

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

**Soutenue publiquement le 11 mars 2022
Par Ophélie Villers**

Maîtrise, contrôle et validation par « Media Fill Test » de l'asepsie des médicaments injectables.

Membres du jury :

Président : Dr Youness Karrout, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences en pharmacie, biopharmaceutique et technologie pharmaceutique à l'Université de Lille 2.

Directeur : Dr Youness Karrout, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences en pharmacie, biopharmaceutique et technologie pharmaceutique à l'Université de Lille 2.

Assesseur(s) : Dr Elisabeth Singer, Maître de Conférences en Pharmacie, au laboratoire de Bactériologie-Virologie à l'Université de Lille 2.

Membre(s) extérieur(s) : Dr Sarah Salhi, Docteur en Pharmacie, Coordinatrice suivi des zones à atmosphère contrôlée à Sanofi Pasteur.



Liste des enseignants
Faculté de Pharmacie
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 de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN

Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie

M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOThIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique

Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie

Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique

M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie 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.

Table des matières

1	Qualités requises pour les préparations injectables.....	19
1.1	Stérilité.....	19
1.2	Apyrogène.....	19
1.3	Limpide.....	20
1.4	Isotonique.....	20
1.5	Neutralité.....	20
2	Différentes méthodes de stérilisation.....	21
2.1	Stérilisation par chaleur humide (ou autoclavage).....	21
2.2	Stérilisation par chaleur sèche.....	21
2.3	Stérilisation par rayonnements.....	22
2.4	Stérilisation par les gaz.....	22
2.5	Stérilisation par filtration.....	22
3	Maîtrise de l'asepsie.....	23
3.1	Définition.....	23
3.2	Les Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC).....	23
3.2.1	Les classes d'air.....	23
3.2.1	L'accès aux Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC).....	24
3.2.2	Le traitement de l'air.....	25
3.2.3	Les différentes enceintes.....	27
3.3	Habillage et entrée en zone.....	29
3.4	Comportement et gestuelle en zone.....	31
3.5	Propreté des locaux et des équipements.....	32
4	La validation de l'asepsie par Media Fill Test (MFT).....	33
4.1	Principe.....	33
4.2	Milieu de culture stérile utilisé pour les tests microbiologiques.....	34
4.3	Chronologie du processus Media Fill Test (MFT).....	35
4.3.1	Identification des flacons contenant le milieu.....	35
4.3.2	Répartition du milieu dans les flacons.....	36
4.3.3	Inspection visuelle des flacons répartis.....	36
4.3.4	L'incubation des flacons contenant le milieu.....	37
4.3.5	Lecture de tous les flacons.....	37
4.3.6	Réconciliation des flacons.....	38
4.3.7	Critères d'acceptabilité.....	39
4.4	Conditions de répartition préétablies.....	40
4.4.1	Cas défavorable (worst case).....	40

4.4.2	Durée de répartition	40
4.4.3	Cadence de la machine de répartition	41
4.4.4	Format des objets de conditionnement primaire (OCP)	41
4.4.5	Matériel utilisé	41
4.4.6	Taille de lot des flacons	41
4.4.7	Volume de remplissage	42
4.4.8	Interventions à simuler	42
4.5	Fréquence et nombre de simulations	44
4.5.1	Validation initiale.....	44
4.5.2	Validation périodique	45
4.5.3	Validation d'une nouvelle intervention.....	45
4.6	Gestion des nouvelles interventions	45
4.6.1	Principe du formulaire.....	45
4.6.2	Acteurs intervenant sur le formulaire.....	45
4.6.3	Description de l'intervention.....	46
4.6.4	Description des mesures conservatoires.....	46
4.6.5	Supervision de l'intervention.....	46
4.6.6	Autorisation de l'intervention.....	46
4.7	Observation des Media Fill Test (MFT).....	47
4.8	Formation du personnel	47
4.8.1	Formation et qualification initiale aux procédés aseptiques.....	47
4.8.2	Qualification périodique aux procédés aseptiques.....	48
5	Le contrôle de l'asepsie	48
5.1	Le suivi environnemental	48
5.1.1	Paramètres physiques	48
5.1.2	Paramètres biologiques.....	50
5.1.3	Contrôle de la contamination du produit	53
6	Conclusion	55
7	Références bibliographiques	57

Remerciements

À toute l'équipe pédagogique de la Faculté de Pharmacie de Lille, je les remercie pour la qualité de l'enseignement dispensé pendant ces six années d'études. Et plus particulièrement, un grand merci à Monsieur Youness Karrout d'avoir accepté de m'accompagner dans l'élaboration de ma thèse.

À ma tutrice, Sarah Salhi, merci d'avoir accepté de m'encadrer pendant mon année d'alternance. Merci pour ta bonne humeur, tes nombreux conseils et ta confiance tout au long de ce travail.

À ma responsable d'alternance, Astrid Derrien et l'ensemble du service Support Production. Je les remercie d'avoir participé à mon épanouissement chez Sanofi Pasteur.

À ma sœur, ma confidente, mon exemple et tant de choses encore. Tu as toujours été là pour moi et tu m'as guidée dans mes choix. Cette complicité que j'ai avec toi ne se retrouve chez personne d'autre. Je suis fière de toi et de cette belle famille que tu as construite. Je suis chanceuse de t'avoir comme sœur, merci pour tout.

À Mathieu, mon irremplaçable frère. Merci pour tous les bons moments passés ensemble. Je suis tellement fière de toi et de ce que tu es devenu, tu as un grand cœur Mathieu, ne change pas !

À ma maman, qui me soutient depuis toujours. Merci pour tes nombreux conseils qui m'auront permis de surmonter toutes les difficultés que j'ai pu rencontrer. Merci pour tous ces moments de bonheurs passés en famille partagés autour de tes délicieux plats. Merci du fond du cœur, pour tout ce que tu fais pour moi et pour toute la famille, sans toi je ne serais pas arrivée jusque-là.

À mon papa, qui a toujours été là pour m'apporter le coup de pouce dont j'avais besoin pour avancer. Tu es le papa parfait dont tout le monde rêve ! Je sais que je pourrai toujours compter sur toi. Un grand merci.

Enfin à mon fameux Arnaud, merci pour la totalité des moments passés ensemble. Merci pour ton humour, ta bonne humeur et ta joie de vivre. Ta présence me rend tellement heureuse. Je pense déjà à toutes les belles choses qui nous attendent. A nos futurs projets, à notre future vie. Je t'aime.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Fréquence de simulation en MFT en fonction du type intervention (Sanofi Pasteur, 2021)	44
--	----

Liste des figures

Figure 1 : Schéma illustrant les variations de pression suivant les différentes zones. P_x étant la pression dans la zone X.....	25
Figure 2 : Filtre HEPA (6).....	26
Figure 3 : Un RABS (Bosch) (9).....	28
Figure 4 : Une connexion d'une porte DPTE à un isolateur aseptique (10).....	28
Figure 5 : Un isolateur (Bosch) (11).....	29
Figure 6 : Tenue en classe A/B.....	31
Figure 7 : Milieu de culture dans un flacon (17).....	35
Figure 8 : Chronologie du processus MFT.....	35
Figure 9 : Milieu de culture de TSB limpide et trouble (19).....	38
Figure 10 : Compteur de particules (24)	49
Figure 11 : Géloses d'impaction	50
Figure 12 : Schéma représentant le principe d'impaction de l'air sur la gélose (25) .	51
Figure 13 : Aérobiocollecteur placé face au flux laminaire horizontal (Sanofi Pasteur, 2021).....	51
Figure 14 : Réalisation d'un prélèvement de surface (Sanofi Pasteur, 2021).....	52
Figure 15 : Réalisation des prélèvements des tenues	53
Figure 16 : Réalisation d'un prélèvement de gants (Sanofi Pasteur, 2021).....	53

Glossaire

AFNOR : Association Française de Normalisation

AQOP : Assurance Qualité Opérationnelle

AS : Air Statique

AV : Air Volumétrique

Biocharge : le nombre de germes qui se trouvent à la surface d'un produit avant la stérilisation

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CP : Comptage Particulaire

DDL : Dossier De Lot

EMR : Electro Mécanicien Régleur

MFT : Media Fill Test

MSFP : Mise Sous Forme Pharmaceutique

NAS : Niveau d'Assurance de Stérilité

OCP : Objet de Conditionnement Primaire

PFV : Produit Final Vrac

RABS : Restricted Access Barrier System

S : Surface

THIO : Thioglycolate réazurine

TRA : Test de Répartition Aseptique

Worst case : Cas défavorable

ZAC : Zone à atmosphère contrôlée

Introduction au sujet

La fabrication des médicaments injectables stériles est une activité pharmaceutique qui requiert une exigence de qualité stricte. En effet, il faut garder en mémoire qu'un médicament injectable se retrouve directement dans la circulation sanguine du patient et doit être exempt de toutes contaminations bactériennes, particulaires et pyrogènes pouvant nuire à sa santé. Aucun doute ne doit exister sur la sécurité du patient et donc sur la stérilité du produit.

Les industries pharmaceutiques produisant ce type de médicaments en procédé de répartition aseptique doivent assurer une maîtrise complète de l'asepsie. Des conditions environnementales très strictes doivent être appliquées. Ainsi, la production s'effectue sous zones à atmosphère contrôlée (ZAC).

Afin de maîtriser tout le procédé, de démontrer la compétence du personnel et de l'environnement à fabriquer de manière reproductible et de prouver la qualification des équipements, tout en respectant la stérilité du produit, il est primordial de valider toute la chaîne de fabrication par un test de simulation : le Media Fill Test.

Le Media Fill Test (MFT) permet de prouver la maîtrise d'un procédé aseptique à produire des médicaments stériles. Ce test consiste à simuler les opérations de fabrication en remplaçant le produit à fabriquer par du milieu de culture nutritif stérile. Il permet de vérifier l'impact potentiel des équipements, du personnel, des interventions de processus et de l'environnement afin de valider le procédé. Celui-ci est réalisé avant la production du médicament et est considéré accompli lors de l'acceptation de la validité et de la conformité de l'exercice.

Cependant, il ne faut pas oublier que la principale source de contamination est l'homme. La formation, le comportement et l'habilitation du personnel n'est donc pas négligeable. Des contrôles allant du prélèvement biologique de la tenue des opérateurs jusqu'à l'étude des particules présentes dans l'air sont donc effectués lors de la production du médicament. Ils permettent d'assurer une maîtrise complète de l'environnement. Certaines méthodes de contrôles mises en place au sein des zones

de répartition du site de production Sanofi Val-de-Reuil seront décrites dans cette thèse.

La maîtrise, la validation et le contrôle de l'environnement permettent de garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité. Ces trois critères définissent une spécialité pharmaceutiques et qui sont donc indispensables pour son Autorisation de Mise sur le Marché (AMM).

1 Qualités requises pour les préparations injectables

Les qualités requises pour une préparation injectable sont : la stérilité, l'absence de pyrogènes ou d'endotoxines bactériennes, la limpidité (si solution), l'isotonie et la neutralité.

1.1 Stérilité

Les préparations parentérales et les instruments utilisés doivent être stériles. La stérilité au sens général correspond à l'absence de tout micro-organisme vivant (bactéries végétatives, spores, champignons).

Les tests pour vérifier la stérilité du produit sont décrits par la suite.

1.2 Apyrogène

Les pyrogènes peuvent être des endotoxines bactériennes. Ces dernières sont des toxines contenues dans la paroi de certaines bactéries et sont libérées lorsque la bactérie meurt. Elles sont susceptibles de provoquer lors de l'injection une brusque élévation de température chez les patients.

Les essais pour la recherche de substance pyrogène se font chez le lapin en relevant leur température.

Les essais pour la recherche d'endotoxines bactériennes sont faits sur l'hémolymphe d'un crabe s'appelant le Limulus. Il suffit de mettre entre lame et lamelle de verre une

goutte de lysat de cellules sanguines avec une goutte du soluté à tester. Ce lysat a pour propriété de coaguler en présence de quantités infimes d'endotoxines bactériennes.

1.3 Limpide

La limpidité correspond à l'absence de particule visible soit à l'œil nu, soit au moyen de dispositifs d'observation adéquats. Le contrôle de la limpidité se fait par inspection visuelle : le mirage. Il s'effectue par un opérateur qualifié ou par une mireuse automatique.

1.4 Isotonique

L'isotonie au plasma consiste à obtenir une concentration en solutés égale à celle du plasma afin de ne pas entraîner de phénomènes osmotiques tels que la plasmolyse (fuite d'eau des hématies en cas d'injection de préparation hypertonique) ou l'hémolyse (entrée d'eau dans les hématies suite à une injection de préparation hypotonique).

La pression osmotique et le point de congélation dépendent du nombre de molécules (ou d'ions) dissoutes dans un liquide. La pression osmotique varie comme le point de congélation. Pour mesurer une pression osmotique, on mesure le point de congélation qui varie avec le nombre de molécules dissoutes.

La mesure du point de congélation s'effectue à l'aide d'un cryoscope de BECKMAN © ou des osmomètres.

1.5 Neutralité

Les préparations parentérales doivent avoir un pH compatible avec la stabilité du principe actif.

Il doit pour cela se rapprocher du pH physiologique qui est de 7,4 et être compris entre 4 et 9. Cet intervalle de pH permet d'éviter une douleur au moment de l'injection.

Par ailleurs, des méthodes colorimétriques (à l'aide de papier pH) et électro métriques (à l'aide d'une électrode et d'un pH mètre) sont utilisées pour mesurer le pH de la solution.

2 Différentes méthodes de stérilisation

Avant de stériliser un produit, il faut vérifier que la méthode de stérilisation convient au produit à stériliser.

2.1 Stérilisation par chaleur humide (ou autoclavage)

Lorsqu'elle est applicable, la stérilisation par la vapeur saturée sous pression est la méthode recommandée notamment pour les solutions aqueuses. Pour cette méthode de stérilisation terminale, les conditions de référence applicables aux préparations aqueuses sont de 121°C minimum pendant 15 minutes.

D'autres combinaisons de température et de durée peuvent être utilisées à condition que le procédé de choix assure un taux de létalité adéquat.

Les méthodes et précautions employées sont telles qu'elles permettent d'obtenir un niveau d'assurance de stérilité d'au moins 10^{-6} . Cela correspond à la probabilité de trouver au plus, un microorganisme viable dans une population d'un million d'unités soumises à un procédé de stérilisation.

2.2 Stérilisation par chaleur sèche

Comme pour la stérilisation par autoclavage, d'autres combinaisons de température et de durée peuvent être utilisées. Le cycle de référence est de 160°C pendant 2 heures. Cependant, l'air est moins bon conducteur que la vapeur d'eau ; la stérilisation par chaleur humide est donc préférable.

2.3 Stérilisation par rayonnements

La stérilisation par rayonnements (rayonnements bêta, rayonnements gamma ou rayonnements X) permet de stériliser un dispositif dans son emballage définitif, sans élévation excessive de la température. L'action bactéricide résulte d'un rayonnement qui produit une ionisation au sein du milieu dans lequel il se propage.

2.4 Stérilisation par les gaz

Elle permet de traiter de nombreux dispositifs médicaux et produits pharmaceutiques incompatibles avec la stérilisation par rayons ionisants. Par exemple, l'oxyde d'éthylène est un gaz qui endommage l'ADN des micro-organismes, ce qui les empêche de se reproduire. Ce gaz pénètre dans le produit à stériliser.

Cette stérilisation s'effectue à basse température, entre 30 et 60° C, afin d'éviter toute déformation ou altération des produits.

Cette pratique ne doit être employée que lorsqu'aucune autre méthode n'est utilisable.

2.5 Stérilisation par filtration

Cette technique n'est appliquée qu'aux solutions ne supportant pas l'action de la stérilisation par la chaleur. La filtration retient les bactéries dont la taille est inférieure à 0,22 micromètre de longueur.

Pour assurer l'efficacité d'un filtre stérilisant, trois conditions principales sont requises:

- Assurer un niveau de contamination du produit à filtrer le plus faible possible en contrôlant sa biocharge
- Garantir pendant la filtration le maintien des paramètres en dessous des *maxima* validés pour la pression, le débit et la durée de filtration,
- Effectuer la vérification de l'intégrité des filtres en place après stérilisation selon les paramètres validés (« point de bulle » ou test de diffusion) avant et après usage. (1)

3 Maîtrise de l'asepsie

« La fabrication des médicaments stériles impose des exigences particulières en vue de réduire au minimum les risques de contamination microbienne, particulaire et pyrogène. » (2)

Différents moyens sont mis en place permettant d'éviter toutes contaminations du produit.

3.1 Définition

Selon l'AFNOR, l'asepsie est *« l'ensemble des mesures propres à empêcher tout apport exogène de micro-organismes ou de virus »* (3). Le travail en asepsie requiert des précautions particulières dans le but de maintenir la stérilité du produit. De nombreux contrôles et des normes sont à respecter.

Des zones spécifiques appelées Zones à Atmosphère Contrôlée sont dédiées à la répartition du produit et permettent de répondre à ces exigences, elles seront détaillées ci-dessous.

3.2 Les Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC)

Selon les BPF : *« La fabrication des médicaments stériles doit s'effectuer dans des zones d'atmosphère contrôlée ; l'entrée dans ces zones doit se faire par des sas réservés au personnel et/ou au matériel et aux substances. »* (4)

3.2.1 Les classes d'air

Ce sont des locaux dans lesquels le niveau de propreté est contrôlé afin d'assurer la maîtrise de l'environnement.

On distingue quatre classes de Zones à Atmosphère Contrôlée en fonction des opérations de production et des qualités requises pour leur environnement.

3.2.1.1 **Classe A**

En classe A sont réalisées les opérations de production à haut risque telles que : « *le point de remplissage, les bols de bouchons, les points de raccordements aseptiques.* » (5)

3.2.1.2 **Classe B**

La classe B constitue l'environnement immédiat de la zone de classe A dans le cadre des opérations de préparation et de répartition aseptiques.

3.2.1.3 **Classe C et D**

Les classes C et D sont destinées aux étapes moins critiques de la fabrication des médicaments stériles. (6)

3.2.1 **L'accès aux Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC)**

L'accès dans ces zones s'effectue par des sas permettant de les fractionner physiquement. Celles-ci sont alimentées en air filtré. Ce fractionnement a pour but de maintenir en surpression les zones de classes supérieures par rapport aux zones voisines de classes inférieures. Ainsi, les locaux de classe A présentent une pression supérieure par rapport aux locaux de classes B, C et D (cf. Figure 1). Selon les Bonnes Pratiques de Fabrication, un écart de pression compris entre 10 et 15 Pascals est requis pour deux locaux voisins de classes différentes. Cela permet d'éviter une propagation de particules entre les zones.

Légende :

- Zone de classe A
- Zone de classe C
- Sas

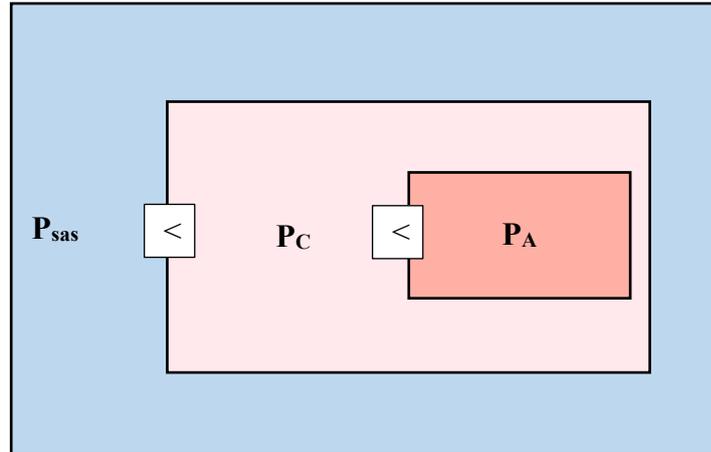


Figure 1 : Schéma illustrant les variations de pression suivant les différentes zones. P_x étant la pression dans la zone X

3.2.2 Le traitement de l'air

En plus de la conception d'une ZAC, un système de traitement de l'air doit être installé. Celui-ci est assuré par la filtration et la diffusion de l'air. Il permet de recycler l'air local et d'éliminer toute contamination extérieure.

3.2.2.1 Filtration de l'air

La filtration de l'air et son renouvellement sont indispensables pour garantir la qualité de l'air qui est en contact des produits. La filtration est réalisée par l'intermédiaire de filtres à air à haute efficacité HEPA « High-efficiency particulate air » (cf. Figure 2). Ces filtres hydrophobes sont constitués de fibres de verre entrelacées tordues et tournées dans une multitude de directions pour créer un labyrinthe fibreux. Lorsque les particules traversent cette toile, elles sont retirées de la circulation (5).

Ces filtres sont régis par les normes EN 1822 et EN ISO 29463 et sont capables de retenir, à hauteur de 99,97 %, les particules d'au moins $0,3\mu\text{m}$ de diamètre. (7)

Les particules de dimension de l'ordre de $0,3\mu\text{m}$ sont les plus difficiles à filtrer. En effet, les plus grandes sont arrêtées par les fibres du filtre grâce à leur taille, et les plus petites grâce au phénomène de diffusion lié au mouvement brownien qui est désordonné et aléatoire (8).

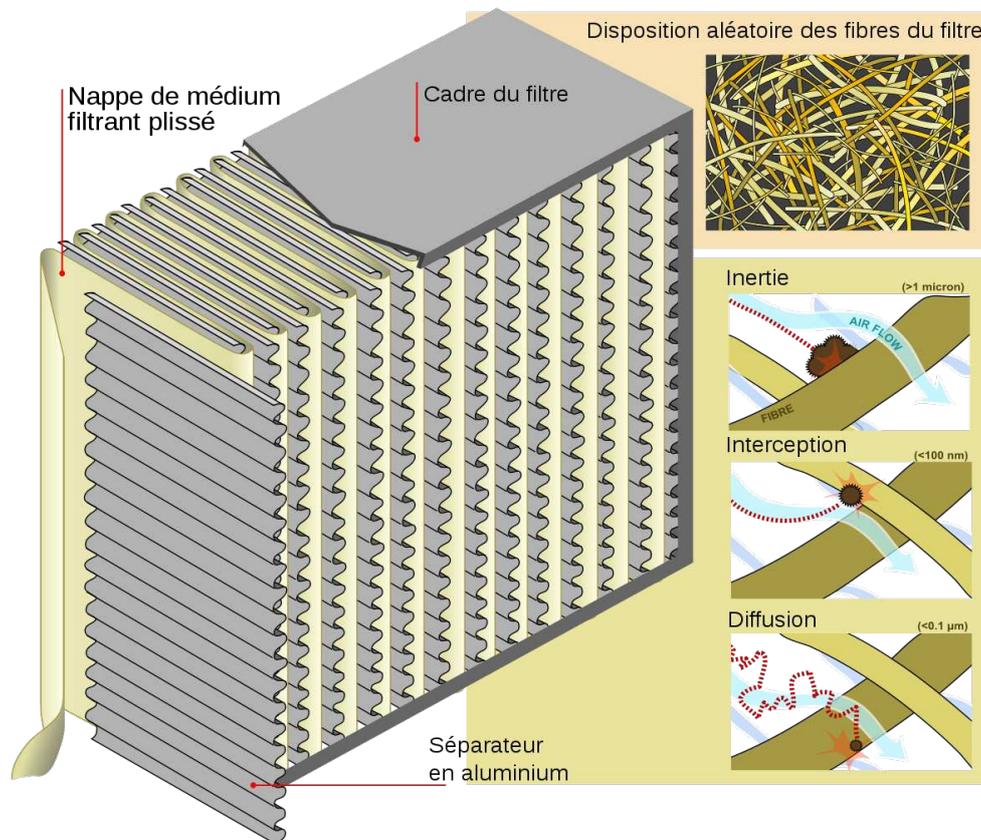


Figure 2 : Filtre HEPA (8)

Le test DOP (Dispersed Oil Particulate) va permettre de s'assurer que le filtre installé est intègre, de détecter les fuites et de s'assurer que l'étanchéité est bien assurée par les joints positionnés entre le cadre et le filtre. Ce test consiste à introduire des microgouttelettes d'huile, le dioctyl phtalate (environ 0,3 micromètre) dans le système de filtration pour en mesurer la teneur à l'entrée et à la sortie (suite au passage dans le filtre, en état de fonctionnement). La teneur en sortie doit être nulle. (9) L'ensemble des huiles et des équipements de contrôle des filtres HEPA doivent respecter la norme EN ISO 14644-3.

3.2.2.2 Diffusion de l'air

La diffusion de l'air permet d'assurer la captation et l'évacuation des contaminants par des régimes d'écoulement de l'air laminaires. Ce flux d'air avec ces lignes de courant parallèles empêche la remise en circulation des particules. Il permet de protéger les

étapes critiques du procédé contre les contaminations microbiennes et particulaires. Cependant, il faut faire attention de ne pas perturber le flux par la présence d'obstacles ou de produits.

3.2.3 Les différentes enceintes

3.2.3.1 Zone conventionnelle

Elles se définissent comme une classe A dans laquelle les utilisateurs pourront intervenir. La classe environnante sera au minimum une classe B. Cette configuration est de moins en moins utilisée car il y a un contact possible entre le personnel et le produit. Une maîtrise de la contamination de la salle environnante et du personnel est essentielle.

3.2.3.2 RABS (Restricted Access Barrier Systems)

Cette technologie consiste à installer des barrières physiques permettant une séparation entre la zone de répartition aseptique et la zone réservée aux opérateurs (cf. Figure 3). Ces barrières ne sont pas étanches, cependant les conditions d'ouverture des portes sont strictes et étudiées pour chaque procédé. En effet, des gants permettent de manipuler au sein du RABS lorsque toutes les portes sont fermées et des systèmes de transfert permettent l'entrée du matériel et des consommables afin d'éviter l'exposition des surfaces stériles avec un air de classe inférieure (cf. Figure 4).



Figure 3 : Un RABS (Bosch) (10)

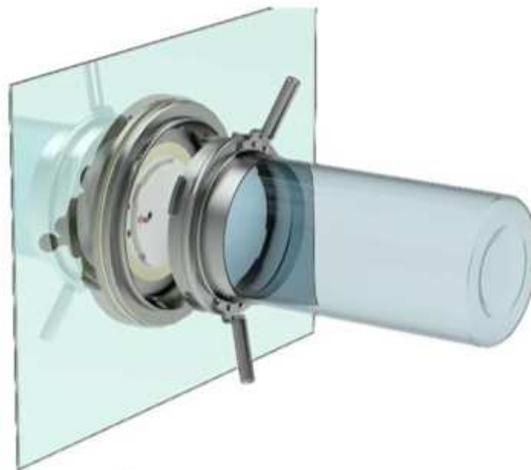


Figure 4 : Une connexion d'une porte DPTE à un isolateur aseptique (11)

Dans le RABS, seule une décontamination simultanée avec la classe B est possible ce qui permet de les différencier avec les isolateurs.

3.2.3.3 Isolateur

L'isolateur, illustré en Figure 5, est un espace confiné dans une enceinte indépendante destinée à protéger le produit fabriqué de son environnement extérieur et du personnel. Un système de décontamination à l'aide d'un agent sporicide tel que le peroxyde d'hydrogène est à effectuer avant son utilisation.



Figure 5 : Un isolateur (Bosch) (12)

3.3 Habillage et entrée en zone

Les vêtements et leur qualité doivent être adaptés aux fabrications et aux classes des zones de travail. Ils doivent être portés de façon à protéger le produit des contaminations. (13)

Les montres-bracelets, le maquillage et les bijoux doivent être exclus des zones d'atmosphère contrôlée. (14)

En fonction des classes d'air, les tenues protègent plus ou moins l'environnement du personnel. Plus la classe d'air est supérieure, plus celle-ci est couvrante.

L'habillement requis pour chaque classe est décrit ci-dessous:

Habillement en classe D :

- Une charlotte
- Un cache barbe si nécessaire
- Un vêtement protecteur normal
- Des surchaussures ou chaussures appropriées et propres

Habillement en classe C :

- Une charlotte
- Un cache barbe si nécessaire
- Un vêtement constitué d'une veste et d'un pantalon ou d'une combinaison, serré aux poignets et muni d'un col montant
- Des surchaussures ou chaussures appropriées et propres
- Le tissu de ces éléments ne doit pas relarguer de particules ou de fibres

Habillement en classe A/B (cf. Figure 6) :

- Une cagoule qui enferme les cheveux, la barbe et la moustache
- Un masque
- Gants de caoutchouc stériles et non poudrés
- Bottes stérilisées et désinfectées
- Le bas du pantalon doit être enserré dans les bottes, de même que les manches dans les gants
- Le tissu de ces éléments ne doit pas relarguer de particules ou de fibres



Figure 6 : Tenue en classe A/B (15)

3.4 Comportement et gestuelle en zone

La qualité de fabrication des médicaments repose sur l'ensemble des collaborateurs. En effet, la présence humaine est la principale source de contamination dans une ZAC. Il est donc important de respecter les règles concernant la gestuelle à effectuer. Toutes les personnes doivent donc recevoir une formation sur les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) des médicaments stériles.

Les exigences sont nombreuses, en voici quelques exemples :

- Limiter l'émission de particules et la création de turbulences (privilégier des gestes lents, limiter les communications),
- Ne pas créer d'obstacle entre le flux laminaire et le produit (cf. 3.2.2.2),
- Signaler à toute personne la présence d'un élément d'habillement incorrectement porté, abimé ou mouillé,
- Faire attention à sa posture (pas d'appui sur les parois du local, pas de croisement de bras/de jambes)

- Ne toucher à aucun élément de la tenue, limiter les contacts de la tenue avec le matériel et le personnel,
- Utiliser l'interphone pour toutes conversations avec une personne située en dehors de la zone.

3.5 Propreté des locaux et des équipements

La désinfection des zones d'atmosphère contrôlée est particulièrement importante. Elles doivent être minutieusement nettoyées, conformément à un programme écrit. Lorsque des désinfectants sont utilisés, il convient d'en employer plusieurs et de différents types. Une surveillance microbiologique régulière est nécessaire en vue de détecter tout développement de souches résistantes. (16)

Locaux

Dans les zones d'atmosphère contrôlée, toutes les surfaces apparentes doivent être lisses, imperméables et sans fissure afin de réduire la libération ou l'accumulation de particules ou de microorganismes et de permettre l'usage répété de produits de nettoyage et, le cas échéant, de désinfectants. (17)

Nettoyage et décontamination

Le nettoyage et la décontamination des ZAC maintiennent l'environnement des zones dans un état de propreté compatible avec leur classe. Ils permettent de lutter contre la présence de contaminations particulières, chimiques et microbiologiques déposés sur des surfaces et protègent les produits de la contamination durant l'activité de production.

3.5.1.1 Fréquence de nettoyage

La fréquence est dépendante de la classe de la zone à nettoyer. Les classes A et B vont subir un nettoyage renforcé afin de diminuer au maximum les risques de contamination des produits.

3.5.1.2 **Produit de nettoyage**

Plusieurs produits de nettoyage peuvent être utilisés tels que :

- les désinfectants de contact,
- les désinfectants de surface (détergent),
- les sporicides, permettant d'éliminer les germes les plus résistants.

Une alternance d'utilisation des produits désinfectants doit être mise en place afin d'éviter les phénomènes de résistance des bactéries. De plus, le produit doit avoir une action antimicrobienne (bactéricide, fongicide et/ou sporicide).

Une fois que tout est mis en œuvre pour assurer la production des médicaments injectables dans un environnement stérile, il est nécessaire de faire la simulation à l'aide d'un test appelé « Media Fill Test ».

4 La validation de l'asepsie par Media Fill Test (MFT)

4.1 Principe

Le Media Fill Test (MFT), aussi appelé Test de Répartition Aseptique (TRA), consiste à simuler les opérations de fabrication en remplaçant le produit habituel par du milieu de culture nutritif stérile afin de mettre en évidence le risque potentiel de produire des unités non stériles.

L'exercice de simulation du procédé aseptique doit simuler le plus fidèlement possible la même exposition et le même processus que le produit lui-même. Il couvre alors toutes les étapes critiques de remplissage, intégrant les étapes de préparation du produit final jusqu'à la fermeture du récipient, ainsi que les étapes d'incubation et de lecture des unités réparties.

Le MFT est utilisé afin de se rendre compte des éventuelles contaminations issues des manipulations des opérateurs. En effet, il est important d'inclure les interventions des opérateurs. Celles-ci doivent être évaluées préalablement en terme de risques pour le produit et l'environnement de production, afin de les autoriser pour la production aseptique de routine.

Le but de ce test est de réaliser un remplissage aseptique visant à qualifier ce procédé en reproduisant le plus fidèlement possible le processus afin de valider :

- Le personnel
- Les équipements
- L 'environnement

Celui-ci est considéré accompli lors de l'acceptation de la validité et de la conformité de l'exercice. Le succès de cet exercice repose sur l'absence de germes révélés. (cf. 4.3.7)

4.2 Milieu de culture stérile utilisé pour les tests microbiologiques

Le choix du milieu de culture stérile à utiliser est fonction du procédé. Pour les procédés se déroulant avec des conditions d'aérobiose, c'est à dire dans un milieu contenant de l'air et de l'oxygène, le milieu Tryptone Soya Broth (TSB pharmacopée) est recommandé. Pour des procédés se déroulant avec des conditions d'anaérobiose, le milieu Thioglycolate réazurine (THIO pharmacopée) est recommandé.

Le milieu TSB est choisi pour la réalisation des MFT car l'étape du procédé la plus à risque (la répartition) est réalisée en condition d'aérobiose (phases ouvertes, interventions via les gants du RABS). (18)

Afin de garantir la qualité des milieux de cultures stériles utilisés, un test de fertilité est réalisé. C'est un test qui permet de démontrer que le milieu de culture utilisé permet la croissance des microorganismes, si présents. Ainsi, les propriétés nutritives seront contrôlées tout au long de la réalisation du MFT. Ce contrôle sera réalisé sur des unités réparties et prélevées en début, milieu et fin du MFT, à la suite de la période d'incubation.

Le test de fertilité est conforme si tous les contenants inoculés présentent une croissance dans les 3 jours pour les bactéries pharmacopées et dans les 5 jours pour les levures et moisissures pharmacopées. (18)



Figure 7 : Milieu de culture dans un flacon (19)

La validation de nettoyage du milieu de culture doit être assurée pour ne laisser aucun résidu dans les canalisations ni sur les pièces de format afin d'éviter tout risque de contamination lors de la production du lot suivant.

4.3 Chronologie du processus Media Fill Test (MFT)

Ce sont les départements de production qui programment et organisent la réalisation des simulations. Il est important de respecter l'acheminement des différentes étapes des procédés de répartition aseptiques permettant de garantir la conformité du MFT. (cf. Figure 8)



Figure 8 : Chronologie du processus MFT

4.3.1 Identification des flacons contenant le milieu

Les unités doivent être chronologiquement identifiées. Cela permet de retrouver la période durant laquelle une unité potentiellement contaminée aurait été répartie. Cette identification chronologique doit être conservée jusqu'à la lecture finale des unités.

4.3.2 Répartition du milieu dans les flacons

La répartition doit se dérouler de la même manière que pour un lot de production. Toutes les interventions représentatives du procédé de routine sont réalisées. En effet, selon les BPF, le MFT *« doit se rapprocher le plus possible des procédés de fabrication aseptique habituels et en comprendre les étapes critiques. Il doit également prendre en compte les diverses interventions susceptibles d'avoir lieu pendant les productions normales ainsi que les situations considérées comme les cas les plus défavorables. »* (20)

De plus, tout événement prévu ou imprévu sera tracé dans le dossier de lot.

Il est par ailleurs recommandé de réaliser des contrôles en cours de répartition tel que :

- Le contrôle du volume. Si le volume n'est pas correct, un système éjecte les unités automatiquement.
- Une inspection visuelle afin de vérifier qu'il n'y ait pas de dérive au cours de la répartition.

4.3.2.1 Contrôles environnementaux

Un suivi environnemental complet doit être réalisé pendant le test de simulation. Ainsi, tous les contrôles particuliers et microbiologiques de la ZAC sont réalisés lors du MFT, incluant le contrôle de la tenue des opérateurs en fin de séance de travail. Ces contrôles seront détaillés par la suite. (cf. 5.1)

4.3.3 Inspection visuelle des flacons répartis

L'inspection visuelle permet d'identifier les unités présentant des défauts, en fonction des défauts les unités seront éliminées ou pas. Cette inspection peut être réalisée soit sur mireuse semi-automatique, soit manuellement.

La gestion des unités lors d'un MFT n'applique pas les mêmes règles que celles d'une production de routine. Les règles générales pour la gestion des unités en MFT sont les suivantes :

- Les unités gardées en routine sont à garder comme unités conformes, ce sont des unités entrant dans les critères d'acceptation.
- Les unités détruites en routine sans défaut d'intégrité tel que les unités présentant des défauts cosmétiques, la présence de particules qui ne sont pas susceptibles de rompre la stérilité sont à garder et identifiées « pour information ».
- Les unités présentant un défaut d'intégrité, c'est à-dire un défaut susceptible de rompre la stérilité du milieu (par exemple une unité fêlée, non bouchée, mal bouchée, non sertie...) sont à éliminer car cela peut conduire à des faux positifs qui peuvent représenter de manière inexacte l'asepsie du procédé.

Un tableau récapitulatif concernant la gestion des unités est disponible en **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

Toutes les unités réparties doivent être inspectées visuellement avant l'incubation.

4.3.4 L'incubation des flacons contenant le milieu

La mise en incubation des unités doit se faire au plus tard dans les 48 heures suivant la fin de répartition. De plus, les unités doivent être inversées avant incubation pour assurer le contact du milieu de culture stérile avec toutes les surfaces internes du conditionnement.

Le temps d'incubation des unités contenant le milieu de culture stérile doit favoriser le développement d'un large spectre de microorganismes pouvant être mis en évidence dans l'environnement pharmaceutique. Pour cela, les unités seront incubées au minimum 7 jours à 20-25°C puis ensuite au minimum 7 jours à 30-35°C.

A la fin de la période d'incubation, un test de fertilité doit être effectué par le laboratoire de microbiologie et doit être statué conforme.

4.3.5 Lecture de tous les flacons

Une lecture finale de toutes les unités est réalisée à 14 jours minimum d'incubation. Si une unité contaminée est détectée une analyse doit être réalisée. Ainsi, chaque unité

présentant une turbidité du milieu, la présence de sédiment au fond du contenant, la présence de pellicule à la surface du milieu ou la présence de filament pouvant suggérer une moisissure doit être analysée. (18)

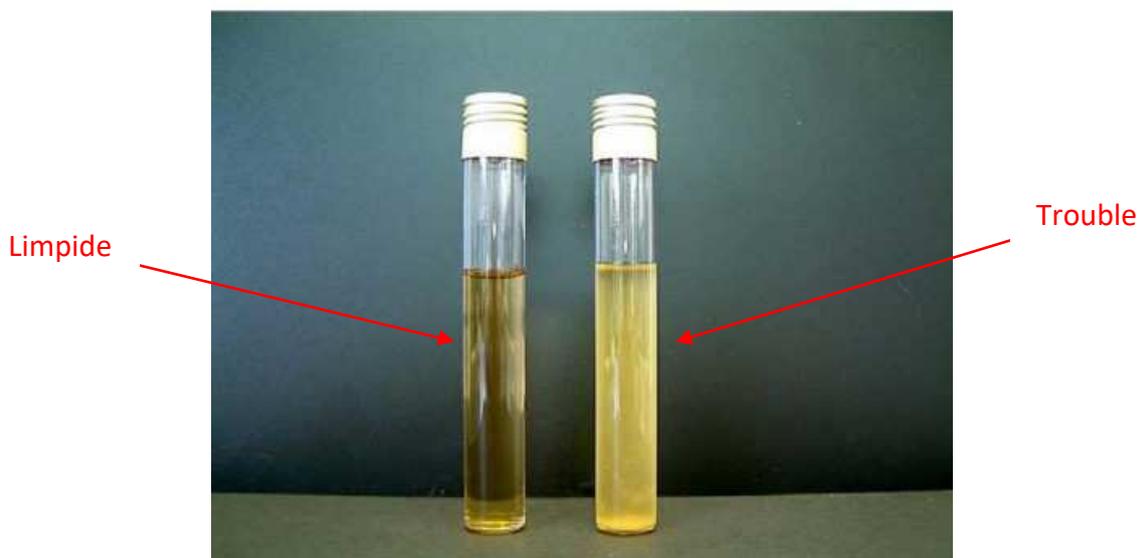


Figure 9 : Milieu de culture de TSB limpide et trouble (21)

4.3.6 Réconciliation des flacons

La réconciliation est un comptage précis des unités et doit être réalisée à l'unité près et en temps réel. Ce comptage doit se faire à la fin du procédé de répartition, après inspection visuelle et après lecture.

La réconciliation des unités réparties doit permettre de garantir que toutes les unités réparties intègres sont mises en incubation et toutes lues.

Si une unité est manquante, la réconciliation n'est donc pas conforme. Il serait possible de penser qu'une unité n'a pas été prise en compte, cette unité serait considérée comme potentiellement contaminée. Il est donc important d'avoir le nombre exact d'unités car cela pourrait porter à confusion lors d'une inspection.

4.3.7 Critères d'acceptabilité

En fonction de la taille de l'exercice réalisée, les règles pour le rendu de la conformité sont les suivantes: (22)

« - Quand le nombre d'unités remplies est inférieur à 5000 contenants, aucun contenant contaminé ne doit être détecté.

- Quand le nombre d'unités remplies est de 5000 à 10 000 unités :

a) une unité contaminée doit conduire à une enquête incluant la possibilité de répéter le test de simulation

b) deux unités contaminées entraînent une revalidation après enquête.

- Quand le nombre d'unités remplies est supérieur à 10000 unités :

a) une unité contaminée doit conduire à une enquête

b) deux unités contaminées entraînent une revalidation après enquête. »

L'exercice MFT n'est accepté que lorsqu'il est valide et conforme.

Le MFT sera conforme si lors de la réconciliation il y a le nombre exact d'unité et s'il y a une absence d'impact qualité dû à des incidents.

Le MFT sera valide s'il respecte les conditions de répartition préétablies (la cadence machine, le format, la taille du lot, le matériel utilisé, les interventions réalisées..), s'il respecte les condition d'incubation (durée et températures respectées) et enfin si le test de fertilité agit.

L'ensemble de ces éléments permettent de démontrer la maîtrise du procédé de répartition aseptique, ils seront présentés dans le paragraphe ci-dessous (cf. 4.4). Si un de ces éléments n'est pas conforme et/ou n'est pas valide, l'exercice de ce MFT sera remis en cause et pourra nécessiter son renouvellement.

4.4 Conditions de répartition préétablies

4.4.1 Cas défavorable (worst case)

Les conditions de simulation doivent se rapprocher le plus possible du procédé de routine, en intégrant les conditions « worst case ». Il s'agit du cas le plus défavorable. Si, dans les circonstances du pire des cas, des résultats acceptables sont obtenus, alors il doit y avoir une plus grande confiance dans la fiabilité du système dans des conditions plus courantes.

La détermination d'un procédé représentatif d'un groupe de produit doit prendre en compte :

- La vitesse de ligne/ la cadence de la machine/ la durée du process,
- Le volume de remplissage,
- La taille du lot,
- La phase d'attente où le produit est exposé,
- Le matériel,
- L'équipement (temps maximum entre la stérilisation ou décontamination de l'équipement et son début d'utilisation),
- Le nombre et la nature des interventions aseptiques,
- Le personnel : le nombre total de personnel, le nombre d'équipe, la fatigue des opérateurs.

Ces points seront approfondis dans les paragraphes suivants.

4.4.2 Durée de répartition

La durée de simulation du procédé de remplissage doit être suffisante pour permettre la simulation des interventions inhérentes et correctives (cf. 4.4.8) et pour simuler la durée habituelle du procédé de répartition en incluant la fatigue des opérateurs.

Le déroulement des différentes phases de répartition doit couvrir : (18)

- Le démarrage et la fin de répartition,

- Les périodes durant lesquelles sont réalisées les interventions inhérentes et correctives,
- Les périodes de stockage du produit pendant sa fabrication,
- Le remplacement du personnel sur ligne,
- La présence du personnel tout au long de la répartition.

4.4.3 Cadence de la machine de répartition

La variation des cadences de machine de routine doit être prise en compte car la vitesse de répartition de la ligne peut induire des différences. En effet, une vitesse lente induit une plus longue exposition du contenant dans le temps ; néanmoins une vitesse rapide peut induire un nombre d'interventions plus fréquent.

Afin de reproduire le plus fidèlement la cadence de la machine il faut, soit :

- Utiliser une vitesse worst case des vitesses de routine,
- Alternner des plages de répartition à cadence maximale et à cadence minimale.

4.4.4 Format des objets de conditionnement primaire (OCP)

La répartition du MFT doit être réalisée en prenant compte des formats OCP.

4.4.5 Matériel utilisé

Le matériel utilisé durant le MFT doit être le même que celui utilisé en routine. Il est préférable d'utiliser du matériel arrivant à péremption lors des MFT.

4.4.6 Taille de lot des flacons

Selon les BPF « *Le nombre de contenants utilisés pour la réalisation des tests de simulation doit permettre d'évaluer correctement le procédé. Pour les lots de petite taille, le nombre de contenants remplis doit être au moins égal à la taille d'un lot de production.* » (22)

Pour les lots < 5 000 unités : le nombre de contenants remplis doit être au moins égal à la taille d'un lot de production.

Pour les lots > 5 000 unités : répartir un nombre minimal de 5 000 unités par changement d'équipe. (18)

4.4.7 **Volume de remplissage**

Le volume de remplissage doit permettre un recouvrement de tous les contaminants susceptibles d'être présents à l'intérieur des contenants. Pour cela chaque contenant doit être rempli d'au moins 50% du volume de remplissage. Cette quantité permet un contact du milieu stérile avec toute la surface intérieure. De plus, le volume d'air doit être suffisant pour permettre le développement des germes aérobies.

4.4.8 **Interventions à simuler**

Les opérateurs/personnels humains sont la principale source de contamination microbienne. Par conséquent, les activités effectuées par le personnel à proximité de la zone de remplissage aseptique, également appelées interventions, doivent être soigneusement contrôlées pour s'assurer qu'elles ne compromettent pas la stérilité des produits.

Il existe 2 catégories d'interventions : les interventions inhérentes et les interventions correctives. Celles-ci doivent être simulées lors de la répartition du MFT.

Le nombre d'interventions inhérentes et correctives simulées doit être représentatif des lots de production. De plus, la façon de réaliser ou simuler chaque intervention doit être la plus représentative possible de la pratique de routine.

Le calcul du nombre d'interventions à réaliser sur un lot de production doit être effectué pour chaque MFT.

$$\text{Nombre d'interventions à simuler} = \frac{\text{Nombre d'interventions max}}{\text{Nombre d'unités réparties}}$$

Le nombre d'interventions maximum rapporté au nombre d'unités réparties, doit être réalisé à chaque MFT. (18)

4.4.8.1 Interventions inhérentes

Il s'agit des interventions planifiées qui font intégralement partie du procédé aseptique et qui sont nécessaires au fonctionnement normal. Elles doivent être réalisées lors de chaque MFT.

Exemple : Le montage du matériel (pompes, aiguilles, bol bouchon...), les connexions aseptiques, les réglages de volume de répartition, les changements d'équipe.

4.4.8.2 Interventions correctives

Il s'agit des interventions non planifiées et autorisées qui sont réalisées pour corriger ou ajuster un processus aseptique au cours de la production.

Les interventions correctives sont classées en deux catégories selon leur fréquence d'apparition en production :

- Les interventions correctives fréquentes : elles sont réalisées au moins une fois par semaine en production.
- Les interventions correctives exceptionnelles : elles sont réalisées en production moins d'une fois par semaine

Elles doivent être réalisées ou simulées au moins une fois par an.

Exemples : Retrait d'OCP couché, bloqué, cassé...

Le nombre de réalisation en MFT de chaque intervention est défini, selon la catégorisation présentée dans le Tableau 1 : Fréquence de simulation en MFT en fonction du type intervention (Sanofi Pasteur, 2021)

Type d'intervention	Fréquence d'apparition en production	Fréquence de simulation en MFT
Intervention inhérente	Intervention faisant partie intégrante du procédé aseptique à chaque lot	A chaque MFT
Intervention corrective fréquente	Au moins 1 fois par semaine	Au minimum une fois par MFT et Le nombre maximal réalisé sur un lot de production, rapporté au nombre d'unités réparties, doit être réalisé ou simulé 1 fois par an en MFT
Intervention corrective exceptionnelle	Moins d'1 fois par semaine.	Au moins 1 fois par an Le nombre maximal réalisé sur un lot de production, rapporté au nombre d'unités réparties doit être réalisé ou simulé 1 fois par an en MFT

Tableau 1 : Fréquence de simulation en MFT en fonction du type intervention (Sanofi Pasteur, 2021)

4.5 Fréquence et nombre de simulations

4.5.1 Validation initiale

Les tests de simulation du procédé doivent être réalisés pour la validation initiale avec trois essais de simulation consécutifs conformes pour chacune des équipes et doivent être répétés à intervalles réguliers et après toute modification significative du système d'alimentation en air filtré, des équipements, du procédé ou du nombre d'équipes. (23)

La production des lots commerciaux ne devra pas être initiée avant que les dossiers MFT n'aient été approuvés conformes, sauf accord préalable de l'Assurance qualité opérationnelle.

Les lots commerciaux fabriqués ne seront pas mis sur le marché tant que les dossiers MFT n'auront pas été approuvés conformes. Ils seront donc bloqués dans l'attente des résultats du MFT.

4.5.2 Validation périodique

Pour maintenir la validation, ces tests « *doivent normalement être répétés deux fois par an, pour chaque équipe et chaque procédé* ». (23)

Les simulations sont séparées de six mois avec une tolérance d'un mois.

4.5.3 Validation d'une nouvelle intervention

Toute nouvelle intervention, inhérente ou corrective qui doit être validée, doit être réalisée au moins 3 fois, répartie sur un ou plusieurs MFT.

Cependant, toutes les nouvelles interventions ne sont pas à valider en MFT, cela dépend de nombreux critères. Il faut donc anticiper la survenue de celles-ci.

4.6 Gestion des nouvelles interventions

A tout moment, la gestion et la réalisation d'une nouvelle intervention qui n'a pas encore été validée MFT peut être nécessaire. Cela doit être fait dans un délai rapide pour éviter un impact qualité sur le lot, une détérioration de l'outil de production ou un arrêt prolongé de production susceptible de désalimenter le marché en médicaments.

Un formulaire a été mis en œuvre au sein du site Sanofi Pasteur à Val-de-Reuil et sera détaillé dans les paragraphes suivant.

4.6.1 Principe du formulaire

Ce formulaire a pour objectif d'évaluer de façon anticipée une intervention non validée en MFT sur une ligne de répartition afin d'autoriser ou non sa réalisation sur un lot de production et de la valider ou non MFT.

4.6.2 Acteurs intervenant sur le formulaire

Les principaux acteurs devant intervenir dans le remplissage de ce formulaire sont les suivants :

- La production

- La maintenance
- L'assurance Qualité Opérationnelle
- Le Support Production

4.6.3 Description de l'intervention

La description de l'intervention est sous la responsabilité de la production et/ou de la maintenance. Elle doit contenir suffisamment de détails (Qui ? Quoi ? Où ? Pourquoi Comment ? Avec quoi ?). Ces détails aideront l'Assurance Qualité Opérationnelle (AqOp) à statuer sur l'autorisation ou non de la réalisation de l'intervention.

4.6.4 Description des mesures conservatoires

Ce sont les mesures mises en place pour éviter une contamination du produit, telles que la désinfection des gants, des outils et du bâti.

La description des mesures conservatoires est sous la responsabilité commune de la production et de l'Assurance Qualité Opérationnelle.

4.6.5 Supervision de l'intervention

La supervision est un contrôle réalisé pendant la réalisation de l'intervention afin de vérifier le respect des mesures conservatoires et le comportement du personnel réalisant l'intervention. Cela ne doit pas avoir d'impact sur la qualité produit. La supervision est alors effectuée par une personne soit de production, soit du support production, soit de l'AQ Op ou encore par un coach observation aseptique.

4.6.6 Autorisation de l'intervention

Grâce à la description de l'intervention, la description des mesures conservatoires, et l'évaluation de la criticité l'Assurance Qualité Opérationnelle autorisera ou non sa réalisation. En effet si l'intervention a une criticité élevée il y aura un risque plus élevé de contamination avec le produit et donc la non autorisation de l'intervention.

4.7 Observation des Media Fill Test (MFT)

La simulation du processus doit être observée pour s'assurer que toutes les activités planifiées sont correctement exécutées (24). Le suivi de cette simulation doit donc s'effectuer du début à la fin par des personnes qualifiées rattachées au service qualité. Celles-ci doivent s'appuyer sur des connaissances et des compétences permettant d'évaluer deux points principaux. Il s'agit d'examiner la bonne conduite aseptique des opérateurs et de s'assurer que les interventions aseptiques ont été correctement exécutées. Le service qualité supervise alors le déroulement des MFT. Ainsi, le compte rendu de supervision permettra d'aider à l'investigation en cas d'unités contaminées.

4.8 Formation du personnel

Selon les BPF « *La qualité dépend dans une grande mesure du savoir-faire, de la formation et du comportement du personnel impliqué.* ». (2)

En effet, si une personne non formée intervient dans des opérations du procédé de répartition aseptique, elle peut introduire potentiellement des contaminants microbiologiques et générer des particules. Elle risque de prendre les décisions inadéquates et donc de mettre en danger la maîtrise du procédé. De ce fait, la formation du personnel est un point important du système d'assurance de la qualité. Le personnel recevra donc une formation qualité générale.

4.8.1 Formation et qualification initiale aux procédés aseptiques

Pour être autorisé à réaliser des interventions aseptiques de façon autonome, chaque opérateur de ZAC ou EMR devra :

- Être qualifié aux activités listées dans le plan de formation standard du poste d'opérateur de ZAC ou d'EMR,
- Participer à un MFT de qualification initiale où il doit réaliser les interventions représentatives de la routine. (18)

4.8.2 Qualification périodique aux procédés aseptiques

Pour maintenir sa qualification aux opérations aseptiques, chaque opérateur ou EMR doit participer à la réalisation d'une simulation par an. Cette simulation s'effectue soit sur une ligne de répartition, soit sur un procédé aseptique. L'opérateur doit au préalable avoir reçu une qualification relative à la méthode de simulation choisie. Par ailleurs, il doit réaliser au moins une intervention critique (inhérente ou corrective) en plus de sa participation aux opérations de production. Pour maintenir sa qualification le résultat de la simulation à laquelle il a participé doit être conforme.

5 Le contrôle de l'asepsie

Les moyens cités précédemment permettant la validation du processus de répartition aseptique par Media Fill Test, doivent être complétés par des contrôles assurant la stérilité de l'environnement de production durant la répartition du produit de routine.

5.1 Le suivi environnemental

L'objectif du suivi environnemental est de contrôler les ZAC, avec une fréquence déterminée à l'aide de paramètres physiques et biologiques, en s'assurant qu'elles répondent à tout moment aux spécifications attendues. Un programme de surveillance environnemental correctement défini, contrôlé et exécuté permet d'assurer la stérilité du produit en démontrant que les conditions environnementales sont propices à la production et sont respectés pendant toute la durée du process.

5.1.1 Paramètres physiques

L'humidité relative, la température, le différentiel de pression et la contamination particulaire de l'air sont les quatre variables physiques suivies. Elles seront détaillées par la suite dans cette thèse.

5.1.1.1 Comptage particulaire

Le compteur de particule permet d'évaluer la contamination particulaire d'un volume d'air donné, à un instant donné.

La sonde doit être disposée de façon à assurer une aspiration face au flux. Pendant la durée du prélèvement, il faut veiller à ne pas perturber le flux devant la sonde (ne pas passer la main ou d'objet devant la sonde, etc.)

Un ticket apparaîtra après le comptage avec le nombre de particules mesuré selon leur diamètre.



Figure 10 : Compteur de particules (25)

5.1.1.2 Différentiel de pression entre les locaux

Il est important de maintenir un gradient de surpression d'une zone par rapport à l'autre. En effet, une baisse significative de ce différentiel, qu'elle soit fréquente ou non, pourra être à l'origine de contaminations particulaires et éventuellement microbiennes.

En cas de dérégulation de pression une alarme permettra de le signaler. Pour éviter ces dérégulations, plusieurs pratiques doivent être adoptées :

- La limitation des flux de personnel, de matériel ou de machines,
- La fermeture des portes et l'ouverture de deux portes de zones de classe différente ne doit pas se faire en même temps.

5.1.1.3 Mesure de la température et de l'humidité relative dans les locaux

Le contrôle de la température et de l'humidité relative est important pour le confort du personnel, pour le matériel utilisé dans la zone et pour le produit. Des limites hautes et basses doivent être définies pour permettre le maintien de la classe d'air de la zone.

Ces limites sont :

- Un taux d'humidité relative compris entre 20% et 60%
- Une température comprise entre 18 et 22°C

5.1.2 Paramètres biologiques

5.1.2.1 Prélèvement d'air statique

Le prélèvement d'air statique permet d'évaluer la contamination microbiologique de l'air ambiant sur une période donnée, par sédimentation.

Les boîtes de sédimentation contenant de la gélose sont exposées à l'air libre, au maximum 4 heures, sur lesquels les microorganismes vont se déposer. (cf. Figure 11)

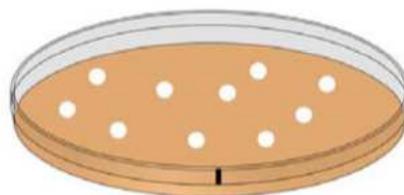


Figure 11 : Gélouses d'impaction (26)

5.1.2.2 Prélèvement d'air volumétrique

Le prélèvement d'air volumétrique est réalisé à l'aide d'un aérobiocollecteur. Il permet d'évaluer la contamination microbiologique d'un volume d'air donné, à un instant donné. L'air est aspiré par l'intermédiaire d'un crible permettant le dépôt des contaminants sur la gélose. (cf. Figure 12)

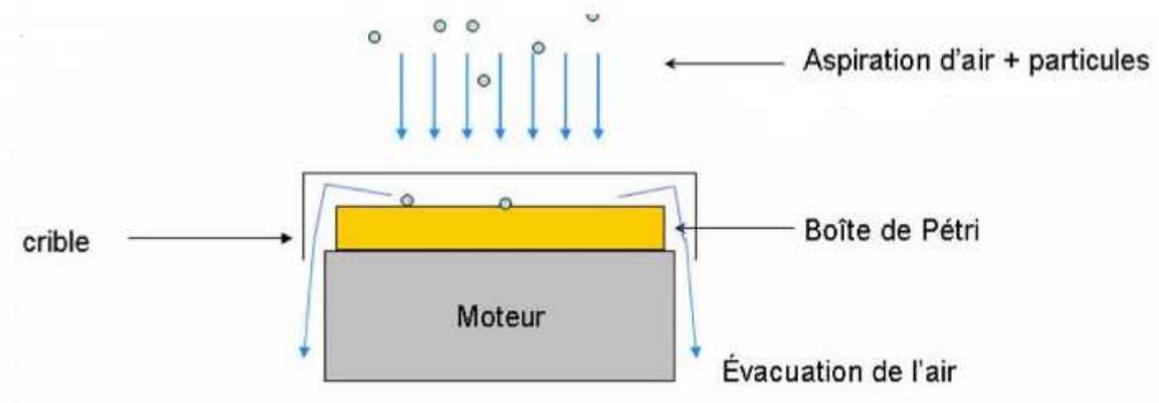


Figure 12 : Schéma représentant le principe d'impaction de l'air sur la gélose (27)

Il faut orienter le biocollecteur de façon à assurer une aspiration face au flux (cf. Figure 13). De plus, pendant la durée du prélèvement, il faut veiller à ne pas passer la main ou d'objet devant l'appareil.



Figure 13 : Aérobiocollecteur placé face au flux laminaire horizontal (Sanofi Pasteur, 2021)

5.1.2.3 Contrôle de surface et du personnel

Les surfaces en contact avec le produit, les murs, le sol et les équipements doivent être testées fréquemment. Ces prélèvements peuvent s'effectuer par gélose de contact permettant d'examiner la contamination microbiologique.

5.1.2.3.1 Prélèvement de surface

Il suffit de presser le milieu de culture stérile contenu dans la boîte contre la surface à investiguer pendant 5 à 10 secondes en veillant à ce que toute la gélose soit en contact avec la surface. (cf. Figure 14)



Figure 14 : Réalisation d'un prélèvement de surface (Sanofi Pasteur, 2021)

Il est important de ne pas détériorer la surface de la gélose en effectuant le prélèvement.

Cette technique présente l'inconvénient de déposer de la gélose sur la surface à contrôler et donc, de faciliter la croissance bactérienne en ce point. Ce contrôle s'effectue donc habituellement à la fin des opérations et est suivi d'un nettoyage de surface.

5.1.2.3.2 Prélèvement des équipements

Les prélèvements de tenues sont réalisés à l'aide d'une gélose au niveau de l'avant-bras droit, de l'avant-bras gauche, de la poitrine et de la cagoule, tout en maintenant une pression modérée pendant 5 à 10 secondes. (cf. Figure 15)



Figure 15 : Réalisation des prélèvements des tenues (Sanofi Pasteur, 2021)

Le prélèvement des gants permet de récupérer sur la gélose l’empreinte de chacun des doigts de la main et ainsi permet l’évaluation de la contamination microbiologique des gants des opérateurs. Lors de la manipulation par l’opérateur Il faut que celui-ci maintienne une pression modérée l'auriculaire, l'annulaire, le majeur et l'index en même 5 à 10 secondes puis il doit appuyer le pouce bien à plat sur la partie restante de la gélose (Cf. Figure 16). Ce prélèvement permet de récupérer sur la gélose l’empreinte de chacun des doigts de la main. Par ailleurs, il est important de ne pas désinfecter les gants avant le prélèvement.



Figure 16 : Réalisation d'un prélèvement de gants (Sanofi Pasteur, 2021)

5.1.3 Contrôle de la contamination du produit

5.1.3.1 Tests de stérilité

Les tests de stérilité sont pratiqués sur le produit fini. Ils permettent de déterminer que le produit final est bien stérile. En général, ils sont effectués en milieux liquides et incubés pendant 14 jours. Ils permettent de vérifier en cas de pousse si la contamination provient ou non du milieu stérile utilisé.

Cependant, ils sont destructifs. Il est impossible de tester chacune des unités produites. Or il faut s'assurer que le produit fini est bien stérile. Cela impose donc, en parallèle, un monitoring environnemental continu lors des phases de production et une validation en amont l'asepsie du procédé. Cette validation s'effectue par les tests de simulation de remplissage « Media Fill Test ».

6 Conclusion

Les industries pharmaceutiques produisant des médicaments stériles sont soumises à une réglementation stricte. En effet, celles-ci doivent suivre les recommandations décrites dans les BPF, dans le but d'assurer la stérilité des produits et donc la sécurité des patients.

La maîtrise, le contrôle et la validation de l'environnement de répartition aseptique sont essentiels pour garantir la qualité des produits. C'est un challenge particulièrement complexe, pour lequel différentes stratégies ont été mises en place.

La maîtrise de l'asepsie passe par la production dans des Zones à Atmosphère Contrôlée. Des mesures préventives avec l'établissement de barrières telles que la surpression, la filtration de l'air et les sas permettent d'éviter une contamination de l'environnement. De plus, les équipements de production et les locaux doivent être conçus pour être facilement nettoyés et stérilisés. Par ailleurs, il ne faut pas oublier le risque de contamination humaine directe. La formation du personnel sur le comportement en zone et l'habillement n'est donc pas négligeable.

Il convient de s'assurer que les mesures préventives se maintiennent efficace. Une surveillance de l'environnement de production est donc requise. Des contrôles microbiologiques et particuliers permettent de vérifier que la gestuelle, l'entrée en zone et les techniques d'habillement du personnel ne sont pas contaminants pour les produits. Cela permet également de détecter toutes dérives potentielles. Ces données conduisent au respect des limites réglementaires en termes de contaminations.

Cependant, l'asepsie du procédé doit nécessairement être assurée et prouvée avant d'entamer la production des médicaments. C'est pourquoi, en dehors du suivi environnemental en cours de production, il est indispensable de valider en amont les équipements, le procédé de remplissage et la zone de production. Cette validation s'effectue par les tests de simulation de remplissage appelés Media Fill Test. Celui-ci doit être réalisé régulièrement afin de s'assurer de l'asepsie de la zone et du procédé de répartition.

Le respect de l'ensemble de ces mesures associé aux résultats des tests sur les produits finis permettra d'apporter la preuve de la qualité de l'environnement de production et autorisera la libération des lots sur le marché.

7 Références bibliographiques

1. Filtration stérilisante sur BFS Réglementation et usages pour garantir la stérilité. [cité 10 oct 2021]; Disponible sur: <https://www.a3p.org/filtration-sterilisante-bfs/>
2. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 253, §principe. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
3. AFNOR [Internet]. [cité 17 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.dictionnaire-medical.fr/definitions/669-asepsie/>
4. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 253, §1. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
5. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 253, §3. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
6. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 254, §4. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
7. BSI Group. High efficiency air filters (EPA, HEPA and ULPA) [Internet]. Disponible sur: [http://www.gttlabs.com/uploads/soft/161025/EN1822-1-2009HighEfficiencyAirFilters\(EPA,HEPAandULPA\)Part1Classification,performance.pdf](http://www.gttlabs.com/uploads/soft/161025/EN1822-1-2009HighEfficiencyAirFilters(EPA,HEPAandULPA)Part1Classification,performance.pdf)
8. Filtre HEPA. In [cité 3 déc 2021]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/wiki/Filtre_HEPA
9. Ettinger HJ, Defield JD, Bevis DA, Mitchell RN. HEPA Filter Efficiencies Using Thermal and Air-Jet Generated Dioctyl Phthalate. American Industrial Hygiene Association Journal. janv 1969;30(1):20-6.
10. RABS versus Isolators [Internet]. CHEManager. [cité 6 nov 2021 apr. J.-C.]. Disponible sur: <https://www.chemanager-online.com/en/news/rabs-versus-isolators>
11. La Calhène. Système de transfert DPTE [Internet]. Disponible sur: <https://docplayer.fr/175791381-Systeme-de-transfert-dpte-transfert-de-materiaux-sans-rupture-de-confinement.html>
12. Kreher M. Isotechnie : connaître et choisir la bonne technologie. 1 mai 2012;(80). Disponible sur: <http://processpropre.fr/Archives-article/Fiche/1030/Isotechnie-%253A-connaître-et-choisir-la-bonne-technologie>
13. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 259, §42. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
14. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 259, §40. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
15. Gamme protection absolue [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: https://farmasiindustri.com/cpob/gowning-dalam-industri-farmasi.html/attachment/144_gamme_protection_absolue_1005-1170
16. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 262, §61. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
17. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 260, §46. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>

fabrication-de-medicaments-a-usage-humain

18. Sanofi Pasteur. Procédures internes; 2021.
19. Media Fill Inspection [Internet]. Lighthouse Instruments; [cité 6 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.pharmaceuticalonline.com/doc/media-fill-inspection-0001>
20. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 262, §67. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
21. atlantic labo [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.atlanticlabo-ics.fr/tsb/10938-tsb-tryptone-et-soja-bouillon-x-500g.html>
22. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 263, §69. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
23. Bonnes pratiques de fabrication [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021] p. 263, §68. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
24. Process Simulation for Aseptically Filled Products. Report No.: Technical Report No. 22.
25. Isatec : Ingénierie Services en Génie Climatique [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <http://www.isatec.fr/presentation-isatec/isatec-materiel/>
26. Education à l'hygiène & Prévention des risques de contamination biologique [Internet]. [cité 20 nov 2021]. Disponible sur: <http://droguet-sebastien.e-monsite.com/pages/activites-technologiques-1ere-2015-2016/at07-omnipresence-des-microbes.html>
27. Quitterie Desjonqueres, Mathide Veyrard. Contrôle de la qualité de l'air en salles propres. Disponible sur: https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2009/06/article_scientifique_vague28_0pdf_articles_La-Vague-28-VF-23-26.pdf

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

Nom : Villers
Prénom : Ophélie

Titre de la thèse : Maîtrise, contrôle et validation par « Media Fill Test » de l'asepsie des médicaments injectables stériles.

Mots-clés : suivi environnemental, maîtrise de l'asepsie, Media Fill Test, zone à atmosphère contrôlée, interventions, RABS, isolateurs, sas, Test de stérilité

Résumé :

La fabrication des médicaments injectables stériles est une activité pharmaceutique qui requiert une exigence de qualité stricte. La maîtrise de l'environnement de production par répartition aseptique est réalisable dans les Zones à Atmosphère Contrôlée. Ces ZAC doivent être contrôlées afin de garantir le respect des limites réglementaires en termes de contaminations particulières et microbiologiques. Cependant, l'asepsie du procédé doit être assurée et prouvée avant d'entamer la production des médicaments. Il est donc indispensable de valider en amont le process par des tests de simulation de remplissage appelés Media Fill Test. La maîtrise, le contrôle et la validation de l'asepsie de l'environnement de production permettra de garantir la qualité du produit fini et autorisera la libération des lots sur le marché.

Membres du jury :

Président : Dr Youness Karrout, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences en pharmacie, biopharmaceutique et technologie pharmaceutique à l'Université de Lille 2.

Directeur : Dr Youness Karrout, Docteur en Pharmacie, Maître de Conférences en pharmacie, biopharmaceutique et technologie pharmaceutique à l'Université de Lille 2.

Assesseur(s) : Dr Elisabeth Singer, Maître de Conférences en Pharmacie, au laboratoire de Bactériologie-Virologie à l'Université de Lille 2.

Membre(s) extérieur(s) : Dr Sarah Salhi, Docteur en Pharmacie, Coordinatrice suivi des zones à atmosphère contrôlée à Sanofi Pasteur.