

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le  
Par Monsieur Jimmy LEROY**

---

**QUALIFICATION D'UN PASTEURISATEUR A  
RUISSELLEMENT D'EAU CHAUDE DESTINE A  
L'INACTIVATION VIRALE DE LA SOLUTION D'ALBUMINE**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Monsieur le Maître de conférences Youness KARROUT, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille 2

**Directeur, conseiller de thèse :** Madame le Professeur Anne GAYOT, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille 2

**Assesseur(s) :** Monsieur le Maître de conférences Frank PIVA, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille 2

**Membre extérieur :** Madame Stéphanie JEW CZUK – Responsable de Production L.F.B. (Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies)



***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.**

## 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

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice-présidents :	Professeur Alain DUROCHER Professeur Régis BORDET Professeur Eric BOULANGER Professeur Frédéric LOBEZ Professeur Murielle GARCIN Professeur Annabelle DERAM Professeur Muriel UBEDA SAILLARD Monsieur Ghislain CORNILLON Monsieur Pierre RAVAUX Monsieur Larbi AIT-HENNANI Madame Nathalie ETHUIN Madame Ilona LEMAITRE
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1 <sup>er</sup> assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie STANDAERT
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia MELNYK
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe BOCHU
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe CHAVATTE
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	M. Thomas MORGENROTH
Chef des services administratifs :	Monsieur Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
Mme	RENNEVILLE	Aline	Hématologie
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

## Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	EI Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Laboratoire de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M	TARTAR	André	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M.	WILLAND	Nicolas	Laboratoire de Médicaments et Molécules

## Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

## Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOIT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Laboratoire de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Laboratoire de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais

### Professeurs Certifiés

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

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérengère	Pharmacie Galénique
M.	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

*« N'oublions jamais que nous sommes ni robot, ni dieu ou déesse, mais tout simplement des humains, où l'erreur est inhérente à notre humanité sous le focus continu de la routine et de l'habitude. Néanmoins, l'ensemble des salariés travaillant en Z.A.C. (Zone à Atmosphère Contrôlée) a une conscience professionnelle aiguë, conscient à tout instant que la moindre non-conformité sur un lot de 5 000 flacons peut entraîner la mort d'autant de patients et, que tout produit fabriqué par ses soins peut un jour se retrouver sur le chevet de son père ou de son fils. Ainsi le FACTEUR HUMAIN prend ici toute son importance » (1)*

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier lieu le Professeur Madame Anne GAYOT pour avoir accepté de diriger cette thèse. Je tenais particulièrement à vous remercier pour votre intérêt et votre soutien, votre disponibilités et vos conseils durant cet exercice ainsi que pour la qualité des vos enseignements au sein de la filière industrielle de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille 2.

Merci à Madame Stéphanie JEW CZUK avec qui j'ai apprécié travailler pour mon stage de fin d'étude de Pharmacie et qui m'a fait découvrir l'univers bien particulier de la fabrication des médicaments dérivés du sang et du plasma humains.

Je tiens à remercier Messieurs les Maîtres de Conférences Youness KARROUT et Frank PIVA qui ont accepté de prendre part au jury de ma soutenance.

Je tiens finalement à remercier celles et ceux qui me sont cher, famille, amis et collègues qui ont su me soutenir tout au long de ces années et sans qui cette thèse n'aurait pu être menée à bien.

# Sommaire

REMERCIEMENTS .....	9
LISTE DES ILLUSTRATIONS .....	11
GLOSSAIRE .....	12
INTRODUCTION .....	13
1 <sup>er</sup> Partie - Principes de Qualification et Validation .....	14
1 - Historique de la Qualification et de la Validation .....	14
2 - Réglementation de la Qualification et de la Validation .....	16
3 - Balance « Bénéfices / Risques » de la Qualification .....	18
2 <sup>nde</sup> partie - Diminution du risque de transmission virale des médicaments dérivés du sang et du plasma humain.....	22
1 - Mesures de prévention du risque de transmissions d'agents infectieux des médicaments dérivés du plasma humains .....	23
2 - Etapes d'Inactivation/Élimination virale .....	25
3 - Pasteurisation de l'albumine .....	30
3 <sup>ème</sup> partie - Qualification d'un pasteurisateur à ruissellement d'eau chaude .....	34
1 - Description du système.....	34
2 - Stratégie de Qualification et Validation .....	37
3 - Définition des besoins utilisateur et Cahier des charges fonctionnel .....	39
4 - Qualification de la Conception – Q.C. 1 .....	41
5 - Qualification de la Conception – Q.C. 2 .....	43
6 - F.A.T. / S.A.T. ....	43
7 - Qualification d'Installation et Qualification Opérationnelle .....	48
8 - Qualification de performance .....	54
9 - Maintien de l'état qualifié .....	66
CONCLUSION.....	68
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	69

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 - Telegraph Daily - 07 Mars 1972 (2).....	14
Figure 2 - Evolution du processus de Validation de (3) .....	15
Figure 3 - Comparatif prix usine GMP - NON GMP de (7).....	19
Figure 4 - Répartition des écarts B.P.F. Annexe 15 .....	21
Figure 5 - Caractéristiques des virus transmissibles par les médicaments dérivés du sang ou du plasma humain en l'absence de mesures efficaces d'Inactivation/Élimination virale de (8) .....	22
Figure 6 - Spécificités des principaux procédés d'Inactivation/Élimination virale des produits plasmatiques de (10) .....	26
Figure 7 - Techniques d'Élimination et d'Inactivation virale utilisées pour les produits dérivés du plasma de (11) .....	27
Figure 8 - Schéma d'une étude de Validation de l'efficacité d'une étape d'Inactivation ou d'Élimination virale de (8) .....	28
Figure 9 - Formule de réduction virale.....	29
Figure 10 - Inactivation virale de la solution d'albumine par la pasteurisation de (17) .....	33
Figure 11 - Vue intérieure d'un pasteurisateur de (19) .....	34
Figure 12 - Schéma d'un pasteurisateur de (19) .....	35
Figure 13 - Stratégie de Qualification .....	38
Figure 14 - CQA / CPP de la pasteurisation .....	40
Figure 15 - Extrait de rapport de Q.C.1 .....	42
Figure 16 - Plan de chargement des sondes pour la vérification de la distribution à vide.....	52
Figure 17 - Cartographie de température à vide 1/2.....	53
Figure 18 - Cartographie de température à vide 2/2.....	53
Figure 19 – Q.P. : mesure & maîtrise risques induits .....	57
Figure 20 - Nombre de sondes par essai .....	58
Figure 21 - Exemple de plan de positionnement des sondes de Qualification .....	59
Figure 22 - Sondes de Qualification .....	59
Figure 23 - Positionnement sondes pour cartographie charge minimum.....	60
Figure 24 - Résultats cartographie température format 100mL - charge minimum... 61	
Figure 25 - Cartographie température format 100mL - charge minimum.....	61
Figure 26 - Positionnement sondes pour cartographie charge intermédiaire .....	62
Figure 27 - Résultats cartographie température format 100mL - charge intermédiaire .....	62
Figure 28 - Cartographie température format 100mL - charge intermédiaire .....	63
Figure 29 - Résultats cartographie température format 100mL - charge maximum.. 63	
Figure 30 - Cartographie température format 100mL - charge maximum.....	63
Figure 31 - Résultats cartographie température format 50mL - charge minimum.....	64
Figure 32 - Cartographie température format 50mL - charge minimum.....	64
Figure 33 - Résultats cartographie température 50mL - charge intermédiaire .....	65
Figure 34 - Cartographie température format 50mL - charge intermédiaire .....	65
Figure 35 - Résultats cartographie température 50mL - charge maximum.....	65
Figure 36 - Cartographie température format 50mL - charge maximum.....	66

# GLOSSAIRE

A.M.D.E.C. : Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité  
A.N.S.M. : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé  
A.S.T.M.: American Society for Testing and Materials  
B.P.F. : Bonnes Pratiques de Fabrication  
C.&Q. : Commissioning & Qualification  
C.C.U. : Cahier des Charges de l'Utilisateur  
C.F.R. : Code of Federal Regulations  
C.P.P. : Critical Process Parameter  
C.Q. = D.Q. : Conception Qualification = Design Qualification  
C.Q.A. : Critical Quality Attribute  
c.G.M.P. : current Good Manufacturing Practice  
c.G.P.L. : current Good Practice Laboratory  
c.G.C.P. : current Good Clinic Practice  
D.B.U. : Définition des Besoins Utilisateurs  
D.Q. = C.Q. : Design Qualification = Conception Qualification  
E.M.A. : European Medicines Agency  
F.A.T. : Factory Acceptance Test  
F.D.A. : Food and Dru Administration  
G.A.M.P. : Good Automated Manufacturing Practice  
H.M.I. : Human Machin Interface  
I.C.H. : International Conference on Harmonisation  
I.O.Q. : Installation Operation Qualification  
I.S.P.E. : International Society for Pharmaceutical Engineering  
I.Q. = Q.I. : Installation Qualification = Qualification d'Installation  
M.H.R.A. : Medicines and Healthcare products Regulatory Agency  
O.M.S. : Organisation Mondiale de la Santé  
P.I.C./S. : Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme  
P.I.D. : Piping and Instrumentation Design  
P.D.A. : Parental Drug Association  
Q.I. = I.Q. : Qualification d'Installation = Installation Qualification  
Q.R.M. : Quality Risk Management  
S.A.T. : Site Acceptance Test  
U.R.S. : User Requirement Specification = Spécifications Utilisateurs  
V.M.P. : Validation Master Plan  
Z.A.C. : Zone à Atmosphère Contrôlée

## INTRODUCTION

L'industrie pharmaceutique a pour finalité, ne l'oublions jamais, de découvrir, produire et mettre sur le marché des produits de qualité irréprochable, dont la sécurité est avérée et l'efficacité démontrée. Pour répondre à ces obligations, elle se doit de mettre en place un système de management de la qualité irréprochable. La qualité ne se contrôle pas, elle se fabrique ; elle est primordiale et présente à toutes les étapes de la vie du médicament, nécessitant le concours de tous les acteurs du milieu.

Les médicaments dérivés du sang et du plasma humains sont des produits d'origine biologiques. Le risque de transmission de virus existe, des contaminations ont eu lieu entre les années 1940 et 1990. Peuvent être cités les vaccins de la fièvre jaune contaminés par le virus de l'hépatite B (1940) ou les facteurs de coagulation contaminés par le virus du V.I.H. et de l'hépatite B (1984).

La pasteurisation est utilisée comme méthode d'inactivation virale. Elle nécessite la mise en œuvre d'un pasteurisateur dont la qualification est indispensable.

Nous décrirons successivement les principes de Qualification et Validation ; les moyens utilisés pour diminuer le risque de transmission d'agents pathogènes par les médicaments dérivés du sang et du plasma humains et pour finir le cas concert de la Qualification d'un pasteurisateur.

# 1<sup>er</sup> Partie - Principes de Qualification et Validation

## 1 - Historique de la Qualification et de la Validation

Le 07 mars 1972, le Daily Telegraph titre « HOSPITAL DRUG ALERT AS 5 DIE, RICE TO FIND 500 DRIP-FEED BOTTLES » (2).



Figure 1 - Telegraph Daily - 07 Mars 1972 (2)

L'incident de Devonport, objet de la première page en 1972 du Daily Telegraph présentée ci-dessus, concerne la mise sur le marché de flacons de perfusion de dextrose non stériles ayant entraîné la mort de cinq personnes. Le rapport d'enquête révélera quelques temps plus tard de mauvaises pratiques en termes de stérilisation. En effet, les conclusions du rapport sont les suivantes : « Le comité estime que trop de gens croient que la stérilisation des fluides est facilement réalisée avec une simple usine exploitée par des hommes peu qualifiés avec un minimum de supervision, une vision de la tâche qui est fautive à tous égards. ». (2)

L'enquête révélera que l'homogénéité de la température n'était pas assurée pendant le cycle de stérilisation. Dans ces conditions, l'ensemble des flacons de dextrose n'a pas été stérilisé. Les contrôles libératoires réalisés sur le lot n'ont malheureusement pas détecté cette non-conformité car ils ont été réalisés sur des flacons dont l'exposition à la vapeur a été la plus importante, sur des flacons stériles. Les flacons non stériles ont été livrés à l'hôpital de Devonport et administrés onze mois après le cycle de stérilisation. Pendant ce temps, les bactéries survivantes se sont multipliées dans la solution et ont produit un liquide hautement toxique aux conséquences mortelles.

Cet événement marquera la création des premiers départements de Validation dans les laboratoires pharmaceutiques. Depuis, la notion de Validation a progressivement évolué vers deux notions distinctes : la Qualification et la Validation.

### The Evolution of Process Validation

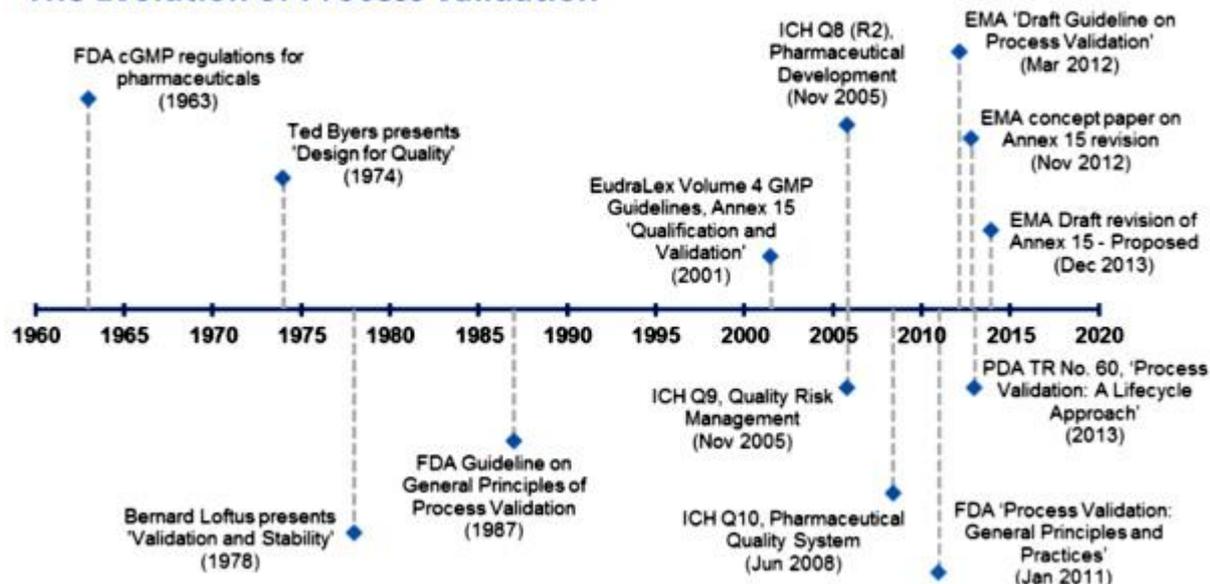


Figure 2 - Evolution du processus de Validation de (3)

La figure ci-dessus illustre l'évolution des textes relatifs à la Qualification et la Validation. Nous pouvons ainsi observer que ces textes sont de plus en plus nombreux et en évolution constante, les publications s'accroissant à partir des années 2000. En 1974, Ted Byers membre de la F.D.A. (Food and Drug Administration) suggère dans une publication intitulée « Design for Quality » que la validation des procédés utilisés dans la fabrication des médicaments injectables serait une bonne idée. En 1987 les c.G.M.P. (Current Good Manufacturing Practice) intègrent une définition de la Validation qui a été fréquemment utilisée dans les discours de la F.D.A. à partir de 1978 et toujours utilisée aujourd'hui : la Validation est une preuve documentée qui fournit un haut degré d'assurance qu'un procédé spécifique produit de manière constante un produit avec des spécifications et des attributs qualités déterminés (4). Récemment, à la suite de la décision du 30 décembre 2016, l'A.N.S.M. (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) a publié le 03 août 2017 une nouvelle version consolidée du guide des Bonnes Pratiques de Fabrication en y intégrant une mise à jour de l'annexe 15 relative à la Qualification et la Validation.

De nos jours, la Validation peut être définie comme une opération qui sert à établir une preuve documentée qui fournit un haut degré d'assurance, qu'une procédure, un procédé ou une activité conduit effectivement aux résultats escomptés. La Validation comprend la Qualification des systèmes et des équipements. La Qualification peut être définie comme l'action consistant à documenter que les locaux, systèmes et équipements fonctionnent correctement et conduisent aux résultats attendus, de façon constante, dans les limites et tolérances établies (5).

La Qualification et la Validation sont des exigences réglementaires.

## ***2 - Réglementation de la Qualification et de la Validation***

La fabrication des médicaments mis sur le marché dans l'Union Européenne doit se faire selon les G.M.P. (Good Manufacturing Practice). En France ce sont les B.P.F. (Bonnes Pratiques de Fabrication) qui constituent la réglementation opposable. En Europe la directive 2017/1572 établit les principes et les lignes directrices des G.M.P. pour les médicaments à usage humains. Aux Etats-Unis les c.G.M.P. font partie intégrante des C.F.R. (Code of Federal Regulations). De manière générale, ces textes sont en permanente évolution et considérés constamment à jour. Concernant la mise en application des c.G.M.P., la F.D.A. impose de prendre en compte et d'appliquer les documents en projet. Les B.P.F. et G.M.P. définissent les conditions minimales dans lesquelles le médicament doit être produit, contrôlé et libéré.

En parallèle de cette documentation opposable existe des textes supports, non opposables, ayant vocation à conseiller l'industriel ; ces documents sont généralement le fruit d'un travail collaboratif entre différents acteurs de l'industrie et/ou des instances réglementaires. Il est possible qu'un texte opposable fasse référence à un texte non opposable. Dans certaines conditions, ce dernier peut devenir opposable. Par exemple l'annexe 14 des B.P.F, qui définit les exigences pour la fabrication des médicaments dérivés du sang ou du plasma humains, fait référence dans son «Addendum» à de nombreux textes non opposables avec deux niveaux de classification (5) :

- Une première liste de textes dont « il convient de mettre en œuvre » ; l'application des textes cités dans cette liste devient obligatoire,
- Une seconde liste de textes « pertinents » ; l'application de ces textes est vivement conseillée.

Pour l'Union Européenne, c'est l'annexe 15 des G.M.P. qui définit les exigences en termes de Qualification et Validation. La première version de cette annexe a été publiée en septembre 2001. Le 03 août 2017, une version consolidée B.P.F. a été publiée sur le site de l'A.N.S.M.. Cette mise à jour fait suite à la mise à jour de l'Annexe 15 des G.M.P. approuvée le 30 mars 2015 pour une mise en exploitation le 01 octobre 2015.

Cette nouvelle version de l'Annexe 15 indique clairement une influence des concepts I.C.H. (International Conference on Harmonisation) tant dans l'approche que dans le vocabulaire utilisé. Il est ainsi précisé que « les concepts et recommandations figurants dans l'ICH Q8, Q9, Q10 et Q11 doivent aussi être pris en compte » (5). Ces documents sont des lignes directrices initialement non opposables ; cependant le simple fait de les mentionner dans l'annexe 15 des G.M.P., rend obligatoire l'application de cette documentation pour les opérations de Qualification et Validation. Une approche de gestion du risque qualité doit s'appliquer tout au long du cycle de vie du médicament. Ainsi, le périmètre de la Qualification doit être fondé sur une évaluation justifiée et documentée des risques en lien avec les installations et équipements en se basant sur la connaissance du produit, du procédé et des équipements.

Cette nouvelle version de l'Annexe 15 précise également que la « Validation rétrospective n'est plus considérée comme une approche acceptable » (5). La notion de « Validation » a été remplacée par « Qualification et Validation » afin de considérer cette démarche sur l'ensemble du cycle de vie du médicament et du procédé. La notion de formation du personnel réalisant les activités de qualification est également mise en valeur dans cette nouvelle version. Cette nouvelle version de l'annexe 15 ajoute de nouvelles recommandations sur la validation du nettoyage : ce sujet comporte maintenant 15 items contre 7 dans l'ancienne version. Sujet d'actualité, l'intégrité des données est également mentionnée. « Des contrôles appropriés » doivent être effectués durant les phases de Qualification et Validation

« pour assurer l'intégrité de toutes les données obtenues ». Une attention particulière est ainsi portée à la sécurisation des données brutes obtenues dans les différentes phases de Qualification et Validation. (5) En effet, la maîtrise des données est nécessaire pour s'assurer que les données obtenues soient complètes, cohérentes et précises. Ainsi chaque donnée générée dans un environnement G.M.P. doit respecter le principe ALCOA (6) :

- **Attributable** : Attribuables à la personne qui les génère
- **Legible** : Lisibles
- **Contemporaneous** : Actuelles
- **Original** : Originales ou certifiées conformes
- **Accurate - Exactes**

Les inspections réglementaires de ces dernières années ont révélé des manquements graves à ces principes d'intégrité des données (9). L'intégrité des données est applicable à toutes les activités G.M.P. : elle doit donc être assurée sur l'ensemble du processus de Qualification et Validation.

### **3 - Balance « Bénéfices / Risques » de la Qualification**

La Qualification a un rôle essentiel dans le système d'assurance qualité pharmaceutique car elle est le garant de la fiabilité des installations et des équipements. Elle contribue en grande partie à la construction de la qualité du produit et permet d'en conserver les spécifications de la conception jusqu'à la commercialisation.

La Qualification a également un rôle économique considérable en étant un élément de maîtrise et de contrôle des coûts de production. Elle permet une connaissance accrue des équipements et procédés. Pour l'exploitant, elle facilite la rédaction des modes opératoires, la compréhension du système et de son fonctionnement.

Elle peut donc également se percevoir comme un outil au service du gain et de la productivité.

La Qualification nécessite des ressources humaines et techniques ainsi qu'une traçabilité de la documentation associée. La Qualification a un coût : elle doit être

réalisée par du personnel habilité et avec des équipements parfois onéreux. Elle représente donc un réel investissement qui doit avoir un retour sur investissement. L'objectif est d'avoir un équipement bien conçu, qualifié et sous contrôle afin de maîtriser et de réduire le coût de la non qualité.

La conception d'un équipement conformément aux G.M.P. augmente les prix de l'équipement de 10 à 20%. S'ajoutent également la planification du projet, la Qualification et la Validation pouvant représenter de 25 à 35% de l'investissement (7).

Poste	Prix GMP (millions \$)	Prix non GMP (millions \$)
<b>Bâtiments</b>	62	32
<b>Equipements de production</b>	19,4	15,3
<b>Utilités</b>	5,5	4,5
<b>Tuyauterie/Automate</b>	50	31
<b>Investissement total</b>	<b>136,9</b>	<b>83</b>
<b>Qualification/Validation</b>	environ 10% de l'investissement	non applicable
<b>Service d'ingénierie</b>	15-25% de l'investissement	15-20% de l'investissement
<b>Total</b>	<b>170-180</b>	<b>90-100</b>

Figure 3 - Comparatif prix usine GMP - NON GMP de (7)

Le tableau ci-dessus illustre les différences de prix des locaux, équipements et utilités pour la fabrication d'un atelier de culture cellulaire en comparant une installation «G.M.P. » versus « NON G.M.P. ».

La différence la plus significative se situe dans le poste « Bâtiment » : 62 millions de dollars contre 32 pour des locaux de production non G.M.P., ceci inclus le magasin de stockage et les salles blanches de fabrication. Le poste « Equipements de production » intègre la fabrication et la livraison de cuves, d'autoclaves, de fermenteurs, de colonnes de chromatographie... Pour ce poste la différence de prix est supérieure à 20% entre des équipements G.M.P. et non G.M.P.. La facture totale du projet de création d'un atelier de production de culture cellulaire est quasiment doublée en prenant en compte l'ensemble des recommandations G.M.P. : 180 millions de dollars contre 100 millions pour un atelier non G.M.P. (7).

Les durées de planification d'un projet de fabrication d'un équipement ne diffèrent pas de manière significative entre un équipement G.M.P. et non G.M.P..

Généralement ce délai est de 18 à 30 mois et est majoritairement conditionné par la durée de fabrication et de livraison de l'équipement.

Pour les équipements G.M.P., une durée supplémentaire est à prévoir pour la Qualification et la Validation pouvant aller de 6 à 12 mois. Dans certaines conditions (variations A.M.M. par exemple) un retour des autorités réglementaires peut être nécessaire avant de pouvoir utiliser l'équipement sur des lots thérapeutiques. Ainsi le temps global d'un projet peut être de 5 années ou plus.

Ces éléments temporels et financiers sont à prendre en compte, plus particulièrement dans le cadre d'un contexte économique concurrentiel et peuvent représenter un risque sur la décision d'investir ou non dans de nouvelles installations.

La Qualification est une obligation réglementaire ; sa non réalisation conformément aux G.M.P. peut avoir des conséquences à différents niveaux. L'impact d'un écart G.M.P. constaté et avéré lors d'une inspection réglementaire est impossible à mesurer car il est unique pour chaque entreprise et pour chaque pays. Cependant, les coûts peuvent être facilement identifiés et subit pendant plusieurs années : mise en place d'action correctives, amendes, arrêt de production, fermeture d'usine, réputation d'entreprise, perte de marché....

Lorsque des écarts aux référentiels réglementaires sont constatés, les inspections peuvent amener à envisager des décisions administratives (rappel à la loi ou lettre de mise en garde) ; dans le cas d'écarts plus importants, des mesures administratives contraignantes sont susceptibles d'être mises en œuvre (injonction, décision de police sanitaire, sanctions financières...) ; ces dernières sont publiées sur le site internet de l'agence.

Sur l'année civile 2016, l'A.N.S.M. a publiée 50 lettres d'injonction. 24 de ces lettres concernent un établissement de fabrication de médicaments, plus de la moitié de ces injonctions (14 sur 24) révèlent au moins un écart B.P.F. lié à l'annexe 15 Qualification et Validation. L'industrie du dispositif médical n'est pas épargnée par la Qualification et Validation puisque 5 lettres d'injonction sur 18 révèlent des écarts sur ces opérations. Sur l'ensemble des lettres d'injonction publiées en 2016 au moins 40% sont liées à un écart relatif à la Qualification ou la Validation (20 sur 50).

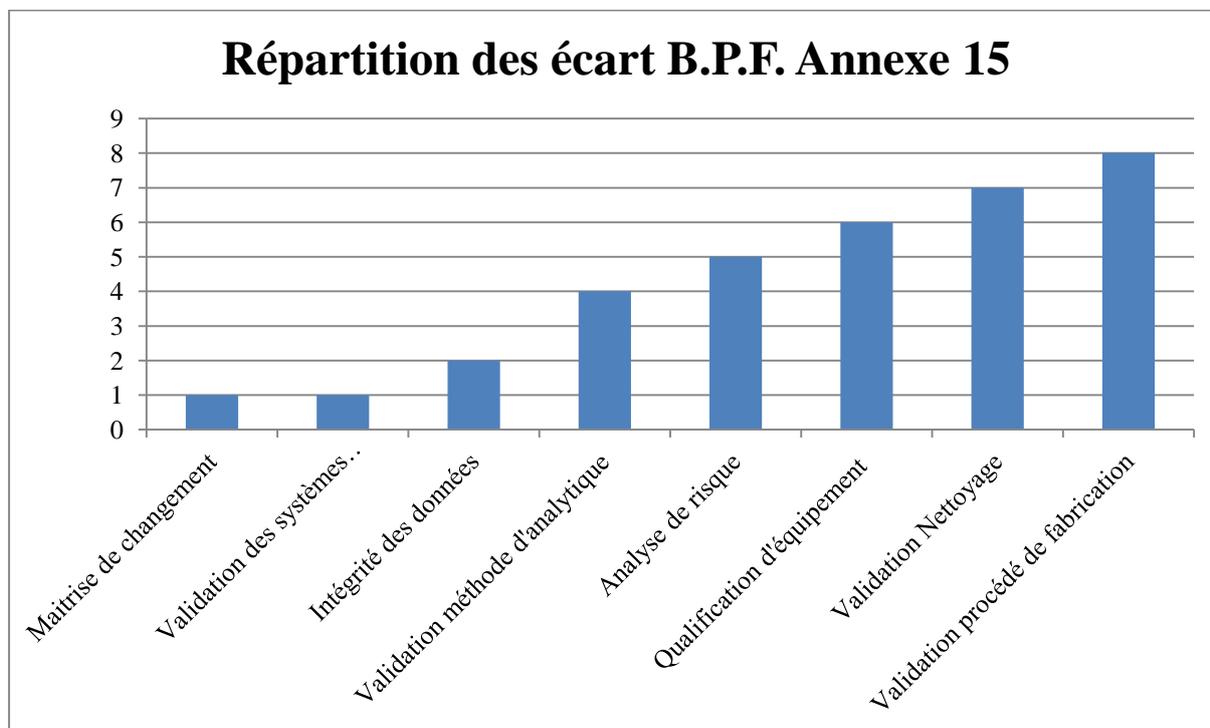


Figure 4 - Répartition des écarts B.P.F. Annexe 15

Les 20 lettres d'injonction liées à un écart à l'annexe 15 ont été analysées. Les écarts constatés ont été triés par catégorie et représentés dans la figure ci-dessus, il est possible de rencontrer plusieurs types d'écarts par lettre d'injonction.

Un écart a été classifié en « Maîtrise de changement », il s'agit de l'absence de considération des nouvelles molécules introduites sur un site dans la Validation de la stratégie de nettoyage. Un écart a été classifié en « Validation des systèmes informatisés ». Il s'agit d'insuffisance dans la Validation d'un logiciel informatisé nécessaire à la mise en œuvre des essais. L'intégrité des données fait l'objet des deux écarts liés à l'intégrité des données analytiques. La Validation des méthodes analytiques a fait l'objet de quatre écarts pour insuffisance ou absence de Validation de ces méthodes. Cinq écarts ont été classés en « Analyse de risque », il s'agit en majorité de cas d'absence de justification visant à vérifier ou argumenter la criticité des différents équipements, systèmes ou procédés. La Qualification des équipements a fait l'objet de six écarts pour absence ou insuffisance dans la Qualification et le maintien de l'état qualifié de certains équipements. La Validation de nettoyage a fait l'objet de six écarts pour absence ou insuffisance de Validation de nettoyage. La Validation des procédés est la catégorie qui a fait l'objet de plus d'écarts. Sur les huit écarts constatés, trois sont relatifs à des insuffisances dans la Validation d'une étape de stérilisation (absence de garantie, insuffisance ou absence de Validation).

La Qualification et la Validation sont donc des exigences réglementaires dont la réalisation conformément aux G.M.P. est obligatoire. La Qualification et la Validation nécessitent des ressources humaines et financières non négligeables et représentent un réel coût. Cependant, la non réalisation de la Qualification et de la Validation conformément aux G.M.P. expose l'industriel à des sanctions de la part des autorités réglementaires. Enfin, la Qualification et la Validation permettent d'assurer la qualité des productions et donc de maîtriser les coûts de fabrication, de non qualité et de rebuts.

## 2<sup>nd</sup>e partie - Diminution du risque de transmission virale des médicaments dérivés du sang et du plasma humain

Le potentiel de contamination virale par administration des médicaments dérivés du sang ou du plasma humains est reconnu. Divers agents infectieux pathogènes peuvent être présents dans le sang. Les bactéries, parasites et virus strictement intracellulaires ne présentent pas de risque infectieux pour les médicaments dérivés du plasma humains car ils sont détruits lors de la congélation du plasma ou éliminés par les différentes étapes de filtrations (jusqu'à 0,22µm). En raison du grand nombre de dons mis en œuvre, une contamination virale sur un seul don peut impacter un lot complet de produit et transmettre une maladie virale à un large nombre de patients.

Virus	Famille	Génome	Taille (nm)	Enveloppe
VIH	<i>Retroviridae</i>	ARN	80-100	Oui
VHB	<i>Hepadnaviridae</i>	ADN	42	Oui
VHC	<i>Flaviviridae</i>	ARN	50-70	Oui
VHA	<i>Picornaviridae</i>	ARN	25-30	Non
Parvovirus B19	<i>Parvoviridae</i>	ADN	18-24	Non

Figure 5 - Caractéristiques des virus transmissibles par les médicaments dérivés du sang ou du plasma humain en l'absence de mesures efficaces d'Inactivation/Élimination virale de (8)

Le tableau ci-dessus présente les principaux virus connus pouvant être transmis par les médicaments dérivés du sang ou du plasma humains en l'absence de mesures efficaces d'Inactivation ou d'Élimination virale. Les virus peuvent présenter une enveloppe de nature lipidique : ce sont des virus enveloppés. Ils sont de taille supérieure à 40 nm. Leur enveloppe est une cible pour les traitements physico-chimiques d'Inactivation virale. On peut citer comme exemple le V.I.H., V.H.C. ou V.H.C..

Les virus non enveloppés sont de petite taille (<50 nm) et résistants aux traitements physico-chimiques. Ils sont composés d'un génome à A.R.N. ou A.D.N. (complexe nucléoprotéique) encapsulé dans une capsid (protéines virales). On peut citer comme exemple le Parvovirus B19 ou la V.H.A. (8).

### ***1 - Mesures de prévention du risque de transmissions d'agents infectieux des médicaments dérivés du plasma humains***

La fabrication des médicaments dérivés du plasma humains est soumise à une réglementation spécifique qui impose des mesures et des exigences à respecter en terme de sécurité. En effet, toutes les étapes de fabrication et également les étapes de collecte du sang et du plasma peuvent impacter la qualité du produit fini. Toutes ces opérations doivent être effectuées dans un système adéquat de management de la qualité.

Ainsi, quatre approches complémentaires doivent être adoptées pour maîtriser la sécurité virale des médicaments dérivés du sang ou plasma humains (9) :

- La sélection et le contrôle des matières premières (dons) sur l'absence de virus détectables
- La réalisation d'un procédé d'Élimination ou d'Inactivation virale validé
- La vérification virologique du produit à des étapes appropriées de production
- Reconnaître et répondre de manière appropriée aux événements post-don affectant les dons de plasma qui ont déjà été traités

Aucune de ces quatre approches prise individuellement ne permet d'assurer la sécurité virale du produit qui peut être uniquement atteinte en combinant ces quatre approches. Cependant, malgré les progrès accomplis dans le dépistage viral, le risque d'introduction d'un don contaminé dans le « pool » de plasma fractionné ne peut être totalement éliminé. Ce risque résiduel peut être lié à quatre facteurs :

- L'erreur technique ou humaine
- Un don provenant d'un sujet très récemment infecté (« fenêtre silencieuse »)
- Un don infectieux séronégatif chez un porteur chronique
- Un variant viral non reconnu par certains réactifs (10)

Ces faits mettent en évidence le rôle sécuritaire essentiel joué par les procédés d'Inactivation et d'Élimination virale. Tous les produits plasmatiques doivent être soumis à un moins un traitement efficace et validé d'Inactivation virale contre les

virus enveloppés. La plupart des produits plasmatiques, en accord avec les recommandations (11), sont soumis à au moins deux traitements spécifiques et complémentaires de réduction virale. Le second traitement doit assurer l'Inactivation de virus non-enveloppés tout en augmentant la marge de sécurité virale vis-à-vis des virus enveloppés. Un seul traitement d'Inactivation virale est admis s'il assure à la fois une Inactivation des virus enveloppés et non-enveloppés ; c'est le cas par exemple de la pasteurisation de l'albumine. (10)

C'est dès l'étape de collecte du plasma que se construit la qualité finale du produit. Un arrêté du 05 avril 2016 fixe les critères de sélection des donneurs de sang (12). Cette sélection a pour objectif d'identifier les contre-indications médicales au don du sang dans un souci de protection du receveur mais également du donneur. Cette sélection permet de maîtriser le plus tôt possible la sécurité transfusionnelle en réduisant différents types de risques.

Les critères d'exclusion des donneurs de plasma sont définis afin de diminuer 5 types de risques identifiés (13) :

- Risque de transmission d'une encéphalopathie spongiforme subaiguë transmissible (E.S.S.T.)
- Risque de transmission d'un agent infectieux
- Risque de transmission d'un agent pathogène
- Risque de transmission d'un agent pathogène inconnu
- « Autres contre-indications »

Ces critères d'exclusion peuvent être de type médical (greffe, intervention chirurgicale, vaccination récente, grossesse...), héréditaire (antécédent familial) ou liés aux pratiques du donneurs (voyages, pratiques sexuelles...)

Ces critères de sélection permettent de réduire le risque de type « fenêtre silencieuse » pour laquelle le contrôle virologique du plasma pourrait être conforme. Récemment, cette « fenêtre silencieuse » a été réduite par la mise en place de nouvelles méthodes biologiques. Ainsi, le Dépistage Génomique Viral (D.G.V.) par Amplification des Acides Nucléiques (A.N.N.) a réduit cette période de 22 à 12 jours pour le dépistage du V.I.H. et de 66 à 10 jours pour le virus de l'hépatite C.

Cette sélection des donneurs a pour objectif d'assurer que les dons de plasma ne présentent qu'une faible charge virale potentielle, inférieure à la capacité de réduction virale assurée par les procédures de fractionnement. Cette garantie passe par des contrôles virologiques du plasma sur les dons unitaires, sur les pools de fractionnement et sur des étapes appropriées de production. Cependant l'exclusion d'un nombre toujours plus grand de donneur de sang est antinomique avec les besoins et les limites du recrutement et de la fidélisation des ces donneurs basés sur le respect des grands principes d'éthiques (bénévolat, volontariat, anonymat et non profit) auquel le service public transfusionnel français (E.F.S.) est particulièrement attaché.

En complément de ces mesures de prévention du risque d'agent infectieux une étape Inactivation/Élimination virale doit être effectuée.

## ***2 - Etapes d'Inactivation/Élimination virale***

Les étapes de fabrication représentent le second niveau de sécurisation du produit et utilisent des méthodes d'Inactivation ou d'Élimination virale. L'enjeu de cette étape est de parvenir à une sécurisation optimale sans altérer le produit qui peut être sensible aux conditions externes.

Procédés	Principe	Virus ciblés	Caractéristiques
<i>Appliqués en cours de fractionnement</i>			
Solvant-détergent	Incubation de quelques heures en présence de TnBP et d'un ou plusieurs détergents (Tween 80, Triton X-100) à 20–37 °C [25,62]	Enveloppés	Inefficace contre les virus non-enveloppés Pas, ou peu, de risques de dénaturation des protéines plasmatiques Les agents SD doivent être éliminés, (généralement par procédés chromatographiques ou extraction à l'huile) Applicable en pratique à toute la gamme des produits plasmatiques
Pasteurisation	Chauffage d'une solution à 60 °C pendant dix heures, généralement en présence de stabilisants (sucres, polyols, acides aminés) [25,27]	Enveloppés Non-enveloppés	Le parvovirus B19 peut montrer une résistance à ce traitement, selon la composition du milieu Possibilité de 10 à 30 % de pertes d'activité biologique pour les fractions coagulantes Appliqué à certaines fractions coagulantes, fibrinogène, antithrombine, alpha 1-antitrypsine, et immunoglobulines
pH acide	Incubation à un pH acide (proche de 4) pendant plusieurs heures à 25–37 °C [25,63]	Enveloppés Certains virus non-enveloppés	Réservé aux immunoglobulins G
Acide caprylique (acide octanoïque) (<pH 5.5)	Incubation à un pH inférieur à 5,5 pendant 30 à 60 minutes à 20–22 °C [28–30]	Enveloppés	Réservé aux immunoglobulins G
Nanofiltration	Filtration d'une solution protéique sur des membranes multicouches d'une porosité de 15 à 75 nm [25,32,33]	Enveloppés Non-enveloppés	L'élimination virale s'effectue par exclusion stérique en fonction du différentiel de taille des virus et des nanofiltres Applicable en pratique à toute la gamme des produits plasmatiques, y compris de haute masse moléculaire
<i>Traitement sur le flacon final</i>			
Pasteurisation	Chauffage d'une solution à 60 °C pendant dix heures dans le flacon final en présence d'acides gras stabilisateurs [25]	Enveloppés Non-enveloppés	Réservé à l'albumine
Chauffage à sec	Chauffage d'un produit lyophilisé à 80 °C pour 72 heures, ou à 100 °C pour 30 minutes, généralement en présence d'acides aminés et/ou de sucres et/ou de polyols [25]	Enveloppés Certains virus non-enveloppés	Le parvovirus B19 peut montrer une résistance à ce traitement Possibilité de 10 à 20 % de perte d'activité biologique pour les fractions coagulantes Appliqué prioritairement à certaines fractions coagulante

**Figure 6 - Spécificités des principaux procédés d'Inactivation/Élimination virale des produits plasmatiques de (10)**

Le tableau ci-dessus présente les principaux procédés d'Inactivation et d'Élimination virale des produits plasmatiques et leurs spécificités. L'Inactivation virale a pour objectif de détruire l'infectiosité des virus. La technologie la plus utilisée est le procédé thermique par solvant-détergent (S.D.) combinant le tri n-butyl phosphate (TnBP). L'Inactivation par traitement solvant-détergent consiste à une Inactivation des virus enveloppés par destruction de l'enveloppe lipidique des virus par l'action combinée d'un solvant et d'un détergent. C'est une technique très efficace d'Inactivation complète et immédiate des virus enveloppés. L'incubation S.D. est généralement mise en place lors des phases de purification des protéines ce qui permet d'exploiter les procédés de purification chromatographique des protéines pour éliminer les agents S.D. (Tween 80, Triton X-100...).

La pasteurisation, traitement de chauffage à 60°C pendant 10 heures, est également utilisée en cours de fractionnement. Elle nécessite l'ajout de stabilisant (acide

aminés, sucres, polyols...) qui doivent être éliminés après l'étape d'Inactivation virale, comme par exemple par une ultrafiltration. L'albumine est pasteurisée après conditionnement dans son contenant final en présence de stabilisants compatibles avec l'injection chez le patient. Le traitement par l'acide caprylique est un traitement d'Inactivation virale utilisé pour l'Inactivation des virus enveloppés dans certaines préparations d'immunoglobulines. Les traitements de type chauffage à sec (80°C/72heures ou 100°C/30 minutes) sont utilisés pour inactiver certains virus non-enveloppés (10).

L'Élimination virale a pour objectif d'effectuer une séparation physique entre les agents infectieux et le produit. Le seul traitement d'Élimination virale spécifique robuste repose sur les procédés de nanofiltration sur des membranes de 15 à 17 nm. L'Élimination virale s'effectue par exclusion stérique en fonction du différentiel de taille des virus et des nanofiltres (10).

Le choix de la technique d'Élimination ou d'Inactivation virale est « procédé/produit » dépendante. Le tableau ci-dessous, extrait d'un rapport technique de l'O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé) (11) décrit pour différents médicaments dérivés du plasma humains la méthode utilisée pour l'Élimination et l'Inactivation virale.

Treatment	Product type
<b>In-process</b>	
Solvent/detergent treatment	<ul style="list-style-type: none"> <li>• IgG</li> <li>• Coagulation factors (e.g. factor VIII, factor IX, prothrombin complex, fibrin sealant)</li> <li>• Protease inhibitors (e.g. antithrombin III)</li> <li>• Plasma</li> </ul>
Pasteurization	<ul style="list-style-type: none"> <li>• IgG</li> <li>• Coagulation factors (e.g. factor VIII, factor IX, von Willebrand factor, prothrombin complex, fibrin sealant)</li> <li>• Protease inhibitors (e.g. antithrombin III and alpha-1-proteinase inhibitor)</li> </ul>
Steam-treatment	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coagulation factors (e.g. factor VIII, factor IX, fibrin sealant)</li> <li>• Protease inhibitors (e.g. C1-inhibitor)</li> </ul>
Incubation at pH 4	<ul style="list-style-type: none"> <li>• IgG</li> </ul>
Nanofiltration (35 nm or less)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• IgG</li> <li>• Coagulation factors (e.g. factor VIII, factor IX, von Willebrand factor, prothrombin complex)</li> <li>• Protease inhibitors (e.g. antithrombin III)</li> </ul>
<b>Terminal (final container)</b>	
Terminal pasteurization	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumin</li> </ul>

Figure 7 - Techniques d'Élimination et d'Inactivation virale utilisées pour les produits dérivés du plasma de (11)

La pasteurisation est une étape d'Inactivation virale utilisée dans la fabrication de plusieurs médicaments dérivés du sang ou du plasma humain :

- Elle peut être utilisée en cours de fabrication (facteur de coagulation, inhibiteur de protéase...)
- Elle peut être terminale, réalisée sur le contenant final (albumine)

On retrouve également dans les procédés de fabrication des médicaments dérivés du plasma humains des étapes contributives à la sécurisation virale. Ce sont des étapes de partition des virus lors des étapes de purification. Lors de ces étapes certains virus vont être associés aux fractions éliminées (fractionnement éthanolique, précipitation caprylique, chromatographie).

Les étapes d'Inactivation ou d'Élimination virale doivent être réalisées sur des équipements qualifiés. Elles doivent également faire l'objet d'une Validation de procédé afin de documenter l'efficacité de l'étape. L'annexe 14 des G.M.P. relative aux médicaments dérivés du sang et du plasma humains fait référence à la note explicative de l'Agence Européenne du Médicament CPMP/BWP/269/95 : Etude de Validation : conception, apport et interprétation des études de Validation des méthodes d'Inactivation et d'Élimination des virus. Selon cette note explicative, ces procédés doivent être validés dans des laboratoires spécialisés de virologie. La technique de Validation de l'étape d'Inactivation ou d'Élimination virale consiste à introduire une quantité connue de virus modèle ou non dans un échantillon. Cet échantillon est ensuite soumis à l'étape à valider. Ces essais doivent être réalisés dans des conditions représentatives de l'échelle industrielle (14) et dans un laboratoire séparé des équipements de production. En effet, les restrictions G.M.P. empêchent d'introduire délibérément des virus dans les locaux de production (9).

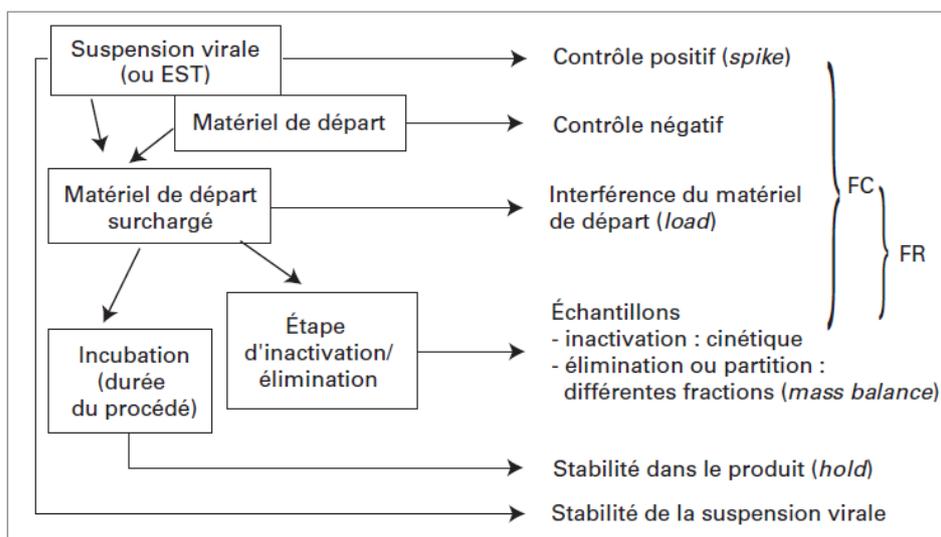


Figure 8 - Schéma d'une étude de Validation de l'efficacité d'une étape d'Inactivation ou d'Élimination virale de (8)

L'étude de Validation illustrée dans la figure ci-dessus consiste à surcharger (spike) des unités de production à l'aide de suspensions virales calibrées. Les titres viraux sont ensuite mesurés avant et après la réalisation du procédé.

Les virus utilisés en Validation doivent inclure au minimum (14) :

- VIH-1 ; il n'est pas nécessaire d'inclure VIH-2 car il est similairement affecté par les étapes d'Inactivation virale ;
- Un modèle du virus de l'hépatite C (V.H.C.)
- Un virus non enveloppé
- Un virus enveloppé à ADN

Le choix des virus pour la Validation doit tenir compte de l'efficacité de l'étape à évaluer (par exemple les virus enveloppés pour le traitement S.D.) et doit couvrir la gamme la plus large possible de virus de propriétés et caractéristiques différentes.

La plupart des Validation d'Inactivation ou d'Elimination virale utilise des souches virales de laboratoires qui peuvent être produites et dosées convenablement. Cependant les propriétés d'une souche à une autre peuvent être différentes de l'état naturel du virus. Cela a pour conséquence que tous les virus utilisés dans les Validations sont actuellement des virus modèles. On appelle virus modèle un virus dont les propriétés sont similaires aux virus d'intérêt. Le choix des modèles doit être justifié en fonction des objectifs de la Validation ; lorsqu'un deux modèles sont possibles, le modèle considéré comme le plus résistant doit être utilisé (09).

Afin d'interpréter les résultats de l'étape de Validation, un facteur de réduction est calculé et exprimé en log. Il permet d'exprimer le taux d'Elimination ou d'Inactivation virale.

$$R = \log \frac{V1 \times T1}{V2 \times T2}$$

Figure 9 - Formule de réduction virale

Avec :

- R = facteur de réduction
- V1 = volume de matière avant l'étape
- T1 = concentration de virus dans la matière de départ
- V2 = volume de matière après l'étape
- T2 = concentration de virus dans la matière après l'étape

Cette formule prend en compte à la fois le titre et le volume de matière avant et après l'étape à valider. Le facteur de réduction est normalement exprimé en échelle logarithmique ce qui implique que l'activité résiduelle du virus peut être fortement réduite, mais ne sera jamais à zéro. Un facteur de réduction de quatre logs correspond à une réduction d'une charge virale d'un facteur 10 000 et caractérise une étape efficace (08). Lorsque plusieurs étapes d'Inactivation ou d'Elimination virales sont effectuées au cours d'un procédé, un facteur de réduction virale global peut être calculé en additionnant les différents facteurs de réduction dont les mécanismes d'actions sont différents.

### **3 - Pasteurisation de l'albumine**

La pasteurisation tire son nom des travaux de Louis Pasteur sur la stabilisation des vins au XIX<sup>ème</sup> siècle. Dans les années 1850, dans un contexte d'accroissement des ventes de vins lié à des accords commerciaux passés avec l'Angleterre, Napoléon III sollicite Louis Pasteur sur le problème des maladies du vin. Le chercheur qui s'intéresse aux ferments alcooliques à l'idée de chauffer la boisson entre 55°C et 60°C. Le vin débarrassé des bactéries ne s'altère pas et conserve son bouquet : la pasteurisation est née. Cette technique permettant d'améliorer la conservation du vin a été brevetée par Louis Pasteur en 1871. Une quinzaine d'année plus tard le chimiste allemand Franz von Soxhlet adapta cette méthode au lait afin de limiter la transmission d'agents bactériens.

Aujourd'hui, plus de 10 000 brevets de pasteurisation sont recensés. La pasteurisation est un procédé utilisé dans l'industrie alimentaire pour la conservation des aliments. Ceux-ci sont chauffés à une température précise (généralement entre 62°C et 88°C), pendant une durée définie, puis refroidis rapidement : c'est une étape de débactérisation contrôlée. La pasteurisation présente également un potentiel d'Inactivation virale. Elle est utilisée dans le procédé de fabrication de certains médicaments dérivés du sang et du plasma humains. La pasteurisation est notamment utilisée pour la fabrication de solution d'albumine. Cette étape est alors revendiquée et validée comme étape d'Inactivation virale.

Les solutions d'albumine humaine sont des médicaments dérivés du plasma humains utilisées en perfusion. Ces solutions sont généralement indiquées pour la restauration et le maintien du volume sanguin circulant lorsque l'hypovolémie a été démontrée et que l'utilisation de colloïde est appropriée, plus particulièrement lorsque les colloïdes seuls ou en associations sont contre-indiqués ou ont été utilisés à leur posologie maximale (chez les brûlés graves, au cours des échanges plasmatiques, chez certains patients cirrhotiques, chez la femme enceinte, dans le syndrome de Lyell...) (15).

L'albumine est la protéine responsable de 80% de la pression oncotique. Cela permet de maintenir le sang à l'intérieur des vaisseaux assurant une tension artérielle normale. Elle permet une bonne irrigation des organes.

L'hypovolémie, c'est-à-dire un volume sanguin insuffisant, doit être corrigée rapidement car elle a pour conséquence une mauvaise irrigation des organes et un apport en oxygène limité. Le risque de défaillance d'organe est alors important (insuffisance rénale, cardiaque, hépatique...).

Les solutions d'albumine humaine font l'objet d'une monographie dans la Pharmacopée Européenne 9<sup>ème</sup> édition - Albumini humani solutio. On y retrouve les éléments suivants :

« La solution est filtrée sur membrane retenant les bactéries, puis répartie aseptiquement dans des récipients stériles qui sont ensuite fermés de façon à prévenir toute contamination. La solution est chauffée dans son récipient final à 60°C ± 1.0°C et maintenue à cette température pendant au moins 10h. » (16). Aujourd'hui, une grande majorité des pharmacopées (Brésilienne, Russe, Anglaise, Japonaise, Européenne...) imposent la pasteurisation finale des solutions d'albumine comme méthode d'inactivation virale.

La fabrication de solution d'albumine doit être en conformité avec les G.M.P. et avec les annexes ou lignes directrices suivantes :

- Ligne Directrice n°1 : Fabrication des médicaments stériles
- Annexe 14 : Fabrication des médicaments dérivés du sang ou du plasma humains.

Ces lignes directrices imposent des exigences particulières en vue de réduire au minimum les risques de contamination microbienne, particulaire et pyrogène.

L'étape de cryoprécipitation est commune à l'ensemble des produits issus du fractionnement plasmatique. L'albumine humaine est ensuite obtenue par une méthode de fractionnement éthanolique dérivée de la méthode de Cohn, modifiée par Kistler et Nitschmann, dans laquelle l'albumine demeure constamment solubilisée (17). Il s'agit d'une méthode basée sur les différences de solubilité que présentent les différentes protéines plasmatiques en fonction du pH, de la température, de la force ionique et de la concentration en éthanol du solution.

L'albumine est ensuite filtrée stérilement et répartie en flacons dans des conditions aseptiques. Les flacons sont ensuite bouchés et capsulés avant l'étape de pasteurisation. Malgré la relative stabilité de l'albumine lors de l'étape de pasteurisation, il est nécessaire de protéger la solution avec des stabilisants appropriés comme par exemple avec le caprylate de sodium. Le caprylate de sodium protège les protéines d'albumine de la dénaturation en se liant à un domaine de la protéine qui est susceptible d'être un site de repliement réversible. Ainsi, il diminue le taux de repliement réversible de la protéine qui est un état transitoire avant dénaturation irréversible de celle-ci (18). En l'absence de ces stabilisants, la dénaturation de l'albumine est inévitable et peut conduire à une agrégation progressive se traduisant par l'apparition d'une opalescence puis par une gélification complète de la solution. En l'absence de stabilisant, une solution d'albumine concentrée à 20% chauffée à 60°C devient opalescente en seulement 10 minutes et commence à coaguler à partir de 20 minutes (09). Ces stabilisants doivent être pris en compte lors de la Validation de l'étape d'Inactivation virale car ils peuvent impacter la résistance des virus au traitement thermique (14)(17).

L'étape de pasteurisation de l'albumine a été introduite aux U.S.A. au début des années 1950 afin d'inactiver le virus de l'hépatite B. L'efficacité de cette pasteurisation pour réduire le risque de transmission de l'hépatite B par des solutions d'albumine a été démontrée à l'origine chez des volontaires sains. Des études réalisées chez le chimpanzé ont montré ensuite que le virus de l'hépatite « non-A-non-B » est également inactivé par un traitement de 10h à 60°C. Depuis, diverses études in vitro ont été réalisées à l'aide de virus ou modèles. Ces études ont démontré que la pasteurisation des solutions protéiques pendant 10h à 60°C peut

être considérée comme une méthode efficace pour réduire le risque de transmission virale, bien que certains virus, comme le parvovirus, soient plus résistants que d'autres à l'Inactivation virale (17).

Virus	Envelope	Genome	Size (nm)	Viral reduction (log 10)	Duration
HIV-1	+	RNA	80-100	> 6.0	< 10 min
Pseudorabies	+	DNA	120-200	> 4.15	< 2 hrs
Sindbis	+	RNA	55-60	> 5.74	< 5 hrs
Vaccinia	+	DNA	400/200	> 4.3	< 1 hr
Parainfluenza 3	+	RNA	150-200	> 6.3	< 2 hrs
Polio Sabin	-	RNA	25-30	> 6.23	< 2 hrs
Reovirus 3	-	RNA	60-80	3.23	10 hrs

Figure 10 - Inactivation virale de la solution d'albumine par la pasteurisation de (17)

L'efficacité de la pasteurisation de la solution d'albumine a été confirmée par une étude de Validation d'Inactivation virale réalisée par Appourchaux et Burnouf en 1992. Le tableau ci-dessus indique les virus utilisés : le VIH-1 et six autres modèles de virus de différentes tailles et de structures distinctes : enveloppés ou non, à A.D.N. ou A.R.N.. Le virus Sindbis est considéré comme un modèle pour le virus de l'hépatite C en raison d'homologies structurales. La réduction virale est importante et rapide pour six des virus étudiés. Par exemple, plus de 6 logs du VIH-1 sont inactivés en moins de 10 minutes, plus de 4,3 logs du Vaccinia en moins d'une heure, plus de 6,3 logs du Parainfluenza en moins de 2 heures, plus de 6,23 logs du Polio Sabin (virus non enveloppé) en en moins de 2 heures, plus de 4,15 logs du Pseudorabies en moins de 2 heures et plus de 5,74 logs du Sindbis en moins de 5 heures. L'Inactivation du Reovirus de type 3 est non complète : 3,2 log de réduction en 10 heures. Il convient de noter cependant, que le Reovirus de type 3 est un virus non enveloppé hautement résistant.

Ces résultats indiquent que le procédé de pasteurisation, bien que pouvant montrer des limites pour les virus non enveloppés très résistants, possède un potentiel d'Inactivation virale élevé (17). Cependant, en raison de la faible réduction virale sur le Reovirus de type 3, un contrôle de la qualité virologique du plasma doit être effectué et assuré tout au long du processus de fabrication.

Les étapes d'Inactivation et d'Élimination virale doivent être réalisées sur des équipements qualifiés. L'Inactivation virale de la solution d'albumine doit se faire un pasteurisateur qualifié.

# 3<sup>ème</sup> partie - Qualification d'un pasteurisateur à ruissellement d'eau chaude

## 1 - Description du système



Figure 11 - Vue intérieure d'un pasteurisateur de (19)

L'équipement utilise comme vecteur de calories l'eau chaude pulvérisée afin de pasteuriser la charge composée d'albumine conditionnée en flacon.

Le pasteurisateur dispose au moins des éléments suivants :

- 2 portes : une côté chargement, une côté déchargement
- Des sondes de température pour le pilotage du cycle et la régulation de la température
- Des capteurs de pression pour vérifier la pression des fluides alimentant l'échangeur thermique (eau de chauffage et eau de refroidissement)
- Un échangeur thermique afin d'assurer le chauffage et refroidissement de l'eau pulvérisée
- Une pompe afin d'assurer la pulvérisation de l'eau de ruissellement
- Un ventilateur pour la déshumidification/séchage des flacons après pasteurisation
- Des organes de sécurité (boutons d'arrêt d'urgence...)

L'unité est contrôlée par une interface H.M.I. (Human Machine Interface) pilotant automatiquement le cycle.

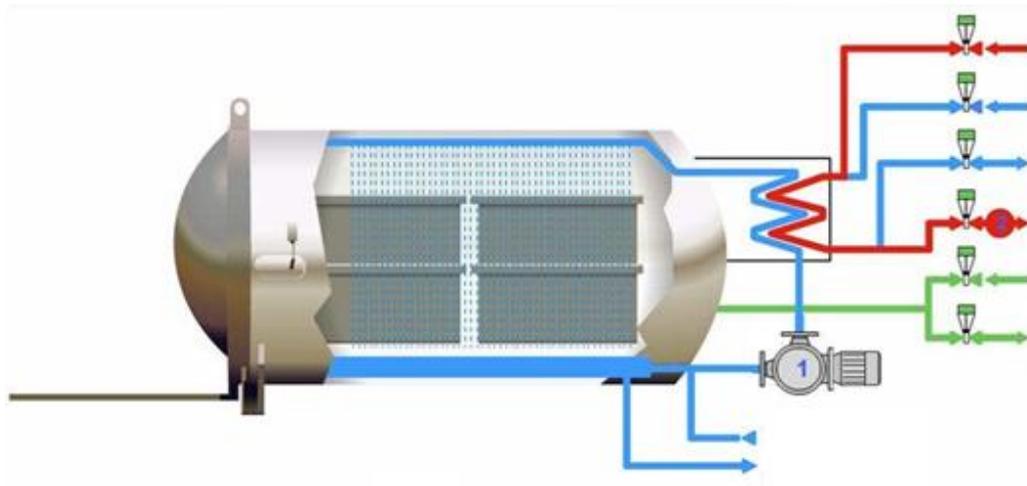


Figure 12 - Schéma d'un pasteurisateur de (19)

La charge à pasteuriser est composée de flacons d'albumine bouchés et sertis. Ces flacons peuvent être de différents formats (format 50mL, format 100mL). Ils sont positionnés sur un chariot après l'étape de répartition aseptique, bouchage et capsulage. Chaque chariot est composé de plusieurs étages de flacons. Il est possible de pasteuriser jusqu'à 6 chariots.

Le cycle de pasteurisation contient au moins les étapes suivantes :

- Phase de chargement du pasteurisateur : les chariots de flacons d'albumine sont introduits manuellement dans l'enceinte du pasteurisateur. La manutention de la charge dans l'enceinte s'effectue par l'intermédiaire d'une chaîne à taquets.
- Phase de remplissage du pasteurisateur : l'enceinte du pasteurisateur est remplie d'eau de type eau purifiée à température ambiante. Le remplissage s'effectue en « lèche-paroi », lors de cette étape les flacons ne sont pas en contact direct avec l'eau.
- Phase de chauffage : la pompe de recirculation démarre afin de pulvériser l'eau du pasteurisateur sur les flacons. Lors de son passage dans l'échangeur thermique, l'eau de ruissellement est progressivement chauffée afin d'atteindre la consigne de température de l'étape de pasteurisation : 60°C
- Phase de palier de pasteurisation: l'eau de ruissellement est maintenue à 60°C pendant 10h. Cette régulation est effectuée par l'échangeur thermique.

- Phase de refroidissement : l'eau de ruissellement est progressivement refroidie afin d'atteindre la consigne de température de l'étape de refroidissement
- Séchage des flacons : au moins un ventilateur est activé pendant cette étape. Une alternance de phases de séchage avec et sans renouvellement d'air de l'enceinte est effectuée afin sécher les flacons et de déshumidifier l'air du pasteurisateur.
- Phase de déchargement du pasteurisateur : après vérification de la conformité du cycle de pasteurisation, les chariots de flacons d'albumine pasteurisé sont retiré de l'enceinte.

Il y a deux types de sondes de température équipant le pasteurisateur :

- Des sondes de régulation qui assurent la régulation de température de l'eau de ruissellement utilisée comme vecteur calorifique pour l'étape de pasteurisation.
- Des sondes « produit » positionnées dans des flacons d'albumine afin de mesurer la température au cœur du produit pendant le cycle de pasteurisation. Ces sondes permettent de statuer sur la conformité du cycle de pasteurisation.

Ces sondes de températures représentent un élément majeur de la chaîne de mesure. Une sonde de température, une fois associée à un système de mesure, permet d'effectuer des mesures de températures : c'est la notion de chaîne de mesure.

L'ensemble des éléments constituant la chaîne de mesure impacte directement la précision de la mesure. L'incertitude de mesure de la chaîne complète de mesure est dépendante de nombreux éléments :

- La tolérance du capteur : il s'agit de la précision du capteur de température seul
- La précision du système de mesure : il s'agit de la précision à la fois électronique et de l'affichage du système de mesure
- L'inertie et le temps de réponse du capteur
- Les conditions de mesure
- L'étalonnage

L'incertitude de mesure de la chaîne complète de température doit être compatible avec les Ecart Maximaux Tolérés (E.M.T.) du cycle de pasteurisation à savoir  $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Durant les étapes de Qualification Opérationnelle et de Performance, des chaînes de mesures de températures supplémentaires vont être utilisées afin de réaliser des cartographies de température de l'équipement à vide et à différentes charges. Ce matériel afin de pouvoir être utilisé pour les essais de Qualification et Validation doit posséder un certificat d'étalonnage conforme. Les systèmes de traitement des données enregistrées doivent également être validés.

## ***2 - Stratégie de Qualification et Validation***

La stratégie de Qualification de l'équipement doit être validée et approuvée avant exécution de celle-ci. Elle peut être documentée dans un document différent du V.M.P. (Validation Master Plan), comme indiqué dans l'annexe 15 des G.M.P..

Le principal objectif de ce document que nous nommerons « Stratégie de Qualification » est de définir une stratégie globale et les différentes actions de Qualification de l'équipement.

En se basant sur les référentiels réglementaires opposables (c.G.M.P. 21 CFR parts 210 et 211, la Pharmacopée européenne, l'Eudralex Volume 4) et les référentiels internes de l'entreprise exploitante, ce document définit la démarche de Qualification et Validation en précisant notamment les livrables de Qualification et leurs enchainements.

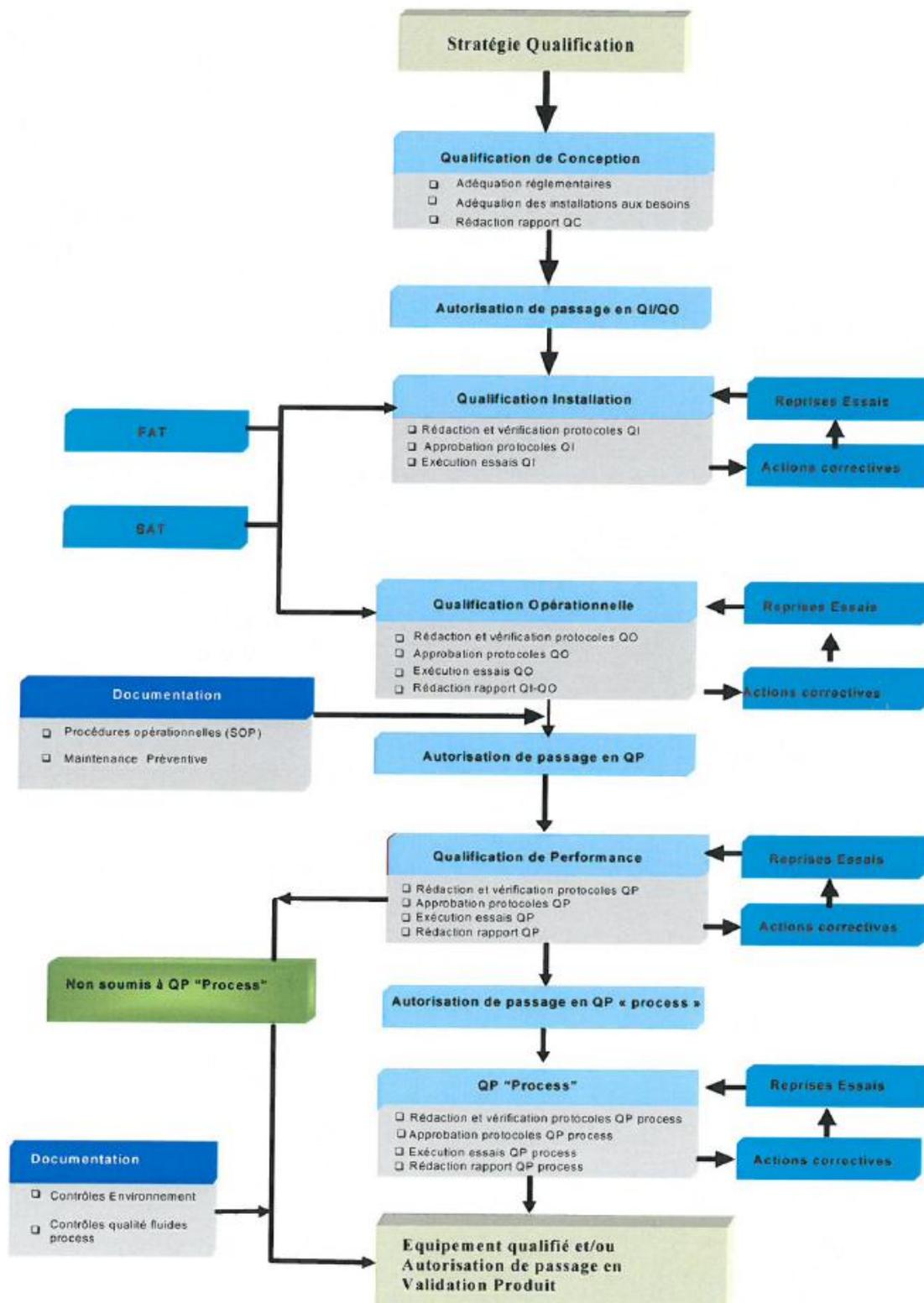


Figure 13 - Stratégie de Qualification

La stratégie peut être présentée sous forme d'un logigramme schématisant l'architecture et identifiant les étapes nécessaires au déroulement de la Qualification de l'équipement.

La stratégie de Qualification rappelle également le rôle essentiel de la définition des besoins utilisateurs (D.B.U.) et/ou cahier des charges comme document de base à l'établissement des tests de Qualification. En effet, ces documents doivent exprimer de manière claire et concise les besoins afin de pouvoir être vérifiés ou testés.

On retrouve également dans ce document :

- Les différentes étapes de Qualification et les modalités associées.
- Les responsabilités des différents interlocuteurs lors des étapes de la Qualification (Qui réalise les essais ? Qui vérifie les essais ? Qui rédige les protocoles et rapport ? Qui les vérifie ? Qui les approuve ?...)
- Les conditions de passage d'une étape de Qualification à une autre avec définition des différents types d'écarts et les actions associées.
- Les modalités de gestion des déviations et des modifications en cours de Qualification.

### ***3 - Définition des besoins utilisateur et Cahier des charges fonctionnel***

Ces documents ont pour objet de déterminer les conditions de fourniture, d'installation, de mise en service et de Qualification du pasteurisateur.

Ils définissent :

- Les documents et règlements applicables (normes européennes, réglementations pharmaceutiques...)
- Un descriptif précis du besoin
- Les données de production (taille de lot, mode d'exploitation, critères qualités...)
- Les contraintes de conception
- Les matériaux de construction (équipement et raccordement utilisés)
- Le matériel
- Des spécifications relatives à l'implantation de l'équipement (surface disponible, supportage, charge au sol...)
- Des spécifications relatives à la sécurité (niveau sonore...)

- Des spécifications relatives à la calibration des instruments et aux opérations de maintenance
- Des spécifications sur le nettoyage
- Des spécifications détaillées sur le cycle de pasteurisation
- Des spécifications sur les utilités électriques et automatismes
- Les modalités d'études, de suivi de réalisation et de réception
- Les limites de la prestation
- Un planning par étape d'avancement
- Une liste de la documentation à fournir

C'est dès cette étape que doivent être identifiés et pris en compte les paramètres critiques de l'étape de pasteurisation afin de les intégrer au plus tôt dans le processus de Qualification. Dans notre cas, la température et le temps sont les paramètres critiques. En effet, c'est le couple temps/température qui permet de réaliser l'étape de pasteurisation. Un couple temps/température non réalisé (<59°C et/ou <10h) peut remettre en cause l'étape d'Inactivation virale. Une température trop importante lors de l'étape (>61°C) peut remettre en cause l'intégrité des protéines d'albumine.

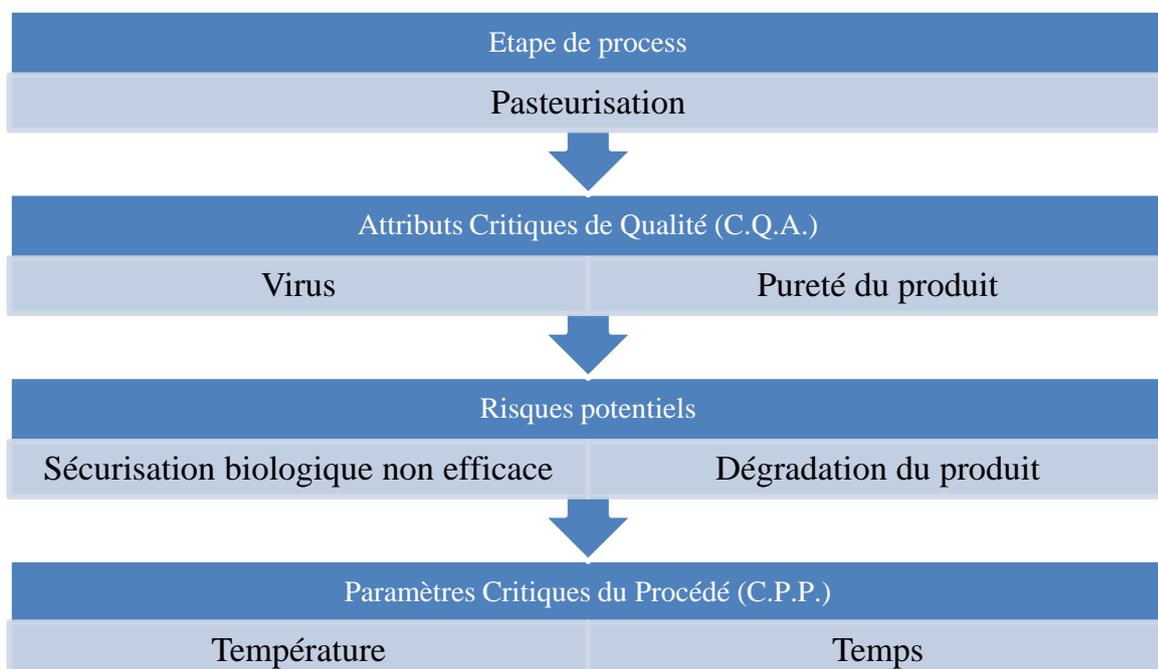


Figure 14 - CQA / CPP de la pasteurisation

## **4 - Qualification de la Conception – Q.C. 1**

### Protocole de la Qualification de la Conception – Q.C.1

L'objectif de la Qualification de Conception Q.C.1 est de s'assurer que les différents éléments de conception du pasteurisateur répondent aux exigences réglementaires applicables et aux exigences spécifiques internes de l'exploitant en termes de qualité. La Q.C.1 est une revue de conception qui consiste à vérifier que l'ensemble des exigences réglementaires applicables au pasteurisateur est bien pris en compte dans les Spécifications des Besoins Utilisateurs (S.B.U.) et le cahier des charges concernés.

Les différentes étapes de la revue de conception sont les suivantes :

1. Identifier les installations concernées par la Qualification de conception
2. Définir les référentiels réglementaires applicables aux systèmes concernés
3. Lister les documents définissant le système et les documents de conception disponibles
4. Compléter la grille de vérification de Qualification de conception afin de tracer la prise en compte des exigences dans les S.B.U. ou dans les cahiers des charges
5. Identifier les éventuelles différences et définir les actions requises
6. Statuer sur l'exhaustivité de la prise en compte des obligations réglementaires dans les S.B.U. ou les cahiers des charges

Le protocole de Qualification de Conception – Q.C.1 doit être approuvé avant la réalisation de la Q.C.1.

Le protocole consiste à identifier les chapitres des références réglementaires et des directives et de définir dans chaque chapitre, ligne directrice ou annexe, les éléments applicables ou non applicables pour l'équipement à qualifier. Les éléments applicables devront être pris en compte pour les spécifications des besoins utilisateurs (S.B.U.) ou le cahier des charges de l'équipement.

Le référentiel réglementaire utilisé pour la Q.C.1 est l'Eudralex Volume 4. Les annexes non sélectionnées sont considérées comme non applicables au système revu. Ce choix doit être justifié et documenté dans le protocole de Qualification.

Une fois les annexes identifiées comme applicables à la Qualification de conception du système, il est nécessaire de définir dans chaque chapitre les éléments applicables ou non applicables au pasteurisateur et de les prendre en compte pour les Spécifications des Besoins Utilisateurs (S.B.U.) ou le cahier des charges de l'équipement.

### Rapport de la Qualification de la Conception – Q.C.1

Le rapport de Q.C.1 permet de formaliser que la revue de conception Q.C.1 ait été réalisée sur le pasteurisateur. Il regroupe les résultats obtenus lors de l'identification des éléments réglementaires applicables ou non applicables au pasteurisateur et la justification du respect des éléments applicables à l'équipement lors de la rédaction de la S.B.U. ou du cahier des charges.

point	Description Anglaise du point	Description Française du point	présent dans le cahier des charges
<b>chapitres 3 et 5</b>			
3.34	Manufacturing equipment should be designed, located and maintained to suit its intended purpose.	Le matériel de fabrication et de contrôle doit être conçu, installé et entretenu en fonction de sa destination.	§6.7 page 10/30
3.36	Manufacturing equipment should be designed so that it can be easily and thoroughly cleaned. It should be cleaned according to detailed and written procedures and stored only in a clean and dry condition.	Le matériel de fabrication doit être conçu de façon à permettre un nettoyage facile et minutieux. Il doit être nettoyé selon des procédures écrites détaillées et rangé dans un endroit propre et sec.	§6.8 page 10/30
3.40	Balances and measuring equipment of an appropriate range and precision should be available for production and control operations.	Les balances et le matériel de mesure doivent être de portée et de précision appropriées aux opérations de production et de contrôle.	§6.6 page 10/30
5.38	Any necessary in-process controls and environmental controls should be carried out and recorded.	Les contrôles en cours de fabrication et les contrôles de l'environnement qui s'imposent doivent être effectués et enregistrés	§8.2.4 page 22/30

Figure 15 - Extrait de rapport de Q.C.1

Le tableau ci-dessus est un extrait du rapport de Q.C.1. Il illustre une partie des points des chapitres 3 (locaux et matériel) et 5 (production) des G.M.P. applicables et

donc opposables au pasteurisateur. La Q.C.1 a pour objectif de vérifier et documenter que ces obligations sont reprises dans le cahier de charge de l'équipement.

## **5 - Qualification de la Conception – Q.C. 2**

La Qualification de conception Q.C.2 a pour objectif de s'assurer que l'équipement qui est proposé par le fournisseur retenu correspond aux besoins utilisateurs identifiés et au cahier des charges dans le respect des exigences réglementaires applicables au pasteurisateur. La Q.C.2 permet de statuer sur la conformité ou non du respect de ces critères dans la conception du système et permet, le cas échéant, d'identifier les différences et de définir les actions requises. La Q.C.2 est également une étape bloquante pour le passage en Qualification d'installation.

Pour la Q.C.2 de notre pasteurisateur, les écarts observés entre la proposition du fournisseur et le cahier des charges ne sont pas des écarts aux exigences réglementaires. Ces écarts ont été évalués comme n'impactant pas la qualité du produit et comme étant acceptables. Cette évaluation doit être documentée.

## **6 - F.A.T. / S.A.T.**

L'équipement peut être évalué chez le fournisseur avant la livraison afin de confirmer la conformité avec l'U.R.S. avant l'installation : c'est l'étape de F.A.T. (Factory Acceptance Test). Il s'agit généralement d'un examen documentaire, cependant certains tests peuvent être effectués durant les F.A.T. (ou pendant les autres étapes). Ces derniers ne doivent pas nécessairement être répétés sur le site destinataire durant les phases Q.I./Q.O. si la fonctionnalité n'est pas affectée par le transport ou l'installation. Les F.A.T. peuvent être complétés par l'exécution d'une S.A.T. (Site Acceptance Test) à la suite de la réception de l'équipement sur le site de l'exploitant. Les F.A.T. et S.A.T. ne représentent pas une exigence réglementaire.

Dans notre cas pratique, la rédaction des documents de F.A.T./S.A.T. a été à la charge du fournisseur de l'équipement. Ces documents ont été vérifiés et approuvés par la société exploitante avant toute exécution. Afin de pouvoir être valorisés en Q.I. (Qualification d'Installation)/Q.O. (Qualification Opérationnelle), les tests de F.A.T./S.A.T. doivent être pertinents en termes de traçabilité et de qualité.

Pour que les F.A.T./S.A.T. soient valorisables, leurs déroulements ont dû se faire en présence de représentants de la société exploitante et aucune modification (ou démontage) n'a dû être apportée sur l'installation pouvant remettre en question les résultats obtenus lors des F.A.T./S.A.T..

### **Essais réalisés lors des F.A.T. :**

#### Test documentation :

L'objectif de ce test est de vérifier que tous les documents énumérés dans l'offre du fournisseur et le cahier des charges de l'équipement aient été fournis et que la version observée soit conforme à la version attendue.

Les documents à vérifier sont par exemple :

- Le manuel d'utilisation et de maintenance
- Les schémas électriques et pneumatiques
- Le P.I.D. (Piping and Instrumentation Design)
- Attestation C.E.
- Certificats Matières

#### Test dimensionnel :

L'objectif de ce test est de vérifier les aspects dimensionnels du pasteurisateur (cotes) par rapport aux plans. Il permet également de vérifier que les types de raccordement utilisés et les soudures visibles des tuyauteries soient conformes à l'attendu.

#### Test des composants :

L'objectif est de vérifier que les spécifications (certificat matière, n° de série, repérage P.I.D., position, type, certificat d'étalonnage...) des différents éléments (sondes de température, capteurs de pression, pompe, vannes...) composant le pasteurisateur soient conformes à l'attendu.

#### Vérification de l'homogénéité du débit d'aspersion :

L'équipement utilise comme vecteur de calories l'eau chaude pulvérisée afin de pasteuriser la charge. Il est donc nécessaire de vérifier que le débit d'aspersion soit homogène sur l'ensemble de la zone utile de pasteurisation. Il s'agit de mesurer la durée de remplissage d'un contenant de taille suffisamment importante pour que la

mesure soit représentative (environ 120 litres). La durée de remplissage du contenant est mesurée à différentes positions dans le pasteurisateur afin de couvrir l'ensemble de la zone utilisée de l'équipement.

Les durées de remplissage sont ensuite comparées en fonction de la tolérance acceptable pour cet essai. Le choix de cette tolérance doit être documenté et justifié dans le protocole. Il se base les préconisations du fabricant de l'équipement.

L'homogénéité de température de l'eau de ruissellement sera vérifiée et documentée lors de la Qualification Opérationnelle.

#### Autres test réalisés durant les F.A.T. :

- Vérification de la fonctionnalité de l'audit trail,
- Crash Test,
- Simulation des conditions de départ de cycle,
- Simulation des séquences du cycle,
- Sécurité des portes,
- Protection électriques,

Les F.A.T. ont fait l'objet d'un rapport d'analyse mentionnant les écarts à lever. Les résultats ont été approuvés par un représentant de la société exploitante. Les non conformités observées ont dû être levées pour la S.A.T. (exemples de non-conformité pouvant être observée lors d'une F.A.T. : absence d'étiquetage de certains composants, soudure non conforme...)

Les tests concernés ont été effectués en priorité lors de la réception sur site avant le déroulement des autres étapes de Qualification.

#### Essais réalisés lors des S.A.T. :

##### Montage composants & Vérification P.I.D. :

Ce test a pour objectif de vérifier que les composants listés dans le P.I.D. soient correctement montés, fixés et repérés. Il s'agit ici d'une vérification à 100% des éléments et de leurs identifications.

### Vérification des schémas électriques et pneumatiques :

Ce test permet de vérifier la conformité de l'installation vis-à-vis des schémas électriques et pneumatiques. Il s'agit d'une vérification à 100% des câblages et des identifications relatifs aux schémas précédemment nommés.

### Vérification des sécurités et voyants de portes :

Les conditions d'ouverture/fermeture des portes du pasteurisateur et le fonctionnement correct des voyants d'état des portes sont vérifiées. Les conditions d'ouvertures des portes sont asservies à la pasteurisation de la charge, par exemple il n'est pas possible d'ouvrir la porte côté déchargement si un cycle de pasteurisation n'a pas été réalisé.

### Manutention de la chaîne à taquets :

Ce test permet de vérifier la manutention automatique des chariots de flacons d'albumine dans le pasteurisateur. Il s'agit d'une fonctionnalité critique car le produit est sensible aux conditions de stress. Il est donc important de vérifier et documenter l'absence d'agitation des flacons lors de la manutention automatique des charges dans le pasteurisateur.

### Séchage des flacons :

Ce test permet de vérifier l'état sec à l'issue de la phase de séchage des flacons, leur stabilité durant cette phase et le niveau sonore dans le local de déchargement provoqué par les ventilateurs de l'équipement. L'état sec est vérifié visuellement et unitairement après un cycle de pasteurisation. Le niveau sonore est vérifié avec un décibelmètre.

### Conditions de départ de cycle

Ce test permet de vérifier qu'il est impossible de lancer un cycle de pasteurisation sans que toutes les conditions de départ de cycle soient réunies (absence d'alarme, portes fermées et verrouillées, utilités disponibles...)

### Fonctionnalité des arrêts d'urgence :

Ce test permet de tester la fonctionnalité des différents arrêts d'urgence du pasteurisateur et de vérifier le résultat attendu (alarme, sorties inactives, cycle à l'arrêt...).

### Défauts disjoncteurs

Ce test permet de vérifier le fonctionnement des alarmes relatives aux déclenchements des différents disjoncteurs du pasteurisateur.

### Gestion boucle Eau Purifiée

Ce test permet de vérifier le séquençage du puisage d'eau purifiée. L'eau purifiée utilisée sur l'équipement est puisée sur une boucle d'eau purifiée alimentant différents équipements. Il est donc nécessaire d'effectuer une demande d'autorisation de puisage à l'automate gérant cette boucle d'eau purifiée. Le séquençage d'ouverture et fermeture des vannes lors du puisage de l'eau purifiée doit être vérifié et documenté afin d'éviter une rétrocontamination de la boucle d'eau purifiée lors du puisage.

### Métrologie :

Ce test permet de vérifier la conformité des certificats d'étalonnage ou des constats de vérifications métrologiques selon les procédures internes de la société exploitante (sondes de température et manomètres).

### Qualification de la supervision de l'équipement :

De nombreuses fiches essais ont été réalisées pour la Qualification de la supervision du pasteurisateur. De manière générale ces tests s'inscrivent dans une démarche 21CFR Part11 et EU GMP Annexe 11 et reprennent les principes de « Data Integrity ». Ces essais ont pour objectif de vérifier et documenter que l'ensemble des données générées par le système (équipements et supervision) soit préservé. Ainsi, les données doivent respecter le principe ALCOA précédemment décrit.

Cela se traduit par exemple par la vérification documentée de :

- de l'audit trail (traçabilité et exhaustivité des événements)
- de la gestion de compteurs utilisateurs et mot de passe
- la traçabilité des modifications des paramètres et recettes de l'équipement
- la conformité de la signature électronique du rapport de pasteurisation

Les étapes de F.A.T. et S.A.T. ont fait l'objet d'un rapport qui a été validé et approuvé par la société exploitante. La clôture des S.A.T. représente généralement

la fin de la présence et de l'assistance du fournisseur de l'équipement dans le processus de Qualification. Dans ces conditions, la société exploitante se retrouve seule pour finir le processus de Qualification initiale, d'où l'importance de ces précédentes phases de Qualification pouvant également servir de phases d'apprentissage de l'équipement.

## **7 - Qualification d'Installation et Qualification Opérationnelle**

La Qualification d'Installation (Q.I.) permet de vérifier et de documenter que l'équipement soit conforme à la conception approuvée et aux recommandations du fabricant. Il s'agit d'une vérification « statique ».

La Qualification Opérationnelle (Q.O.) permet de vérifier et de documenter que l'équipement fonctionne comme prévu sur toute la gamme d'exploitation. Il s'agit d'une vérification « dynamique à vide ».

### **PROTOCOLE :**

Dans le cadre de la Qualification du pasteurisateur, il a été décidé de rédiger un protocole commun pour les étapes de Q.I. et Q.O.. Ce choix a été justifié et documenté dans « La stratégie de Qualification » car les essais de Q.I. et Q.O. sont composés majoritairement d'essais valorisés de F.A.T. et S.A.T..

Les tests effectués lors des phases de F.A.T. et S.A.T. pourront être valorisés uniquement si les conditions suivantes sont respectées :

- ✓ Les protocoles des F.A.T. et S.A.T. doivent être approuvés par l'entreprise exploitant l'équipement.
- ✓ Les tests des F.A.T. et S.A.T. doivent être effectués en présence d'un représentant de l'entreprise exploitant l'équipement.
- ✓ Les tests doivent être exécutés conformément au protocole de F.A.T. ou S.A.T. et suffisamment documentés.
- ✓ Les tests doivent être conformes, sans écart non soldés, avec visa du fournisseur et d'un représentant de l'entreprise exploitant de l'équipement.

L'objectif de ce protocole de Q.I./Q.O. est de décrire les essais et définir les critères d'acceptation pour réaliser la Qualification d'installation et opérationnelle du nouveau pasteurisateur selon les fiches d'essais jointes au protocole.

Ce protocole s'applique à la Qualification initiale de l'équipement et consiste à :

- Fournir les preuves documentées que les éléments du système sont correctement installés et que la documentation technique est présente et conforme par rapport aux spécifications requises (Q.I.).
- Fournir les preuves documentées que les éléments du système fonctionnent correctement par rapport à l'attendu (Q.O.).
- Définir les critères d'acceptation, en fonction des références réglementaires et des directives reportées dans le protocole.
- Décrire les modes opératoires des tests.
- Prévoir les formulaires utilisés pour l'enregistrement simultané des résultats et des observations, lors de la conduite des essais selon les modes opératoires décrits.

Le protocole doit également fournir une description de l'équipement concerné par l'étape de Qualification et définir les paramètres critiques du procédé précédemment défini.

Doivent également figurer dans le protocole les références documentaires applicables à l'étape de Qualification concernée. Il est également nécessaire de lister les référentiels internes de l'entreprise exploitant de l'équipement tels que les procédures générale de Qualification et Validation ou les modes opératoires de gestion des déviations dans le cadre des opérations de Qualification et Validation.

Le protocole de Qualification d'installation et opérationnelle doit également clairement identifier les responsabilités inhérentes au déroulement de ce protocole. Ainsi, il définit la responsabilité de l'exécution des essais, la responsabilité de vérification du bon déroulement des essais et de la collecte des informations. Enfin, le protocole doit lister les différents essais à effectuer pour l'étape de qualification concernée (N° de référence et intitulé de la fiche essai), la logique d'enclenchement entre les essais et entre les différentes étapes de Qualification (prérequis pour l'autorisation de passage en Q.P.).

#### Essais réalisés lors de la Q.I. :

Dans notre cas, l'ensemble des essais demandés dans le protocole pour l'étape de Q.I. a été réalisé lors des tests F.A.T. et S.A.T.. L'étape de Q.I. a donc été une

vérification documentaire des tests de F.A.T. et S.A.T. afin les valoriser en Q.I. selon les modalités définies dans le protocole de Q.I.Q.O.. Ces essais ont été réalisés lors des S.A.T. et F.A.T. afin de bénéficier de l'expertise du fournisseur pour la réalisation des essais.

#### Essais réalisés lors de la Q.O.. :

Comme pour la Q.I., des tests de FAT et SAT ont été valorisés. Cependant, des essais complémentaires ont été réalisés :

- Vérification de l'existence des documents de production. Cet essai consiste à vérifier l'existence de la documentation gérée dans le système qualité de la société exploitante pour l'utilisation de l'équipement. Cela concerne les modes opératoires d'utilisation de l'équipement, les gammes de maintenance, la « check list » d'habilitation, le formulaire de vérification métrologique...

La documentation constitue un élément essentiel du système de management de la qualité et permet d'assurer la conformité des opérations pharmaceutiques aux exigences réglementaires. Ces documents doivent être gérés dans un système de gestion documentaire adéquat permettant d'établir, de contrôler, de surveiller et d'enregistrer toutes les activités impactant sur la qualité du médicament.

Ces documents doivent être compréhensibles, mis à jour, gérés et disponibles.

Les procédures sont décrites dans les B.P.F. comme un document donnant des « indications nécessaires à la réalisation de certaines opérations » (5). Dans notre cas, une procédure d'utilisation du pasteurisateur a été créée et permet de définir les modalités d'utilisation de l'équipement conformément à l'état qualifié et aux exigences réglementaires.

Ce document définit le mode de chargement et de déchargement du pasteurisateur ; le mode de lancement, de suivi et d'arrêt d'un cycle de pasteurisation et les modalités de pilotage, en manuel, de l'équipement. Ce mode opératoire est disponible au poste de travail et fait l'objet d'une prise de connaissance dans le processus de formation et d'habilitation à la réalisation de l'étape de pasteurisation.

Les paramètres de l'équipement et des recettes doivent être également documentés et gérés au sein du système documentaire.

- Vérification de la formation du personnel. Cet essai consiste à vérifier la formation du personnel à la fin de la Q.O.. En effet, les essais de Q.P. doivent être réalisés par du personnel formé et habilité à conduire l'équipement.

La formation du personnel doit être documentée afin de tracer le parcours de formation du personnel réalisant les opérations de pasteurisation.

Dans notre cas, le processus de formation se décompose en plusieurs phases :

- Une phase de prise de connaissance documentaire de la documentation applicable pour la réalisation de l'opération. Cela concerne au minimum les documents précédemment cités.
- Une phase de formation au poste de travail. Une personne « qualifiée » effectue et explique l'opération sous le regard du tuteur.
- Une phase d'entraînement. Le tuteur effectue l'activité sous le regard du tuteur.
- Une phase d'évaluation. Le tuteur exécute seul l'activité sous le regard d'une personne « qualifiée ». L'intervention de la personne « qualifiée » doit se limiter en cas de la présence de risque pour le tuteur (risque sécurité) ou le produit (risque qualité).
- Une phase d'habilitation. Il s'agit d'une phase de vérification documentaire permettant de documenter que le tuteur a reçu l'ensemble des formations théoriques et pratiques relatives à son poste de travail et que les résultats obtenus soit jugés satisfaisants.

L'habilitation du personnel doit être prononcée par une personne compétente. Des réévaluations et réhabilitations périodiques doivent être réalisées. Le choix de la fréquence des réévaluations et réhabilitations doit être documenté dans le système de management de la qualité. La fréquence de réhabilitation peut être déterminée en prenant en compte les risques d'erreurs humaines liés à l'activité soumise à habilitation :

- Déteçtabilité : est-il possible de détecter une erreur humaine lors de l'opération ?
- Récurrence : une erreur humaine s'est-elle déjà produite ?
- Gravité : une erreur humaine sur cette opération peut-elle avoir un impact sur le produit fini (identité, rendement, qualité, pureté, sécurité, impact patient...)?

Une grille de cotation permet d'obtenir un score par item et de définir une période d'habilitation en fonction du score total.

- Vérification de la distribution de température : il s'agit d'une vérification « dynamique à vide ». Ce test a pour but de réaliser une cartographie de la distribution de température de l'enceinte lors d'un cycle de pasteurisation à vide. Le choix du nombre de sondes utilisées doit être documenté dans le protocole. La vérification de la distribution de température permet d'identifier un point « froid » et plusieurs points « chauds ».

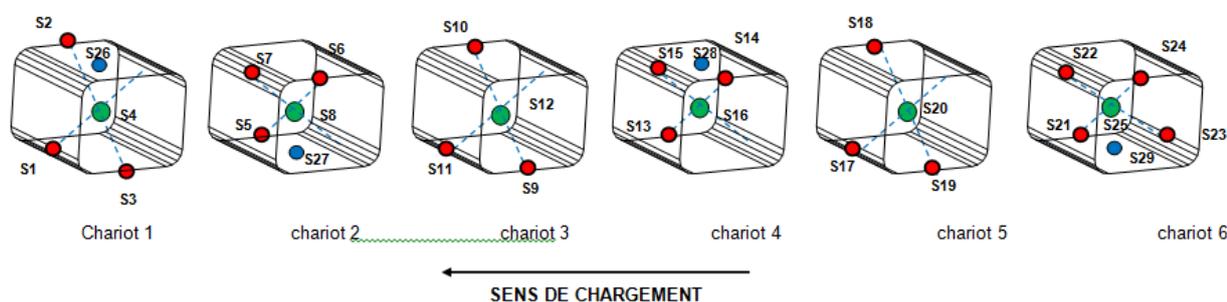


Figure 16 - Plan de chargement des sondes pour la vérification de la distribution à vide

Un nombre adapté de sondes a été positionné selon le plan de chargement présenté ci-dessus. Un cycle de pasteurisation à vide est ensuite effectué et les données des sondes sont analysées. Les courbes de températures des sondes pendant le palier de pasteurisation sont présentées dans le graphique ci-après. Les critères d'acceptations pour cet essai sont les suivants :

Paramètre	Attendu
Homogénéité des températures pour une T°C de consigne de 60°C	Température comprise entre 59,5°C et 60,5°C pendant le palier
Stabilité des températures pour une T°C de consigne de 60°C	$\pm 0,5^\circ\text{C}$ de 60°C pendant un temps le palier

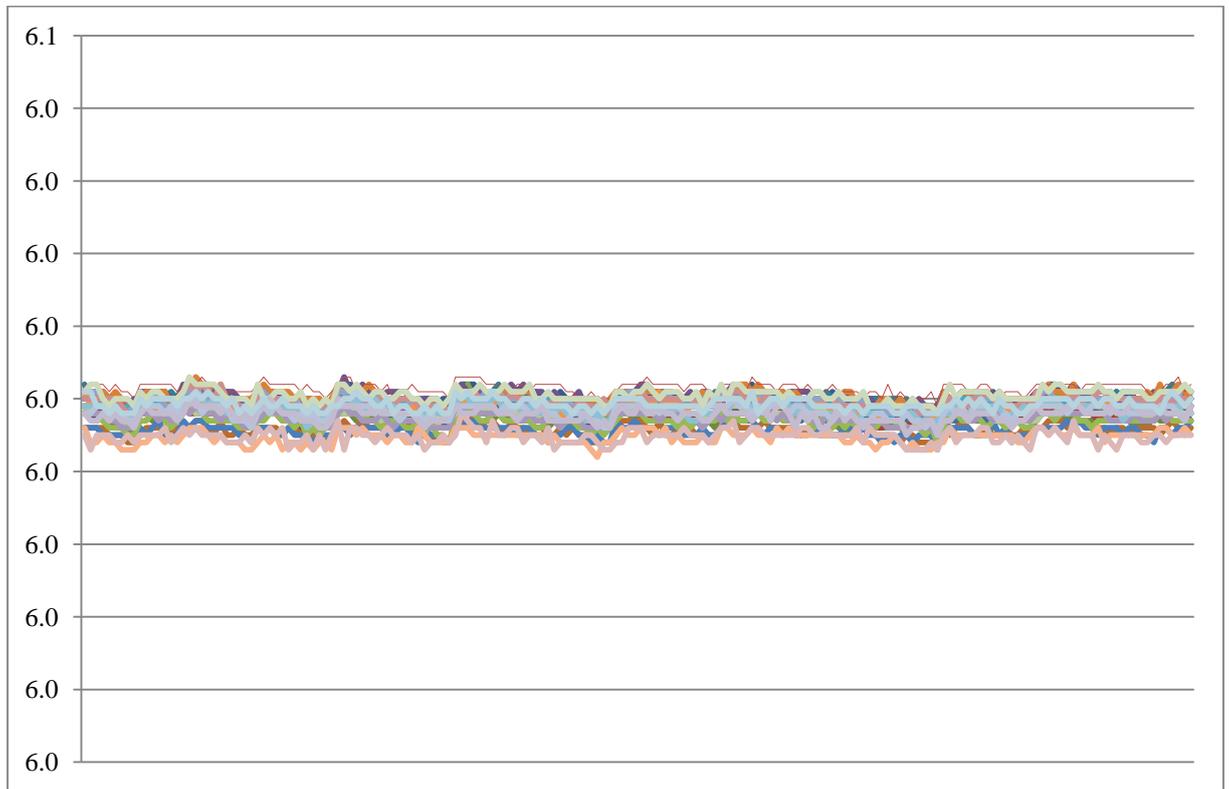


Figure 17 - Cartographie de température à vide 1/2

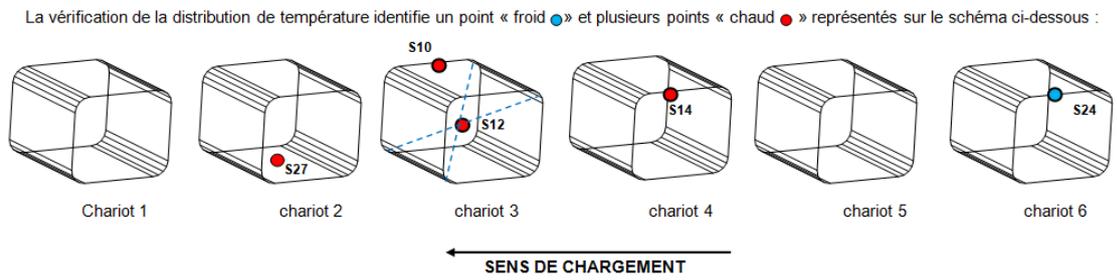


Figure 18 - Cartographie de température à vide 2/2

La figure ci-dessus illustre le positionnement des points chaud et froid de l'équipement. Les termes points chaud et froid sont tout à fait relatifs, effectivement les valeurs constatées pour le point « froid » et les points « chaud » sont respectivement de 59,92°C et 60,03°C, soit une différence de 0,11°C. Par cet écart correspondant à la précision des sondes utilisés ( $\pm 0,1^\circ\text{C}$ ), il faut considérer qu'il n'y a ni point réellement froid et ni point réellement chaud lors d'un cycle de pasteurisation à vide. Ceci apporte un premier élément concernant la maîtrise de la température de pasteurisation qui est paramètre critique du procédé.

- Vérification de la base de temps : il s'agit d'un essai permettant de vérifier la maîtrise du second paramètre critique qualité. Ce test consiste à vérifier que la base de temps du H.M.I. (Human Machin Interface) ne dérive pas. Cet essai consiste à vérifier qu'il n'y ait pas de différence significative entre la base de temps de l'équipement et une base validée métrologiquement. Cette mesure doit au minimum s'effectuer sur une durée équivalente à celle d'un cycle complet de pasteurisation.
- Vérification des alarmes : il s'agit d'une vérification documentée de l'ensemble des alarmes de l'équipement. L'objectif est de vérifier pour chaque alarme : les modalités de déclenchement et d'acquiescement, le message d'alarme et l'activation des alarmes lumineuses et sonores.

#### RAPPORT :

Le rapport de Qualification d'installation et opérationnelle doit faire figurer de manière claire la conclusion du rapport, les éventuelles déviations associées et le statut de l'étape de Qualification (accepté sans déviation, accepté avec déviation, refusé). Dans notre cas, les résultats sont déclarés acceptés sans déviation et le passage en Qualification de performance est autorisé.

### ***8 - Qualification de performance***

La Qualification de performance (Q.P.) permet de vérifier et de documenter que l'équipement fonctionne de manière efficace et reproductible selon une méthode opérationnelle approuvée et les spécifications du produit. Il s'agit d'une vérification « dynamique en charge ».

Il s'agit probablement de la partie la plus intéressante de la Qualification. En effet, c'est la dernière étape d'une Qualification initiale d'un équipement ; la fin du processus n'a jamais été aussi proche.

#### PROTOCOLE :

##### Objectif et domaines d'application :

Le protocole de Qualification de performance défini - et une fois approuvé autorise - l'exécution des fiches essais rattachées et les critères d'acceptation fixés.

L'objectif de la Qualification de Performance est de fournir les preuves documentées que le pasteurisateur atteint les performances attendues, c'est-à-dire de réaliser un chauffage de différents formats de flacons d'albumine pendant 10 heures à 60°C quel que soit le format et la charge en flacons dans le pasteurisateur. Le protocole a donc pour objectif de décrire les essais et définir les critères d'acceptation associés pour réaliser cette Qualification de performance sur le système isolé que constitue le pasteurisateur selon les fiches essais jointes au protocole. Enfin le protocole rappelle les modalités de gestion des déviations rencontrées lors de l'étape de Qualification.

#### Prérequis à la Qualification de performance :

Le protocole énumère les prérequis à la Qualification de performance.

Ainsi, le pasteurisateur et ses constituants (chariots, chaînes de mesures, déroulement de recettes, fonctionnement, pupitre de commandes...) doivent être qualifiés en Q.I. et en Q.O. sans déviation bloquante. L'autorisation de passage en Qualification de Performance doit être donnée selon le rapport de Q.I. / Q.O..

Concernant les locaux de chargement et de déchargement du pasteurisateur, ils ne nécessitent pas de Qualification étant donné qu'ils sont dans un environnement non classé. En effet, les flacons à pasteuriser sont bouchés et sertis ; leur intégrité est assurée, il n'y a pas de risque de contamination chimique, physique ou microbiologique. Les utilités mises en œuvre pour le fonctionnement de l'autoclave doivent être également qualifiées et la référence du rapport doit être disponible. Le personnel habilité pour la conduite de l'équipement doit être clairement identifié et les procédures d'utilisation de l'équipement doivent être disponibles.

#### Méthodologie

Le protocole de Qualification de performance est support à justifier la démarche par une analyse de risque ou d'impact. Il fournit également les preuves documentées que le fonctionnement en charge du pasteurisateur est conforme aux spécifications annoncées par le fournisseur et exigées par le producteur et la réglementation pharmaceutique en vigueur. Il décrit également les modes opératoires des tests à effectuer et prévoit les formulaires devant être utilisés pour l'enregistrement simultané des résultats et observations lors de la conduite des essais selon les modes opératoires décrits.

## Stratégie – Analyse de risque

Afin de s'assurer de la cohérence de la démarche de Qualification de performance et de la gestion du risque produit, il a été procédé à une analyse de risque, selon les axes suivants :

- Identifier les risques « produit »
- Evaluer les « roots cause » probables des risques identifiés
- Décrire les moyens d'essais de Q.P. pour s'affranchir des risques

### Les risques « produit » :

Il a été identifié comme « risque produit » :

- Traitement thermique trop faible/trop fort, c'est-à-dire hors critère de T° : 60°C +/- 1°C
- Traitement thermique hétérogène, c'est à dire différence significative de température mais comprise dans l'intervalle admissible c'est-à-dire entre 59°C et 61°C

### Les « roots causes » :

Il a été évalué les causes probables suivantes qui pouvaient induire les risques « produit » :

- Les contraintes de ruissellement
- Les différences entre les chariots des différents formats d'albumine
- Le positionnement des flacons dans la charge
- La variabilité de la masse de verre

## Essais de Q.P. : mesure et maîtrise des risques induits

« Risque »	Root cause	Conditions d'essais	Description	Paramètres techniques
Traitement thermique trop important	Contraintes de ruissellement + configuration chariot	Cartographie charge minimum sur 2 formats	Étage le plus bas du chariot rempli à 100% sur 1 seul chariot coté porte déchargement	Ruissellement d'eau chaude du haut vers le bas dans l'ensemble du pasteurisateur
		Mapping des étages selon un plan de distribution croisé de 120 sondes	Pénétration de température : 6 sondes / étages soient 18 sondes par chariots (27 sondes pour le 1 <sup>er</sup> chariot) soit pour une charge de 4 chariots = 81 sondes et une charge de 6 chariots = 117 sondes	
Traitement thermique trop faible ou non homogène	Variabilité de la charge	Cartographie charge intermédiaire sur 2 formats sur 4 chariots	100% des étagères complétées	Charge maximum en masse de verre et en contrainte de ruissellement : ruissellement insuffisant sur les étagères inférieures
		Cartographie charge maximum sur 2 formats sur 6 chariots		
	Configuration chariot	Contraintes géométrique chariot/étagères	Disposition variable des étagères	Contraintes de ruissellement : zones « d'ombre » de ruissellement

Figure 19 – Q.P. : mesure & maîtrise risques induits

L'analyse de risques ci-dessus permet de définir les charges à prendre en compte pour les essais de Q.P.. Il faut pour chaque format qualifier :

- Une charge minimum
- Une charge intermédiaire
- Une charge maximum

Chaque essai doit être réalisé à trois reprises afin de vérifier la robustesse du procédé. Cela représente donc dix-huit essais (9 essais par format). Le protocole Q.P. référence l'ensemble des tests à effectuer lors de l'étape de la Q.P..

Il n'existe pas à proprement dit de document justifiant le nombre et le positionnement de sondes de température à utiliser lors d'une cartographie d'un pasteurisateur. Cependant les deux normes de caractérisation des enceintes climatiques que sont les NF X 15-140 et CEI 60068-3 sont bonnes à connaître. Bien que destinées à des enceintes à pression atmosphérique, elles peuvent donner des lignes de conduite pour les autoclaves, lyophilisateurs, pasteurisateurs...

Le nombre « par défaut » indiqué dans ces normes est défini en fonction du volume, supposé parallélépipédique. Ce nombre peut être, dans certains cas, non pertinent pour un autoclave. Dans les cas particuliers, le nombre de sondes est à l'appréciation de l'utilisateur. De manière générale, c'est la règle de 12 sondes par m<sup>3</sup> utile qui est utilisée. La distribution des sondes s'effectue ensuite de manière géométrique afin de couvrir un volume optimal et représentatif. Le tableau ci-dessous présente le nombre de sonde utilisé par format et type de charge

Formulation Albumine	Format 50mL			Format 100mL		
	Charges minimum	intermédiaire	maximum	minimum	intermédiaire	maximum
Nombre de chariot	1	4	6	1	4	6
Nombre de sonde	13	81	117	13	81	117

Figure 20 - Nombre de sondes par essai

Pour chaque essai à réaliser, il existe une fiche essai qui précise le positionnement des sondes de température. Le positionnement de chaque sonde dans la charge fait l'objet d'une double vérification qui est tracée dans la fiche essai. La figure ci-après présente le plan de positionnement des sondes pour une charge de type maximum.

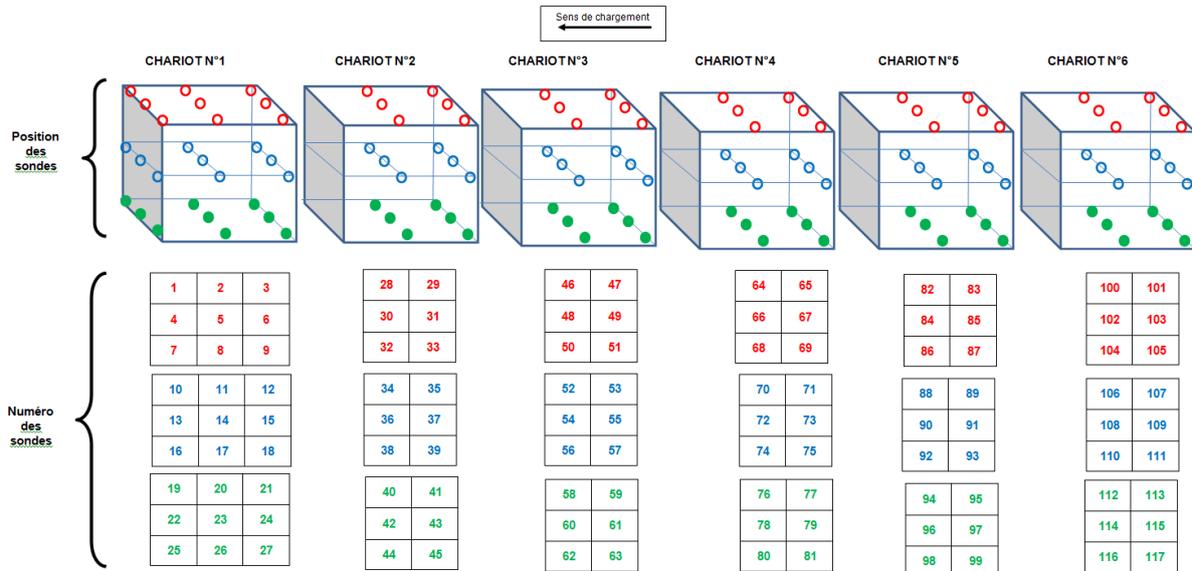


Figure 21 - Exemple de plan de positionnement des sondes de Qualification

Chaque sonde est placée au centre du flacon afin d'enregistrer la température au cœur de la charge. Le positionnement de l'enregistreur (boîtier noir sur la photo ci-dessous) est volontairement éloigné du groupe de flacon accueillant la sonde afin de rester dans les conditions de production.



Figure 22 - Sondes de Qualification

La conformité des essais de Q.P. s'effectue sur les résultats des sondes de température. Le critère d'acceptation pour ces essais est « températures des sondes comprises entre 59°C et 61°C pendant un temps supérieur ou égal à 10 heures ».

Ainsi pour chaque essai, une analyse des données des sondes de température est effectuée. Les éléments ci-dessous doivent figurer dans la fiche essai :

- Minimum du Minimum : correspond à la température la plus « froide » pendant le palier de pasteurisateur.
- Maximum du Minimum : pour chaque sonde le minimum mesuré pendant le palier de pasteurisation est relevé ; cette valeur correspond à la plus grande valeur enregistrée sur l'ensemble des minimums des sondes.
- Minimum du Maximum : pour chaque sonde le maximum mesuré pendant le palier de pasteurisation est relevé ; cette valeur correspond à la plus petite valeur enregistrée sur l'ensemble des maximums des sondes.
- Maximum : correspond à la température la plus « chaude » pendant le palier de pasteurisation.
- Temps minimum de palier : correspond à la durée de palier minimum enregistrée sur une sonde.
- Temps maximum de palier : correspond à la durée maximum de palier enregistrée sur une sonde.

## RESULTATS DES ESSAIS :

### Résultats cycle de pasteurisation du format 100mL – charge minimum :

La figure ci-dessous décrit le positionnement des 13 sondes utilisées pour la cartographie de température de la charge minimum du format 100mL.

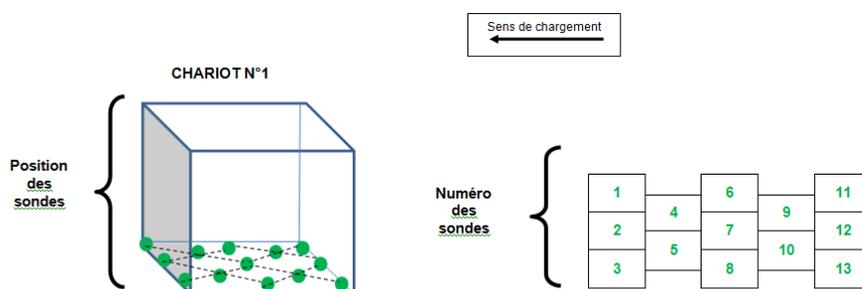


Figure 23 - Positionnement sondes pour cartographie charge minimum

essai	1	2	3
<b>Temps mini entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h21mn	10h30mn	10h20mn
<b>Temps maxi entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h24mn	10h32mn	10h23mn
<b>T°C Moyenne palier</b>	59,98	59,98	59,99
<b>T°C Maxi palier</b>	60,02 ●	60,02 ●	60,03 ●
<b>T°C Mini palier</b>	59,91 ●	59,95 ●	59,87 ●

Figure 24 - Résultats cartographie température format 100mL - charge minimum

Le tableau ci-dessus reprend les résultats des trois essais sur la charge minimum du format 100mL. Les temps de palier observés pour les 13 sondes positionnées dans la charge vont de 10h20 à 10h32. L'étendue entre le point chaud (60,03°C) et le point froid (59,87°C) est de 0,16°C. Le graphique ci-dessous illustre le positionnement des points chaud et froid pour cette charge.

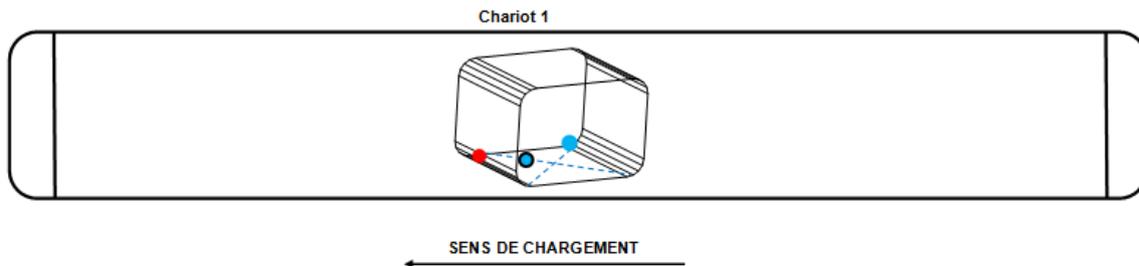


Figure 25 - Cartographie température format 100mL - charge minimum

Résultats cycle de pasteurisation du format 100mL – charge intermédiaire :

La figure ci-dessous décrit le positionnement des 81 sondes utilisées pour la cartographie de température de la charge intermédiaire du format 100mL.

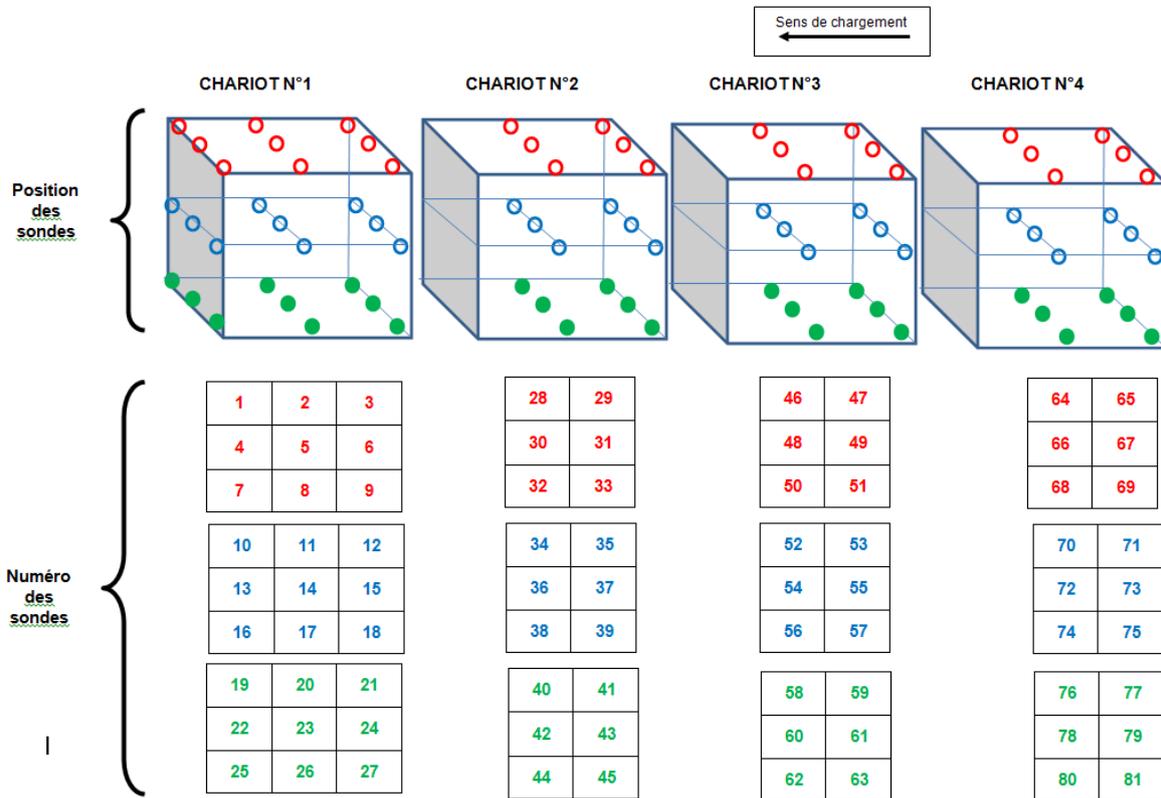


Figure 26 - Positionnement sondes pour cartographie charge intermédiaire

Essai	1	2	3
<b>Temps mini entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h16mn	10h22mn	10h20mn
<b>Temps maxi entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h24mn	10h26mn	10h25mn
<b>T°C Moyenne palier</b>	59,98	59,97	59,98
<b>T°C Maxi palier</b>	60,11 ●	60,10 ●	60,10 ●
<b>T°C Mini palier</b>	59,72 ●	59,89 ●	59,85 ●

Figure 27 - Résultats cartographie température format 100mL - charge intermédiaire

Le tableau ci-dessus reprend les résultats des trois essais sur la charge intermédiaire du format 100mL. Les temps de palier observés pour les 81 sondes positionnées dans la charge vont de 10h16 à 10h26. L'étendue entre le point chaud (60,11°C) et le point froid (59,72°C) est de 0,39°C. Le graphique ci-dessous illustre le positionnement des points chaud et froid pour cette charge.

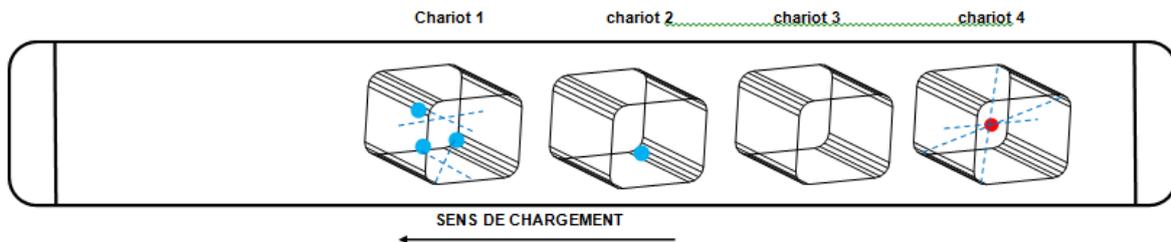


Figure 28 - Cartographie température format 100mL - charge intermédiaire

Résultats cycle de pasteurisation du format 100mL – charge maximum :

La figure 21 décrit le positionnement des 117 sondes utilisées pour la cartographie de température de la charge maximum du format 100mL.

essai	1	2	3
<b>Temps mini entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h24mn	10h25mn	10h23mn
<b>Temps maxi entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h27mn	10h28mn	10h26mn
<b>T°C Moyenne palier</b>	59,97	59,98	59,97
<b>T°C Maxi palier</b>	60,10 ●	60,11 ●	60,10 ●
<b>T°C Mini palier</b>	59,89 ●	59,90 ●	59,89 ●

Figure 29 - Résultats cartographie température format 100mL - charge maximum

Le tableau ci-dessus reprend les résultats des trois essais sur la charge maximum du format 100mL. Les temps de palier observés pour les 117 sondes positionnées dans la charge vont de 10h23 à 10h28. L'étendue entre le point chaud (60,11°C) et le point froid (59,89°C) est de 0,21°C. Le graphique ci-dessous illustre le positionnement des points chaud et froid pour cette charge.

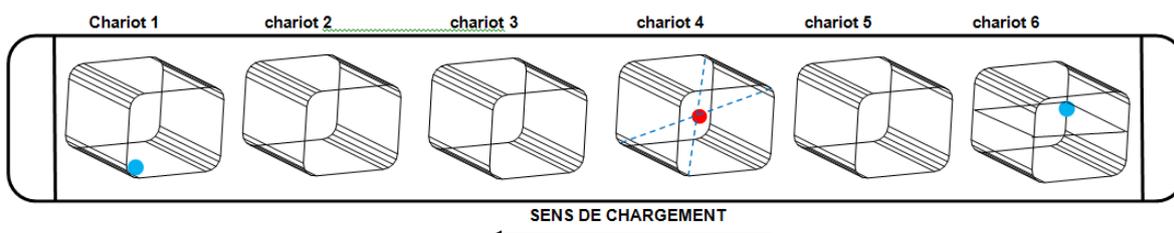


Figure 30 - Cartographie température format 100mL - charge maximum

### Résultats cycle de pasteurisation du format 50mL – charge minimum :

Le plan de positionnement des 13 sondes utilisées pour la cartographie de température de la charge minimum de format 50mL est présenté dans la figure 23.

Essai	1	2	3
<b>Temps mini entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h19mn	10h18mn	10h30mn
<b>Temps maxi entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h21mn	10h20mn	10h31mn
<b>T°C Moyenne palier</b>	59,97	59,97	59,99
<b>T°C Maxi palier</b>	60,03 ●	60,03 ●	60,03 ●
<b>T°C Mini palier</b>	59,88 ●	59,90 ●	59,93 ●

Figure 31 - Résultats cartographie température format 50mL - charge minimum

Le tableau ci-dessus reprend les résultats des trois essais sur la charge minimum du format 50mL. Les temps de palier observés pour les 13 sondes positionnées dans la charge vont de 10h18 à 10h31. L'étendue entre le point chaud (60,03°C) et le point froid (59,88°C) est de 0,15°C. Le graphique ci-dessous illustre le positionnement des points chaud et froid pour cette charge.

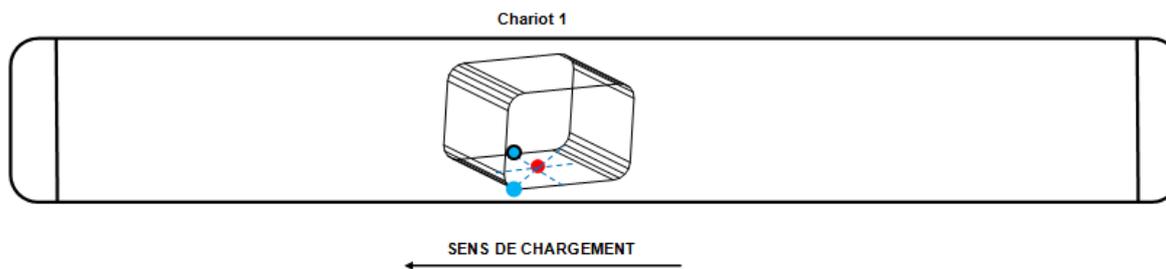


Figure 32 - Cartographie température format 50mL - charge minimum

### Résultats cycle de pasteurisation du format 50mL – charge intermédiaire :

Le plan de positionnement des 81 sondes utilisées pour la cartographie de température de la charge minimum de format 50mL est présenté dans la figure 26.

essai	1	2	3
<b>Temps mini entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h16mn	10h14mn	10h12mn
<b>Temps maxi entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h22mn	10h22mn	10h21mn
<b>T°C Moyenne palier</b>	59,97	59,97	59,97
<b>T°C Maxi palier</b>	60,10 ●	60,10 ●	60,10 ●
<b>T°C Mini palier</b>	59,77 ●	59,79 ●	59,75 ●

Figure 33 - Résultats cartographie température 50mL - charge intermédiaire

Le tableau ci-dessus reprend les résultats des trois essais sur la charge intermédiaire du format 50mL. Les temps de palier observés pour les 81 sondes positionnées dans la charge vont de 10h12 à 10h22. L'étendue entre le point chaud (60,10°C) et le point froid (59,75°C) est de 0,35°C. Le graphique ci-dessous illustre le positionnement des points chaud et froid pour cette charge.

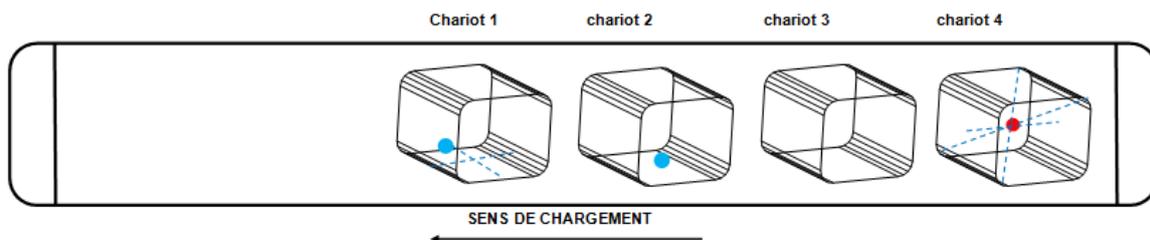


Figure 34 - Cartographie température format 50mL - charge intermédiaire

Résultats cycle de pasteurisation du format 50mL – charge maximum :

Le plan de positionnement des 117 sondes utilisées pour la cartographie de température de la charge minimum de format 50mL est présenté dans la figure 21.

essai	1	2	3
<b>Temps mini entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h20mn	10h21mn	10h20mn
<b>Temps maxi entre 59,5°C et 60,5°C</b>	10h23mn	10h23mn	10h24mn
<b>T°C Moyenne palier</b>	59,97	59,97	59,98
<b>T°C Maxi palier</b>	60,10 ●	60,10 ●	60,10 ●
<b>T°C Mini palier</b>	59,87 ●	59,87 ●	59,86 ●

Figure 35 - Résultats cartographie température 50mL - charge maximum

Le tableau ci-dessus reprend les résultats des trois essais sur la charge maximum du format 50mL. Les temps de palier observés pour les 117 sondes positionnées dans la charge vont de 10h20 à 10h24. L'étendue entre le point chaud (60,10°C) et le point froid (59,86°C) est de 0,24°C. Le graphique ci-dessous illustre le positionnement des points chaud et froid pour cette charge.

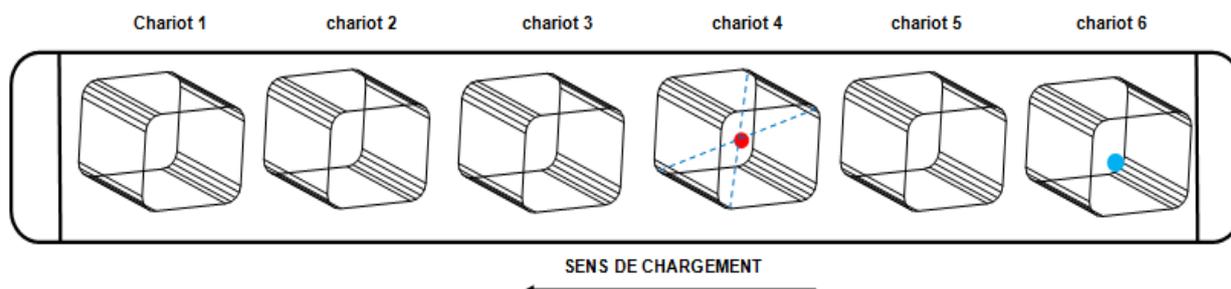


Figure 36 - Cartographie température format 50mL - charge maximum

### RAPPORT DE Q.P. :

Le rapport de Q.P. reprend les résultats et statue sur la conformité de chaque essai. Pour chaque charge, une synthèse est effectuée. La compilation des trois essais réalisés sur chaque charge permet d'identifier les points « chauds » et « froids » par charge. Cette analyse permet d'identifier les points qui seront à surveiller par les sondes de température produits à chaque cycle de pasteurisation en routine.

Le rapport de Q.P. permet également de déterminer par format la taille minimum et maximum d'une charge de flacon pouvant être pasteurisée. Ces tailles correspondent aux charges minimum et maximum qualifiées lors de la Q.P.. Le rapport de Q.P., une fois vérifié et approuvé, permet l'utilisation du pasteurisateur en production pour la pasteurisation des charges qualifiées.

## **9 - Maintien de l'état qualifié**

En complément de cette Qualification initiale, un maintien de l'état qualifié est nécessaire : c'est une exigence réglementaire. Ce maintien de l'état qualifié doit être assuré tout au long du cycle de vie du pasteurisateur. Cela se traduit par la mise en place d'une Qualification périodique, la métrologie des instruments de mesure et

l'analyse des changements (change control) de l'équipement pouvant avoir un impact sur l'état qualifié.

### Qualification périodique

Il est nécessaire d'évaluer et de valider une fréquence appropriée pour confirmer le suivi du maintien de l'état qualifié et pour confirmer que l'équipement reste sous contrôle. Cette vérification périodique se traduit par une reconduite partielle ou totale des tests de Q.O. et Q.P.. Cette fréquence de Qualification périodique doit être dûment justifiée et les critères d'acceptation associés définis.

Pour la Qualification périodique du pasteurisateur décrit dans notre cas, un rationnel a été développé en fonction des résultats de la Qualification initiale afin d'identifier les charges « worst case » par format à suivre lors de la Qualification périodique. Ce sont les essais de Q.P. des charges « worst case » qui seront réalisés à fréquence justifiée afin d'assurer le maintien de l'état qualifié du pasteurisateur. Les fonctionnalités les plus critiques identifiées lors de la Q.O. seront également vérifiées lors de la Qualification périodique comme, par exemple, le fonctionnement de la base de temps ou le report des alarmes.

### Métrologie des instruments de mesure

Les instruments de mesure sont des instruments sensibles qui doivent être vérifiés à intervalle régulier afin de répondre aux exigences de qualité qui découlent des G.M.P.. Une analyse de risques doit être réalisée et documentée afin de définir les instruments à suivre métrologiquement, la période de vérification et les critères d'acceptation (dérive acceptée).

### Maîtrise des changements

Toutes les modifications sur l'équipement doivent être traitées au sein du système qualité. Ainsi, toutes modifications techniques ou de transferts doivent faire l'objet d'une preuve documentée sur le maintien de l'état qualifié.

Cette preuve documentée se traduit concrètement par une reconduite partielle, basée sur le Q.R.M. (Quality Risk Management), ou totale des vérifications de Q.I., Q.O. et Q.P..

## CONCLUSION

L'étape de pasteurisation est primordiale dans la fabrication de la solution d'albumine. Elle est décrite dans les monographies des différentes Pharmacopées.

La Qualification de l'équipement est indispensable. Non seulement elle permet de documenter que l'équipement répond aux besoins de l'utilisateur et aux exigences réglementaires, mais aussi elle permet à l'utilisateur de se familiariser avec l'appareillage. Elle a permis de vérifier une maîtrise de la température nécessaire à l'inactivation virale et à la stabilité des protéines plasmatiques.

La Qualification ne se limite pas à une simple exigence réglementaire. Elle permet à l'industriel de maîtriser ses équipements et ses procédés afin de garantir la qualité, l'efficacité et la sécurité des produits fabriqués.

C'est aussi une des réponses au respect de l'éthique professionnelle pharmaceutique, en permettant de réduire la non qualité, plus particulièrement lorsque la matière première est issu de dons de plasma humains.

La Qualification doit s'effectuer tout au long de la vie du médicament et fait partie, à part entière, du système de management de la qualité nécessaire à l'amélioration continue.

La Qualification est aussi un enjeu économique permettant la diminution du risque d'apparition de non-conformité.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. LA VAGUE Technologie/Process N°33. (2012, Février )
2. Hospital drug alert as 5 die. (07 mars 1972). *The Daily Telegraph*.
3. Anne Greene, D. R. (2016, Décembre 16). *Process Validation : Begin with the End in Mind* . Consulté le Novembre 10, 2017, sur ivtnetwork.com
4. Byers, T. (1974). *Design for Quality*. *PDA J Pharm Sci Techno* 32(1) :22-25
5. A.N.S.M. (Aout 2017). *Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication*.
6. F.D.A. (2016). *Draft Data Integrity and Compliance Guidance for Industry*.
7. Christophe Wittmann, J. C. (2016). *Industrial Biotechnology : Products and Processes*. John Wiley & Sons
8. Flan, B. (2010). *Sécurité des médicaments dérivés du sang*.
9. EMA (1996). CPMP/BWP/268/95 Note for Guidance on virus Validation studies : the design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses
10. Burnouf, T. (2007). *Fractionnement plasmatique international : état de lieux* . Lille: ScienceDirect. *Transfusion clinique et biologique* 14(1) : 41-50
11. WHO Technical Report. (2004). Guidelines on viral inactivation and removal procedures intended to assure the viral safety of human blood plasma products
12. Journal officiel de l'Union Européenne. (27 janvier 2013). Directive 2002/98/CE.
13. Journal officiel de la République Française. (2016). Arrêté du 5 avril 2016 fixant les critères de sélection des donneurs de sang.

- 14.EMA. (2001). CPMP/BWP/269/95 rev3. Note for Guidance on Plasma-Derived medicinal products
- 15.ANSM. (2006). Résumé des Caractéristiques du Produit - Vialebex 50mg/mL.
- 16.Pharmacopée Européenne - 9ème édition. (2017) EDQM/Conseil de l'Europe, Strasbourg
- 17.Claude Rivat, J.-F. S. (1992). Biotechnology of Blood Proteins. John Libbey Eurotext Ltd. Vol. 227
- 18.Damrongsak Faroongsarng, J. K. (2014). The Role of Caprylate Ligand Ion on the Stabilization of Human Serum Albumin. AAPs PharmSciTech 15(2) : 465-71
- 19.Steriflow (2014) Analyse fonctionnelle du pasteurisateur présenté dans le cas pratique

Université de Lille  
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2017/2018

**Nom :** LEROY  
**Prénom :** Jimmy

**Titre de la thèse :**

Qualification d'un pasteurisateur à ruissellement d'eau chaude destiné à l'inactivation virale de la solution d'albumine

**Mots-clés :**

QUALIFICATION, PASTEURISATION, PASTEURISATEUR, ALBUMINE,  
INACTIVATION VIRALE

---

**Résumé :**

Le potentiel de contamination virale par administration des médicaments dérivés du sang ou du plasma humains est reconnu. La fabrication de ces médicaments est soumise à une réglementation spécifique qui impose des mesures et des exigences à respecter en terme de sécurité. La réalisation d'une étape d'inactivation virale validée fait partie de ces mesures. La pasteurisation est utilisée comme méthode d'inactivation virale de la solution d'albumine. Elle nécessite la mise en œuvre d'un pasteurisateur dont la qualification est indispensable.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Monsieur le Maître de conférences Youness KARROUT, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille 2

**Directeur, conseiller de thèse :** Madame le Professeur Anne GAYOT, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille 2

**Assesseur(s) :** Monsieur le Maître de conférences Frank PIVA, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Lille 2

**Membre extérieur :** Madame Stéphanie JEW CZUK – Responsable de Production L.F.B. (Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies)