous le pouviez...Mais franchement, vous auriez pu faire plus...Ou bien ? (rires)

A MES AMIS

Ceux de la faculté,

Avec vous, j'ai pu partager bien plus qu'un amphithéâtre ou une salle de Travaux Pratiques.

- *Option officine : Comme vous le voyez, l'officine n'est pas une fatalité....*
- *Option industrie : Notre force réside dans notre grande capacité à travailler dans l'urgence. Restons solidaires, comme nous l'avons si bien été durant les examens! Evitons de créer des usines à gaz...*

Mes amis médecins,

Je conçois que vous ayez choisis la facilité, ce n'est pas offert à tout le monde d'être Pharmacien. Santé !

Ingénieurs et ceux d'ailleurs,

Patrick (Pakito)

Tu m'as toujours encouragé. Merci pour ta compréhension, ta patience et ton attention.

Stella (Zezette), **Laetitia** (Nenette), **Marion** (Schtroumpfette), **Lucette** (Lulu), **Maelle**

Merci pour votre amitié et votre présence durant toutes ces années d'études, vous avez toujours été là quand il le fallait, merci pour votre soutien.

Ceux que j'oublie de citer : Pardonnez-moi...

*Je dédie cette thèse
A ma famille,
A mes amis.*

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	13
LISTE DES TABLEAUX.....	14
LISTE DES ANNEXES	15
LISTE DES ABREVIATIONS.....	16
PARTIE 1 : CONTEXTE GENERAL.....	17
1. INTRODUCTION	17
2. QUALITÉ, VALIDATION ET QUALIFICATION	19
2.1. NOTION DE QUALITE	19
2.1.1. LE SYSTEME D'ASSURANCE QUALITE	19
2.1.2. MAITRISE DE LA QUALITE	20
2.2. Notions de validation	21
2.2.1. Historique	21
2.2.2. Définition.....	21
2.2.3. Bénéfices de la Validation :	22
2.2.4. Pourquoi valider ?	22
2.2.5. Plusieurs approches de la validation.....	23
2.3. Notions de qualification	24
3. CAS PARTICULIER DU MEDICAMENT INJECTABLE :	26
3.1. Contexte du projet -Contexte réglementaire	27
3.2. PRESENTATION DE LA ZONE PILOTE DES FORMES INJECTABLES DU CRDPF	28
3.2.1. Exemple d'un procédé de fabrication des formes injectables.....	29
3.2.2. Les locaux	30
3.2.3. Utilités process	30
3.2.4. LES EQUIPEMENTS.....	31
PARTIE 2 : MAITRISE DE LA CONTAMINATION ET ISOTECHNIE	32
4. MAITRISE DE LA CONTAMINATION :	32
4.1. Historique	32
4.2. Objectifs	32
4.3. Types de contaminants	33
4.3.1. Contamination particulaire	33
4.3.2. Contamination microbiologique	33

4.3.3.	Contamination chimique.....	34
4.4.	La contamination croisée	34
4.4.1.	Recommandations et alternatives	34
4.4.2.	Solutions techniques mises en œuvre	35
4.4.3.	Ségrégation des produits	35
4.4.4.	Analyse fonctionnelle et identification des points critiques.....	35
4.4.5.	Maitrise des flux.....	35
4.4.6.	Maitrise des ambiances.....	35
4.4.7.	Systèmes clos	36
4.5.	Maîtrise de la contamination dans les zaC.....	36
4.5.1.	Mesures préventives	36
4.5.1.1.	Matières	37
4.5.1.2.	Matériel	38
4.5.1.3.	Main d'œuvre	38
4.5.1.3.1.	Formation.....	39
4.5.1.3.2.	Hygiène et habillage.....	39
4.5.1.3.3.	Comportement en ZAC	40
4.5.1.4.	Milieu.....	41
4.5.1.4.1.	Locaux	41
4.5.1.4.2.	Les vestiaires	42
4.5.1.4.3.	Air	42
5.	ISOTECHNIE	48
5.1.	Définition d'un isolateur	48
5.2.	Confinement.....	50
5.3.	Méthodes de manipulation.....	51
5.4.	Ventilation et filtration.....	52
5.5.	Méthodes de transfert	53
5.5.1.	Contrôle continu et monitoring	54
5.5.2.	Test d'étanchéité de l'enceinte.....	55
5.5.2.1.	Test de chute de pression (test quantitatif).....	55
5.5.2.2.	Test à l'ammoniaque (test qualitatif)	55
5.5.2.3.	Cas particulier du contrôle des gants des isolateurs	56
5.6.	Conclusion : isolateur vs salle blanche.....	58
6.	VALIDATION DES PROCÉDES DE BIODECONTAMINATION DES ISOLATEURS.....	60

6.1.	Le plan de validation	60
6.2.	Quelques rappels : DESINFECTION et décontamination.....	62
6.3.	validation du procédé de biodécontamination des isolateurs	62
6.3.1.	Stérilisation ou biodécontamination des isolateurs ?.....	62
6.3.1.1.	Définition.....	62
6.3.1.2.	Historique	63
6.3.1.3.	Principe de fonctionnement des équipements de stérilisation de surface	63
6.3.1.4.	Les agents stérilisants.....	64
6.3.1.5.	Les indicateurs biologiques (I.B).....	64
6.3.2.	Les isolateurs de la ligne de répartition du CRDPF	65
6.3.2.1.	Isolateur Déchargement Four (IDF).....	67
6.3.2.2.	Isolateur Remplissage (IR)	67
6.3.2.3.	Isolateur Sertissage (IS)	68
6.3.3.	Validation de la biodécontamination des isolateurs de la ligne de répartition.....	68
6.3.3.1.	Principe.....	69
6.3.3.2.	Matériels nécessaires	70
6.3.3.3.	Générateur (VHP) BIOQUELL: MODELE CLARUS L	70
6.3.3.4.	Méthodologie des tests.....	71
6.3.3.4.1.	Préparation des isolateurs avant la biodécontamination.....	71
6.3.3.4.2.	Etapes du cycle de biodécontamination	71
6.3.3.5.	Exemples de Résultats.....	72
6.3.3.5.2.	Résultats de validation de l'efficacité du cycle de biodécontamination et de l'efficacité du cycle de rinçage	72
6.3.4.	Contrôle de l'environnement bactériologique suite à la biodécontamination	74
6.3.5.	Conclusion	74
PARTIE 3 : ASSURANCE DE STERILITE ET GESTION DES RISQUES		76
7.	TEST DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE (TRA) OU MEDIA FILL TEST (MFT)	76
7.1.	Objectif et But	76

7.2.	Principe.....	77
7.3.	Conditions de remplissage	77
7.4.	Type de milieu de culture.....	77
7.5.	Limites du MFT	78
7.6.	Conclusion	78
8.	ANALYSES DE RISQUES BASEE SELON UNE METHODE AMDEC	80
8.1.	Quelques définitions	80
8.2.	management Du RISQUE qualite	81
8.2.1.	Contexte réglementaire	81
8.2.2.	Processus du management des risques Qualité :	82
8.3.	CONTENU D'UNE DEMARCHE AMDEC	83
8.3.1.	Généralités	83
8.3.2.	Gestion des risques	84
8.4.	Exemples d'analyses de risques	86
8.4.1.	Analyse de risques de contamination croisée.....	86
8.4.1.1.	Définition du risque de contamination croisée	87
8.4.1.2.	Cotation	87
8.4.1.3.	Résultats.....	88
8.4.1.4.	Conclusion:	88
8.4.2.	Analyse de risques de contamination microbiologique.....	89
8.4.2.1.	Méthodologie	89
8.4.2.2.	Définition du risque de contamination microbiologique.....	90
8.4.2.3.	Cotation	90
8.4.2.4.	Résultats	91
8.4.2.5.	Conclusion	92
9.	CONCLUSION GENERALE	93
	ANNEXES	95

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Concept de qualité totale.....	19
Figure 2 : Exemple de procédé de fabrication des solutions injectables réparties aseptiquement en flacons dans la zone de production 4.....	29
Figure 3 : Diagramme 5M des facteurs influençant le niveau de propreté d'une zone de fabrication.....	37
Figure 4 : Exemple de cascade de pression.....	43
Figure 5 : Schéma simplifié du circuit de l'air en ZAC.....	45
Figure 6 : Schémas représentant un flux d'air turbulent (à gauche), laminaire (milieu) et unidirectionnel (à droite)	46
Figure 7 : Différentes composantes d'un isolateur.....	49
Figure 8 : Comparaison d'une salle propre à un isolateur.....	50
Figure 9 : Différentes méthodes de manipulation dans un isolateur.....	52
Figure 10 : Exemples de systèmes de transferts dans un isolateur.....	53
Figure 11 : Exemple d'étapes de transfert de bouchons vers une ligne de remplissage aseptique de flacons	54
Figure 12 : Principe du test d'étanchéité des gants d'un isolateur.....	57
Figure 13 : Continuum de l'isolation	59
Figure 14 : Exemple de processus du Plan de Validation	61
Figure 15 : Différentes étapes d'un plan de validation	61
Figure 16 : Comparaison des méthodes de stérilisation dans un autoclave, un four et un isolateur.....	63
Figure 17 : Techniques d'émission de l'agent stérilisant	64
Figure 18 : Vue d'ensemble des Isolateurs de la ligne de répartition (et du Four).....	67
Figure 19 : Générateur de peroxyde d'hydrogène	70
Figure 20 : Cycle de biodécontamination idéal.....	72
Figure 21 : Schéma d'un processus typique du management des risques qualités ...	82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des locaux de la zone de production	30
Tableau 2 : Flore microbienne de l'Homme et risque de contamination microbiologique.....	38
Tableau 3 : Exemple de règles d'habillement en ZAC	40
Tableau 4 : Exemples d'opérations qui doivent être réalisées dans différentes classes d'après la LD 1 des BPF	42
Tableau 5 : Limites de contamination particulaire des ZAC d'après les BPF	43
Tableau 6 : Limites de contamination particulaire des zones propres d'après la norme EN/ISO 14644-1	44
Tableau 7 : Correspondance normes BPF/normes ISO 14644-1.....	44
Tableau 8 : Limites recommandées de contamination microbiologique (valeurs moyennes).....	44
Tableau 9 : Tableau comparatif des caractéristiques d'un isolateur et d'une salle blanche.....	58
Tableau 10 : Compatibilité physico-chimique du support avec l'agent stérilisant.....	65

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Processus de fabrication des produits hautement sensibilisants, Hormones et Cytotoxiques en répartition aseptique	96
Annexe 2 : Processus de fabrication des produits hautement sensibilisants, Hormone et Cytotoxiques en stérilisation terminale.	97
Annexe 3 : Liste de matériel intervenant à chaque étape du processus de fabrication des solutions injectables.....	98
Annexe 4 : Exemple d'étapes de l'analyse de risques de contamination croisée ...	100
Annexe 5 : Exemple d'étapes de l'analyse de risques de contamination microbiologique.....	101
Annexe 6 : Exemple d'étapes de l'analyse de risques de contamination microbiologique avec mise en place d'actions.....	103

LISTE DES ABREVIATIONS

ADR: Analyse De Risques
ADC: Articles De Conditionnement
AFSSAPS: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AMDEC: Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité
BPF: Bonnes Pratiques de Fabrication
CDPF: Centre de Développement Pierre Fabre (Labège)
CRDPF: Centre de Recherche et de Développement Pierre Fabre (Cancéropôle Toulouse)
CTA : Centrale de traitement d'air
CTD: Common Technical Document
DPTE: Double Porte de Transfert
EPPI: Eau Pour Préparation Injectable
FDA: Food Drug Administration
GLT: Glove Leak Test
GLPI: Galénique Liquide - Pâteux – Injectables
GVP : Générateur de Vapeur
H2O2: Peroxyde d'hydrogène
IB: Indicateur Biologique
ICH: International Conference on Harmonization
IDF: Isolateur Déchargement Four
IR: Isolateur de Remplissage
IS: Isolateur de Sertissage
MFT: Media Fill Test ou TRA (Test de Remplissage Aseptique)
MP: Matières Premières
PA: Principes Actifs
PFM: Pierre Fabre Médicament
POS: Procédure Opératoire Standard (ou SOP)
QC: Qualification de Conception
QI: Qualification d'Installation
QO: Qualification Opérationnelle
QP: Qualification de Performance
QT: Qualification de Transfert
RABS: Restricted Access Barrier System
R/B/S: Remplissage/Bouchage/Sertissage
TSB: Trypcase Soja
UFC : Unité Formant Colonie
U.U : Usage Unique
VHP: Vaporized Hydrogen Peroxide
ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

PARTIE 1 : CONTEXTE GENERAL

1. INTRODUCTION

Le contexte de mondialisation auquel est confrontée l'industrie pharmaceutique depuis ces deux dernières décennies a largement favorisé le développement des transferts de site. Politique d'externalisation, nécessité économique, fusion, acquisition sont autant de raisons à l'origine de ces transferts.

Un médicament n'est pas un produit comme les autres, y compris de la manière dont il est fabriqué et les locaux dans lesquels il est fabriqué. Sa production, surtout s'il s'agit d'un injectable, exige un haut niveau de contrôle de tout risque de contamination microbienne, particulaire et pyrogène. Locaux, personnel, processus de production, équipements, procédures... font l'objet de contraintes multiples. Elle s'avère être plus délicate à la différence de médicaments destinés à la voie orale qui ne nécessitent pas les mêmes exigences.

Le développement des besoins de l'industrie dans le domaine de la maîtrise de la contamination et l'apparition de nouvelles technologies en ultra-propreté, ont donné naissance au début des années soixante à un nouveau secteur économique : « l'industrie des salles blanches » ou zones à contamination maîtrisée. Depuis, des contraintes de plus en plus fortes en matière de qualité, fiabilité, sécurité productivité et parfois marketing ont permis le développement soutenu de ce secteur économique.

La fabrication des médicaments stériles impose des exigences particulières en vue de réduire au minimum les risques de contamination. La qualité dépend dans une grande mesure du savoir-faire, de la formation et du comportement du personnel impliqué. De même, La garantie de la stérilité et des autres aspects de la qualité des médicaments ne repose pas uniquement sur les choix de traitement terminal ou des tests réalisés sur les produits finis.

Pour garantir cette maîtrise des contaminations lors de la production des formes injectables, l'utilisation des isolateurs peut être envisagée. Le choix des isolateurs devient alors avantageux dans le cadre d'une production aseptique, surtout s'il s'agit d'une production de cytotoxiques ou de produits hautement actifs. Les isolateurs ne doivent être installés qu'après une validation appropriée. Cette validation doit tenir compte de tous les facteurs critiques que comporte cette technologie, et notamment la qualité de l'air à l'intérieur et à l'extérieur (local) de l'isolateur, la stérilisation du système, le procédé de transfert et l'intégrité de l'isolateur.

Ainsi, différents moyens doivent être engagés pour effectuer les différentes missions regroupées autour d'un sujet essentiel : garantir la qualité du produit. Pour cela, la maîtrise des contaminations au cours d'un processus de fabrication des formes injectables se fait à travers :

- La conception des locaux et des équipements (Qualifications)
- La validation des procédés (Biodécontamination, Media Fill Test, Stérilisation, Nettoyage...)
- La Formation du personnel et de la Documentation (Procédures)
- Des analyses de risques.

Dans ce contexte, un travail personnel de six mois a été réalisé dans une zone de fabrication de formes injectables au Centre de Recherche et Développement Pierre Fabre (CRDPF), où l'on fabrique des lots cliniques. Il a porté en partie sur la validation des procédés de biodécontamination des isolateurs (nouvellement acquis suite à un transfert de site) de la ligne de répartition des solutions injectables d'une part, et d'autre part sur la mise en place de deux analyses de risques de contamination croisée et de contamination microbiologique basée selon une méthode AMDEC (Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité) adaptée et simplifiée.

Ce travail sera présenté respectivement en seconde et troisième partie de cette thèse. En effet, pour bien comprendre les enjeux de ce sujet, il est nécessaire de procéder au préalable à quelques rappels théoriques sur le principe de qualification et de validation mais également sur la maîtrise de la contamination dans ce type de zone de fabrication de solutions injectables.

2. QUALITÉ, VALIDATION ET QUALIFICATION

2.1. NOTION DE QUALITE

La Qualité est définie par la norme ISO 9000:2005, *Systèmes de management de la qualité – Principes essentiels et vocabulaire*, comme étant « l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences ».

Ce concept général s'applique à tous les secteurs d'activité et concourt à la satisfaction du consommateur ou du patient.

Appliquée au domaine pharmaceutique, cette notion équivaut à l'ensemble des facteurs qui contribuent à la sécurité, l'efficacité et l'acceptabilité des médicaments. Chaque entreprise pharmaceutique se doit donc de concevoir et de mettre en œuvre une politique de qualité visant à garantir que les médicaments fabriqués présentent la qualité requise. Ce système ainsi mis en place couvre toutes les phases de développement du médicament : de sa conception à sa commercialisation.

2.1.1. LE SYSTEME D'ASSURANCE QUALITE

Au sens général, pour assurer le maintien de la Qualité, l'Assurance Qualité (AQ) peut se résumer en une démarche qui tend vers le « **zéro défaut** » ou « **Qualité totale** ». Cette démarche prévient l'erreur ou le défaut, plutôt que d'avoir à le constater à posteriori¹.

Selon le guide des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), l'Assurance Qualité est définie comme « *un large concept qui couvre tout ce qui, individuellement et collectivement, peut influencer la qualité d'un produit. Elle représente l'ensemble des mesures prises pour s'assurer que les médicaments fabriqués sont de la qualité requise pour l'usage auquel ils sont destinés.* »

Le contrôle final de la production ne suffit pas pour garantir sa qualité.

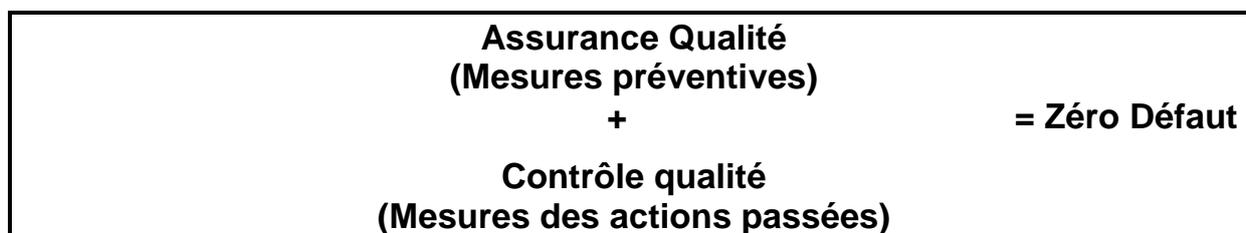


Figure 1 : Concept de qualité totale

Par ce biais, le champ d'application du système d'Assurance Qualité s'est élargi à la recherche, au développement, à la distribution, à l'approvisionnement et à la sous-traitance.

Au niveau de la production, le découpage du procédé en étapes de fabrication avec des contrôles systématiques en cours de production permet d'aboutir à une plus grande sûreté quant à la qualité du médicament.

Le nettoyage doit être considéré comme partie intégrante du procédé de fabrication puisqu'il s'agit d'une étape indispensable qui se trouve à la fin de la fabrication d'un lot et au début de celle du lot suivant. De plus, son rôle étant de rendre le matériel de production propre, il contribue à la qualité du produit final. Il sera donc couvert par le Système Qualité qui devra s'assurer de son efficacité et de sa reproductibilité à travers sa validation.

2.1.2. MAITRISE DE LA QUALITE

La maîtrise de la qualité passe par l'observance de la règle dite des « 5M » qui vise à garantir la **qualité**, la **sécurité**, l'**efficacité** du produit :

- **Milieu** (maîtrise de l'environnement selon sa criticité : locaux, air, milieu de travail, environnement social et économique) : Les locaux doivent être situés, conçus, construits, adaptés et entretenus de façon à convenir au mieux aux opérations à effectuer. Leur plan, leur agencement, leur conception et leur utilisation doivent tendre à minimiser les risques d'erreurs et à permettre un nettoyage et un entretien facile en vue d'éviter les contaminations et, de façon générale, toute atteinte à la qualité des produits.

- **Main d'œuvre** (qualification, motivation, formation des opérateurs au directeur) : le fabricant doit disposer, sur chaque site de fabrication, d'un personnel qualifié et en nombre suffisant pour mener à bien toutes les tâches qui lui incombent. Les responsabilités individuelles doivent être clairement comprises par les intéressés et mises par écrit. Tous les membres du personnel doivent être conscients des principes de bonnes pratiques de fabrication qui les concernent ; il convient d'assurer leur formation initiale et continue et notamment de donner les instructions d'hygiène en rapport avec l'activité exercée.

- **Méthodes** (importance de la documentation écrite : spécifications, instructions, procédures, savoirs, plans, programmes)

- **Matériel** (importance de la qualification, du nettoyage et de la maintenance de tous les appareils : équipements de production, de contrôle, de transport, installations techniques) : Leur conception et leur utilisation doivent tendre à minimiser les risques d'erreurs et à permettre un nettoyage et un entretien facile en vue d'éviter les contaminations et, de façon générale, toute atteinte à la qualité des produits

- **Matières** (approvisionnements : matières premières, articles de conditionnement, eau, matières annexes ...): des dispositions sont prises pour que la fabrication, l'approvisionnement et l'utilisation des MP et des AC soient corrects.

2.2. NOTIONS DE VALIDATION

2.2.1. Historique²

Avant 1978, la qualité des produits pharmaceutiques et la stérilité étaient uniquement basées sur le test des produits finis.

Ce concept fut sérieusement mis en doute dans les années soixante en raison d'incidents sérieux montrant que tester le produit lui même n'était pas fiable (thalidomide, septicémie).

Dès 1962, la FDA (Food Drug Administration) a considéré que les locaux, les équipements, les procédés et les procédures utilisés pour la production et le contrôle devaient être bien conçus et évalués pour assurer la qualité des médicaments fabriqués.

Le problème des septicémies dans le début des années 1970 eût un très large impact sur le développement du concept de la validation, et déclencha des inspections par la FDA de tous les fabricants en grands volumes.

En 1986³, elle publie son « Guide des principes Généraux de Validation des Procédés ». La Validation devient alors une tâche à plein temps dans de nombreuses entreprises avec un département conçu uniquement à cet effet. Les avantages offerts par la validation furent reconnus, des objectifs supplémentaires non réglementaires y furent même ajoutés afin d'optimiser les procédés.

2.2.2. Définition

Dans les BPF une annexe entière se consacre à la qualification et à la validation. Il s'agit de la *ligne directrice 15 des BPF⁴, Qualification et validation* ; selon cette annexe, les fabricants sont tenus de définir le travail de validation à effectuer en vue de démontrer qu'ils contrôlent les aspects critiques de leurs opérations spécifiques. Les changements importants apportés aux installations, équipements et procédés susceptibles d'influencer la qualité du produit, doivent être validés.

La validation peut donc être définie comme étant l'établissement de la preuve en conformité avec les principes de BPF que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure ou matériel, matière première, article de conditionnement, produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés.

Toutes les activités de validation doivent être planifiées. Les éléments clés d'un programme de validation doivent être clairement définis et documentés dans un PDV (Plan Directeur de Validation).

2.2.3. Bénéfices de la Validation :

- Augmentation de la productivité
- Réduction des rejets, retests, retraitements, rééchantillonnages
- Réduction des coûts, des utilités
- Moins de plaintes concernant des incidents liés au procédé
- Réduction des tests en cours et finaux
- Investigations plus rapides et plus précises sur les défauts du procédé
- Démarrages plus rapides et plus fiables des nouveaux équipements
- Plus de facilité dans la transposition d'échelle à partir du travail de développement
- Maintenance de l'équipement facilitée
- Augmentation de l'implication du personnel vis à vis du procédé
- Automatisation plus rapide

L'effort dépensé dans la validation serait vain si les entreprises n'avaient pas également mis en place les moyens efficaces pour respecter les BPF.

2.2.4. Pourquoi valider ?⁵

La validation est un outil de l'Assurance Qualité

Le contrôle du produit fini a des limites (représentativité de l'échantillonnage, sensibilité des méthodes d'analyse). La validation permet d'avoir confiance dans la qualité des produits fabriqués, car elle implique un procédé bien connu et sous contrôle. La validation permet aussi de construire la qualité au niveau du développement, des services techniques, de la production, autour d'un seul but : prouver que le procédé est sous contrôle. Elle permet enfin la conservation des standards de qualité depuis la conception du produit jusqu'à la fin de sa commercialisation.

En résumé, la validation permet de garantir la fiabilité et la reproductibilité des procédés, ainsi que l'obtention pour le produit de la qualité définie par ses spécifications.

La validation permet de réduire les coûts

Elle permet une rationalisation des équipements et des opérations de production et de contrôle, évite la production de lots défectueux, limite les rappels, les retours, les non conformités ; elle est donc un facteur de gain de temps et de gain d'argent.

Amélioration du flux produit :

Démarche structurée qui permet d'anticiper les problèmes et d'agir au plus tôt dans un procédé.

Conformité avec les exigences réglementaires

Les études de validation doivent être menées conformément à des procédures définies.

La nécessité de la validation du procédé de fabrication fait également partie des exigences requises dans le dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (partie 3.2.P.3.5 du Common Technical Document).

Avoir des procédés validés est un gage de respect des réglementations en vigueur (BPF, GMP, Guide de Référence pour les inspecteurs FDA, ICH, etc...) et de conformité.

2.2.5. Plusieurs approches de la validation

La validation concerne essentiellement un procédé ; la qualification concerne un équipement. Les opérations de validation peuvent être effectuées aux différentes étapes de la vie d'un produit.

Les BPF au chapitre 5.23⁶ mentionnent qu'« *il convient de valider toute modification importante du processus de fabrication y compris au niveau du matériel ou des produits, lorsque cette modification peut affecter la qualité du produit ou la reproductibilité du processus* ».

La validation est un exercice continu qui débute lors de la mise en œuvre d'un nouveau procédé et prend fin lors de l'arrêt de ce procédé. Lorsqu'un procédé a été validé, il est considéré sous contrôle et le statut « validé » est conservé tant que les éléments qui le composent restent dans leur configuration d'origine⁷. Mais lorsque des modifications majeures ont lieu sur le procédé de fabrication on ne peut considérer la validation initiale comme représentative du nouveau procédé.

Il existe trois grandes approches vers la validation⁸ :

- **Validation prospective**

Elle s'applique aux nouveaux procédés et au nouvel équipement, comprend la tenue et l'évaluation d'études et aboutit à la confirmation de l'ensemble du procédé et de l'équipement avant le début de la production ordinaire.

C'est la preuve documentée qu'un procédé fait ce qu'il est censé faire, selon l'examen et l'analyse des informations générées avant la fabrication d'un nouveau produit ou d'un produit selon un procédé modifié, afin d'apporter la preuve lors de la demande d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) de la maîtrise des étapes critiques.

D'après les BPF, « lors de l'adoption d'une nouvelle formule de fabrication, ou d'une nouvelle méthode de préparation, il convient de démontrer qu'elle satisfait à la production de routine et que le processus choisi, avec les produits et le matériel prévus, donne systématiquement un produit de qualité requise ».

- **Validation concomitante**

Elle s'applique aux procédés et à l'équipement existant. Elle consiste en des études menées durant la production ordinaire et ne peut convenir qu'aux procédés dont les antécédents de fabrication et de résultats d'essais indiquent une qualité de production soutenue. Elle repose sur les données recueillies au cours de l'exécution réelle d'un procédé déjà en place dans une unité de production. Dans cette situation, les données de la validation sont recueillies au cours de plusieurs exécutions du procédé et évaluées pour valider celui-ci. Il faut rédiger un protocole pour définir les informations à recueillir et à évaluer. Cette méthode peut convenir aux fabricants établis depuis longtemps et qui ont une bonne maîtrise de leurs procédés de fabrication.

- **Validation rétrospective**

Elle est basée sur l'expérience acquise. Cette validation peut être trouvée sous le nom de « validation sur l'historique ». Il ne doit pas y avoir eu de modification de la formule, du procédé, des locaux ou des équipements. Il s'agit d'un examen critique et rigoureux des données expérimentales accumulées lors de la production, d'une vérification des spécifications et de leurs limites, à l'aide d'une analyse statistique des données (moyenne, coefficient de variation...)

2.3. NOTIONS DE QUALIFICATION

La qualification est une opération destinée à montrer que les locaux, matériel, équipements, fonctionnent conformément aux spécifications préétablies et donnent les résultats attendus.

La qualification se compose de quatre étapes distinctes⁹ :

- **Qualification de Conception (QC)**

C'est généralement le premier élément de qualification des nouvelles installations, utilités process ou équipements. Le but de cette étape, qui s'effectue au stade de projet (plan, descriptif technique, devis, proposition technique...) est, avant l'achat, de vérifier que le fournisseur (concepteur) a bien pris en compte tous les éléments définis dans notre cahier des charges, en particulier sur le plan des BPF, ainsi que de nous permettre de justifier les critères de choix d'une solution (équipement, local...) plutôt qu'une autre. On voit dès cette étape l'intérêt d'un cahier des charges complet et bien conçu. Cette étape, effectuée par la même équipe qui a effectué la rédaction du cahier des charges, conduira à accepter, refuser ou demander des modifications sur le projet soumis à l'étude.

- **Qualification d'Installation (QI)**

Cette étape s'applique à une installation/matériel/equipement neuf ou après modification importante. On peut résumer cette étape à la vérification de tout ce qui est décrit dans le

cahier des charges, et que l'on peut vérifier sans faire fonctionner l'installation/matériel. Sur le terrain, les protocoles et les rapports de cette étape sont souvent sous forme de « check listes ». Cette étape est souvent bien réalisée surtout lors des QI réalisées en prospectif. La QI doit cependant comporter au minimum les éléments suivants :

- ✚ Vérification de l'installation des équipements, canalisations, appareillages de mesures contrôlés au regard des plans de réalisation et des spécifications en vigueur.
- ✚ Collecte et examen des instructions opératoires des documents techniques et des exigences en matière d'entretien du fournisseur
- ✚ Exigences en matière d'étalonnage
- ✚ Vérification des matériaux de construction
- ✚ Vérification des automatismes
- ✚ Vérification des schémas électriques.

Certains ont parfois du mal à déterminer où s'arrête la QI et où commence la QO. On peut rappeler une clé de tri facile à appliquer : *la QI s'arrête lorsque pour poursuivre les vérifications, on appuie sur le bouton « on ».*

- **Qualification Opérationnelle (QO)**

La QO a pour but de tester les performances « à vide » de l'équipement ou de l'installation. Les critères d'acceptation sont donnés par les exigences de fonctionnement définies au cahier des charges, revues lors de la qualification de conception et acceptées (promises) par le fournisseur dans son projet.

On pourra intégrer à cette étape la notion de cas le plus défavorable « Worst case » (le pire des cas). Ce sont les conditions les plus défavorables envisageables lors de l'utilisation normale de l'équipement.

- **Qualification de Performances (QP)**

A cette étape, il s'agit de vérifier que l'équipement mis dans ses conditions d'opérations routinières est capable de donner les résultats escomptés.

Des essais sont réalisés : on utilise le matériel/installation pour l'usage pour lequel on l'a développé, acheté ou construit. On applique alors le procédé. Si le produit/résultat qui sort de cette étape a les caractéristiques attendues, alors la QP est conforme. A cette étape aussi la notion de « worst case » doit être intégrée.

De même que pour les autres étapes de qualification, un rapport de QP doit être établi et approuvé.

C'est une fois les équipements qualifiés et conformes, que le procédé peut être validé.

3. CAS PARTICULIER DU MEDICAMENT INJECTABLE :

« Les préparations pour usage parentéral sont des produits stériles destinés à être injectés ou implantés dans le corps humain ou animal ».

Ces préparations injectables sont des solutions, des émulsions ou des suspensions stériles. Elles sont préparées en dissolvant, émulsionnant ou dispersant les produits actifs et les adjuvants éventuels dans un solvant approprié (le plus souvent l'Eau Pour Préparations Injectables).

En ce qui concerne les propriétés des préparations injectables, comme elles sont destinées à franchir à la suite d'une effraction les barrières protectrices que constituent la peau et les muqueuses, elles doivent répondre à un certain nombre d'exigences dont les principales sont : exempt de particule, stérile et apyrogène. Pour cela, leur fabrication doit se faire dans des Zone à Atmosphère Contrôlée (ZAC). Le médicament injectable fait l'objet d'une réglementation beaucoup plus stricte par rapport aux autres médicaments. Une annexe entière leur est consacrée dans les BPF (Ligne Directrice 1 des BPF, Fabrication des médicaments stériles). La qualification et la validation concernant les procédé/équipements/locaux sont d'application obligatoire que ce soit pour la production à grande échelle ou pour la production de lots cliniques.

L'assurance de qualité revêt ici une importance particulière et ce type de fabrication doit strictement suivre des méthodes de fabrication et des procédures soigneusement mises au point et validées.

D'après la ligne directrice 1 des BPF, les ZAC destinées à la fabrication des produits stériles sont classées selon les qualités requises pour leur environnement. Chaque opération de fabrication requiert un niveau approprié de propreté de l'environnement « en activité » de façon à réduire au minimum le risque de contamination particulaire ou microbienne des produits. C'est pour cette raison que, dans la zone de production des formes injectables du CRDF (Centre de Recherche et Développement Pierre Fabre), des isolateurs ou des flux laminaires ont été installés pour toutes les opérations critiques du procédé de fabrication. La classe du local et des isolateurs varie en fonction de la criticité de l'opération de fabrication.

Dans la zone de production des formes injectables du CRDPF sur le site de l'oncopôle, deux modes de fabrication seront mis en place :

- **La répartition aseptique**
- **La stérilisation terminale**

3.1. CONTEXTE DU PROJET -CONTEXTE REGLEMENTAIRE

L'industrie pharmaceutique s'inscrit dans un contexte réglementaire très strict permettant d'assurer la qualité de ses produits. Tout industriel du médicament doit appliquer les recommandations définies dans le référentiel légal du Code de la Santé Publique (CSP) et ses règles : les Bonnes Pratiques.

Seuls les fabricants titulaires d'une autorisation d'ouverture d'un Etablissement Pharmaceutique sont habilités à fabriquer des médicaments autorisés.

La mise en place d'un système d'Assurance Qualité est une obligation réglementaire. Il doit permettre de fabriquer et contrôler les médicaments selon des règles et procédures préétablies et systématiques, permettant de mettre à la disposition du patient des médicaments présentant les garanties de qualité, de sécurité et d'efficacité décrites dans le dossier d'enregistrement du médicament.

L'établissement pharmaceutique du CRDPF sur le site de l'Oncopôle, en tant que fabricant de lots cliniques, est soumis aux BPF européennes, qui sont d'application obligatoire.

Les BPF constituent une sorte de « code de conduite pharmaceutique » à caractère obligatoire et général pour la fabrication de médicaments tant à usage humain que vétérinaire.

Les BPF européennes quant à elles, ont été adoptées par la Commission européenne en 1991 et se composent de 9 chapitres à caractères généraux et de plusieurs annexes ou Lignes Directrices (LD) traitant des domaines d'activités spécifiques. L'annexe 1 « *fabrication des médicaments stériles* », l'annexe 13 « *fabrication des médicaments destinés à des essais cliniques* » et l'annexe 15 « *Qualification et Validation* » nous concernent plus particulièrement.

Dans tous les cas, chaque texte de BPF européennes possède un caractère d'obligation légale dans le pays ou groupe de pays qui l'a adopté.

Les BPF sont souvent complétées par des documents à aspects normatifs tels que des normes ISO.

3.2. PRESENTATION DE LA ZONE PILOTE DES FORMES INJECTABLES DU CRDPF

Cette zone de production destinée à la production de produits de toute solution injectable **quelque soit la nature de l'actif** y compris les produits hautement sensibilisants et des hormones, ou de placebo, avec différents procédés de fabrication. Elle est destinée à la production de lots cliniques (taille de lot de 40L maximum).

Les articles de conditionnement utilisés sont les **flacons et ampoules**. Actuellement, l'installation ne permet pas de réaliser des lyophilisats stériles. Cependant, la première partie de leur processus de fabrication est identique à celui des liquides répartis aseptiquement.

Cet atelier de fabrication est multiproduits et multiformats. Des lots cliniques, des lots techniques et des lots de développement peuvent y être réalisés.

De même, pour y fabriquer des lots cliniques de préparations injectables il est nécessaire de valider l'ensemble des procédés de stérilisation et de démontrer l'asepsie au niveau du procédé. C'est la notion de MFT (Media Fill Test) qui intervient ; elle ne concerne que les préparations injectables réparties aseptiquement. Les MFT servent à valider l'asepsie du process. Il n'est possible de fabriquer des préparations injectables par procédé aseptique, que si 3 MFT consécutifs ont été réalisés et qu'ils ont été déclarés conformes. Le procédé devra ensuite être revalidé par un MFT tous les 6 mois.

3.2.1. Exemple d'un procédé de fabrication des formes injectables

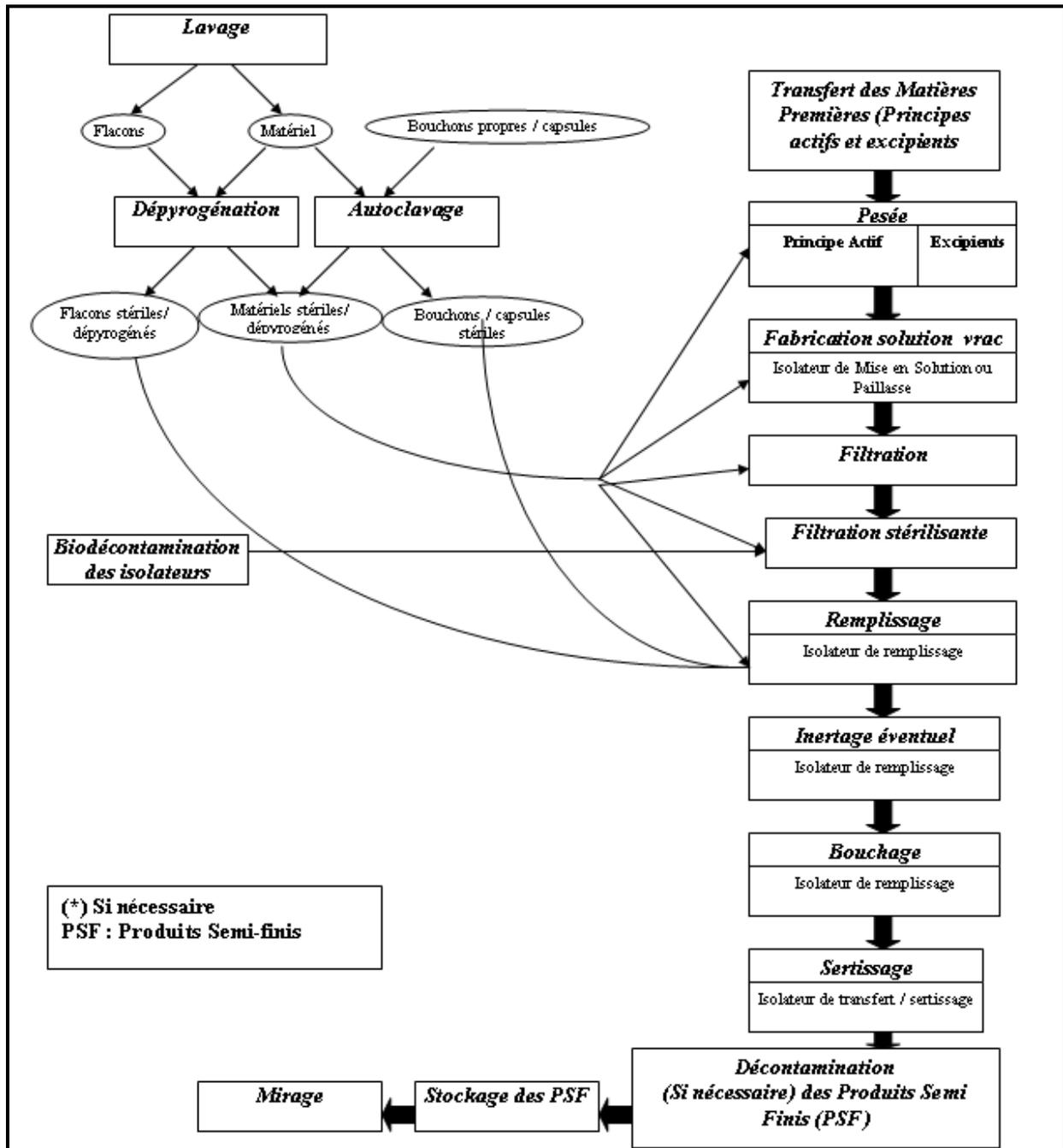


Figure 2 : Exemple de procédé de fabrication des solutions injectables réparties aseptiquement en flacons dans la zone de production 4

Après sertissage, les contenants de produits semi finis cytotoxiques ou Hautement Actif doivent être décontaminés. Cette opération de « Décontamination » consiste à éliminer le PA, éventuellement présent sur la paroi extérieure de chaque contenant dans un isolateur dédié.

3.2.2. Les locaux

Chaque étape et chaque opération de fabrication requièrent un degré de propreté adéquat.

Les locaux de production des formes injectables sont les suivants :

Dénomination du local	Principales opérations effectuées	Classe BPF
Pesée et mise en solution	Pesée des Matières premières et fabrication de la solution vrac	C
Fabrication Injectable	Filtration stérilisante de la solution Répartition en flacon ou ampoules Stérilisation terminale des produits	C
Décontamination	Décontamination du matériel et produit semi fini	D
Laverie	Nettoyage du matériel et ADC	D
Stockage matériel propre	Stockage et préparation du matériel et ADC pour stérilisation	D
Mirage	Mirage	D

Tableau 1 : Liste des locaux de la zone de production

3.2.3. Utilités process

Les utilités entrant dans le procédé de fabrication des injectables sont :

- ❖ **L'azote** : Inertage à l'azote du produit semi fini et Mise sous pression pour filtration
- ❖ **L'air comprimé** : Actionnement des vannes pneumatiques.
- ❖ **L'eau purifiée** : Prélavage du matériel et des flacons et alimentation du générateur de vapeur
- ❖ **La vapeur pure** : Condensée pour produire de l'eau stérile et apyrogène pour le rinçage final du matériel et des flacons.
- ❖ **L'eau PPI** : Rinçage final des flacons dans le laveur automatique.

Remarque : L'eau PPI utilisée lors du procédé de fabrication est achetée.

L'eau est un élément important dans la production des injectables. Le niveau de qualité attendu nécessite la mise en œuvre d'installations de traitements capables d'éliminer les sels minéraux (deminéralisation), les micro-organismes, et de supprimer toute activité pyrogène (provoquant de la fièvre) par l'absence d'**endotoxines** (*éléments constitutifs de la paroi de toutes les bactéries Gram-négatif*).

. Les principales étapes de purification sont :

- a. L'adoucissement
- b. L'osmose inverse
- c. Les lits mélangés de résines

d. La distillation (pour les besoins critiques)

L'eau étant utilisée pour toutes les opérations de nettoyage des articles et des éléments utilisés en production, des contrôles réguliers et fréquents sont effectués pour en vérifier les qualités physico-chimiques, microbiologiques et particulières.

3.2.4. LES EQUIPEMENTS

Pour l'ensemble des équipements, une qualification est réalisée :

- ✚ Pour les équipements neufs il s'agit d'une qualification d'installation (QI) et opérationnelle (QO).
- ✚ Pour les équipements existants il s'agit d'une qualification de transfert (QT) ou une QI/QO si les équipements existants ont été modifiés dans le cadre du transfert.

De plus, pour un procédé sensible comme celui de fabrication des injectables une qualification de performance (QP) est réalisée pour les équipements qui peuvent avoir un impact direct ou indirect sur la stérilité du produit final.

Ainsi une Qualification de Performance sera réalisée pour :

- Le Laveur- Sécheur (Lavage et séchage)
- Les équipements de stérilisation (four, autoclave)
- Les principaux équipements du procédé tels que flux laminaires, isolateurs.

Les opérations de pesée, fabrication de la solution vrac, Remplissage/Bouchage/Sertissage (R/B/S) et décontamination se feront dans des isolateurs dédiés. Les isolateurs de la ligne de répartition (R/B/S), sont de nouveaux équipements acquis pour lesquels une Qualification de Performance a été réalisée.

Le travail le plus important des QP consiste à valider les opérations de biodécontamination sur la charge maximale.

De plus, cette zone de production étant multiproduits et multiformats, deux analyses de risques (Risque de contamination croisée et Risque de contamination microbiologique) basée selon une méthode **AMDEC** (Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité) a été mise en place.

Il est nécessaire de procéder au préalable à quelques rappels théoriques sur la maîtrise de la contamination dans l'industrie pharmaceutique, en particulier dans une zone de production de formes injectables et de l'intérêt de l'isotechnie dans cette maîtrise de contamination.

PARTIE 2 : MAITRISE DE LA CONTAMINATION ET ISOTECHNIE

4. MAITRISE DE LA CONTAMINATION :

Contamination : introduction non souhaitée d'impuretés de nature chimique, microbiologique ou autre dans ou sur une matière première, un principe actif, un produit.

La maîtrise des contaminations est un enjeu important dans le domaine de la santé et l'isotechnie est une technologie qui peut contribuer de façon importante à cette maîtrise si les étapes de qualification de l'isolateur ont été réalisées de façon pertinente.

4.1. HISTORIQUE¹⁰

Le développement des besoins de l'industrie dans le domaine de la maîtrise de la contamination et l'apparition de nouvelles technologies en ultra- propreté ont donné naissance au début des années 60 à un nouveau secteur économique : « l'industrie des salles propres » ou zones à contamination maîtrisée, puis plus globalement, à celui de la maîtrise de la contamination.

Aujourd'hui, la maîtrise de la contamination concerne, avec des degrés d'exigences divers, la plupart des secteurs d'activités de production, de recherche ou de soins, et s'inscrit depuis les années 80 dans la démarche qualité. Cette industrie doit faire face à une demande de plus en plus diversifiée, complexe et spécialisée ; ceci s'explique notamment par l'apparition des nouveaux besoins, l'accroissement des exigences en matières de propreté, à l'évolution des contraintes réglementaires, la réorganisation des stratégies industrielles (externalisation, spécialisation...)

Face à ces fortes évolutions, le secteur de la « maîtrise de la contamination » s'est adapté (apparition de nouveaux métiers en qualification / validation, contrôle qualité...) ; il est aujourd'hui constitué de professionnels de plus en plus spécialisés et complémentaires.

4.2. OBJECTIFS

La maîtrise de la contamination a pour objectif de protéger ensemble ou séparément :

- ✚ Le produit fabriqué ou le patient en milieu hospitalier
- ✚ L'opérateur lors de la manipulation de produits potentiellement toxiques
- ✚ L'environnement

NB : en ce qui concerne les industries pharmaceutiques et de la santé (médicaments, cosmétiques, implants...) et de l'industrie agroalimentaire, il s'agit, in fine, de protéger la santé du consommateur.

4.3. TYPES DE CONTAMINANTS

D'après la norme ISO 14644-6¹¹, *Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - partie 6 : Vocabulaire*, un **contaminant** est une « entité particulière, moléculaire, non particulière ou biologique susceptible de produire un effet indésirable sur le produit ou le procédé ».

La contamination est le processus qui entraîne la présence de contaminants sur une personne, sur une surface, dans un espace protégé, dans un fluide. Par extension, ce terme est aussi utilisé pour désigner la présence de contaminants. On distingue trois types de contamination :

4.3.1. Contamination particulaire¹¹

Une particule est un objet solide ou liquide, viable ou non, dont la taille se situe dans l'étendue granulométrique entre 1 nm et 100 µm.

Communément, le terme de particule est employé pour des objets solides inertes, tels que les poussières, les fibres,...les particules viables étant associées à la contamination microbiologique. Cependant, les particules inertes en suspension dans l'air peuvent servir de support aux micro-organismes ; contamination particulaire et aérobiocontamination sont donc liées. Elle est mesurable grâce à des compteurs de particules, et s'exprime en nombre de particules/m³ d'air.

4.3.2. Contamination microbiologique

Elle englobe la contamination par l'ensemble des micro-organismes, on parle également de biocontamination. Les micro-organismes peuvent être fixés sur des particules ou sur les surfaces, et dans des conditions favorables (température, pH, hygrométrie). C'est ce type de contamination qui est visé lors de la décontamination des locaux par voie aérienne.

La biocontamination de l'air et des surfaces peut être mesurée. Il existe deux principes de mesure de la biocontamination aérienne :

- ✚ Volumétrique : prélèvement d'un volume donné d'air avec un biocollecteur (appareil destiné à recueillir les micro-organismes de l'air), culture, dénombrement des germes revivifiables et résultat en Unité Formant Colonie (UFC)/m³.
- ✚ Statique : dépôt d'une boîte de Pétri ouverte pendant un temps donné, culture, dénombrement des germes revivifiables et résultat en UFC/4h.

La biocontamination des surfaces est mesurée grâce à des géloses mises en contact avec la surface directement, ou par écouvillonnage, et est exprimée en UFC/plaque.

La biocontamination des vêtements et des gants peut également être mesurée.

4.3.3. Contamination chimique

La contamination par des agents chimiques peut également être appelée contamination moléculaire. Il peut s'agir de principes actifs, d'excipients, de produits intermédiaires, d'agents de nettoyage ou de désinfection, qui se retrouvent dans un produit alors qu'ils ne devraient pas y être.

4.4. LA CONTAMINATION CROISEE¹²

On parle de contamination croisée ou « cross contamination » quand un produit est contaminé par un autre :

- lorsque les deux produits ont été fabriqués simultanément dans des zones voisines
- lorsque les deux produits ont été fabriqués successivement sur un même équipement ou dans la même zone.

Le risque de contamination croisée peut être géré en séparant les productions dans l'espace ou dans le temps (campagnes de production).

4.4.1. Recommandations et alternatives

Le risque de contamination, en particulier pour les procédés aseptiques, est si important qu'il a induit l'utilisation croissante de dispositifs jetables à usage unique, ce qui :

- Réduit essentiellement les risques de contamination croisée dû à un nettoyage imparfait des équipements de production,
- Diminue également l'étendue des équipements à nettoyer ou à stériliser et les validations associées.

Cette alternative est particulièrement intéressante pour la production de cytotoxiques et d'autres composants hautement actifs où la balance économique du surcout des composants jetables est largement compensée par le risque d'une contamination potentielle. Le nettoyage des équipements entre chaque type de produit est obligatoire et doit être validé, avec utilisation possible de détergents, désinfectants et autres produits chimiques parfois nécessaire. Les équipements sont nettoyés par le personnel de production, ou toute autre personne spécifiquement formée, qui note son statut sur les documents de suivi.

Le matériel de nettoyage des salles propres doit leur être dédié. Les procédures de nettoyages doivent définir les fréquences, le matériel et les produits à utiliser en se basant sur des règles simples à respecter : nettoyer de la zone la moins contaminée vers la zone la

plus contaminée. L'utilisation de procédures d'habillage strictes et adaptées à la classe de contamination particulière, et l'utilisation de règles simples comme l'utilisation de couleurs différentes des tenues de personnels travaillant dans les zones distinctes, permet de réduire les contaminations dues au personnel.

4.4.2. Solutions techniques mises en œuvre

Pour répondre à l'ensemble des exigences de protection et de maîtrise des contaminations, la conception des locaux de production doit être adaptée à la double exigence de ségrégation des produits qui présentent un risque de contamination potentiel (séparation par l'espace), et permettre l'organisation des opérations selon un flux séquentiel évitant tout risque de confusion et de mélange de produits entre eux (séparation par le temps). Les phases préliminaires à une conception d'unité de production vont donc consister en une analyse des activités prévues en fonction de la nature des produits mis en œuvre et des étapes critiques du processus où le produit se trouve exposé à un risque de contamination croisée.

4.4.3. Ségrégation des produits

Selon leur nature, les produits pourront être traités soit dans des locaux communs, soit des locaux séparés et dédiés.

4.4.4. Analyse fonctionnelle et identification des points critiques

Cette étude du « pas à pas » des procédés va permettre de définir les fonctions successives, les zones communes et les zones à différencier, leur classe d'empoussièrement, les liaisons de proximité nécessaires, les utilités associées, et d'aboutir à la définition technique détaillée de chaque local à créer dans l'unité. Ce stade de conception est complété par une Analyse Préliminaire de Risque (APR) ou équivalent pour évaluer les probabilités de défauts des systèmes définis et l'impact de leur défaillance sur le niveau de qualité des produits. Le risque de contamination croisée est ainsi identifié et les mesures correctives intégrées dans la conception.

4.4.5. Maîtrise des flux

La règle d'or de la « marche en Avant » permet de limiter les risques de confusion et de mélange de produits à des stades d'élaboration différents. Les flux des matières, des personnels et des déchets doivent être clairement identifiés et éviter tout croisement.

4.4.6. Maîtrise des ambiances¹³

Le traitement approprié de l'air des zones de production est l'un des moyens les plus efficaces de protection de produits contre les contaminations croisées. Selon l'évaluation du risque de contamination, il conviendra de travailler en tout air neuf ou en air partiellement recyclé, avec des niveaux de filtration et de soufflage et en reprise adaptés au niveau de

propreté requis, définis selon la norme ISO 14644-1¹⁴, *Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 1 : Classification de la propreté de l'air*. Les régimes de pressions aérauliques garantissent l'effet barrière ou le confinement d'un local à accès limité par un ou plusieurs sas avec changement de tenues appropriées. Dans le cas de produits dits « à risque », le local fera l'objet d'une centrale de traitement d'air dédié.

4.4.7. Systèmes clos

Pour ne pas mettre le produit en contact avec un contaminant externe, les systèmes clos seront privilégiés, particulièrement lors des opérations de transfert (ex : cuverie, canalisation et pompes dédiées pour les liquides). Si une étape du procédé implique la mise à l'air libre du produit (pesée, remplissage), la réponse au besoin de confinement devient l'isolateur, le RABS ou le flux laminaire. L'isotechnie apporte la réponse à plusieurs contradictions : protéger l'homme et l'environnement du contact possible avec un produit à risque, protéger le produit de l'environnement et du risque de contaminations externes et croisées.

Tous les produits pharmaceutiques, qu'ils soient issus des technologies traditionnelles ou des biotechnologies doivent être garantis exempts de toutes contamination. De même, chaque processus industriel de fabrication pharmaceutique doit être conçu, réalisé et utilisé de manière à ce que tous les risques de contamination (directe ou croisée) soient parfaitement maîtrisés.

La maîtrise de la « non » contamination croisée ne met pas à l'abri des risques de contamination directe, qui eux aussi doivent être soigneusement pris en compte. Par exemple, deux produits différents sous isolateurs seront à l'abri d'un risque de contamination croisée, mais si la stérilité est recherchée, les risques de contamination microbiologiques seront alors également à maîtriser.

4.5. MAITRISE DE LA CONTAMINATION DANS LES ZAC

4.5.1. Mesures préventives

Pour envisager de manière exhaustive les paramètres qui entrent en jeu dans la maîtrise préventive de la contamination, il est judicieux d'utiliser la méthode dite des « 5M », qui consiste à regrouper les différents facteurs en 5 groupes :

- Matières
- Matériel
- Main d'œuvre
- Milieu
- Méthodes

Nous nous attacherons plus particulièrement à la maîtrise de la contamination en Zone d'Atmosphère Contrôlée (ZAC), où sont fabriqués les médicaments stériles.

Zone d'Atmosphère Contrôlée = Zone dont le contrôle de la contamination particulaire et microbienne dans l'environnement est défini, construite et utilisée de manière à réduire l'introduction, la multiplication ou la persistance de substances contaminantes (définition BPF)¹⁵.

L'analyse 5M des paramètres à considérer pour fabriquer avec le niveau de propreté requis est présentée sous forme d'un diagramme en arêtes de poisson, ou diagramme d'Ishikawa, en figure 3.

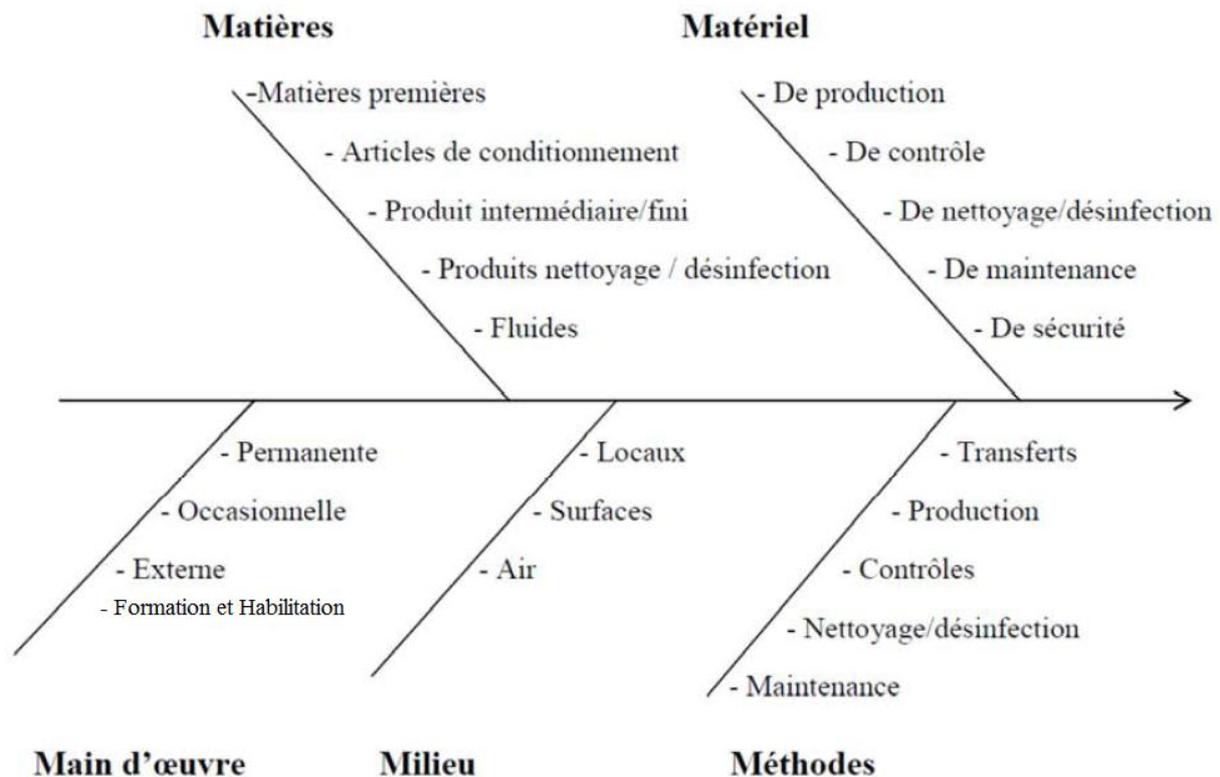


Figure 3 : Diagramme 5M des facteurs influençant le niveau de propreté d'une zone de fabrication.

Chacun de ces 5M est associé à des règles de prévention du risque de contamination présentes dans les BPF.

4.5.1.1. Matières

Elles doivent être stockées dans les conditions appropriées, et identifiées de manière à éviter toute confusion ou contamination. Cela passe par la séparation des lots, des contenants non endommagés et correctement étiquetés, et une indication claire du statut (en quarantaine, refusé, libéré,...).

Dans le cas des médicaments injectables, l'Eau Pour Préparation Injectable (EPPI) doit être produite, stockée et distribuée dans des conditions inhibant la croissance des microorganismes, par exemple une circulation permanente à une température > 70°C.

Les fluides (eaux, gaz, vapeur) sont source de contamination croisée d'une zone de production à une autre ; leur circulation et leur distribution doivent limiter ce risque.

Par exemple, le réseau peut comporter des dispositifs anti-retour (clapets, circulation en surpression).

4.5.1.2. Matériel

Le matériel de production doit être conçu pour permettre un nettoyage facile et minutieux, et ses surfaces ne doivent pas interagir avec le produit, l'adsorber ou libérer des particules. Son état de propreté doit pouvoir être évalué.

Tout matériel destiné à la préparation aseptique en ZAC doit être stérilisé et entrer en zone soit par des stérilisateur à double porte, soit en respectant une procédure garantissant la non contamination. Utiliser du matériel dédié ou à usage unique permet de limiter les risques de contamination croisée, tout comme l'emploi de systèmes clos (pas de contact direct entre produit et air).

Le matériel de nettoyage/désinfection ne doit pas être une source de contamination.

4.5.1.3. Main d'œuvre¹⁶

Le personnel est une source importante de contamination via:

- ses émissions cutanées : 200g/semaine et par personne sont perdus par desquamation, sous forme de particules allant de 10 µm à 50 µm.
- ses émissions rhinopharyngées, sous forme de gouttelettes de Pflügge (diamètre 5 à 100µm), qui une fois desséchées deviennent des noyaux de condensation de très petites taille (0,5 à 12 µm), riches en particules viables et qui sédimentent extrêmement lentement, donc restent de façon quasi permanente en suspension dans l'air.
- sa flore microbienne commensale et transitoire, dont une estimation numéraire est proposée dans le *tableau 2*.

Partie du corps ou fluide corporel	Nombre de germes
Mains	100 à 1000/cm ² de peau
Front	10 000 à 100 000/cm ² de peau
Cuir chevelu	1 000 000 /cm ² de peau
Aisselles	1 000 000 à 10 000 000/cm ² de peau
Sécrétions nasales	10 000 000/g
Salive	100 000 000/g
Matières fécales	100 000 000/g

Tableau 2 : Flore microbienne de l'Homme et risque de contamination microbiologique

Il est également un vecteur possible de principe actif ou de produit, donc source de contamination croisée. Il est donc primordial que chaque personne pénétrant en Zone de Production soit formée et respecte des règles d'hygiène, d'habillement et de comportement.

4.5.1.3.1. *Formation*

Chaque personne travaillant dans les locaux de production suit, en préalable à tout travail autonome, des formations qui la certifient à exercer les tâches qui lui seront confiées. Le personnel étant l'un des principaux vecteurs de contamination du produit, la formation de l'ensemble du personnel fabricant les solutions injectables est donc indispensable.

En dehors d'une formation de base sur la théorie et la pratique des BPF, les membres du personnel reçoivent :

- Une formation appropriée aux tâches qui leur sont attribuées
- Une formation spécifique s'ils travaillent dans des zones où le risque de contamination est prépondérant (ZAC, zones où sont manipulés des produits hautement actifs, toxiques, infectieux ou sensibilisants).
- Une formation sur les Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments stériles s'ils travaillent dans ce domaine (personnel de nettoyage et d'entretien y compris), comprenant des éléments d'hygiène et de microbiologie.

Cette formation et cette qualification initiale sont ensuite relayées par une formation continue et une revalidation périodique qui assurent le respect des bonnes pratiques de production. Le personnel intervenant pour le compte d'entreprises extérieures en zone de production ou en laboratoire de contrôle et n'ayant pas suivi ces formations sera informé sur les règles d'hygiène et d'habillement, et accompagné.

4.5.1.3.2. *Hygiène et habillement*

– **Lavage des mains**

Les mains sont vectrices de contamination, les BPF préconisent d'ailleurs d'éviter le contact direct entre les mains de l'opérateur et les produits non protégés ou les éléments matériels entrant en contact avec eux.

Un lavage hygiénique des mains est préconisé. Plus efficace qu'un lavage simple, il nécessite une solution antiseptique moussante et un temps de friction d'au moins 60 secondes. Il est destiné à réduire au maximum la flore microbienne transitoire (mais pas la flore résidente, contrairement au lavage chirurgical des mains).

– **Hygiène des pratiques**

En zone de production ou de stockage, il est interdit de boire, de manger, de mâcher et de fumer. Les personnes présentant des maladies infectieuses ou des plaies non couvertes doivent éviter de pénétrer dans ces zones.

– **Règles d'habillement**

Les vêtements de travail portés par les opérateurs de production participent au dispositif de contrôle des particules dans les locaux classés. Les tenues, elles-mêmes stériles, sont donc

conçues pour ne libérer ni fibres ni particules et doivent retenir les particules émises par l'opérateur. Enfilés selon une gestuelle stricte, le personnel doit porter des vêtements protecteurs appropriés en zone de fabrication. Des mesures plus précises et plus strictes s'appliquent pour la fabrication de médicaments stériles, selon la classe de la ZAC. Nous aurons l'occasion de revenir en détail sur le classement des ZAC au chapitre « Milieu » ; nous pouvons d'ores et déjà mentionner qu'il existe quatre classes allant de A à D, la classe A étant associée au plus haut niveau d'exigence.

Des précautions maximales sont prises en regard de l'habillement. A chacune de ses entrées en zone stérile, l'opérateur enfle une nouvelle tenue et applique à des endroits précis du vêtement des boîtes de Pétri qui, une fois mises en incubation, démontreront que les règles d'habillement auront été scrupuleusement suivies.

Les règles d'habillement s'appliquant aux différentes classes de ZAC sont résumées dans le *tableau 3*.

Quelle que soit la classe de la ZAC, le port de montre, bijoux et maquillage est à proscrire.

Classe	Cheveux	Visage	Mains	Vêtements	Chaussures
A/B	Cagoule enfermant totalement la chevelure, reprise dans le col de la veste	Masque Couvre-barbe s'il y a lieu	Gants stériles non poudrés, en caoutchouc ou plastique, passant par-dessus les manches	Vêtement protecteur propre et stérile Tissu ne libérant pratiquement ni fibres ni particules, et ne retenant pas les particules émises par l'opérateur	Bottes stériles recouvrant le bas du pantalon
C	Charlotte	Couvre-barbe s'il y a lieu		Vêtement protecteur adapté, serré aux poignets et à col montant Tissu ne libérant pratiquement ni fibres ni particules	Chaussures ou couvre-chaussures adaptés
D	Charlotte	Couvre-barbe s'il y a lieu		Vêtement protecteur normal	Chaussures ou couvre-chaussures adaptés

Tableau 3 : Exemple de règles d'habillement en ZAC

4.5.1.3.3. Comportement en ZAC

En plus de l'hygiène et de l'habillement, le comportement des personnes impacte le nombre de particules qu'ils émettent.

Les tenues portées aujourd'hui en ZAC permettant de mieux limiter l'émission de particules. Néanmoins, ils aident à comprendre toute la nécessité de mouvements calmes et ordonnés en ZAC. Le nombre de personnes présentes devra également être réduit au minimum.

4.5.1.4. Milieu

4.5.1.4.1. Locaux

La conception des locaux participe à l'assurance de la stérilité. Dans les zones à atmosphère contrôlée (ZAC), les surfaces doivent être lisses, imperméables, sans fissures, avec un minimum d'anfractuosités pour réduire l'accumulation de micro-organismes. Il faut pouvoir y utiliser de manière répétée des produits de nettoyage et des désinfectants. Ces détergents et désinfectants eux-mêmes doivent être renouvelés pour éviter que ne se développent des souches résistantes. Leur plan, leur agencement, leur conception et leur utilisation doit notamment limiter le dépôt de poussières et permettre un entretien, un nettoyage et une désinfection efficace

L'agencement des locaux doit respecter le principe de la « **marche en avant** » du produit lors de ses différentes étapes de fabrication. Le flux des matières ne doit pas croiser le flux du personnel, qui va du vestiaire au poste de travail.

En ZAC, des sas devront être prévus pour l'entrée et la sortie du matériel et du personnel, de manière à établir des flux entrants et sortants qui ne peuvent se croiser. Les vestiaires devront être utilisés et conçus comme des sas, de manière à fractionner physiquement les phases d'habillage.

Le matériel, les appareils et les installations techniques dans les zones de production stériles doivent être conçus et installés pour qu'un maximum de maintenance et de réparations puissent s'effectuer hors de la zone à atmosphère contrôlée.

Quatre classes distinguent entre eux les locaux dont l'atmosphère est contrôlée :

- ❖ **Les classes C et D**, où se font les opérations les moins critiques en regard de l'asepsie, comme la préparation des solutions et celle du matériel de production,
- ❖ **La classe B**, qui forme une enceinte autour de la classe A, et,
- ❖ **La classe A** qui caractérise le local dans lequel s'effectue le remplissage d'un produit injectable. Les points où sont réalisées des opérations à haut risque, tels que le point de remplissage, les bols de bouchons, les ampoules et flacons ouverts ; les points de raccordements aseptiques. Les postes de travail sous flux d'air laminaire doivent normalement garantir les conditions requises pour ce type d'opérations. Les systèmes de flux d'air laminaire doivent délivrer de l'air circulant à une vitesse homogène de 0,36 – 0,54m/s (valeur guide) dans les systèmes non clos. Le maintien de la laminarité du flux doit être démontré et validé.

Classe	Opérations sur des produits stérilisés dans le récipient final	Opérations sur des préparations aseptiques
A	Remplissage de produits si l'opération présente des risques inhabituels	Préparation et remplissage aseptique
C	Préparation de solutions si l'opération présente des risques inhabituels Remplissage de produits	Préparation de solutions qui vont être filtrées
D	Préparation de solutions et d'accessoires destinés au remplissage	Manipulation d'accessoires après nettoyage

Tableau 4 : Exemples d'opérations qui doivent être réalisées dans différentes classes d'après la LD 1 des BPF

4.5.1.4.2. Les vestiaires

La conception des vestiaires participe également au contrôle de la contamination : ils sont fractionnés selon les phases d'habillage de façon à ce que l'enfilage des vêtements se termine dans un local de la même classe que la zone à laquelle il mène.

4.5.1.4.3. Air

L'air est vecteur de tous types de contamination, et la maîtrise d'un certain nombre de paramètres de ventilation permet de lutter contre la contamination croisée.

L'atmosphère qui garantit ces classes est obtenue par une filtration de l'air dont l'efficacité correspond au niveau de propreté requis, par l'installation des équipements de production sous des systèmes à flux d'air unidirectionnel, par le passage des opérateurs de production de sas en sas... Une surveillance microbiologique quasi constante de cet environnement est effectuée à l'aide de boîtes de Pétri et par des contrôles des surfaces (pièces de machines, cloisons ...).

L'air contient naturellement des particules (contamination particulaire) et des micro-organismes (aérobiocontamination) dont la nature et la quantité varient en fonction des lieux géographiques. Les micro-organismes dans l'air sont des bactéries, des levures, des spores (champignons), des virus, d'où l'importance de filtrer rigoureusement, par exemple grâce aux filtres HEPA (High Efficiency Particulate Air), l'air dans les zones à atmosphère contrôlée (ZAC) et d'en contrôler les volumes-cibles de contaminants acceptables.

Cette filtration ne se suffit pas à elle-même. Il faut également contrôler la circulation de cet air dans les ZAC selon les exigences de l'aérodynamique : le flux d'air unidirectionnel, dont le cheminement est notamment vérifié par des tests aérauliques, doit provoquer un effet de balayage des biocontaminants éventuels vers l'extérieur pour protéger la zone la plus critique. La pression de l'air, plus élevée dans les salles de classe A, diminue en Classe B, C et D, pour rejoindre la pression atmosphérique. C'est cette « cascade de pression » qui fait circuler l'air de la partie la plus contrôlée vers la moins contrôlée, de l'intérieur vers l'extérieur.

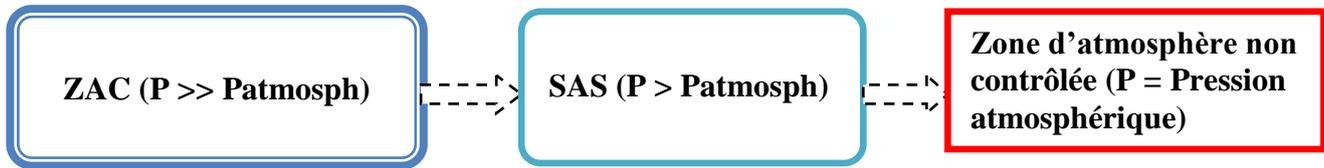


Figure 4 : Exemple de cascade de pression

La circulation de l'air ne doit pas entraîner la contamination vers une zone de plus haut risque pour le produit. Ainsi, pour empêcher l'entrée d'air non filtré dans la zone, une cascade de pression positive est maintenue de la zone la plus propre vers la moins propre, avec une différence de pression de 10 à 15 Pascals entre chaque local de classe différente.

Normes et recommandations :

❖ **Contamination particulaire**

Dans les ZAC, qui sont classées selon la qualité requise pour leur environnement, le nombre de particules en suspension dans l'air doit respecter des normes précisées dans les BPF (tableau 4). Ces normes sont définies pour deux états d'occupation de la zone :

- « au repos », c'est-à-dire lorsque les locaux sont opérationnels, le matériel de production en place et les opérateurs absents
- « en activité », c'est-à-dire lorsque les locaux sont opérationnels et que le matériel de production fonctionne, avec les opérateurs à leur poste de travail. Les normes tiennent compte de la génération supplémentaire de particules par l'activité de la zone.

	<i>Au repos</i>		<i>En activité</i>	
<i>Classe</i>	<i>Nombre maximal autorisé de particules par m³ de taille égale ou supérieure aux tailles précisées.</i>			
	<i>0.5 µm (d)</i>	<i>5 µm</i>	<i>0.5 µm (d)</i>	<i>5 µm</i>
<i>A</i>	<i>3520</i>	<i>20</i>	<i>3520</i>	<i>20</i>
<i>B</i>	<i>3520</i>	<i>29</i>	<i>352000</i>	<i>2900</i>
<i>C</i>	<i>352000</i>	<i>2900</i>	<i>3520000</i>	<i>29000</i>
<i>D</i>	<i>3520000</i>	<i>29000</i>	<i>Non défini</i>	<i>Non défini</i>

Tableau 5 : Limites de contamination particulaire des ZAC d'après les BPF

La norme EN/ISO 14644-1, qui définit notamment la méthodologie de classification des zones, propose une autre classification, sans distinction entre l'état au repos ou en activité. Cette classification en 9 classes est surtout utilisée dans les domaines sensibles aux contaminations environnementales (aéronautique, optique, industrie des semi-conducteurs) et à ses débuts

(1999), a été utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Les limites qu'elle donne pour le nombre de particules en suspension dans l'air sont présentées dans le *tableau 5*.

Classe	Nombre maximal autorisé de particules par m ³ de taille égale ou supérieure aux tailles précisées					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO 1	10	2	-	-	-	-
ISO 2	100	24	10	4	-	-
ISO 3	1 000	237	102	35	8	-
ISO 4	10 000	2 370	1020	352	83	-
ISO 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
ISO 7	-	-	-	352 000	83 200	2 930
ISO 8	-	-	-	3 520 000	832 000	29 300
ISO 9	-	-	-	35 200 000	8 320 000	293 000

Tableau 6 : Limites de contamination particulaire des zones propres d'après la norme EN/ISO 14644-1

Le *tableau 6* propose une correspondance entre les classifications BPF et ISO 14644-1. Cela permet de transposer aux ZAC de classe A à D les recommandations de la norme ISO 14644 pour les salles propres classées ISO 1 à 9.

Classe BPF	Au repos	En activité
A	ISO 5 (ISO 4.8 pour les particules ≥ 5 µm)	
B	ISO 5	ISO 7
C	ISO 7	ISO 8
D	ISO 8	Non définie

Tableau 7 : Correspondance normes BPF/normes ISO 14644-1

❖ Contamination microbiologique

Les BPF recommandent le respect des limites suivantes durant la production en ZAC (Cf. *Tableau 7*) :

Limites recommandées de contamination microbiologique				
Classe	Echantillon d'air ufc/m ³	boîtes de Pétri (diam.:90 mm), ufc/4heures	géloses de contact (diam. :55 mm), ufc/plaque	empreintes de gant (5 doigts) ufc/gant
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Tableau 8 : Limites recommandées de contamination microbiologique (valeurs moyennes)

Ces limites sont des valeurs moyennes. De même, Certaines boîtes de Pétri peuvent être exposées pendant moins de quatre heures.

Tout comme la contamination particulaire, le niveau de contamination microbiologique est régulièrement évalué dans le cadre du suivi environnemental des ZAC. Des seuils d'alertes et d'action doivent être définis pour les résultats de ce suivi.

Brassage de l'air (%): c'est le rapport entre le débit d'air soufflé et le volume du local (ou de l'enceinte).

Les ZAC sont équipées de Centrales de Traitement de l'Air (CTA), qui permettent de contrôler et de réguler la température et l'hygrométrie de la zone, et participent aussi à l'amenée d'air de qualité satisfaisante et à la sortie des contaminants.

Un schéma très simplifié du circuit de l'air est disponible en *figure 4*

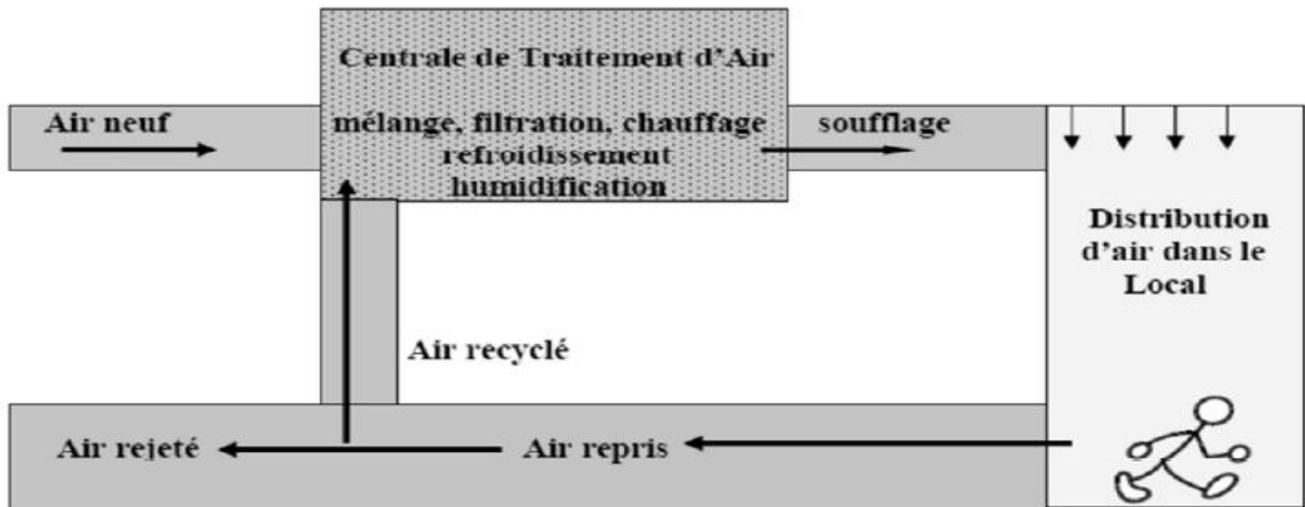


Figure 5 : Schéma simplifié du circuit de l'air en ZAC

L'air repris peut être :

- ❖ rejeté en totalité et remplacé à 100% par de l'air neuf
- ❖ en partie recyclé et remis en circulation avec de l'air neuf
- ❖ recyclé à 100% et remis en circulation

Remarque : TAUX DE BRASSAGE ET DE RENOUVELLEMENT HORAIRE¹⁷

Il apparaît souvent une confusion entre ces deux termes.

- **Taux de brassage** : c'est le rapport entre le débit d'air soufflé (en m^3/h) et le volume de la pièce (ou isolateur). Il s'exprime en volumes par heure (vol/h). C'est un paramètre important puisque le brassage de l'air permet de diminuer la concentration en contaminants par dilution.

Il sera fonction de :

- L'étanchéité
 - La classe d'empoussièrement souhaitée
 - La concentration en particules émises
 - Du volume de l'isolateur ou du local
- **Taux de renouvellement** (d'air neuf) : c'est le rapport entre le débit d'air neuf apporté (m^3/h) et le volume de la pièce (ou isolateur). Il s'exprime en vol/h.

En conclusion, plus les performances à atteindre seront strictes, plus le niveau de filtration sera poussé, plus le taux de brassage sera important. D'où la nécessité de définir correctement son besoin en choisissant la classe de propreté adaptée aux exigences du produit.

Diffusion de l'air¹⁸

La diffusion de l'air doit permettre l'évacuation des contaminants et éviter le transfert d'air pollué vers la zone sensible. Trois types de flux d'air sont employés :

- ❖ Turbulent (ou non unidirectionnel)
- ❖ Laminaire
- ❖ unidirectionnel.

Ces trois types de flux sont représentés en *figure 5*.

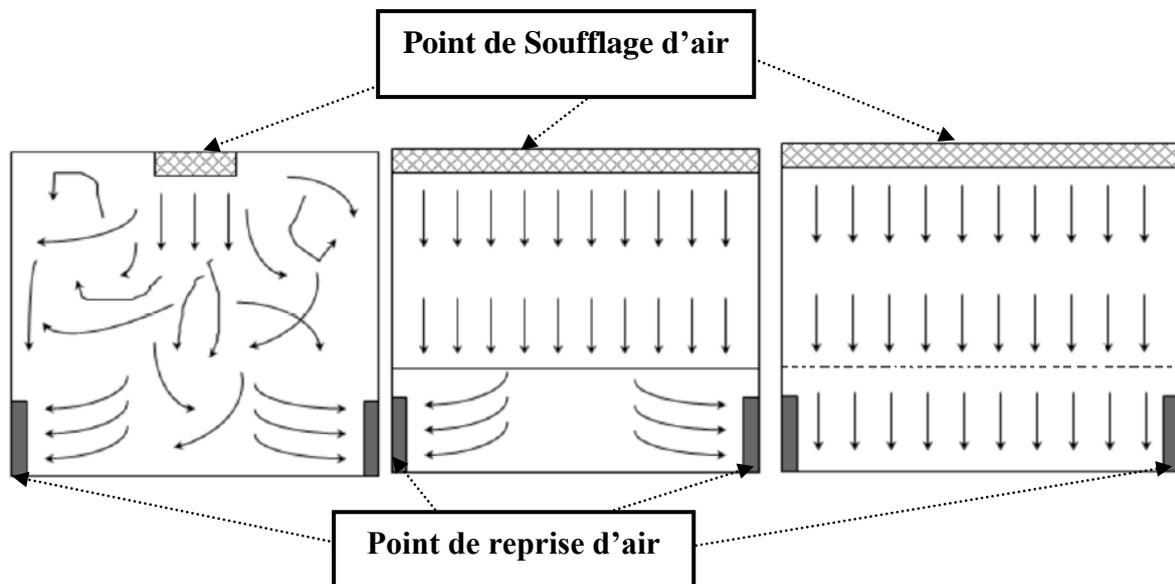


Figure 6 : Schémas représentant un flux d'air turbulent (à gauche), laminaire (milieu) et unidirectionnel (à droite)

Les rectangles quadrillés en haut représentent le point de soufflage, avec dispositif de filtration.

Les rectangles gris foncés, en bas, sont les points de reprise.

Le **flux turbulent** est un régime de distribution où l'air soufflé dans la zone propre se mélange à l'air déjà présent par impaction.

Le **flux laminaire** est un flux d'air maîtrisé traversant l'ensemble d'un plan de coupe d'une zone propre, possédant une vitesse régulière et des filets à peu près parallèles.

Filtration de l'air :¹⁹

Pour être préservées des contaminants extérieurs, les ZAC doivent être alimentées en air filtré sur des filtres correspondant au niveau de propreté requis. Les filtres utilisés sont des filtres HEPA (High Efficiency Particulate Air), qui filtrent au moins 99,97% (en nombre) des particules de diamètre $\geq 0,3 \mu\text{m}$.

La norme NF EN 1822-1, *Filtres à air à haute efficacité-Partie 1 : Classification, essais de performance et Marquage*, classe les filtres à très haute efficacité en HEPA et ULPA (Ultra Low Particulate Air, efficacité supérieure aux filtres HEPA).

L'air soufflé en ZAC est préalablement filtré, l'air repris doit l'être également, dans le cas où sont manipulés en ZAC des agents pathogènes ou toxiques qui ne doivent pas atteindre l'extérieur.

4.5.1.5. Méthodes

Les méthodes, qu'elles soient de production, de maintenance, de nettoyage, de contrôle, de transfert, peuvent être responsables de contaminations si elles ne sont pas adaptées, précises, et rigoureusement suivies.

Maîtriser la contamination passe aussi par des méthodes adéquates et donc par un système d'Assurance Qualité conçu avec une documentation rigoureusement gérée. Le nettoyage, la désinfection et / ou la stérilisation des équipements et des locaux font partie des opérations déterminantes dans le processus de production et d'analyse d'un produit pharmaceutique, notamment pour les médicaments injectables.

Au-delà des méthodes de fabrication, de contrôle ou d'entrée en ZAC, la maîtrise de la contamination intègre également des **méthodes de gestion des risques**, comme la méthode HACCP (Hazard Analysis Critical Crisis Point) pour ne citer qu'un exemple. Enfin, le concept de méthode implique l'existence de standards, tels que les normes de l'International Organization for Standardization (ISO) ou les guidances de l'International Conference on Harmonisation (ICH). Les mesures de prévention de contamination suscitées ne peuvent aboutir que s'il leur est associé une méthode d'organisation, de réalisation,...formalisée par un **document qualité** tel qu'une **procédure**, une **instruction** ou encore un **mode opératoire**, qui sont des éléments indispensables pour travailler avec et selon des Bonnes Pratiques.

L'isotechnie a été conçue pour réduire sensiblement les risques de contamination de l'environnement des produits fabriqués de façon aseptique. Elle consiste à créer une barrière physique entre l'opérateur, qui se trouve dans une zone non-stérile, et les équipements dans lesquels se déroulent les étapes critiques comme le remplissage et le bouchage des médicaments stériles. Les installations de remplissage sont protégées par une enceinte, de préférence rigide et en surpression. Les manipulations s'effectuent de l'extérieur, à travers des boîtes à gants ou des demi-scaphandres.

Le recours à l'isotechnie en vue de diminuer les interventions humaines dans les zones de fabrication peut réduire sensiblement le risque de contamination microbiologique au contact de l'environnement des produits fabriqués de façon aseptique.

5. ISOTECHNIE

5.1. DEFINITION D'UN ISOLATEUR²⁰

En tant que principe physique, l'isolateur signifie que vous séparez un procédé – matières premières, produit, animal de laboratoire - de son environnement. A cela deux raisons : Vous voulez éliminer la contamination de l'environnement d'un objet isolé ou vice et versa.

Les premiers isolateurs seraient apparus aux USA dans les années 1940 dans les laboratoires du LOBUND (Laboratory Of Bacteriology University Notre Dame) pour l'élevage d'animaux de laboratoires sans germe. Ces isolateurs étaient construits en acier inoxydable, munis de hublots et stérilisables à la vapeur. Pour des questions de facilité d'exploitation et d'économie, ils ont été remplacés, dans les années 1950, par des isolateurs souples et stérilisables par voie chimique. La société **La Calhène** a été la pionnière de la construction des isolateurs en Europe, dans le début des années 1970, pour des applications médicales et pharmaceutiques.

Depuis son invention, la technologie de l'isolateur a fait ses preuves.

De très nombreux secteurs d'activité ont su tirer parti de ce nouvel équipement qui présente de gros avantages :

- ❖ Elevage d'animaux hors germes,
- ❖ Isolement de personnes ne possédant pas suffisamment de défenses immunitaires,
- ❖ Techniques chirurgicales,
- ❖ Fabrication et contrôles de médicaments stériles.

Un isolateur peut être défini comme une enceinte complètement séparée de son environnement et possédant un milieu strictement contrôlé. Les processus dans son intérieur se déroulent sans aucun contact avec l'opérateur et le milieu ambiant.

L'emploi d'isolateurs, permet de protéger les opérateurs et l'environnement des produits nocifs mais aussi de protéger les produits de l'environnement et surtout des opérateurs au cours, par exemple, des manipulations aseptiques.

Les isolateurs peuvent être comparés à des boîtes à gants utilisées dans les environnements de protection nucléaires, cependant la technologie a été adaptée aux contraintes des fabrications en stériles des produits injectables conventionnels ou hautement actifs.

Ils peuvent être de conception très variée. Ils se présentent sous la forme d'une enceinte hermétique qui permet d'obtenir une parfaite barrière physique, continue et permanente assurant la protection croisée entre l'extérieur et l'intérieur. Les composantes principales d'un isolateur (système de transfert, manipulation, confinement, ventilation et filtration) sont résumées dans le

schéma ci-dessous (figure 6) et leur conception est adaptée précisément à l'utilisation et au procédé.

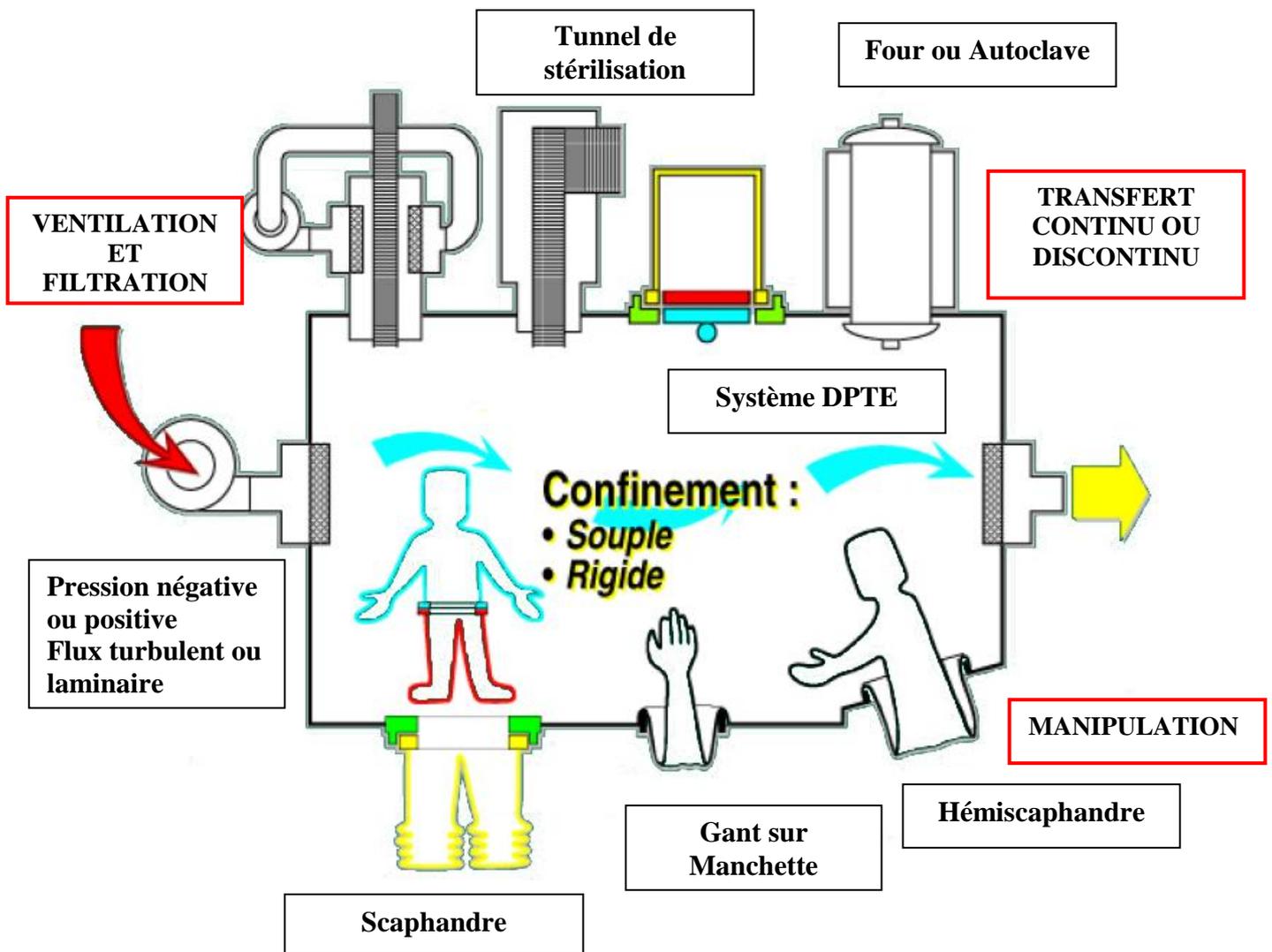


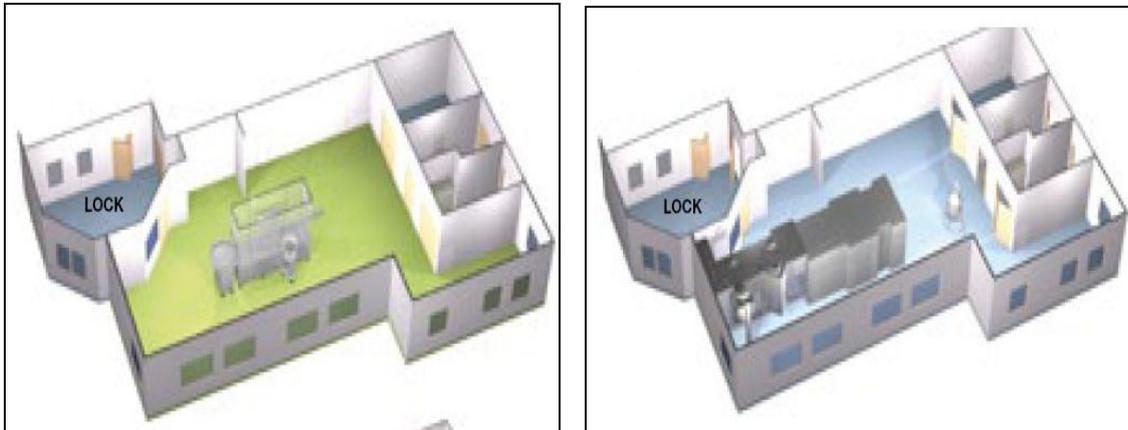
Figure 7 : Différentes composantes d'un isolateur

La ligne de production des solutions injectables sur le site du CRDPF est constituée de plusieurs isolateurs assemblés les uns aux autres. Chaque isolateur peut être associé à un poste de travail. La ligne de production de médicaments injectables au sein de l'unité R&D de Pierre Fabre est de petite échelle (**3000 flacons d'une taille de 2 à 10mL**), et son rythme de production n'est pas celui d'une usine de production. Les contraintes de productivité sont donc différentes.

Les isolateurs nouvellement acquis au CRDPF servent à la fabrication de médicaments injectables de tout type de principe actif, y compris les cytotoxiques. Il est donc essentiel de protéger l'opérateur et l'environnement, du produit, et le produit du milieu extérieur. La répartition de la solution injectable doit se réaliser au cœur d'une enceinte stérile, ne comportant quasiment aucune particule et il faut être très vigilant aux contaminations croisées d'autant plus que comme nous sommes dans une zone dite multiproduits, les PA manipulées ne seront pas toujours les mêmes.

A ce jour il existe deux principales méthodes d'isolement. Vous pouvez isoler toute une pièce-c.à.d. l'étancher vis-à-vis de l'extérieur. Solution qui est connue habituellement sous le vocable « **salle propre** ».

L'alternative, une barrière peut être ajustée autour du procédé. Deux types de barrières sont communs dans l'industrie aujourd'hui : l'**isolateur** ou le **RABS** (Restricted Access Barrier System).



Principe salle propre

Principe isolateur

Figure 8 : Comparaison d'une salle propre à un isolateur

Un isolateur a un haut niveau d'étanchéité et de ce fait, il peut être contrôlé et bio-décontaminé (par voie chimique, habituellement par vapeur de peroxyde d'hydrogène). Un procédé complet de production peut être effectué dans une série d'isolateurs, le séparant ainsi des principaux contaminants (environnement immédiat, opérateurs...). Il existe donc une séparation physique entre les opérations de productions et l'opérateur lors de l'utilisation des isolateurs (Cf. Figure 8).

5.2. CONFINEMENT

Selon l'appréciation de la dangerosité et de la fragilité, le choix d'un état de pression (surpression et dépression) et d'un mode de ventilation permet de maintenir la stérilité et / ou la protection de l'environnement y compris dans les conditions extrêmes considérées comme « worst case ».

Sur les sites de production, il y a deux raisons basiques de ségrégation d'atmosphère : La protection du procédé ou la protection de l'environnement et l'opérateur. La pression interne d'un isolateur est un facteur clé. Lorsque la protection de l'opérateur est la priorité, on maintient une pression négative (toute fuite a pour effet un flux d'air venant de l'extérieur qui protège l'environnement et les opérateurs). Dans le cas contraire on maintient une pression positive pour protéger le procédé et le produit.

Il y a deux types principaux de construction des isolateurs. Les modèles à **parois rigides** qui utilisent de l'acier inoxydable ou des matériaux plastiques et ceux à **parois souples** qui utilisent du PVC (Polychlorure de Vinyle). Chacun de ces deux types a ses avantages et ils peuvent se

combiner l'un avec l'autre sur une même ligne de production. Le choix final doit être fait après l'analyse des opérations successives du procédé en considérant les risques et l'ergonomie.

5.3. METHODES DE MANIPULATION

Les manipulations de produits dans un isolateur peuvent être possible par l'utilisation de :

- Gant sur manchette
- Scaphandre ou
- Hémiscaphandre

Ces éléments souples permettent de travailler dans un isolateur tout en restant biologiquement à l'extérieur (Cf. figure 8).

Le gant qui termine un ensemble manchette ou d'Hémiscaphandre ou scaphandre se doit d'être étanche. Ce gant dont l'épaisseur et la matière sont compatibles avec le procédé est à la fois la partie la plus fragile de l'isolateur et la source la plus sensible de contamination microbiologique ou chimique. Il est recommandé de contrôler l'étanchéité des gants avant et après utilisation par différence de pression.

Ils sont l'un des éléments les plus fragiles, l'un des plus sollicités mais, aussi et surtout l'un des plus critiques au sein d'un isolateur. Ils sont devenus la seule et unique interface entre l'opérateur et le poste de production. Leur résistance mécanique et chimique s'impose toujours aujourd'hui comme le critère de qualité décisif qui conditionne leur conception, leur fabrication autant que leur sélection par les utilisateurs. Une contrainte de résistance qui élimine d'emblée le latex naturel (matériau répandu pour les gants des salles propres) pour les isolateurs de répartition aseptique. En cause : sa très mauvaise résistance aux agents de stérilisations couramment employés dans le secteur (H₂O₂ et acide péraétique).

Les matériaux synthétiques sont plus utilisés, avec en tête, le néoprène (polychloroprène) et l'Hypalon (polyéthylène chlorosulfoné). Le premier étant apprécié pour son confort tactile et le second offrant, quant à lui une meilleure résistance aux produits de stérilisation. Pour allier les qualités des différents matériaux disponibles, certains fabricants proposent désormais des produits multicouches, les gants en néoprène/Hypalon en sont l'un des exemples typiques.

Autre solution pour améliorer la résistance du gant : l'augmentation des épaisseurs (une solution que certains utilisateurs appliquent à leur gant en néoprène en passant d'une épaisseur standard de 6/10 de mm à 7/10 voire 8/10 de mm. La contrepartie : une perte de dextérité pour les opérateurs et techniciens susceptibles d'être incompatibles avec la réalisation de certaines opérations de remplissage ou de contrôle. Cependant, le maintien d'une bonne sensibilité à l'intérieur des gants représentait un facteur déterminant pour leur durabilité. Il importe d'adapter les gestes à la manipulation, raison pour laquelle certains industriels mettent en place des formations spécifiques pour leurs opérateurs. Pour ces industriels engagés dans l'isotechnie, cet

investissement n'est rien comparé à l'enjeu que représente le maintien de l'intégrité des gants tout au long de la production. Si les déchirures et autres coupures accidentelles sont irréversibles, une simple fuite peut également entraîner des conséquences dommageables pour la production (au mieux : investigation de l'impact de l'anomalie, des contrôles microbiologiques, une désinfection du dispositif et de la zone de manipulation...au pire : arrêt de la production, la re-stérilisation de l'isolateur, et une investigation qui pourra aboutir au rejet de lot). Autant de temps et d'argent que les industriels ne souhaitent pas perdre.

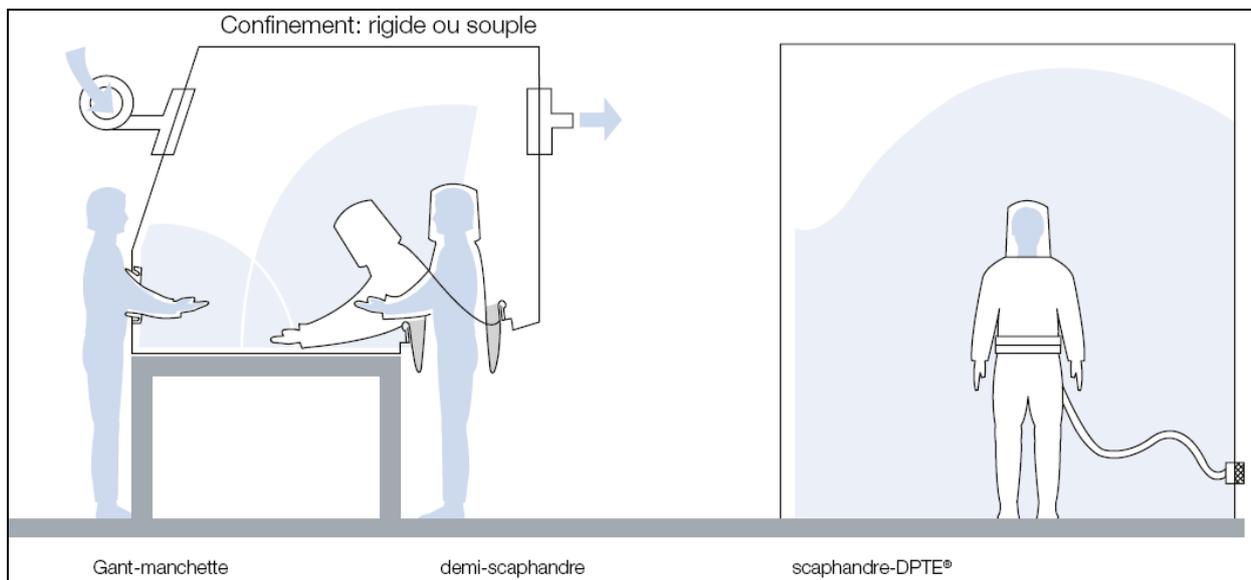


Figure 9 : Différentes méthodes de manipulation dans un isolateur

5.4. VENTILATION ET FILTRATION²¹

Le circuit de l'air dans l'isolateur est un autre facteur important, puisque ce flux épure l'ensemble du volume de l'air dans l'isolateur en balayant les particules vers le filtre de sortie. Ce flux peut être unidirectionnel ou turbulent. Unidirectionnel quand le flux se présente sous forme de couches parallèles ininterrompues. Ce type de flux d'air est également appelé laminaire. Turbulent quand le flux ne présente pas ces couches parallèles d'air et va dans des directions aléatoires. Il n'y a pas alors de circuit d'air défini. Dans les isolateurs le flux unidirectionnel est utilisé lorsque le balayage des particules dans les zones critiques doit être rapide. Le flux turbulent maintient toutefois les conditions de propreté initiales et est idéal pour beaucoup d'applications par exemple pour les isolateurs de contrôle et de transferts pour lesquels la génération de particules est moins conséquente pour les procédés.

Remarque: FLUX D'AIR UNIDIRECTIONNEL VS FLUX D'AIR LAMINAIRE :

Sur le strict plan des définitions, les textes normatifs prennent bien garde de ne pas confondre les deux termes. Le flux unidirectionnel est le seul mentionné dans les normes 14644 et est

décrit comme un « flux d'air maîtrisé traversant l'ensemble d'un plan de coupe d'une zone propre, possédant une vitesse régulière et des filets à peu près parallèles ». On trouve une définition de l'écoulement laminaire dans la norme NF X 44-102²² qui le décrit comme un flux possédant une vitesse moyenne allant de 0,4 à 0,5 m/s et qui ne s'écarte pas plus de 20% autour cette moyenne. En résumé, on peut dire qu'un flux laminaire est un flux unidirectionnel particulier.

Dans la NF S 90-351²³, le flux préconisé dans les zones à risque 4 ou 3 (Zone de haut risque infectieux) est nominativement un flux « unidirectionnel » mais aucune notion de vitesse n'est imposée.

5.5. METHODES DE TRANSFERT²⁴

Une des clés de la bonne utilisation en cours de production du volume clos que constitue l'isolateur est l'organisation temporelle et la maîtrise qualitative des transferts entrée et sortie. En procédé continu, les entrées des contenants se font par des tunnels de stérilisation / Dépyrogénéation par la chaleur sèche (verre) et les sorties du produit bouché et / ou capsulé par des circuits avec une protection environnementale croisée.

Les transferts des composants tels que les bouchons s'effectuent le plus souvent en utilisant des systèmes de transferts à double porte dits RTP (Rapid Transfer Port) à utilisation bidirectionnelle. Ceux ci peuvent être montés sur des ensembles consommables à stériliser par autoclavage (ou irradiation gamma). L'utilisation des systèmes RTP est recommandé en particulier dans des circonstances de production multiproduits afin d'éviter les contaminations chimiques croisées.

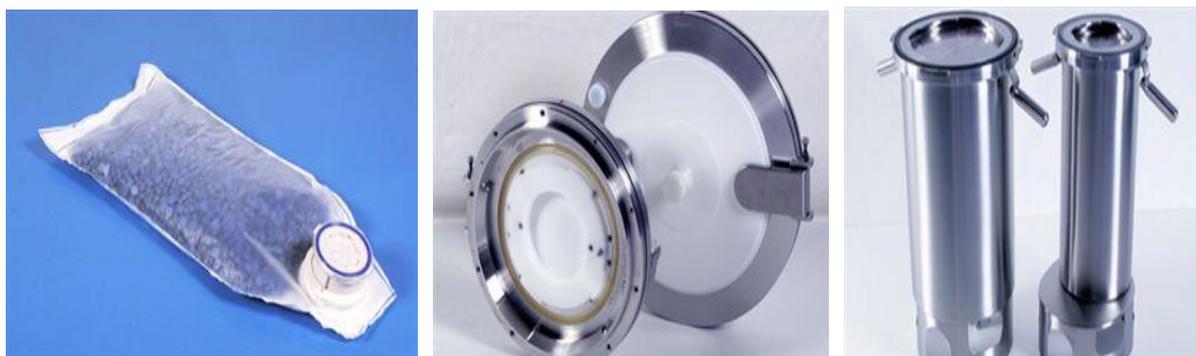


Figure 10 : Exemples de systèmes de transferts dans un isolateur

Afin d'assurer la stérilité du transfert aseptique de bouchons de conditionnement primaire dans l'industrie du médicament, un nouveau dispositif de RTP permet désormais à l'utilisateur de travailler en environnement classé ISO 7 ou 8, évitant le classique conditionnement via un isolateur de transfert et deux systèmes double porte.

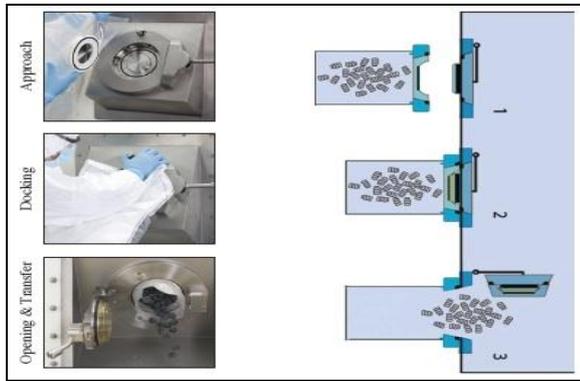


Figure 11 : Exemple d'étapes de transfert de bouchons vers une ligne de remplissage aseptique de flacons

5.5.1. Contrôle continu et monitoring

Les points critiques dans un isolateur sont définis au niveau de :

- Toutes les liaisons entre les parois du confinement et les différents éléments constitutifs de l'isolateur (Les transferts, ventilation et filtration, les manipulations)
- Chaque composant amovible (les joints, les gants/manchettes, les portes)

L'isotechnie est également utilisée dans la protection des opérateurs vis à vis de produits reconnus ou potentiellement toxiques (cytotoxiques, hormones, protéines recombinées...). Elle permet de garantir une exposition minimale à la source de nocivité. La VLE (Valeur Limite d'Exposition) peut se calculer à partir des données d'étanchéité de l'isolateur, de la concentration du produit incriminé dans l'isolateur et du renouvellement d'air dans le local de production. Etanchéité = facteur essentiel à la protection de l'opérateur.

L'étanchéité se caractérise par un taux de fuite exprimé en % du volume de l'isolateur par heure. Classiquement, les isolateurs employés en production pharmaceutique doivent être capable de répondre aux classes 2 et 3 des salles propres (taux de fuite admis de 0.1 à 0.5% du volume/h) de la norme ISO 10648-2²⁵.

Le monitoring met en œuvre pour les contaminations particulaire et microbiologique (USP<1116>)²⁶ les mêmes techniques de mesurage que celles employées en salles propres avec une attente de performance maximale du fait de la séparation physique intégrale entre la zone de production et le monde extérieur.

Pour assurer la sécurité pendant la totalité du procédé, il existe des équipements de contrôle de routine pour les composants des isolateurs et les systèmes de transfert qui ont été développés. Ce qui permet de détecter aisément tout défaut ou panne.

Sur le site du CRDPF, le confinement est vérifié par 2 tests d'étanchéité à savoir :

- ❖ Test de chute de pression : c'est le moyen le plus rapide pour prouver l'étanchéité d'un isolateur.

- ❖ Test à l'ammoniaque : il permet de prouver que l'isolateur et ses accessoires (DPTE, gants, manchettes, hémiscaphandre, hayon, porte Biosafe®...) n'ont pas de fuite, et le cas échéant, de la localiser.

5.5.2. Test d'étanchéité de l'enceinte²⁷

5.5.2.1. Test de chute de pression (test quantitatif)

Objectif : déterminer le taux de fuite de l'isolateur Tf par chute de pression.

Tf = rapport du débit de fuite de l'enceinte dans des conditions normales d'utilisation au volume de l'enceinte

Principe : l'isolateur est placé en surpression bloquée par soufflage d'air à une pression donnée c'est-à-dire qu'une fois la surpression souhaitée atteinte, la ventilation est stoppée et les vannes d'entrée et de sortie sont fermées. Par la suite, il existe une étape de stabilisation puis la mesure de la chute de pression pendant 10 minutes.

Remarque :

- ❖ Le paramètre température est essentiel pour fiabiliser la mesure car une variation de 1°C correspond à une variation de 370 Pa.
- ❖ De même, la pression et la température du local doivent être stables (aucune porte du local ne doit être ouverte durant le test).

5.5.2.2. Test à l'ammoniaque (test qualitatif)

Objectif : localiser les éventuelles fuites par la méthode à l'ammoniaque.

Utilisation d'un tissu révélateur au bleu de bromophénol (vire du jaune au bleu en présence de NH₃)

Principe :

L'isolateur est placé en surpression bloquée afin de protéger les filtres (ces derniers ne filtrent pas les vapeurs ammoniacées) et est ensuite saturé en vapeur d'ammoniaque suite à l'installation d'un béccher contenant de l'ammoniaque concentré.

Depuis l'extérieur, on détecte d'éventuelles fuites à l'aide d'un tissu révélateur, qui change de couleur au contact de l'ammoniaque au point de fuite.

Normes d'acceptation :

Aucune fuite ne doit être observée : pas de changement des tissus révélateurs appliqués à l'extérieur des isolateurs.

5.5.2.3. Cas particulier du contrôle des gants des isolateurs

Le gant est la partie la plus vulnérable de l'isolateur. Un gant critique déclaré non conforme entraîne classiquement une investigation voir un arrêt de la production. Dans le cas d'un dispositif non critique, la décision peut aboutir à son isolement, à condition toute fois qu'il n'entraîne pas une modification de la gestuelle aseptique. Sur le plan de la validation, les changements de gants sans rupture de confinement devront également être reproduits, à plusieurs reprises, lors de media fill tests, indispensables pour qualifier le procédé aseptique.

Systématiquement, les gants pour isolateur font tous l'objet d'un contrôle unitaire : inspections visuelles, contrôle de l'épaisseur aux points critiques (paume, bourrelet à la base du gant, poignet et entre-doigts) et test d'étanchéité conformément à la norme EN421, *gants de protection contre les rayonnements ionisants et la contamination radioactive*.

3 grands types de contrôle sont mis en œuvre :

- ✚ Contrôles microbiologiques par écouvillonnage sur les gants et leur bague de raccord effectués avant, pendant et en fin de production.
- ✚ Conformément aux BPF, un contrôle par empreintes de doigt est également réalisé avant de casser la stérilité de l'isolateur. La fréquence de ces prélèvements dépend avant tout de la criticité des gants (une criticité elle même évaluée en fonction de la proximité du dispositif par rapport au produit ou au contenant vide).
- ✚ Les tests de fuite généralement sont réalisés in situ par le mesurage de la remontée d'oxygène. Là encore, les fréquences varient. Les contrôles peuvent être quotidiens sur des systèmes gant/manchette estimés critiques et hebdomadaires sur dispositifs moins sensibles.

Le **système GLT** (Glove Leak Tester) a été développé pour contrôler l'étanchéité des gants sans rompre ni la barrière de confinement ni la stérilité lors de la production. Facile à utiliser, il détecte des fuites invisibles à l'œil nu.

Le gant est inséré dans un cylindre rempli de gaz neutre. Puis ce cylindre est mis en pression négative pour tendre le gant. Ensuite l'oxygène résiduel est mesuré. Une valeur > 1000 ppm indique un gant fuyant. Le contrôle d'un gant dure 6 minutes.

Principe du GLT (Glove Leak Tester)

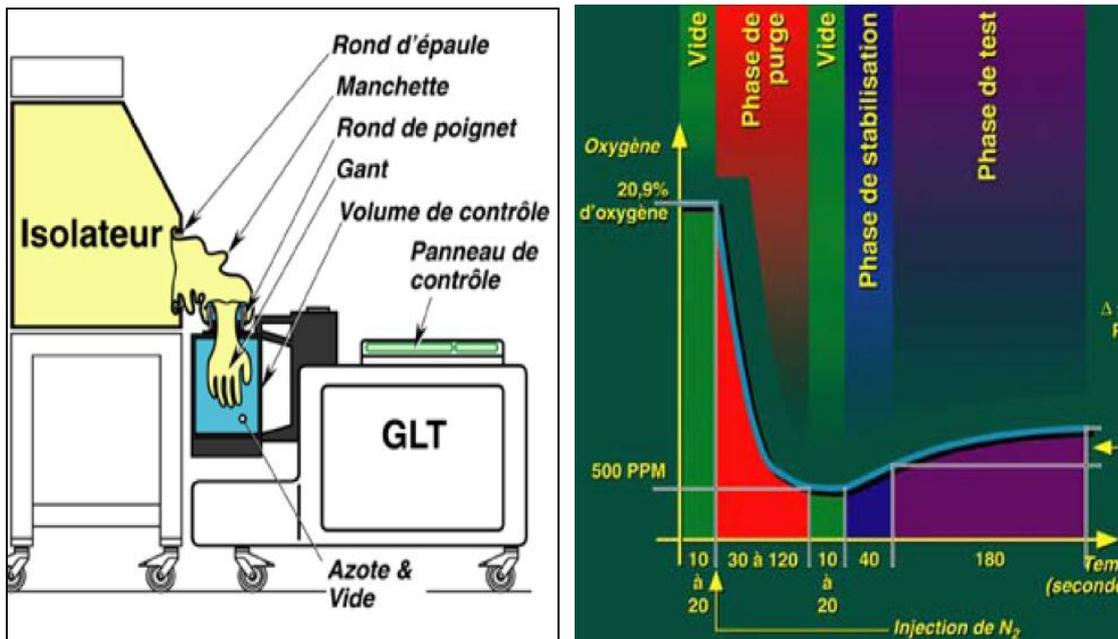


Figure 12 : Principe du test d'étanchéité des gants d'un isolateur

Avantages de cette méthode :

- ✚ Test effectué sans rompre le confinement
- ✚ Evite un remplacement inutile des gants
- ✚ Permet un test de fuite sur chaque gant avant et après chaque lot de production
- ✚ Utilisation aisée
- ✚ Durée du test inférieure à 6 minutes
- ✚ Test entièrement automatisé avec impression des résultats
- ✚ Très précis : détecte des trous non visibles à l'œil nu
- ✚ Comparaison relative avec les contrôles de contamination biologique

Conclusion :

L'étanchéité est une des caractéristiques très importantes de l'isolateur.

L'intégrité des isolateurs et de ses équipements (gants, systèmes de transfert Double Porte Transfert Etanche, filtres) doit être contrôlé régulièrement afin de garantir leurs performances.

Le contrôle de l'intégrité des gants et des systèmes de transfert DPTE (Double Porte Transfert Etanche) doit être inclu dans les procédures de maintenance, avant et après chaque lot et avant et après chaque transfert.

En résumé, lorsqu'un procédé nécessite une atmosphère spécifique, l'isotechnie permet de la créer en la validant et de la conserver en la contrôlant. L'industrie pharmaceutique qui a besoin de fiabilité technique et de coûts maîtrisés entre autres pour ses productions stériles et/ou toxiques, dispose des outils et solutions technologiques pour concevoir et exploiter les isolateurs en optimisant au mieux son ratio qualité/prix.

5.6. CONCLUSION : ISOLATEUR VS SALLE BLANCHE

Caractéristiques d'un isolateur	Caractéristiques d'une salle blanche
Haute étanchéité, ventilé à travers des filtres HEPA, avec parois rigides ou souples protégeant le procédé de l'opérateur et de l'environnement	Contact possible entre le personnel et le produit
Contraintes sur l'environnement autour de l'isolateur et sur l'habillement du personnel limitées	Habillement du personnel devant être adapté aux fabrications et aux zones de travail concernées
Consommation d'énergie moins importante	Consommation d'énergie importante liée à l'utilisation de systèmes de traitement d'air complexes.
Amélioration de la qualité de la stérilité	Barrière non étanche
Contraintes de manipulation du matériel limitées	Grande liberté de manipulation du matériel de procédé
Facilité d'installation Coût d'entretien et étapes de qualification plus complexe.	Coût de fonctionnement important

Tableau 9 : Tableau comparatif des caractéristiques d'un isolateur et d'une salle blanche

La maîtrise de la technologie de l'isolateur permet un niveau inégalé d'assurance de la stérilité par rapport aux salles blanches classiques.

Les isolateurs permettent de s'affranchir de certaines contraintes de classification et d'habillement des opérateurs de fabrication en étant installé dans un environnement de classe particulière moins contraignant que les salles blanches de production d'injectables. Ils empêchent toute rupture du confinement des produits par rapport à un environnement qui ne serait pas aussi bien protégé tant au niveau du maintien de la stérilité que du maintien des protections environnementales.

Enfin, l'utilisation des isolateurs permet de maintenir les opérateurs en dehors de toutes zones critiques, ce qui augmente le niveau d'assurance de qualité du produit tout en assurant une protection systématique des opérateurs de fabrication contre l'ensemble des molécules qu'ils manipulent.

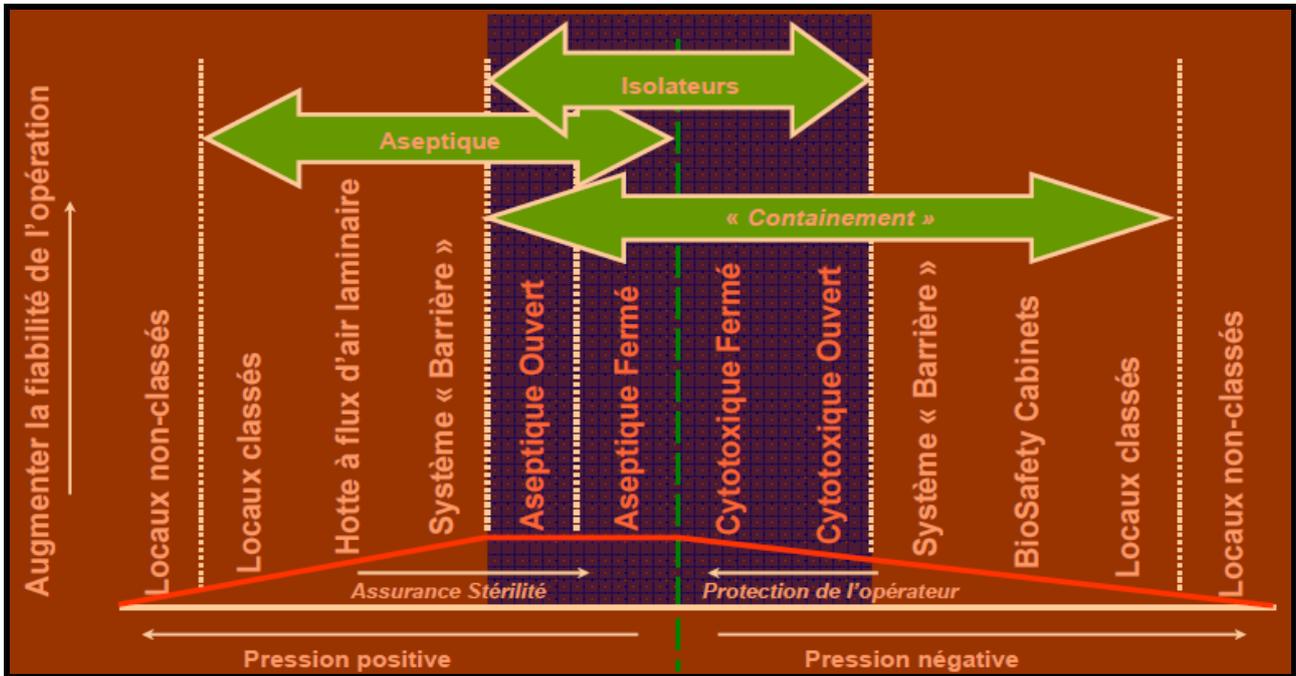


Figure 13 : Continuum de l'isolation

6. VALIDATION DES PROCÉDES DE BIODECONTAMINATION DES ISOLATEURS

Afin de répondre aux exigences sur la qualité de stérilité des produits injectables, le fabricant doit garantir le procédé d'obtention dudit produit stérilisé. La validation de la stérilisation n'est qu'une étape de la validation de l'ensemble du processus de fabrication du produit stérile. Par conséquent, il est important de définir un programme de validation de l'ensemble des étapes de fabrication du médicament, et de préciser ce qui appartient au champ de la validation de la stérilisation.

6.1. LE PLAN DE VALIDATION²⁸

Le plan de validation (ou PV) fait partie intégrante du plan directeur de validation (ou VMP, *Validation Master Plan*) tel que décrit dans l'annexe 15 des BPF européennes, *Qualification et Validation*. Le plan de validation reprend l'organisation des phases de qualification décrites dans le *Guide de qualification d'un équipement dans les industries de santé*.

Dans le cadre du transfert des activités de développement pharmaceutique des Laboratoires Pierre Fabre sur le site de l'Oncopôle, un plan de développement a été établi. Ce document définit :

- ✚ Les champs d'application avec descriptif de l'objet (produits, équipements, locaux, etc...
- ✚ Les objectifs, Méthodologie : Analyse de risques, planification, ressources, organisation documentaire, gestion des non-conformités, critères d'acceptation, références aux protocoles
- ✚ Les responsabilités
- ✚ Les référentiels
- ✚ Les glossaires et définitions....

Dans la pratique, le VMP ou le VP peut être remplacé par toute structure documentaire équivalente, par exemple une procédure spécifique des opérations de validation.

Les différentes étapes intervenant dans la validation/qualification sont regroupées selon un ordre chronologique, dans le PDV.

Ci-après, extrait du PDV, le processus de validation adopté au CRDPF, représenté schématiquement

- Soit de manière plus concise :

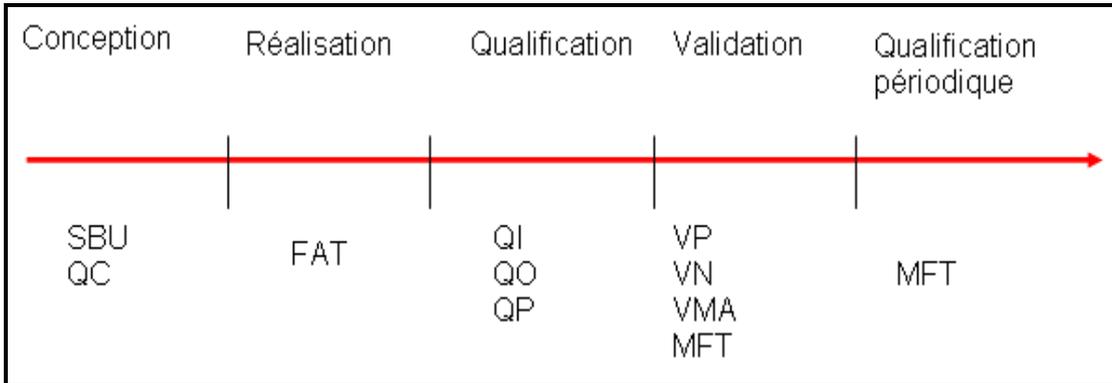


Figure 14 : Exemple de processus du Plan de Validation

- Soit de manière plus explicite :

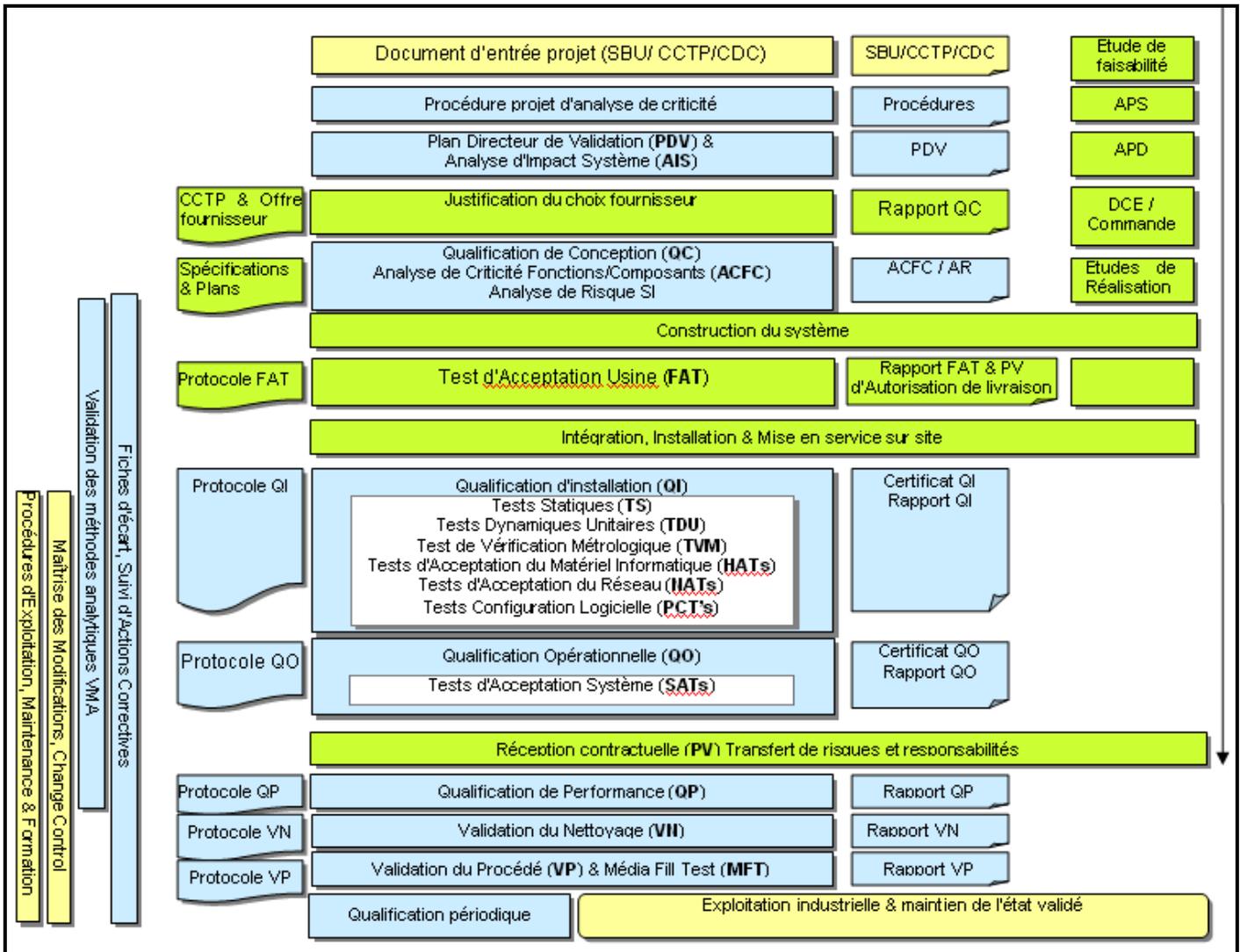


Figure 15 : Différentes étapes d'un plan de validation

APS : Avant Projet Sommaire
 APD : Avant Projet Détaillé
 DCE : Document Consultation des Entreprises
 SBU : Spécifications Besoins Utilisateurs
 AR : Analyse de Risques
 CDC : Cahier Des Charges

Légende

- Document Ingénierie
- Document Qualification
- Document d'entrée projet et d'exploitation

6.2. QUELQUES RAPPELS : DESINFECTION ET DECONTAMINATION²⁹

Alors que les BPF utilisent indifféremment les termes de désinfection et de décontamination, l'AFNOR les différencie. Il est donc nécessaire de faire un point sur leur signification. D'après la norme NF T 72-101³⁰, *Antiseptiques et Désinfectants, Vocabulaire*, la décontamination est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer, de tuer ou d'inhiber les micro-organismes indésirables, en fonction des **objectifs fixés**. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération.

Selon cette même norme, la désinfection est une opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les **virus indésirables** portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération.

Il conviendrait donc d'utiliser le terme de désinfection pour qualifier les opérations où une action biocide est exercée.

6.3. VALIDATION DU PROCEDE DE BIODECONTAMINATION DES ISOLATEURS

6.3.1. Stérilisation ou biodécontamination des isolateurs ?

6.3.1.1. Définition

La stérilisation des surfaces internes d'un isolateur est un procédé validé utilisé pour rendre l'environnement interne (atmosphère et surfaces exposées) exempt de micro-organisme viable (ou revivifiable); la finalité étant d'assurer la stérilité des surfaces de travail dans l'isolateur afin d'éviter toute contamination des préparations. On parle donc de « **biodécontamination** des isolateurs ». (Cf figure 15)

Souvent appelée Stérilisation, la biodécontamination est l'élimination de toute activité microbienne par un agent chimique, à l'intérieur de l'isolateur. Elle correspond à une désinfection de surface, à laquelle ne s'applique pas les exigences et caractéristiques d'une stérilisation d'un dispositif médical ou d'un médicament (Pharmacopée européenne 6^{ème} édition).

Ainsi, avant de lancer un cycle de biodécontamination, l'isolateur est nettoyé. Le but de ce nettoyage est de réduire au minimum la charge microbienne.

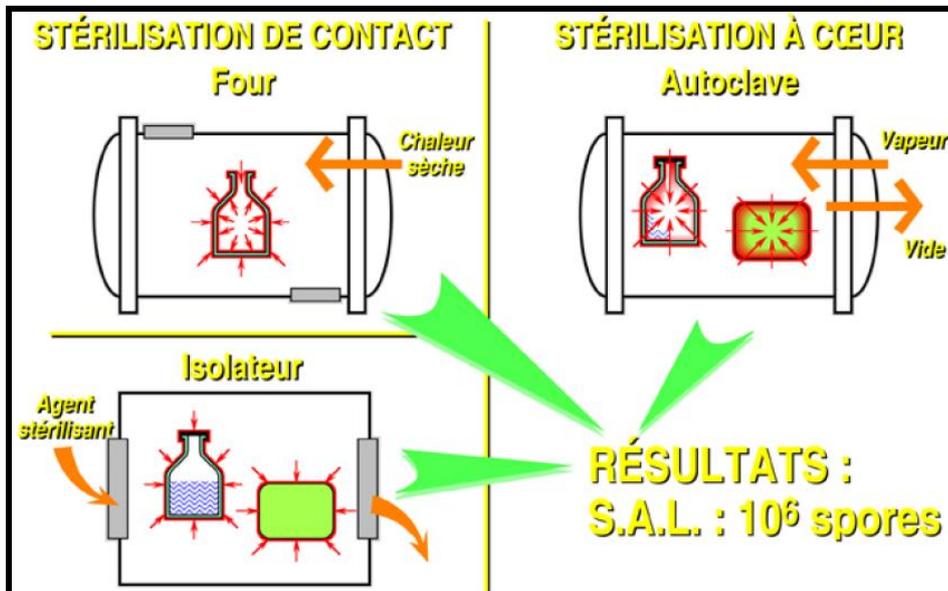


Figure 16 : Comparaison des méthodes de stérilisation dans un autoclave, un four et un isolateur.

SAL : Sterility Assurance Level (Niveau d'Assurance de Stérilité)

6.3.1.2. Historique³¹

La décontamination par voie chimique est une pratique de longue date, bien antérieure à la découverte des micro-organismes à la fin du XIX^{ème} siècle. Ainsi, au VIII^{ème} siècle avant Jésus-Christ, Homère évoque déjà dans l'Odyssée l'emploi de vapeurs sulfureuses pour purifier un air vicié par des exhalations provenant de cadavres...

La problématique prendra tout son sens avec les épidémies de peste qui sévissent en Europe, en particulier du XVI^{ème} au XVIII^{ème} siècle.

Des pratiques abandonnées ensuite au profit de la fumigation d'acide muriatique (ancêtre étymologique de l'acide chlorhydrique), évoquée notamment par Joseph Franck en 1837...trente ans avant qu'Hofmann identifie le formaldéhyde, qui fera alors son entrée comme désinfectant en milieu hospitalier et dans bon nombre d'industries. Longtemps considéré comme le « gold standard » pour la décontamination par voie aérienne, la fumigation de formaldéhyde est aujourd'hui abandonnée.

6.3.1.3. Principe de fonctionnement des équipements de stérilisation de surface

En général, la stérilisation des surfaces internes d'un isolateur est effectuée en utilisant un agent stérilisant en phase « vapeur » à basse température, après chauffage (afin d'obtenir une diffusion optimale). Il existe 3 techniques d'émission de l'agent stérilisant (Cf. figure 16) :

- ✚ Par **Evaporation** : vaporisation de l'agent stérilisant
 - Soit en «Circuit ouvert» : diffusion à l'aide de l'air comprimé
 - Soit en «Circuit fermé» : diffusion par un ventilateur et recirculation

- ✚ Par **Nébulisation** : dans ce cas, le stérilisateur maîtrise la quantité de l'agent stérilisant émise et la durée du temps de contact. L'agent stérilisant est raccordé à une buse fixée sur la paroi de l'isolateur. La stérilisation est alors effectuée par nébulisation sous pression de l'agent stérilisant, sans passer par les filtres HEPA de l'isolateur.

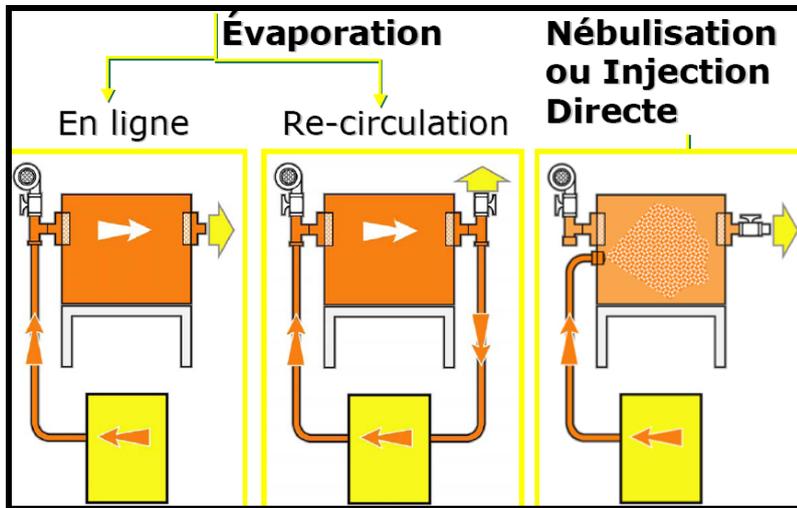


Figure 17 : Techniques d'émission de l'agent stérilisant

6.3.1.4. Les agents stérilisants

Définition : entité physique ou chimique ou combinaison d'entités ayant une activité microbicide suffisante pour obtenir la stérilité dans des conditions définies.

Il faut suivre les indications des fabricants pour le couple Produit – Stérilisateur. De nos jours, deux types de produits sont couramment utilisés :

- ✚ **Acide péracétique CH_3COOH (APA)** : avec une concentration de 3,5% pouvant être utilisé avec les 3 techniques.
- ✚ **H_2O_2** : Solutions de peroxyde d'hydrogène (de 31 à 35%), utilisé en boucle fermé ou par nébulisation.

Tout microorganisme déposé sur les surfaces intérieures de l'isolateur est inactivé par ces agents mais avec une efficacité qui va dépendre de la concentration, du temps d'exposition, des conditions ambiantes dans l'isolateur et du type de microorganisme. Le microorganisme le plus résistant est donc utilisé pour déterminer les paramètres du cycle.

6.3.1.5. Les indicateurs biologiques (I.B)

Le cycle de biodécontamination est testé par l'utilisation d'I.Bensemencés en quantité connue, sur des supports inertes déposés à l'intérieur de l'isolateur. Ces indicateurs sont les microorganismes les plus résistants à l'agent stérilisant utilisé. Suite à leur exposition à cet agent, les coupons sont placés dans un milieu de culture et mis en incubation. S'il n'y a pas de reproduction de micro-organismes, le cycle est correct.

Les pharmacopées Européenne (5.1.2) et Américaine (<55>, <1035>, <1208>) donnent des recommandations en ce qui concerne l'utilisation des indicateurs biologiques.

a) Caractéristiques :

Un I.B est caractérisé par les éléments suivants :

- Numéro de lot
- Nom de la souche et Numéro ATCC ou équivalent
- Population et qualité de la suspension mère
- Dénombrement des germes (identité ou pureté) par lot fabricant
- Type de support
- Nombre de spores viables par support
- Conditions de stockage et de transport
- Valeur D par lot fabricant avec précision des conditions opératoires.

b) Types de supports :

Le support doit être inerte par rapport à l'agent stérilisant et sa méthode de mise en œuvre. Sur le marché, il est possible de trouver des supports (Cf. *tableau 9*):

- Papier
- Inox
- Plastique (PVC, Hypalon®)
- Verre

Type de support	Compatibilité avec	
	H2O2	APA
PAPIER	-	+
VERRE	+	+
INOX	+	+
TYVEK®	+	+

Tableau 10 : Compatibilité physico-chimique du support avec l'agent stérilisant

- : Incompatibilité entre l'agent stérilisant et le matériau

+ : Compatibilité entre l'agent stérilisant et le matériau

6.3.2. Les isolateurs de la ligne de répartition du CRDPF

Dans la zone de production des solutions injectables du CRDPF, on distingue :

- ✚ Les isolateurs ayant subi un transfert d'établissement pharmaceutique :
 - ❖ 2 isolateurs utilisés en formulation
 - ❖ 1 isolateur de pesée des PA hautement sensibilisants, hormones et cytotoxiques
 - ❖ 1 isolateur de mise en solution pour la préparation de la solution vrac
- ✚ Les nouveaux isolateurs acquis :
 - ❖ 3 isolateurs de la ligne de répartition

❖ 1 isolateur de décontamination des produits finis et du matériel de fabrication

Ces isolateurs servent à la fabrication de médicaments injectables de tout type de principe actif, y compris les cytotoxiques. Il est donc essentiel de protéger l'opérateur et l'environnement, du produit, et le produit du milieu extérieur. La répartition de la solution injectable doit se réaliser au cœur d'une enceinte stérile, ne comportant quasiment aucune particule et il faut être très vigilant aux contaminations croisées (mauvaise décontamination du matériel, des équipements ou des isolateurs contenant du produit cytotoxique, filtration de l'air incorrecte, renouvellement de l'air trop faible...) d'autant plus que comme nous sommes en développement, les molécules manipulées sont rarement les mêmes.

La ligne de répartition (Cf. *figure 17*) est constituée de trois isolateurs assemblés les uns aux autres. Chaque isolateur peut être associé à un poste de travail. La ligne de production de médicaments injectables au sein de l'unité R&D de Pierre Fabre est de petite échelle (3000 flacons d'une taille de 2 à 10mL), et son rythme de production n'est pas celui d'une usine de production. Les contraintes de productivité sont donc différentes.

On distingue donc :

- **Isolateur (souple) Déchargement Four avec un sas,**
- **Isolateur (rigide) Remplissage utilisé pour les opérations de remplissage et bouchage**
- **Isolateur (rigide) Sertissage**

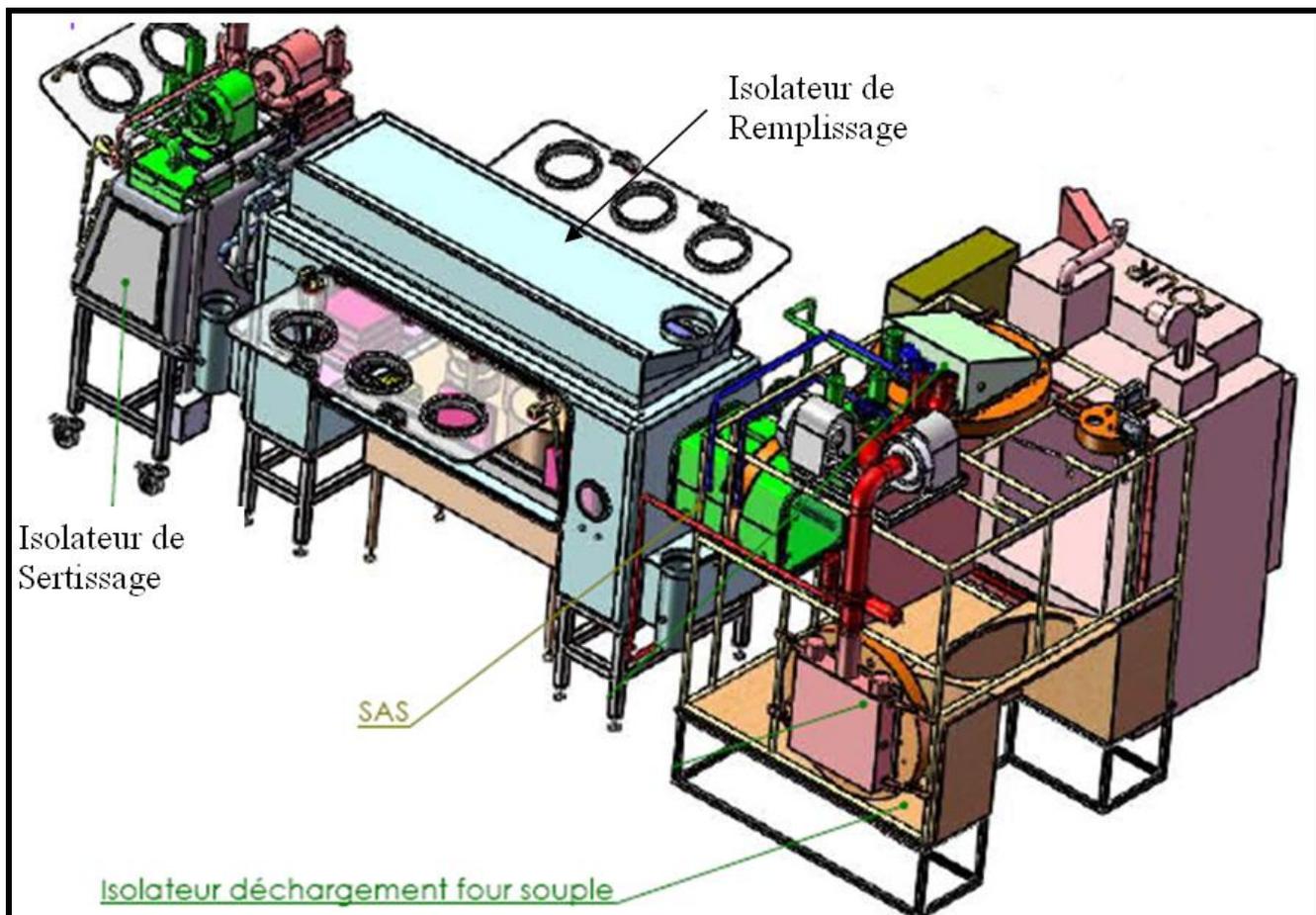


Figure 18 : Vue d'ensemble des Isolateurs de la ligne de répartition (et du Four)

6.3.2.1. *Isolateur Déchargement Four (IDF)*

C'est un isolateur souple en PVC et utilisé pour le transfert des matériels stérilisés depuis le four de dépyrogénéation vers l'isolateur de remplissage et sert également de zone de stockage temporaire pour ces matériels avant transfert. L'entrée des flacons se fait par le four attelé en interface sur cet isolateur, à droite de l'hémi-scapandre. L'entrée du matériel se fait via l'isolateur de remplissage. L'isolateur possède un sas disposé face à l'hémi-scapandre en interface avec l'isolateur de remplissage. Ce sas permet le transfert depuis l'isolateur de déchargement four vers l'isolateur de remplissage sans contact avec l'air ambiant du local. Ce sas est équipé de 2 portes à joint gonflable. Ces 2 portes fonctionnent avec interlockage afin de préserver le confinement des 2 isolateurs.

L'isolateur et le sas possèdent un système de traitement d'air (tout air neuf) permettant de garantir dans l'isolateur une atmosphère en surpression de classe A (selon l'annexe 1 des BPF Européenne) et avec un taux de renouvellement d'air minimum de 60 volumes/heure.

6.3.2.2. *Isolateur Remplissage (IR)*

L'isolateur Remplissage est connecté:

- à l'isolateur de sertissage (par un DPTE 350 S)
- au sas de transfert de l'isolateur de déchargement four

L'isolateur possède un système de traitement d'air indépendant (tout air neuf) permettant de garantir dans l'isolateur une atmosphère en surpression de classe A (selon l'annexe 1 des BPF Européenne) et avec un flux unidirectionnel.

Les caractéristiques de cet isolateur sont :

- ❖ Isolateur en inox avec vitres en verre pour les 2 hayons
- ❖ 2*4 gants / manchettes
- ❖ Flux unidirectionnel sur toute la surface
- ❖ Pression positive (60 Pa)
- ❖ Filtres de soufflage et de reprise

6.3.2.3. *Isolateur Sertissage (IS)*

Cet isolateur est utilisé pour les opérations de sertissage. Il est mobile et peut être utilisé pour le transfert des flacons ou du matériel contaminé vers l'isolateur de décontamination.

L'isolateur est connecté par un DPTE 350 S :

- Dans sa configuration fixe : à l'isolateur de remplissage
- Dans sa configuration mobile : à l'isolateur de décontamination (rigide).

L'isolateur possède un système de traitement d'air indépendant (tout air neuf) permettant de garantir dans l'isolateur une atmosphère en surpression de classe A (selon l'annexe 1 des BPF Européenne) et avec un taux de renouvellement d'air minimum de 60 volumes/heure.

6.3.3. Validation de la biodécontamination des isolateurs de la ligne de répartition

La Qualification de Performance (QP) de la ligne de répartition de cette zone est réalisée sur sa charge maximale. La qualification de performance a pour but :

- de démontrer que **le cycle de biodécontamination par vaporisation de l'agent stérilisant dans l'isolateur assure la biodécontamination** des surfaces internes de l'isolateur et du matériel qu'il contient.
- de démontrer **qu'après biodécontamination de l'isolateur, il ne reste plus, après rinçage, d'agent stérilisant dans l'isolateur.**

Chaque test sera réalisé (efficacité du cycle de biodécontamination et efficacité du cycle de rinçage) :

- trois fois en qualification initiale ou lors d'un changement important (exemple : modification de la charge ou modification de l'installation).
- une seule fois en qualification périodique annuelle (tous les 12 mois \pm 1 mois).

Les cycles de validations appliqués sont basés sur le développement des cycles effectués par le fournisseur (BIOQUELL) du générateur de H₂O₂. Par ailleurs, le principe de validation en conditions « worst case » est considéré dans cette qualification, puisque des conditions plus

favorables seront appliquées en routine (augmentation de temps de contact et de temps de rinçage).

L'agent stérilisant utilisé dans notre cas est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ces isolateurs ainsi que le sas associé sont biodécontaminables avec du peroxyde d'hydrogène à l'aide d'un générateur de H₂O₂ mobile (fournisseur BIOQUELL – Modèle Clarus L).

6.3.3.1. Principe

a) VALIDATION DE L'EFFICACITE DU CYCLE DE BIODECONATAMINATION

L'objet de ce test est de vérifier que le cycle de biodécontamination par vaporisation de peroxyde d'hydrogène dans l'isolateur assure la biodécontamination des surfaces internes de l'isolateur et du matériel qu'il contient ainsi que l'extérieur des emballages de petit matériel stérile qu'il contient.

Pour cela, des indicateurs biologiques de *Geobacillus stearothermophilus*, germes résistants à de hautes températures et de titres connus, sont répartis volontairement sur coupons inox dans l'isolateur et sur les charges à stériliser et aux emplacements considérés comme les moins accessibles à l'agent de stérilisations. Après biodécontamination les indicateurs sont placés dans des conditions de culture permettant de mettre en évidence une revivification. Ainsi, la destruction de ces indicateurs démontrera donc l'efficacité de la biodécontamination.

b) VALIDATION DE L'EFFICACITE DU CYCLE DE RINÇAGE

L'objet de ce test est de vérifier qu'après le cycle de biodécontamination par l'agent stérilisant, la quantité résiduelle d'agent stérilisant dans l'isolateur, après rinçage, est inférieure à la norme fixée, à l'aide du système portatif (PortaSens) qui est un détecteur de gaz permettant de vérifier la présence de traces de cet agent dans l'isolateur.

La mesure se fait au niveau du point de piquage prévu à cet effet.

En qualification initiale on vérifie la quantité résiduelle en agent stérilisant à T₀ (à la fin du temps de rinçage programmé et lorsque la concentration en H₂O₂ affichée au niveau de la sonde du générateur est inférieure à 10 ppm), puis toutes les 10 minutes (jusqu'à ce que le résultat soit conforme).

En qualification périodique on vérifie la quantité résiduelle en agent stérilisant à la fin du temps de rinçage qualifié en qualification initiale.

Critères d'acceptation:

➤ **Aucune revivification ne doit être constatée** : La qualification du cycle de biodécontamination d'un isolateur est conforme lorsque tous les tubes de TSB (*Tryptic Soy Broth* ou *Bouillon Trypticase Soja*) ayant reçu un indicateur biologique ayant subi le cycle ne présentent pas de développement microbien, après 7 jours d'incubation à 50°C-60°C.

➤ La quantité résiduelle d'agent stérilisant dans l'isolateur après rinçage, est **inférieure au seuil fixé (1ppm)**.

6.3.3.2. *Matériels nécessaires*

- Générateur (VHP) marque BIOQUELL, modèle Clarus L
- Agent stérilisant Peroxyde d'hydrogène 30% (H₂O₂)
- Indicateurs biologiques (coupons inox contenant 106 spores de ***Geobacillus stearothermophilus*** (ref. Apex HMV-091 pour peroxyde d'hydrogène phase gazeuse).
- Tubes de milieu de culture Trypticase-soja stériles
- Etuve 50°C-60°C pour incubation des tubes de milieu de culture
- Détecteur portable PortaSens II pour mesure de la quantité résiduelle de H₂O₂

6.3.3.3. *Générateur (VHP) BIOQUELL: MODELE CLARUS L*



Figure 19 : Générateur de peroxyde d'hydrogène

Les branchements de ce générateur est similaire pour les différents isolateurs à biodécontaminer. Ainsi, on relie à l'isolateur :

- ✚ Une sonde de H₂O₂ : elle donne la valeur de la concentration en H₂O₂ dans l'isolateur (exprimée en ppm). Elle est calibrée de 0 – 100 ppm. En fin de cycle, la concentration de H₂O₂ est mesurée avec le PortaSens qui est calibrée pour de faibles concentrations (0 – 20 ppm).
- ✚ Un capteur de pression
- ✚ Deux conduits : Gazage (rouge) + Reprise (Bleu)
- ✚ Deux câbles de communication avec l'automate de l'isolateur)

Il existe quatre cycles programmés dans le générateur : Sertissage, Remplissage, Déchargement Four et Aération d'urgence.

Le peroxyde d'hydrogène, au contact d'une plaque chauffante, est vaporisé à 130°C et arrive dans l'isolateur à 55°C où il condense au contact des parois.

6.3.3.4. *Méthodologie des tests*

6.3.3.4.1. *Préparation des isolateurs avant la biodécontamination*

Le matériel (nécessaire lors de la répartition) préalablement stérilisé et soigneusement emballé dans les poches simples ou doubles poches est introduit dans l'isolateur. L'emballage est biodécontaminé en même temps que l'isolateur afin de conserver un environnement stérile tout au long des opérations de répartition.

Une fois la charge introduite, la ventilation de l'isolateur est mise en route pendant au moins une heure pour éliminer une éventuelle contamination particulière.

6.3.3.4.2. *Etapes du cycle de biodécontamination*

Cf. figure 19

- **Prétraitement (*uniquement pour l'isolateur Remplissage*)**: la ventilation de l'isolateur est mis en fonctionnement avec la bande de refroidissement (batterie froide + pompe) à l'arrêt afin d'éviter un point froid en tout point du système aéraulique.
- **Test d'étanchéité** : le volume de l'isolateur est mis en surpression via le générateur afin de garantir l'étanchéité avant le départ du traitement. La vérification est effectuée par la mesure de la chute de pression.
- **Conditionnement**: la ventilation de l'isolateur est arrêtée. C'est une phase d'homogénéisation de la température de l'air via le générateur.
- **Vaporisation et contact**: La phase de vaporisation d' H₂O₂ est amorcée (via la buse) jusqu'à la fin de la vaporisation du volume d' H₂O₂ programmé. Un temps de contact (programmable) est ensuite maintenu pendant la durée nécessaire pour inactiver tout micro-organisme. Durant cette dernière phase, il y a recirculation de l'air dans l'isolateur à vitesse réduite via les filtres.
- **Aération ou rinçage** : L'aération de l'isolateur est mise en route en tout air neuf pour atteindre la valeur limite d'exposition de 1 ppm de H₂O₂ dans l'isolateur. Elle permet d'éliminer l'H₂O₂ présent dans l'isolateur ; pendant cette phase H₂O₂ se décompose en H₂O et O₂ qui sont non toxiques.

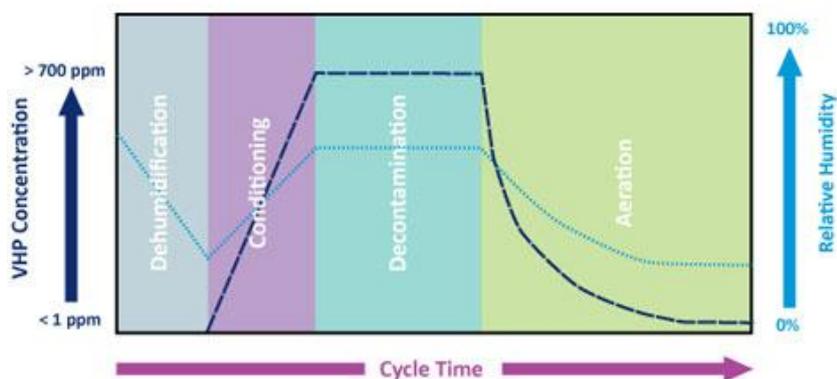


Figure 20 : Cycle de biodécontamination idéal

6.3.3.5. Exemples de Résultats

6.3.3.5.1.1. Paramètres validés de biodécontamination

Paramètres	Isolateur Déchargement Four	Isolateur Remplissage	Isolateur Sertissage
Prétraitement	N/A	30 min	N/A
Temps conditionnement	30 min	10 min	30 min
Temps de contact	30 min.	30 min	30 min.
Temps aération	70 min.	120 min	60 min.
Volume H ₂ O ₂	65 ml	125 ml	50 ml ^{Note}

6.3.3.5.2. Résultats de validation de l'efficacité du cycle de biodécontamination et de l'efficacité du cycle de rinçage

3 cycles de biodécontamination consécutifs ont été réalisés pour chaque isolateur.

Exemples de résultats de deux isolateurs :

- Isolateur Sertissage:

Pour les essais microbiologiques, **13 coupons - indicateurs biologiques** (*Geobacillus stearothermophilus* de titre théorique de $2,5 \times 10^6$) ont été placés dans la charge de l'isolateur et ont été incubés par la suite à 50°C-60°C pendant 7 jours après chaque essai de biodécontamination.

	Consignes paramètres	Essai N°1	Essai N° 2	Essai N° 3
Essais Microbiologiques : 13 coupons d'IB	Absence de trouble	Absence de trouble	Absence de trouble	Absence de trouble
Quantité H2O2	50 ML	45.6 ML	45.8 ML	50.9 ML
Conditionnement	30 min.	30 min. 08s	30 min. 07s	30 min. 07s
Vaporisation	N / A	12 min. 31s	11 min. 57s	12 min. 25s
Contact	30 min.	30 min. 08s	30 min. 06s	30 min. 07s
aération	60 min.	59 min. 59s	60 min. 00s	60 min. 00s
Efficacité biodécontamination	Durée des phases en adéquation avec paramètres	Conforme	Conforme	Conforme

Les paramètres sont donc conformes aux attentes et permettent de procéder à une biodécontamination efficace de la charge et des surfaces internes de l'isolateur Sertissage.

- Isolateur Déchargement Four

Pour les essais microbiologiques, **21 coupons - indicateurs biologiques** (*Geobacillus stearothermophilus* de titre théorique de $2,5 \times 10^6$) ont été placés dans la charge de l'isolateur et ont été incubés par la suite à 50°C-60°C pendant 7 jours après chaque essai de biodécontamination.

	Consignes	Essai N°1	Essai N° 2	Essai N° 3
Essais Microbiologiques : 21 coupons d'IB	Absence de trouble	Absence de trouble	Absence de trouble	Absence de trouble
Quantité H2O2	65 ML	62.6 ML	62.2 ML	60.8 ML
Conditionnement	30 min.	30 min. 08s	30 min. 08s	30 min. 08s
Vaporisation	N / A	16 min. 37s	16 min. 08s	15 min. 55s
Contact	30 min.	30 min. 07s	30 min. 07s	30 min. 07s
aération	70 min.	69 min. 59s	69 min. 59s	70 min. 00s
Efficacité biodécontamination	Durée des phases en adéquation avec paramètres	Conforme	Conforme	Conforme

Les paramètres sont donc conformes aux attentes et permettent de procéder à une biodécontamination efficace de la charge et des surfaces internes de l'isolateur de déchargement four.

6.3.4. Contrôle de l'environnement bactériologique suite à la biodécontamination

En complément de la validation de la biodécontamination lors de la Qualification de Performance, des tests sont réalisés à la fin du cycle de biodécontamination des isolateurs, juste après le rinçage mais également en cours de production. Les contrôles à réaliser sont :

- **Prélèvements d'air** : aspiration et filtration d'une quantité d'air dans l'enceinte puis incubation du filtre sur un milieu de culture. Ce sont des prélèvements par sédimentation des particules et des germes sur des boîtes de pétrie.
- **Prélèvements des surfaces par écouvillonnage**
- **Prélèvements des gants (empreintes)**

6.3.5. Conclusion

Il existe d'autres essais à faire lors de la qualification de ces équipements tels que le test d'intégrité des filtres, les prélèvements microbiologiques de l'air et des surfaces, le comptage particulaire....

La qualification des équipements et la validation des processus associés (nettoyage, stérilisation...) sont des pré-requis nécessaires à la validation d'un processus de fabrication aseptique, mais afin de valider un procédé de remplissage aseptique, il faut également :

- ✚ Du personnel qualifié
- ✚ Un environnement contrôlé
- ✚ De la documentation appropriée (Procédures, protocoles et rapports de qualification, dossiers de lot, analyses de risques...)
- ✚ Des Test de Remplissage Aseptique (TRA) ou Media Fill Test (MFT) : simulation périodique.

La maîtrise des contaminations passe donc non seulement par une maîtrise de la conception des locaux et des équipements mais également par la formation et la maîtrise des procédés (Nettoyage, transfert aseptique, stérilisation). Ainsi, La validation du procédé de fabrication aseptique se fait par simulation à l'aide d'un milieu de culture.

Cette simulation est spécifiée dans la nouvelle version du guide des BPF selon des exigences de nombre d'essais, de critères requis selon les tailles de lots et périodicité, ce qui n'était pas le cas dans la version 2007.

Les critères d'acceptation des MFT est désormais dépendant de la taille des lots répartis :

- ✚ **Si moins de 5000 unités** : 0 unité non conforme accepté

- ✚ **Compris entre 5000 et 10000 unités** : 1 unité non conforme entraine une enquête mais permet la possibilité de répéter le test et 2 unités non conformes font refuser le test donc une revalidation après enquête.

- ✚ **Au-delà de 10000 unités** : 1 unité non conforme entraine une enquête et 2 unités non conformes font refuser le test donc une revalidation après enquête.

PARTIE 3 : ASSURANCE DE STERILITE ET GESTION DES RISQUES

Le risque zéro n'existant pas et afin de pouvoir maîtriser tout le procédé, il est nécessaire de valider toute la chaîne de fabrication. D'où l'importance des Test de Remplissage Aseptique et des Analyses de Risques.

Le test de répartition aseptique permet d'évaluer un processus aseptique utilisant des méthodes le plus proches possible de celles de la fabrication stérile des produits qui se fait en routine.

7. TEST DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE (TRA) OU MEDIA FILL TEST (MFT)

La notion de qualité en industrie pharmaceutique impose au pharmacien d'améliorer sans cesse la sécurité liée à la fabrication et au circuit du médicament. Cette sécurité est particulièrement critique lors de processus comme la production aseptique où une erreur d'asepsie peut avoir des conséquences désastreuses. Il est important, dans une optique d'assurance de stérilité, d'essayer de s'assurer des points les plus critiques de la production aseptique, en particulier les opérateurs et leurs manipulations.

Les tests de simulation de remplissage appelés media fill consistent à simuler les opérations de fabrication en remplaçant le produit à fabriquer par du milieu de culture afin de mettre en évidence le risque potentiel de produire des unités non stériles. Ils sont utilisés afin de rendre compte des éventuelles contaminations issues des manipulations des opérateurs. La validation par media fill est de 2 ordres: **validation initiale et validation périodique.**

La validation initiale s'effectue en vue de valider un nouvel opérateur, un opérateur qui n'a pas produit depuis au moins 12 mois, un nouvel équipement, un changement majeur, ou pour revalider un procédé dont on a perdu la maîtrise. La validation périodique est faite 2 fois par an.

7.1. OBJECTIF ET BUT

Il a double objectif :

- ✚ Validation d'un procédé de fabrication aseptique
- ✚ Qualification du personnel de fabrication

Ce test est incontournable dans les deux cas mais non suffisant.

Le but de ce test est de réaliser un remplissage aseptique afin de qualifier un procédé de remplissage depuis la dernière filtration stérilisante jusqu'au capsulage en reproduisant le plus fidèlement possible le processus afin de valider :

- le personnel,
- les équipements,
- l'environnement,
- les méthodes

7.2. PRINCIPE

Les TRA (ou MFT) consistent à simuler différentes phases d'un procédé en substituant le(s) produit(s) à répartir par du milieu de culture. Le risque potentiel de produire des unités non stériles est ainsi mis en évidence. Lorsque ce risque n'apparaît pas ou est en dessous d'un certain niveau d'occurrence, ces tests permettent de valider le procédé de fabrication aseptique.

Au CRDPF (Centre de Recherche et Développement Pierre Fabre), le procédé à valider est un procédé de répartition aseptique multiproduits et multiformats prévoyant la fabrication de lots de petite taille (Taille de lots inférieur à 5000 unités) en continu sur plusieurs jours dans des isolateurs de manipulation. Les tests de remplissage aseptique tiennent compte de ces caractéristiques et de certaines conditions de fabrication représentant le potentiel de contamination le plus élevé pour le(s) produit(s). Les critères de validation seront atteints si, après incubation dans les conditions favorables, aucune des unités obtenues après 3 tests de remplissage consécutifs ne présentent des signes de croissance microbienne.

Pour une validation initiale trois MFT conformes devront être réalisés consécutivement pour un procédé, ensuite si les 3 MFT sont conformes : 2 MFT par an devront être réalisés.

7.3. CONDITIONS DE REMPLISSAGE³²

Le volume de remplissage devra être de telle sorte qu'il soit lisible, généralement la moitié du volume nominal et pas plus des $\frac{3}{4}$ du volume. De plus le liquide doit pourvoir mouillé l'ensemble des surfaces internes du flacon lors de l'incubation. Certaines interventions techniques ou activités normales liées au procédé doivent se dérouler lors de la validation du procédé de remplissage aseptique et faire partie du dossier de lot. Ces interventions feront l'objet d'une revue régulière par l'AQ et transmise à la production pour validation lors des MFTs. Des interventions pourront être réalisées en vue d'être validées telles que fabrication préparée la veille, temps de stockage, panne de courant, changement de gants sans rupture de confinement.

Généralement, les conditions d'incubation sont de 7 jours à 20-25°C, suivi de 7 jours à 30-35°C avec inversion des flacons après 7 jours et lecture intermédiaire facultative.

7.4. TYPE DE MILIEU DE CULTURE³³

TSB irradié ou stérilisé mais fertile (propriétés nutritives vérifiées sur des flacons stériles conformes issus du MFT). La réalisation d'un MFT avec un milieu de culture Thioglycolate n'a pas de sens car généralement les systèmes ne sont pas strictement anaérobiques, elle est intéressante par contre dans la recherche de sporulés.

Le milieu de référence pour les media fill est le milieu à l'hydrolysate de caséine et de soja, certifié pour sa fertilité pour un large spectre de microorganismes, tant bactériens que fongiques.

7.5. LIMITES DU MFT³⁴

La contamination d'un MFT est une « bonne occasion de se remettre en question ». Pourtant, un MFT conforme invite beaucoup moins à la remise en cause des pratiques aseptiques. Le test de remplissage aseptique permet de valider le procédé normal de production dans des conditions « worst-case ».

Le MFT permet une photographie à l'instant « t » et c'est probablement l'une de ses premières limites. Il ne témoigne pas de ce qui s'est passé la veille et ne prédit pas ce qui se passera le lendemain.

Le programme de simulation aseptique complète un programme de contrôle environnemental régulier. MFT et contrôles d'environnements partagent des limites communes : manque de sensibilité des milieux de culture. En effet, certaines bactéries ont la possibilité de rentrer dans un état dit « viable mais non cultivable ».

Malgré les formations, les entraînements et les évaluations le risque de faux négatif ou de faux positif subsiste. La lecture est une activité manuelle, répétitive, parfois subjective même pour un personnel bien formé.

Au vu de tout cela, on peut dire que les limites des MFT sont les limites de bon nombre de techniques microbiologiques.

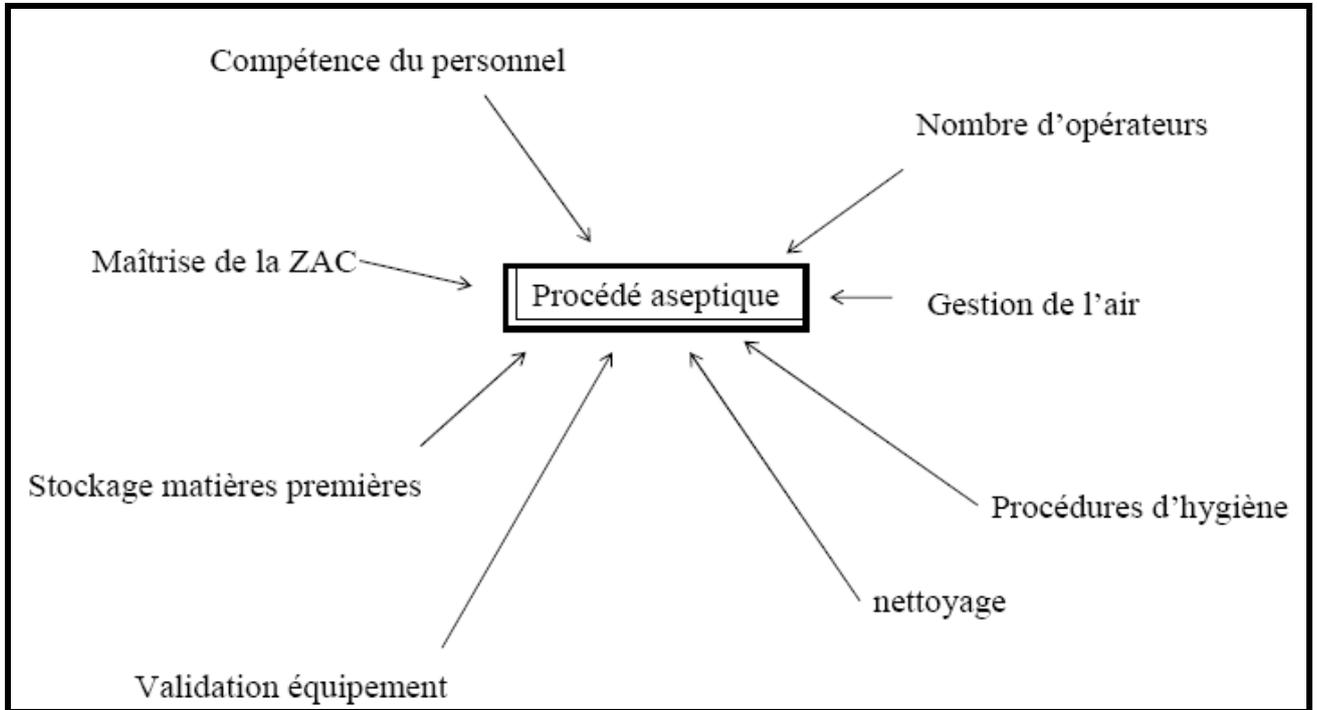
La microbiologie est une science quantique. Le MFT ne voit que ce qu'il est techniquement et microbiologiquement capable de voir. En tant que « Media », il sert de révélateur.

7.6. CONCLUSION

En conclusion, il ne faut pas considérer les MFT comme la panacée de la validation aseptique mais comme l'élément de clôture de la validation du procédé³⁵. La validation d'un procédé de remplissage aseptique qu'il soit conventionnel ou sous isoteur exige les mêmes contraintes.

Il est important, dans le contexte d'une production répondant aux BPF, de pouvoir valider les opérateurs travaillant dans le domaine de l'aseptique. Ces exercices permettent en outre de sensibiliser ces derniers à l'importance de leurs manipulations et au risque de contamination. Le principal inconvénient de cette méthode est le manque de sensibilité, car elle ne met en évidence

que la stérilité d'une seule série de préparation. Pour cette raison, la validation des opérateurs seule ne permet pas de s'assurer de la qualité des préparations, mais elle doit s'accompagner d'autres mesures d'assurance-qualité de la production, tels que le contrôle de l'environnement des zones à atmosphère contrôlée (salles blanches), ainsi que celui des opérateurs et des validations des procédés de stérilisation.



8. ANALYSES DE RISQUES BASEE SELON UNE METHODE AMDEC

L'objectif d'une analyse de risques est :

- ❖ D'identifier les risques susceptibles de compromettre l'obtention de la qualité du produit, de nuire à la satisfaction des clients,
- ❖ D'analyser, évaluer et quantifier si possible les risques en terme de probabilité d'occurrence et de gravité des conséquences,
- ❖ Mettre en place, des actions correctives ou préventives.

L'analyse de risques est fortement recommandée sur les activités suivantes :

- Conception des locaux ou des équipements
- Validation et Qualification
- Transfert
- Evaluation des fournisseurs
- Maitrise du changement
- Introduction d'un nouveau produit et/ou d'un nouveau processus

8.1. QUELQUES DEFINITIONS

Dommmage : blessure physique et/ou atteinte à la santé ou dégâts causés aux choses.

Danger : source potentielle de dommage

Risque: fréquence probable d'un danger causant un dommage et un degré de gravité du dommage

Analyse de risques: examen de l'information disponible pour identifier les dangers et pour estimer les risques. C'est également la quantification du risque.

Acceptation du risque : Décision d'accepter un risque

Appréciation du risque : il consiste en l'évaluation des dangers et à l'analyse et l'évaluation des risques associés à l'exposition à ces dangers.

Evaluation des risques : elle permet de comparer le risque identifié et analysé à des critères de risque donnés. Le résultat d'une évaluation des risques est soit une estimation quantitative du risque, soit une **description** qualitative d'une étendue du risque potentiel. Lorsque le risque est exprimé de façon quantitative, une cotation est employée.

Gestion des risques : application des processus systématiques conçus pour coordonner, faciliter et améliorer le processus décisionnel fondé sur les connaissances scientifiques, en lien avec le risque.

Identification du risque : utilisation systématique d'informations pour identifier les dangers afférents à la question liée au risque ou à la description du problème

Maîtrise du risque : prise de décision visant à diminuer et/ou accepter des risques. L'objectif de la maîtrise du risque est de ramener le risque à un niveau acceptable.

Réduction du risque : Actions prises pour diminuer la probabilité d'occurrence du dommage et la sévérité de ce dommage.

Revue du risque : Contrôle ou revue des résultats/données du processus de gestion des risques.

8.2. MANAGEMENT DU RISQUE QUALITE³⁶

8.2.1. Contexte réglementaire

L'industrie pharmaceutique est une industrie de procédé, utilisant des équipements et des technologies performants mais sensibles. Par ailleurs, l'industrie du médicament requiert un haut niveau de qualité du produit fini. En effet, son but est de rétablir mais aussi de préserver la santé du patient, il doit donc garantir sa sécurité.

Chaque secteur industriel utilise des outils privilégiés pour mettre en place cette démarche d'étude des risques : l'analyse préliminaire des risques, l'HAZOP (Hazard Operability Analysis), l'AMDEC (Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité) et l'HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) sont les méthodes d'analyses les plus couramment utilisées pour déterminer les risques potentiels d'un équipement, d'un produit ou d'un procédé. Dans l'industrie pharmaceutique, aucune de ces méthodes ne semble spécifiquement privilégiée.

L'ICH Q9 (texte ICH orienté préparations pharmaceutiques à usage humain) cite d'ailleurs chacune de ces méthodes comme de bons outils de « Quality Risk Management » (Gestion du risque Qualité).

La directive ICH Q9 définit les principes et les outils utilisés en management des risques qualité dans l'industrie pharmaceutique pendant l'étape du développement, de la production, de la distribution et de l'inspection.

Les principes du management des risques qualité sont :

- L'évaluation du risque qualité doit être basée sur des données scientifiques et rattachée à la protection du patient.
- Les moyens mis en œuvre pour le management du risque qualité doivent être proportionnels au risque encouru.

Dans ce contexte, l'analyse de risques est un élément incontournable pour garantir la qualité de la fabrication. Ce constat est confirmé par le fait que la FDA compte axer ses futures inspections sur la maîtrise des risques. De même le guide BPF préconise l'analyse de risques comme un outil pour déterminer les paramètres critiques à valider et le guide ICH Q9 présente une méthodologie, des

outils et des champs d'application possibles lors d'un management du risque dans l'industrie pharmaceutique.

8.2.2. Processus du management des risques Qualité :

Le management des risques qualité est un processus qui comporte trois étapes :

- Evaluation du risque
- Maitrise du risque
- Revue du risque

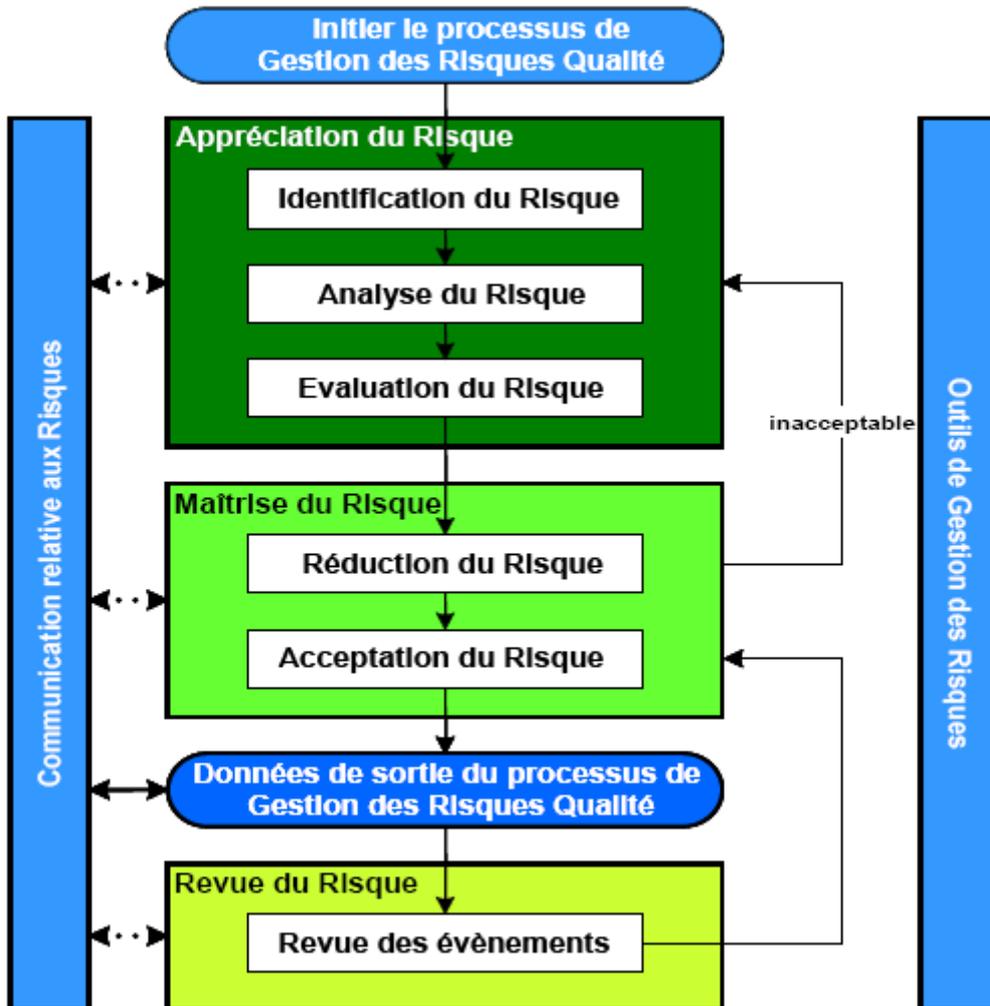


Figure 21 : Schéma d'un processus typique du management des risques qualités

1. Evaluation du risque : Il s'agit d'une :

- Identification du risque → « Qu'est ce qui peut mal se passer ? »
- Analyse du risque → « Est-il probable que ça arrive souvent et si cela arrive peut-on s'en apercevoir ? »

- Evaluation du risque → « Quelles conséquences cela aurait-il ? »

2. **Maîtrise du risque** : L'intérêt est de réduire le risque jusqu'à un niveau acceptable.

- « Le risque est-il à un niveau acceptable ? »
- « Est-il possible de le diminuer ou de le supprimer ? »
- « Que va-t-on y gagner considérant le bénéfice, coût et ressources disponibles ? »
- « Va-t-on introduire de nouveaux risques en traitant les risques identifiés ? »

3. **Revue du risque** :

Les résultats du management des risques qualité sont soumis à une revue permanente pour tenir compte **des éléments de surveillance** (Revue du produit et du procédé, Audit ou inspection, Maîtrise des modifications et amélioration continue,...) **et des éventuelles avancées des connaissances** (Résolution des pannes en trouvant la cause première, rappels, réclamations,...).

Notre étude a pour but de mettre en place une méthode d'analyse de risques applicable à la validation d'un procédé défini. Cette méthode liste les risques en les reliant aux principaux textes et guides réglementaires du domaine pharmaceutique. Une fois la liste des risques établie, il s'agit de calculer leur criticité, puis de déterminer pour chaque composant du système étudié, les actions correctives et préventives à mettre en place. Ceci permettra de garantir la sécurité du patient et d'assurer la conformité vis-à-vis des exigences méthodologiques lors des inspections. La méthode AMDEC est retenue dans notre analyse pour les raisons suivantes :

- ❖ Cette technique est principalement utilisée en tant que technique d'analyse préventive pour détecter les défaillances potentielles, évaluer les risques et susciter des actions de préventions,
- ❖ C'est une méthode qui présente l'avantage de pouvoir être mise en œuvre tout au long du cycle de vie d'un système, d'un produit ou d'un procédé.
- ❖ C'est une méthode largement citée et reconnue dans des contextes industriels variés.

8.3. CONTENU D'UNE DEMARCHE AMDEC³⁷

8.3.1. Généralités

Les principales caractéristiques d'un produit pharmaceutique sont : qualité, identité, pureté. La gestion des risques liés à ces caractéristiques est bien sûr fonction de la forme pharmaceutique

fabriquée et est à déterminer au cas par cas pour chaque procédé. Les risques spécifiques à la fabrication d'injectables cytotoxiques sont essentiellement ceux liés à la stérilité du produit, la contamination de l'environnement et du personnel par le principe actif. L'objectif des analyses de risques (ADR) était d'identifier les modes de dysfonctionnement qui pourraient entraîner d'une part une contamination croisée et d'autre part une contamination microbiologique du produit.

Une adaptation de l'AMDEC a été choisie comme outil pour mener à bien cette analyse de risque.

L'AMDEC est une technique d'analyse exhaustive et rigoureuse de travail en groupe, très efficace par la mise en commun de l'expérience et de la compétence de chaque participant du groupe de travail. L'AMDEC est un travail de prévention avant la mise en place d'un produit ou d'un procédé. C'est un outil de sûreté de fonctionnement. La méthode fait ressortir les actions correctives à mettre en place, le but étant de hiérarchiser les actions d'amélioration sur un processus, produit ou système.

8.3.2. Gestion des risques

Une analyse de risques permet de :

- Avoir une vision globale** de l'ensemble d'un processus
- Remettre en question** le fonctionnement, sans attendre un incident
- D'évaluer la **fiabilité** (du process) et déterminer des **points critiques**
- Définir des **priorités d'action** et estimer l'**impact** de mesures correctives

Les questions qui sont posées dans le cadre d'une AMDEC sont :

Comment tel élément du procédé pourrait-il ne pas remplir sa fonction ?

➔ Recherche et identification des **modes de défaillance** :

La défaillance est caractérisée par :

- Ses modes : manière dont le produit ou le système peut s'arrêter de fonctionner ou fonctionner anormalement.
- Ses causes.

Quels seraient les effets de chaque défaillance ?

➔ Recherche des effets sur le système ou sur les utilisateurs :

Déterminer les dommages les plus importants causés au système ou à l'utilisateur en considérant que la défaillance est réalisée.

Quelles pourraient être les causes de ces défaillances ?

➔ Rechercher et identifier les **causes des défaillances** :

Les (s) événements susceptibles de provoquer un (ou plusieurs) modes de défaillance.

Comment détecter les causes ?

➔ Identifier les **moyens de détections** :

Moyens de détection à la disposition de l'utilisateur afin de détecter une défaillance avant que les effets sur l'utilisateur ne soient réalisés.

L'objectif de la démarche consiste ensuite à mettre en œuvre pour chaque étape du process les actions appropriées, préventives en amont ou correctives en aval, en fonction de la criticité des défaillances possibles ou probables. Dans ce contexte, la méthodologie de l'AMDEC peut être divisée en quatre phases.

Phase 1 : identification et analyse exhaustive des mécanismes de défaillance (cette phase comprend une étape qui décompose le procédé en fonctions et sous-fonctions : s'aider d'outils tels qu'organigramme, plans, procédures, etc., et d'un tableau pour décrire en détail ce procédé avec la vision et l'implication de chaque membre de l'équipe, celle-ci étant composée de personnel provenant de services différents).

Phase 2 :

Evaluation de la criticité de chaque défaillance,

Détermination des défaillances critiques par comparaison au seuil maximal de criticité acceptable défini après l'analyse en toute connaissance de causes.

Phase 3 :

Propositions d'actions préventives ou correctives

Diminution du niveau de criticité des défaillances en agissant sur un ou plusieurs des critères (fréquence, gravité, probabilité de non-détection de la défaillance)

Phase 4 :

Synthèse de l'étude/décisions,

Effectuer un bilan et fournir les éléments permettant de lancer les actions à effectuer en les priorisant.

La méthode AMDEC étudie à la fois les **aspects qualitatifs** des risques (quel risque ?) mais aussi les **aspects quantitatifs** (quelle criticité ?).

L'approche quantitative permet de définir la criticité d'un mode de défaillance : elle représente le risque potentiel encouru par l'utilisateur (ou le procédé ou le résultat du procédé).

Une échelle de criticité doit être mise en place. La criticité de chaque risque est établie sur la base des critères suivants :

➤ **Sévérité « S »** : son estimation répond aux questions :

Quelle est la gravité de l'effet sur la défaillance d'un procédé ?

Incidence sur la poursuite de l'opération ?

Incidence sur le client final qui est le patient ?

- **Probabilité d'apparition (fréquence du risque) « P »** : elle répond à la question : quelle est la probabilité d'apparition de la défaillance associée au risque ?

Elle peut être déterminée à partir des données historiques du procédé ou du produit.

- **Facteurs de non-détection « D » (contrôle du procédé permettant de détecter les conséquences du risque)** : son estimation répond aux questions :

- ✓ La défaillance associée au risque est-elle détectable ?
- ✓ Y a-t-il des contrôles automatiques ou manuels qui permettent de détecter la défaillance ? Quelle est leur efficacité, etc. ?

La criticité d'un risque et les défaillances associées se calcule alors avec l'indice de criticité (IC) suivant :

$$\boxed{IC = S \times P \times D}$$

Ou sous la forme :

$$\boxed{IC = GP \times FP \times ND}$$
 où

GP = Gravité Potentielle

FP = Fréquence Probable

ND = Non Détection

Etablir la criticité permet de hiérarchiser les risques : plus l'indice de criticité est grand, plus le risque lié aux défaillances potentielles est élevé.

8.4. EXEMPLES D'ANALYSES DE RISQUES

8.4.1. Analyse de risques de contamination croisée

La zone de production 4, initialement destinée à la production de produits cytotoxiques, a été élargie à la fabrication de toute solution injectable **quelque soit la nature de l'actif** ou de placebo, y compris les produits hautement sensibilisants et des hormones, et ceci selon différents procédés de fabrication. De ce fait, au cours de cette analyse de risque qui a été réalisée, l'objectif était d'évaluer le risque de contamination croisée qui pourrait exister lors de ces fabrications.

Avant de commencer l'analyse de risques, un tableau chaque étape du procédé de fabrication des formes injectables a été listé ainsi que tout le matériel intervenant dans les différentes étapes du procédé (*cf. annexes 3*).

Sachant que la zone de production des solutions injectables est utilisée quelque soit la nature de l'actif ou de placebo, l'analyse de risques de contamination croisée est réalisée **sur le cas le plus défavorable : placebo versus verum**.

Dans ce cas, seul le matériel réutilisable et en contact direct avec le produit est pris en compte. De même, Le risque de contamination opérateur ou environnement n'est pas pris en compte puisqu'il s'agit uniquement d'une contamination produit dans cette étude.

8.4.1.1. *Définition du risque de contamination croisée*

Pour déterminer le risque, 3 facteurs ont été défini à savoir le RMC, FCM, FP tel que :

$$\text{RISQUE(R)} = \text{RMC} * \text{FCM} * \text{FP}$$

RMC : Facteur de Risque de Maintien de la Contamination.

FCM : Facteur de Fréquence de Contamination du Matériel.

FP : Facteur de Prévention ou de contrôle du risque

Remarque : Dans la méthode classique d'AMDEC il est question de « **Défectabilité** » ; ici elle a été remplacée par la notion de « **Facteur de Prévention** » car le recul n'est pas suffisant pour pouvoir évaluer la détectabilité. En effet l'Analyse de risques est effectuée sur un process prévu et non appliqué à ce jour.

8.4.1.2. *Cotation*

FCM = Facteur de Fréquence de Contamination du Matériel	RMC = Facteur de Risque de Maintien de la Contamination	FP = Facteur de Prévention
<p>1 : Jamais</p> <p>2 : Rarement</p> <p>3 : Parfois</p> <p>4 : Souvent</p> <p>5 : Toujours</p>	<p>1 : La contamination croisée est quasiment impossible</p> <p>2 : Le risque de contamination croisée est faible</p> <p>3 : Le risque de contamination croisée est moyen</p> <p>4 : Le risque de contamination croisée est important</p> <p>5 : Le risque de contamination croisée est très important</p>	<p>1 : Absence de prévention ou prévention non adaptée</p> <p>0,5 : Prévention perfectible</p> <p>0,25 : Moyens de préventions très complets</p>

✚ **Le facteur de Risque de Maintien de la Contamination (RMC)**

Il a été déterminé en fonction des réponses obtenues aux 2 questions suivantes :

- la décontamination effectuée est-elle facile → (non critique) moyennement facile → (critique) ou difficile → (critique) ?
- la surface du matériel en contact direct avec le produit (sous forme liquide ou solide) est-elle importante ou non? Si réponse oui → (critique) si réponse non → (non critique).

✚ **Le facteur de prévention (FP)**

La réalisation ou non des prélèvements sur l'équipement pour rechercher des traces de PA et la manière dont ceux ci sont réalisés ont été pris en compte.

Il a été convenu que la cotation limite en matière de criticité concernant le risque total (R) en terme de contamination croisée était fixé à 7.

Ainsi, si le Risque total (R) calculé est :

- <7 : le risque de contamination croisée est considéré comme mineur. Il n'existe donc pas d'action spécifique à mettre en place.
- ≥ 7 : le risque de contamination croisée est considéré comme critique. Dans ce cas, des actions correctives et préventives sont à mettre en place pour réduire ce risque.

8.4.1.3. *Résultats*

L'analyse de Risques de Contamination Croisée a permis d'identifier certains matériels pouvant entraîner un risque de contamination croisée à savoir :

- **Le barreau d'agitation ou l'hélice marine (R=7.5)**
- **Le contenant : béccher ou conge inox (R=10)**
- **Un raccord tri-clamp à double embout cannelés inox (R=12.5)**
- **Un Récipient Sous Pression (RSP) inox de 10 à 25L (R=12.5)**
- **Les aiguilles de remplissage (R=10)**

8.4.1.4. *Conclusion:*

L'Analyse de Risques de Contamination Croisée révèle des équipements critiques pour la qualité du produit et a permis de déterminer le type de mesures correctives à mettre en place afin de minimiser ce risque de contamination croisée.

Afin de réduire le risque de contamination croisée, **l'utilisation de matériel dédié** ou de **matériel à usage unique a été retenue pour le matériel jugé critique (risque supérieur ou égal à 7)** lors de la fabrication des lots cliniques. Il faut noter que cela n'exclut pas la vérification de décontamination après fabrication pour confirmer l'absence de risques au niveau des opérateurs et de l'environnement.

Ainsi, avec les mesures correctives prévues, en considérant leur mise en place, on peut conclure qu'il est possible de manipuler tout type de principe actif dans des locaux communs pour la fabrication des préparations injectables.

Tableau d'analyse de risques de contamination croisée : exemple d'une étape (**Cf. annexe 4**)

8.4.2. Analyse de risques de contamination microbiologique

L'objectif est de démontrer par une analyse de risques que le procédé aseptique de fabrication de solutions injectables peut être adapté dans de nouveaux locaux et sur des nouveaux équipements acquis.

Cette analyse permet de définir les points critiques et les actions à mettre en œuvre afin de réduire le risque de contamination microbiologique. Cette analyse de risques ne prend en compte ni la contamination particulaire, ni la contamination croisée. Les formes injectables réparties aseptiquement dans cet atelier seront conditionnées uniquement dans des flacons (**Cf. Annexe 2**).

8.4.2.1. Méthodologie

Cette analyse de risques est basée sur une méthode AMDEC qui a été adaptée.

Pour cette analyse, il est important de noter que le **risque considéré est qu'au final, on obtienne au minimum une unité non stérile.**

La méthode est fondée sur un tableau fournissant les différentes étapes du processus ainsi que les évènements susceptibles de se produire et pouvant entraîner une contamination microbiologique. Ces évènements étant fonction de l'existence ou non des dispositifs de surveillance, de contrôle ou des alarmes.

Le risque de contamination microbiologique lié à l'opérateur apparaissant à toutes les étapes du procédé a été regroupé au sein d'une même étape afin de limiter la redondance des informations. Il en est de même pour le nettoyage des locaux, matériels, articles de conditionnement et des équipements. De même, des distinctions ont été faites pour :

- ❖ Le matériel utilisé avant et après filtration,
- ❖ Le matériel en contact direct ou non avec le produit.

Au cours de cette analyse permettant de définir les étapes critiques de ce processus d'un point de vue microbiologique, on considère que les Matières Premières arrivent sans contaminants extérieurs dans les locaux de pesées.

Les paramètres permettant d'établir cette analyse de risques sont :

- ✚ Le mode de défaillance du système,
- ✚ Les moyens de préventions,
- ✚ Les moyens de détections.

Pour cela, plusieurs questions ont été posées afin d'évaluer la criticité de la défaillance à savoir :

- Comment tel élément du procédé pourrait-il ne pas remplir sa mission? (**Mode de défaillance**)
- Quelles seraient les **effets de chaque défaillance**? Ces effets entraînent-ils **une augmentation de la biocharge** ?
- Quelles pourraient être les **causes de ces défaillances**? Existe-il des **moyens de prévention** de ces causes ?
- Comment pourrait-on **détecter ces modes de défaillance**?
- En fonction de la criticité des défaillances possibles, quelles seraient les **actions correctives ou préventives** à mettre en œuvre pour chaque étape du procédé?

8.4.2.2. Définition du risque de contamination microbiologique

3 facteurs **G**, **FP** et **D** ont été défini tels que :

$$\text{INDICE DE CRITICITE (IC)} = \text{G} * \text{FP} * \text{D}$$

G : Estimation de la **Gravité**.

FP : Estimation du **Facteur de Prévention**.

D : Estimation de la **Défectabilité**.

8.4.2.3. Cotation

La cotation retenue est la suivante :

G = Gravité	FP = Facteur de Prévention	D = Défectabilité
10 : Obtention d'une unité non stérile	10 : Les moyens de préventions sont inefficaces et la fréquence est élevée	10 : Il n'existe pas de moyens de détection/contrôle
7 : Augmentation importante de la biocharge ou un risque d'obtenir une unité non stérile	7 : Les moyens de préventions sont inefficaces ou non systématiques et la fréquence est faible	5 : Les Moyens de détection/contrôle sont perfectibles
4 : Faible augmentation de la biocharge ou une contamination peu probable de la solution	4 : Les moyens de préventions sont efficaces et la fréquence est élevée	1 : Les moyens de détection/contrôle sont efficaces
1 : Pas d'augmentation de la biocharge	1 : Les Moyens de préventions sont efficaces et la fréquence est faible	

La **Gravité (G)** a été déterminée en fonction des réponses obtenues aux questions suivantes :

- ✚ Quelle est l'incidence sur la biocharge?
- ✚ Quelle est le risque d'obtenir une unité non stérile?

Etant donné que plusieurs éléments apparaissent à différentes étapes du processus à l'exemple du matériel utilisé, ils ont été regroupés et deux niveaux de gravité G1 et G2 ont été définis tel que :

G1: Estimation de la gravité si le matériel utilisé lors des étapes avant la filtration stérilisante

G2: Estimation de la gravité si le matériel utilisé lors des étapes après la filtration stérilisante.

De même, on peut dire que :

- ✚ Avant filtration stérilisante, le risque considéré est une augmentation de la biocharge
- ✚ Après filtration stérilisante, le risque considéré est l'obtention au minimum d'une unité non stérile.

Concernant le **Facteur de Prévention (FP)**, il a été obtenu en répondant aux questions :

- ✚ Quelle est la probabilité d'apparition de cette défaillance?
- ✚ Existe-il des moyens de préventions permettant de diminuer la récurrence du risque d'apparition de la cause de cette défaillance?
- ✚ Ces moyens de préventions sont-ils efficaces ou suffisants?

Il en est de même pour l'obtention de la **Défectabilité (D)** :

- ✚ La défaillance est-elle détectable?
- ✚ Existe-il des contrôles automatiques ou manuels permettant de détecter la défaillance?
- ✚ Ces moyens de contrôles sont-ils efficaces?

Il a été convenu que la cotation limite en matière de criticité concernant le risque total (R) en terme de contamination microbiologique était fixé à **100 (Cf. Annexe 5)**. Ainsi, si le Risque total (R) calculé est :

- **<100** : le risque de contamination microbiologique est considéré comme mineur. Il n'existe donc pas d'action spécifique à mettre en place.
- **≥100** : le risque de contamination microbiologique est considéré comme critique. Dans ce cas, des actions correctives et préventives sont à mettre en place pour réduire ce risque.

8.4.2.4. Résultats

L'analyse de risques a permis d'identifier les étapes critiques pouvant entraîner un risque de Contamination Microbiologique

- La préparation du matériel et des Articles De Conditionnement (ADC),
- La fabrication de la solution vrac sur la paillasse,

- Le transfert des ADC dans l'isolateur Remplissage,
- La répartition des flacons (Remplissage-Inertage-Bouchage).

Suite à cette analyse de risques, des actions correctives et préventives ont été mises en place permettant ainsi de réduire le risque de contamination microbiologique (Cf. Annexe 6)

8.4.2.5. Conclusion

Une bonne compréhension du procédé aseptique a été nécessaire pour l'identification puis l'évaluation des différents risques.

La détermination des échelles de cotation est une étape importante et doit être la plus précise que possible. La cotation est une opération subjective qui dépend de l'expérience de chacun et de ses connaissances.

L'Analyse de Risques de Contamination Microbiologique révèle des étapes critiques pour la stérilité du produit et, a permis de déterminer le type de mesures à mettre en place afin de minimiser ce risque de contamination. Cette analyse nous a permis de revoir l'ensemble des modes de défaillances réels ou potentiels inhérents au procédé aseptique utilisé lors de la fabrication des formes injectables et de définir des actions à mettre en place pour éviter l'obtention d'une unité non stérile lors des MFT en validation initiale et périodique.

Mais le risque « zéro » n'existe pas. De plus, cette analyse a permis de définir le protocole de réalisation des MFT afin de tester les opérations les plus risquées durant les MFT.

Ainsi, avec les mesures correctives prévues, en considérant leur mise en place, on peut conclure que la probabilité d'obtenir une unité non stérile est très limitée que ce soit lors des MFT ou lors de la production des lots cliniques en routine (Indice de Criticité maximal obtenu = 350).

9. CONCLUSION GENERALE

La notion d'exigence de la maîtrise globale des procédés, renforcée par une obligation de traçabilité de l'ensemble des opérations de production des médicaments est de plus en plus demandée. Cette notion de maîtrise remplace progressivement celle de contrôle et d'assurance de la qualité car elle intègre dans les critères de son évaluation l'analyse des risques liés aux possibilités de défaillance des systèmes impliqués dans le processus.

La maîtrise de la technologie de l'isolateur permet un niveau inégalé d'assurance de la stérilité par rapport aux salles blanches classiques. L'isolateur permet également quant à la protection de l'environnement, de s'affranchir des contraintes de contrôle des environnements directs de production ; en effet, il peut, de part sa conception, entièrement satisfaire aux contraintes de plus en plus importantes de l'industrie pharmaceutiques mondiale.

Il peut représenter un choix pertinent afin de répondre aux nouvelles normes de l'Agence européenne du Médicament et enfin permet de sécuriser les environnements de travail aseptique.

De plus, les isolateurs permettent de s'affranchir de certaines contraintes de classification et d'habillement des opérateurs de fabrication en étant installé dans un environnement de classe particulière moins contraignant que les salles blanches de production d'injectables (exemple : les BPF acceptent les isolateurs installés dans un local de classe D). Ils empêchent toute rupture du confinement des produits par rapport à un environnement qui ne serait pas aussi bien protégé tant au niveau du maintien de la stérilité que du maintien des protections environnementales.

Enfin, l'utilisation des isolateurs permet de maintenir les opérateurs en dehors de toutes zones critiques, ce qui augmente le niveau d'assurance de stérilité du produit tout en assurant une protection systématique des opérateurs de fabrication contre l'ensemble des molécules qu'ils manipulent.

Ainsi, l'utilisation des isolateurs dans la fabrication des produits injectables devient très fréquente pour les acteurs du médicament. La maîtrise des technologies de fabrication dans cet environnement est difficilement acquise en peu de temps.

Tous les produits pharmaceutiques, doivent être garantis exempts de toute contamination. De même, chaque processus industriel de fabrication pharmaceutique doit être conçu, réalisé et utilisé de manière à ce que tous les risques de contamination (directe ou croisée) soient parfaitement maîtrisés.

La maîtrise de la « non » contamination croisée ne met pas à l'abri des risques de contamination directe, qui eux aussi doivent être soigneusement pris en compte. Par exemple, deux produits différents sous isolateurs seront à l'abri d'un risque de contamination croisée, mais si la stérilité est recherchée, les risques de contamination microbiologiques seront alors également à maîtriser.

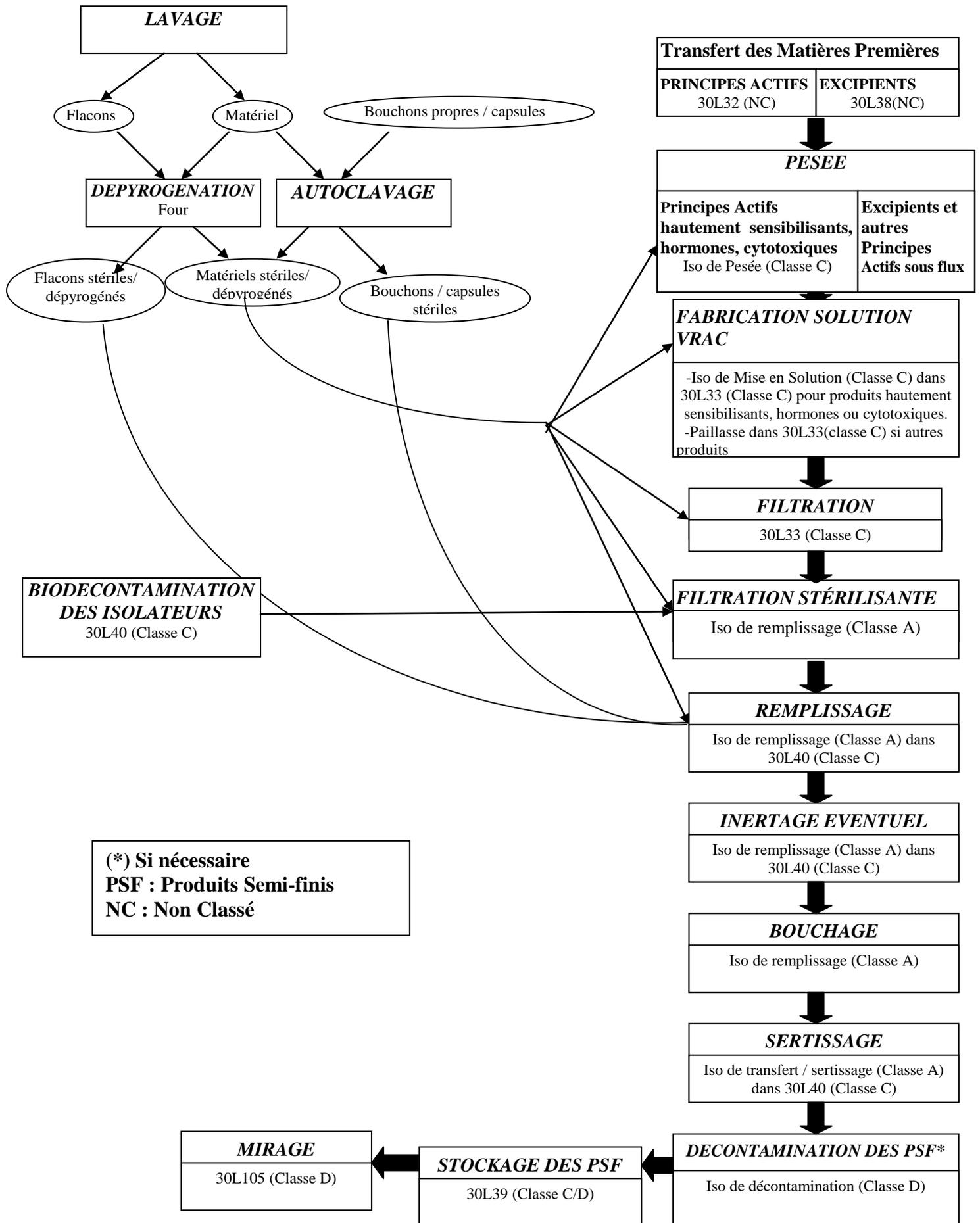
De même, Le risque de contamination, en particulier pour les procédés aseptiques, est si important qu'il a induit l'utilisation croissante de dispositifs jetables à usage unique, ce qui réduit essentiellement les risques de contamination croisée dû à un nettoyage imparfait des équipements de production, diminue également l'étendue des équipements à nettoyer ou de stériliser et les validations associées. Cette alternative est particulièrement intéressante pour la production de cytotoxiques et d'autres composants hautement actifs où la balance économique du surcout des composants jetables est largement compensée par le risque d'une contamination potentielle.

Le nettoyage des équipements entre chaque type de produit est obligatoire et doit être validé, avec utilisation possible de détergents, désinfectants et autres produits chimiques parfois nécessaire. Les équipements sont nettoyés par le personnel de production, ou toute autre personne spécifiquement formée, qui note son statut sur les documents de suivi.

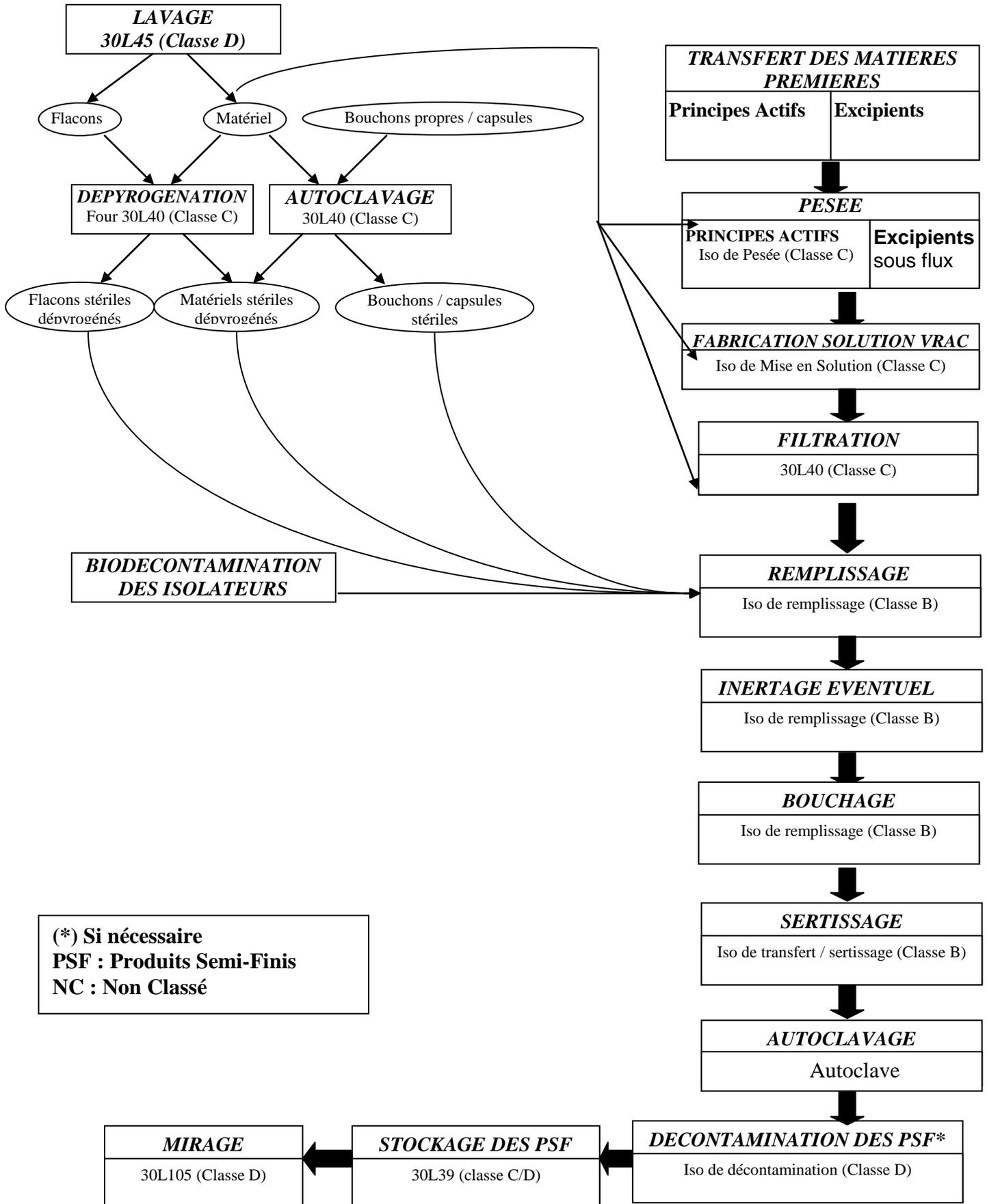
Le matériel de nettoyage des salles propres doit leur être dédié.les procédures de nettoyages doivent définir les fréquences, le matériel et les produits à utiliser en se basant sur des règles simples à respecter : nettoyer de la zone la plus contaminée vers la zone la moins contaminée. L'utilisation de procédures d'habillage strictes et adaptées à la classe de contamination particulière, et l'utilisation de règles simples comme l'utilisation de couleurs différentes des tenues de personnels travaillant dans les zones distinctes, permet de réduire les contaminations dues au personnel.

ANNEXES

Annexe 1 : Processus de fabrication des produits hautement sensibilisants, Hormones et Cytotoxiques en répartition aseptique



Annexe 2 : Processus de fabrication des produits hautement sensibilisants, Hormone et Cytotoxiques en stérilisation terminale.



Annexe 3 : Liste de matériel intervenant à chaque étape du processus de fabrication des solutions injectables

ETAPE	LOCAL	MATERIEL UTILISE POUR LA FABRICATION	Etat du PA
Pesée PA (hautement sensibilisant, hormones, cytotoxiques)	30L33 dans isolateur rigide en dépression :	Balance <u>Isolateur rigide</u> <u>Flacon de volume adapté + bouchons et capsules</u> <u>Spatules à u.u ou pipettes à u.u</u> <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u>	Poudre ou liquide
Pesée (autres composants)	30L34 Poste de pesée sous flux	Balance <u>Flacon de volume adapté + bouchons et capsules ou sac à u.u.</u> <u>Spatules à u.u ou pipettes à u.u</u> <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u>	Poudre ou liquide
Fabrication solution vrac injectable	30L33 dans isolateur rigide en dépression.	<u>Si PA tels que cytotoxiques, hormones ou hautement sensibilisant:</u> <u>Isolateur rigide</u> Agitateurs magnétiques ou mécaniques <u>Barreau d'agitation ou hélice marine</u> <u>Nécessaire à inertage (si besoin)</u> Balance <u>Contenant : béccher ou flacon verre conge inox ou mélangeur à u.u.</u> <u>Spatule u.u.</u> <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u>	Liquide
Fabrication solution vrac injectable	30L33	<u>Si autres PA:</u> <u>Mise en solution sur paillese:</u> Agitateurs magnétiques ou mécaniques <u>Barreau d'agitation ou hélice marine</u> <u>Nécessaire à inertage (si besoin)</u> Balance <u>Contenant : béccher ou flacon verre ou conge inox ou mélangeur à u.u.</u> <u>Spatules à u.u.</u> <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u>	Liquide
Transfert avec préfiltration / filtration stérilisante	30L33 (pour préfiltration) 30L40(pour filtration stérilisante)	<u>Tuyau type silicone à u.u.</u> <u>Raccord Tri clamp à doubles embouts cannelés inox</u> <u>Joints pour Tri Clamp</u> Bouchon inox pour Tri Clamp Pompe péristaltique <u>1 poche jetable à u.u ou R.S.P inox de 10-25L ou flacon verre</u>	Liquide

Répartition en flacons ou ampoules	30L40 dans isolateur de remplissage pour les flacons. 30L40 sur la paillasse pour les ampoules	<u>Isolateur rigide en surpression</u> <u>Tuyaux type silicone à u.u.</u> <u>Aiguilles de remplissage</u> machine de répartition Cristallisoir <u>Flacons + Bouchons</u> <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u> Compteur de particules Boîtier RCS Machine à ampoules Balance	Liquide
Inertage durant la répartition aseptique (optionnel)	30L40 Dans isolateur de remplissage pour flacons	<u>isolateur en surpression</u> <u>Aiguille inertage</u> Filtre 0,22 µm Tuyaux alimentation en Azote <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u> Compteur de particules Boîtier RCS	Liquide
Bouchage ou fermeture des ampoules	30L40 dans isolateur de remplissage pour flacons ou sur la paillasse pour ampoules	Cristallisoir <u>Flacons + Bouchons</u> <u>Isolateur rigide en surpression</u> <u>Machine de répartition</u> <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u> Compteur de particules Boîtier RCS Machine à ampoules Ampoules	Liquide
Transfert des flacons bouchés	Transfert de l'isolateur de remplissage vers l'isolateur de sertissage.	Cristallisoirs contenant les flacons bouchés destinés à être sertis transférés par le hublot connectant l'isolateur Sortie à l'isolateur Travail	Liquide
Sertissage	30L40 dans isolateur de sertissage	<u>isolateur en surpression</u> <u>Flacons bouchés</u> <u>Capsules en alu</u> Pince à dessertir Sertisseuse Flexicon Cristallisoirs <u>Gélose de sédimentation (trypticase soja)</u> <u>Gélose Count-tact</u>	Liquide

Remarque : le mirage n'est pas évoqué car il n'y a pas de risque de contamination du produit puisque le flacon est fermé de façon étanche

Annexe 4 : Exemple d'étapes de l'analyse de risques de contamination croisée

Etape	Matériel réutilisable	FCM	RMC	Moyens de prévention existants	FP	R	Moyens de prévention à mettre en place	Nouvelle cotation (FP)	TOTAL	
Fabrication solution vrac injectable :	Barreau d'agitation ou hélice marine	5	3	Décontamination, nettoyage systématique du matériel dès son utilisation Décontamination facile à réaliser Contact direct avec produit surface de contact faible avec le produit par rapport au volume de la solution. A cette étape : produit sous forme liquide	Flux matériel propre/sale maîtrisé Point systématiquement prélevé pour contrôle.	0.5	7.5	Matériel qui deviendra à u.u. ou utilisation de matériel dédié ce qui inhibe le risque de contamination croisée par ce matériel	0.25	3.75
	Contenant : béccher ou flacon verre ou conge inox	5	4	Décontamination, nettoyage systématique du matériel dès son utilisation Contact direct avec produit Décontamination facile à réaliser Toute la surface interne du matériel est en contact avec le produit A cette étape : produit sous forme liquide	Flux matériel propre/sale maîtrisé. Process de décontamination, nettoyage vérifié avant chaque lot clinique. Point systématiquement prélevé pour contrôle (pour béccher et conge)	0.5	10	flacon à u.u matériel dédié si béccher ou conge	0.25	5
Transfert avec préfiltration / filtration stérilisante	Raccord tri clamp à dbles embouts cannelés inox	5	5	Décontamination, nettoyage systématique du matériel dès son utilisation Contact direct avec produit Décontamination difficile à réaliser Toute la surface interne du matériel est en contact avec le produit A cette étape : produit sous forme liquide	Flux matériel propre/sale maîtrisé. point prélevé par trempage pour le contrôle de la décontamination.	0.5	12.5	matériel qui deviendra à u.u	0.25	6.25
	1 RSP inox de 10 ou 25L muni d'une vanne à mbrane	5	5	Décontamination, nettoyage systématique du matériel dès son utilisation Décontamination de l'intérieur du RSP difficile à réaliser, la vanne, les raccords clamp et les joints pour raccord clamp sont eux aussi difficiles à décontaminer Contact direct avec produit Toute la surface du matériel est en contact avec le produit A cette étape : produit sous forme liquide	Flux matériel propre/sale maîtrisé 2 Points systématiquement prélevés pour contrôle; un à l'extérieur et un à l'intérieur	0.5	12.5	Etudier l'utilisation possible de poches ou de flacons jetables ou de matériel dédié à un type de produit.	0.25	6.25

Annexe 5 : Exemple d'étapes de l'analyse de risques de contamination microbiologique

Etape	Eléments / matériels nécessaires	Rôle	Mode de Défaillance	Effets	G1	G2	Causes de ces défaillances	Moyens de prévention	FP	Moyens de Détection / Contrôle	D	TOTAL IC1	TOTAL IC2						
STERILISATION DU MATERIEL ET DES ADC	GVP- Autoclave	Stérilisation des bouchons, capsules et du matériel	Cycles d'autoclavage non conforme pouvant entraîner un F0 < F0 validé et donc du matériel et des bouchons / capsules non stériles	Défaut de stérilisation des bouchons / capsules et du matériel en contact direct avec le produit utilisé après filtration stérilisante	10		Mauvaise qualité de l'eau dans le GVP entraînant une vapeur de mauvaise qualité	<p>Courant secouru en cas de panne électrique</p> <p>Formation du personnel</p> <p>Qualification périodique du GVP</p> <p>Qualification périodique de l'autoclave</p> <p>SOP et dossiers de lot décrivant précisément la charge et les Programmes</p> <p>Suivi de la qualité d'eau purifiée</p>	1	<p>Vérification de l'enregistrement des cycles</p> <p>Alarmes</p> <p>Test d'étanchéité régulier</p>	5	50							
				Existence de points froids non connus, non maîtrisés, F0 < 15															
				Défaut de stérilisation des autres matériels (avant filtration ou sans contact avec le produit)	4		Défaillance de l'autoclave : mauvaise répartition de la vapeur, défaut d'étanchéité, sondes, automatisme...						<p>Non respect des paramètres validés (charges, cycle...)</p>				1	4	
				Mauvaise qualité de l'eau dans le GVP entraînant une vapeur de mauvaise qualité														5	20
GVP- Cuve	Stérilisation de la cuve (de	Défaut de stérilisation de la cuve	Défaut qualité de l'eau ppi ENTRAINANT	4			Mauvaise qualité de la vapeur	Formation du personnel	1	Prélèvements et contrôles microbiologiq	1	4							

		stockage de l'eau ppi)		un mauvais nettoyage		Temps de stérilisation insuffisant	Qualification périodique du GVP		ues de l'eau ppi avant chaque lot clinique		
						Problème d'étanchéité de la cuve	Qualification périodique de la Cuve		Test d'étanchéité de la cuve		
						Défaut de filtre évent	Maintenance préventive				
							Fréquence de changement et de stérilisation du filtre				
Four	Dépyrogénéation des flacons verres et des béciers	Cycles de dépyrogénéation non conforme pouvant entrainer la non stérilité des flacons et du matériel	Défaut de dépyrogénéation (du matériel en contact avec le produit et après filtration stérilisante)	10	Coupure d'électricité durant un cycle	Courant secours en cas de panne électrique					
					Défaillance du four: mauvaise répartition de la chaleur	Existence de joint gonflable pour maintenir l'étanchéité					
					Mauvaise disposition de la sonde	Formation du personnel					
					Défaut d'étanchéité du four	Qualification périodique du Four: Validation annuelle des cycles pour chaque charge		1	Vérification de l'enregistrement des cycles	5	50
					non respect paramètres validés	Changement annuel des filtres			Intégrité des filtres		
					Défaut d'intégrité des filtres	SOP et dossier de lot décrivant précisément la charge					

Annexe 6 : Exemple d'étapes de l'analyse de risques de contamination microbiologique avec mise en place d'actions

Etape	Eléments / matériels nécessaires	Rôle	Mode de Défaillance	Effets	G1	G2	Causes de ces défaillances	Moyens de prévention	FP	Moyens de Détection / Contrôle	D	TOTAL IC1	TOTAL IC2	Actions à mettre en place	Nouvel FP ou D	Nouvel I.C1	Nouvel I.C2
PREPARATION DES ADC ET DU MATERIEL	soudeuse	Scellage des emballages	Défaut d'intégrité des emballages	pas de protection après stérilisation	4	10	Mauvaise manipulation de l'emballage	Formation du personnel	4	Contrôle ou vérification visuelle de chaque poche	5	80	200	Etapes à simuler durant les MFT Formation du personnel à redéfinir	1		50
FABRICATION DE LA SOLUTION VRAC (SI AUTRES TYPES DE PA)	Opérateurs	Opération de fabrication de la solution vrac	Mauvaise manipulation ou hygiène des opérateurs	Contamination des MP ou du contenant de fabrication	7		Comportement du personnel Déchirure des gants Fabrication complexe et longue	Formation du personnel Désinfection des gants TRH = 35vol/h	4	Contrôle du bioburden Prélèvements/Contrôles microbiologiques en fin d'opération	5	140		Utilisation de contenant fermé et de barreau aimanté pour la fabrication de la solution vrac Amélioration du type d'habillage des opérateurs lors de l'incorporation des MP dans le contenant de fabrication Port d'une double paire de gants	1	35	

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ R. GNASSOU, La validation des procédés de nettoyage dans l'industrie pharmaceutique : Méthodologie et application. Th D Pharm, Toulouse 3 ; 2003.
- ² CHEMTOB C. Principes généraux de la qualification des installations, STP PHARMA Pratiques.1997. 7 pp 431-434.
- ³ CARLETON F, J.AGALLOCO J.P. Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes, New York: Marcel DEKKER, INC. 1986. 696 pages
- ⁴ Ministère de l'emploi, de la cohésion sociale et du logement – Ministère de la santé et des solidarités, BPF – Bulletin Officiel N° 2009/9 bis. 2009, 145 pages. Ligne directrice 15, page 119.
- ⁵ ROMAN S. Pourquoi valider et comment valider ? STP PHARMA Pratiques.1997. 7 pp 332-338
- ⁶ BPF – Bulletin Officiel N° 2009/9 bis. 2009, 145 pages. Chapitre 5, Production, page 34
- ⁷ CHEMTOB C. Principes généraux de la validation des procédés de fabrication, STP PHARMA Pratiques.1995. pp 222-228.
- ⁸ Good Manufacturing Practice Guideline For Active Pharmaceutical Ingredients, ICH, July 23 1999.
- ⁹ BOTET J. Guide Pratique pour les Projets d'Installations Pharmaceutiques, Barcelone: STE Packaging Engineering, S.L. 2005. 285 pages.
- ¹⁰ Guide de l'Ultra-Propreté : La maîtrise de la contamination, pages 9-15, 2008
- ¹¹ AFNOR. NF EN ISO 14644-6 : Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 6 : Vocabulaire, Septembre 2007
- ¹² Guide ASPEC, Gestion du risque de contamination croisée dans l'industrie pharmaceutique, 1993
- ¹³ REINWALT J.M. Les technologies pour maîtriser la contamination –Le traitement de l'air – Les protections ponctuelles, Dossier technique T4.2 – Le Guide de l'Ultra Propreté. 2004. pp 100-103.

¹⁴ AFNOR. NF EN ISO 14644-1: Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 1 : Classification de la propreté de l'air, Juillet 1999

¹⁵ AFSSAPS. Bonnes Pratiques de Fabrication, Ligne Directrice 1 : Fabrication de Médicaments stériles .Bulletin officiel n°2009/9bis

¹⁶DARBORD JC. *Désinfection et stérilisation dans les établissements de soin : guide pratique*. 5ème éd. Paris: Masson, 2003, 273p.

¹⁷PHI 41 Pharmacotechnie industrielle 2e édition Par Eric Levacher , 2006, 673 pages

¹⁸ AFNOR. NF EN ISO 14644-1: Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 4 : Conception, construction et mise en fonctionnement, Avril 2001

¹⁹ AFNOR. NF EN 1822-1 : Filtres à air à haute efficacité-Partie 1 : Classification, essais de performance et marquage, Janvier 2010

²⁰ WAGNER C.M., AKERS J.E. Isolator Technology – Application in the Pharmaceutical and Biotechnology Industries, Buffalo Grove: Interpharm press INC. 1995. 384 pages

²¹ REINWALT J.M. Les technologies pour maîtriser la contamination –Le traitement de l'air – Les protections ponctuelles Dossier technique T4.2 – Le Guide de l'Ultra Propreté. 2004. pp 100-103.

²² Norme NFX 44-102 : Enceintes à Empoussièrément Contrôlé - Définitions - Classification - Introduction à la procédure réception et de contrôle périodique

²³ Norme NFS 90-351 : établissement de santé - Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - Exigences relatives pour la maîtrise de la contamination aéroportée

²⁴ GETINGE GROUP, Les isolateurs : Conception, Validation, Utilisation Support de formation (format PDF)

²⁵ Norme ISO 10648-2, Enceintes de confinement-partie 2 : classification selon leur étanchéité et méthodes de contrôle associées.

²⁶ USP <1116>, Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing environments

²⁷ PERFORMANCES ET CONTROLES DE L'ETANCHEITE DES ISOLATEURS : Jean-Michel Rivière, La Calhène, Vendôme (France), 1999

²⁸ AFSSAPS. Bonnes Pratiques de Fabrication, Ligne Directrice 15 : Qualification et Validation.
Bulletin officiel n°2009/9bis

²⁹ DARBORD JC. *Désinfection et stérilisation dans les établissements de soin : guide pratique*.
5ème éd. Paris: Masson, 2003, 273p

³⁰ AFNOR. NF T 72-101 : Antiseptiques et désinfectants – Vocabulaire, Mars 1981

³¹ FRANK J. *Traité de pathologie interne*. Bruxelles : Etablissement encyclographique, 1837,493 p.

³² GUIDANCE FOR INDUSTRY- STERILE PRODUCTS PRODUCED BY ASEPTIC PROCESSING-
CGMPs- SEPTEMBER 2004

³³ PDA TECHNICAL REPORT N° 22: PROCESS SIMULATION TESTING FOR ASEPTICALLY
FILLED PRODUCTS.

³⁴ Extrait d'un article d'Olivier Chancel, Responsable Microbiologique, MERIAL, Toulouse, lors
d'une commission SFSTP

³⁵ Recommandations pour la réalisation des tests de remplissage aseptique pour la validation des
opérateurs et des procédés D.Brossard, P.Hild, F.Lagarce 12èmes journées scientifiques du
GERPAC 7,8 et 9 octobre 2009 – Presqu'île de Giens

³⁶ International Conference on Harmonisation of technical" ICH Q9 Quality Risk Management

³⁷ Commission SFSTP : Assurance de stérilité, STP PHARMA PRATIQUES- volume 17-N° 6-
novembre-décembre 2007, pages 375-410, D.Weill, J.-F. Biron, S. Aguillon, M. Formet, M-D.
Ibarra, S. Kasperowicz, G. Le Pallec, F. Lucas, M.-L. Poulain.

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2011/ 2012

Nom : DATCHOUA POUANI
Prénom : Gaëlle Stella

Titre de la thèse : MAITRISE DE CONTAMINATION ET ISOTECHNIE DANS UNE ZONE DE FABRICATION DE FORMES INJECTABLES

Mots-clés :

Solutions injectables, Validations, Contaminations, Isotechnie, Biodécontamination, Media fill test, Analyses de risques, AMDEC

Résumé :

Dans l'industrie pharmaceutique, des mesures doivent être appliquées afin de maîtriser tout type de contamination, et plus particulièrement la contamination croisée et la contamination microbiologique dans le cadre de la fabrication des produits stériles. L'utilisation des isolateurs doit donc être évaluée et validée avant leur mise en place si nécessaire. La maîtrise des contaminations est un enjeu important dans le domaine de la santé et l'isotechnie est une technologie qui peut contribuer de façon importante à cette maîtrise si les étapes de qualification de l'isolateur ont été réalisées de façon pertinente.

L'isotechnie va également trouver son importance dans le cas de la fabrication des produits hautement actifs tels que les cytotoxiques ou les hormones. De même la validation des procédés de biodécontamination des isolateurs vont prendre une place prépondérante afin d'éviter toute contamination éventuelle. Les isolateurs permettent de s'affranchir de certaines contraintes de classification et d'habillage des opérateurs de fabrication en étant installé dans un environnement de classe particulière moins contraignant que les salles blanches de production d'injectables.

La maîtrise des contaminations passe donc non seulement par une maîtrise de la conception des locaux et des équipements mais également par la formation et la maîtrise des procédés (Nettoyage, transfert aseptique, stérilisation). Ainsi, La validation du procédé de fabrication aseptique se fait par simulation à l'aide d'un milieu de culture.

Le risque zéro n'existant pas et afin de pouvoir maîtriser tout le procédé, il est nécessaire de valider toute la chaîne de fabrication. D'où l'importance des Test de Remplissage Aseptique et des Analyses de Risques.

Membres du jury :

Président : Anne GAYOT

Professeur des universités, Laboratoire de Galénique – Lille 2

Membre(s) extérieur(s) : Marie Dominique IBARRA

Chef du service Galénique des formes Liquides, Pâteuses et Injectables –
Centre de Recherche et développement Pierre Fabre (Toulouse)

Louise MENDY

Responsable Assurance Qualité - Centre de Recherche et développement
Pierre Fabre (Toulouse)