

ANNEE 2003

**THESE**

**Pour le**

**DIPLÔME D'ETAT**

**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

par

**Vincent LIMOUSIN**

*Présentée et soutenue publiquement le 29 Octobre 2003*

**QUALIFICATION RETROSPECTIVE D'UN AUTOCLAVE DU  
LABORATOIRE DE CONTRÔLE SUR UN SITE INDUSTRIEL DE  
PRODUCTION PHARMACEUTIQUE**

**Président :** Monsieur Yves PEGON, Professeur de Chimie Analytique

**Membres du jury :** Madame Hélène GAUTIER, Maître de Conférence de Pharmacie Galénique  
Madame Estelle TOWELL, Ingénieur spécialiste en Validation / Conformité

## **REMERCIEMENTS**

**A Monsieur le Professeur Yves PEGON,**

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse,  
Vous avez aimablement accepté de juger ce travail.  
Je vous en remercie et je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance.

**A Madame Hélène GAUTIER,**

Vous avez dirigé l'élaboration de ce travail,  
Votre aide précieuse et vos encouragements m'ont été d'un grand soutien.

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect.  
Avec mes sincères remerciements.

**A Madame Estelle TOWELL,**

Vous avez participé à la réalisation pratique de ce travail et avez accepté de le juger,  
Je vous en remercie chaleureusement.

## **REMERCIEMENTS**

**A mes parents et à mon frère Olivier,**

Pour m'avoir encouragé et soutenu tout au long de mes études, je vous dédie cette thèse.

**A Adeline,**

Pour ton aide précieuse lors de la rédaction de ce travail.

<b><u>INTRODUCTION</u></b>	8
<b><u>PREMIERE PARTIE : APPROCHE THEORIQUE DE LA QUALIFICATION D'UN AUTOCLAVE</u></b>	
<b><u>A- La qualification : approche générale</u></b>	9
<u>I- Introduction</u>	9
<u>II- Objectifs de la qualification</u>	10
<u>III Méthodologie</u>	12
<u>III-1 Introduction</u>	12
<u>III-2 Réalisation</u>	13
<u>III-2-1 Elaboration du groupe de travail</u>	14
<u>III-2-2 La documentation</u>	15
<u>IV- Les différentes étapes de la qualification</u>	18
<u>IV-1 Le cahier des charges</u>	18
<u>IV-2 La qualification de conception (QC)</u>	19
<u>IV-3 La qualification d'installation (QI)</u>	19
<u>IV-3-1 Le protocole de QI</u>	20
<u>IV-3-2 La réalisation de la QI</u>	20
<u>IV-3-3 Le rapport de QI</u>	21
<u>IV-4 La qualification opérationnelle (QO)</u>	22
<u>IV-4-1 Le protocole de QO</u>	22
<u>IV-4-2 La réalisation de la QO</u>	23
<u>IV-4-3 Le rapport de QO</u>	23
<u>IV-5 La qualification de performance (QP)</u>	24
<u>IV-5-1 Le protocole de QP</u>	24
<u>IV-5-2 La réalisation de la QP</u>	24
<u>IV-5-3 Le rapport de QP</u>	25
<u>IV-6 Le rapport final de qualification</u>	25

<u>V- Cas particulier de la sous-traitance</u>	26
<u>VI- Suivi de la qualification</u>	26
<u>VI-1 Gestion des modifications (ou <i>Change Control</i>)</u>	26
<u>VI-2 Gestion des requalifications</u>	27
<u>VII- Conclusion</u>	28
<b><u>B- La qualification d'un autoclave</u></b>	30
<u>I- Notions de stérilisation</u>	30
<u>I-1 Introduction</u>	30
<u>I-2 Les différents procédés de stérilisation</u>	30
<u>I-2-1 Stérilisation dans un conditionnement définitif</u>	31
<u>a- La stérilisation par la vapeur d'eau</u>	31
<u>b- La stérilisation par la chaleur sèche</u>	31
<u>c- La stérilisation par l'oxyde d'éthylène</u>	32
<u>d- La stérilisation par le formaldéhyde</u>	32
<u>e- La stérilisation par les radiations ionisantes</u>	33
<u>I-2-2 Méthodes alternatives aux précédentes</u>	33
<u>a- La filtration stérilisante</u>	33
<u>b- La préparation dans des conditions aseptiques</u>	34
<u>I-2-3 Les procédés en cours d'élaboration</u>	34
<u>I-3 La stérilisation par la vapeur d'eau</u>	34
<u>I-3-1 Mécanismes de la mort microbienne</u>	34
<u>I-3-2 Les lois de destruction thermique</u>	35
<u>a- Variation du nombre de germes en fonction du temps</u>	35
<u>b- Temps de réduction décimale</u>	36
<u>c- Valeur d'inactivation thermique z</u>	38
<u>d- Valeur stérilisatrice <math>F_0^z</math></u>	39
<u>e- Niveau d' Assurance Stérilité (NAS) ou Sterility Assurance Level (SAL)</u>	41
<u>I-3-3 Caractéristiques de la vapeur d'eau</u>	41
<u>I-4 Conclusion</u>	43

<u>II- Qualification d'un cycle de stérilisation d'un autoclave</u>	44
<u>II-1 Introduction</u>	44
<u>II-2 Elaboration du groupe de travail</u>	44
<u>II-3 La qualification de conception</u>	45
<u>II-3-1 La conception d'un autoclave</u>	45
<u>a- Les éléments constitutifs</u>	45
<u>b- Les systèmes de contrôle</u>	46
<u>c- Elimination de l'air</u>	46
<u>II-3-2 La qualification de conception</u>	48
<u>II-4 La qualification d'installation</u>	48
<u>II-5 La qualification opérationnelle</u>	50
<u>II-5-1 Mise au point des cycles</u>	51
<u>a- Approche overkill</u>	51
<u>b- Approche bioburden</u>	52
<u>II-5-2 Distribution thermique au sein de l'autoclave à vide</u>	53
<u>a- Les thermocouples</u>	53
<u>b- Réalisation de l'étude de distribution thermique</u>	54
<u>II-6 La qualification de performance</u>	56
<u>II-6-1 Distribution thermique en charge</u>	56
<u>II-6-2 Cartographie thermique des contenants</u>	56
<u>II-6-3 Etude de pénétration de la chaleur</u>	57
<u>a- Etudes physiques</u>	57
<u>b- Etudes biologiques</u>	57
<u>II-7 Rapport de qualification final</u>	59
<u>II-8 Maintenance de la qualification de l'autoclave</u>	59
<u>II-9 Conclusion</u>	60

# **DEUXIEME PARTIE : REALISATION PRATIQUE DE LA QUALIFICATION D'UN AUTOCLAVE EN MILIEU INDUSTRIEL**

<u>I- Introduction</u>	61
<u>II- Description de l'équipement</u>	62
<u>II-1 Description de l'autoclave</u>	63
<u>II-2 Description de l'automate Allen Bradley</u>	64
<u>II-3 Description du superviseur Allen Bradley Control View</u>	65
<u>II-4 Fonctionnement de l'autoclave</u>	66
<u>II-5 Les change-controls</u>	67
<u>III- Qualification de l'équipement</u>	68
<u>III-1 L'Analyse de Criticité/ Plan de Qualification (ACPQ)</u>	69
<u>III-2 Réalisation de la Qualification d'Installation (QI)</u>	76
<u>III-2-1 Protocole de qualification d'installation</u>	76
<u>III-2-2 Rapport de qualification d'installation</u>	80
<u>III-3 Réalisation de la Qualification Opérationnelle (QO)</u>	82
<u>III-3-1 Protocole de qualification opérationnelle</u>	82
<u>III-3-2 Rapport de qualification opérationnelle</u>	89
<u>III-4 Réalisation de la Qualification de Performance (QP)</u>	92
<u>III-4-1 Protocole de qualification de performance</u>	92
<u>III-4-2 Rapport de qualification de performance</u>	104
<u>III-5 Le protocole de qualification générique (PQG)</u>	108
<u>IV- Conclusion</u>	109
<b><u>CONCLUSION</u></b>	110
<u>Annexe 1</u> : Exemple de rapport d'autoclave	111
<u>Annexe 2</u> : Spécification des cycles de l'autoclave Lagarde	115
<u>Annexe 3</u> : Matrice vierge de protocole de qualification	117
<u>Annexe 4</u> : Matrice vierge de rapport de qualification	122
<u>Annexe 5</u> : Matrice vierge d'Analyse de Criticité/ Plan de Qualification	126
<u>Bibliographie</u>	132

Aujourd'hui, le concept de qualification fait partie intégrante du domaine de l'assurance qualité de l'industrie pharmaceutique. Cependant, son apparition dans les textes réglementaires et normatifs ne date que d'une trentaine d'années. Il est apparu aux Etats-Unis avant d'être exporté en Europe.

L'un des premiers domaines concernés par le champ d'application de la qualification est la stérilisation en milieu industriel et notamment via la stérilisation humide fournie par les autoclaves. Ainsi, cette qualification fait l'objet d'études approfondies, mais sa compréhension est indissociable de celle du comportement microbien vis-à-vis d'une telle stérilisation.

Le site industriel de production pharmaceutique Pfizer Global Manufacturing, au sein duquel j'ai effectué mon stage, souhaite produire un antifongique sous forme injectable pour le marché américain. Or, l'autoclave du laboratoire de contrôle de la qualité, utilisé pour la libération des articles de conditionnement de ce produit, n'avait fait l'objet que d'une rapide qualification lors de sa mise en service. Ce travail décrit donc la réalisation de la qualification de cet autoclave, dans le but de se conformer aux exigences des autorités américaines.

Nous verrons donc dans une première partie bibliographique les principes généraux d'une qualification, puis, après un rappel indispensable sur les notions de stérilisations, le déroulement de la qualification d'un autoclave. La deuxième partie consistera en une approche pratique par la description de la réalisation de la qualification d'un autoclave du site de production pharmaceutique de Pfizer à Amboise.



## A- La qualification : approche générale

### I- Introduction

La qualification est décrite dans de nombreux textes réglementaires, normatifs et professionnels. Elle est obligatoire dans les domaines industriels et de recherche, dans les bonnes pratiques applicables aux produits de santé : médicaments humains et vétérinaires, matières premières actives, dispositifs médicaux, cosmétiques d'hygiène et de soins, biotechnologies...

Le terme de qualification, et plus généralement de validation, a été introduit dans les documents officiels par la Food and Drug Administration (ou FDA) en 1976, et adopté dès 1978 dans les current Good Manufacturing Practice (cGMP, l'équivalent des Bonnes Pratiques de Fabrication ou BPF outre Atlantique) dès 1978. Cependant, ce concept, sans être défini par le terme « validation », apparaît dès 1962 puisque à cette époque, par l'intermédiaire des cGMP, la FDA considérait que les locaux, les équipements, les procédés utilisés pour la production et le contrôle devaient être conçus et évalués pour assurer la qualité des médicaments fabriqués. Suite à cette évolution, la qualification est devenue un outil essentiel de la démarche d'assurance qualité dans le domaine de l'industrie pharmaceutique.

Pour cerner correctement le concept de qualification, il est essentiel de comprendre le domaine d'application de la validation. Aujourd'hui, il en existe plusieurs définitions. Cette pluralité est expliquée par le fait que le terme de validation peut avoir différentes explications selon les applications et les circonstances.

La cinquième édition des BPF définit dans son glossaire la validation comme étant « *l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement, ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés.* ». (1)

Pour ces mêmes BPF, la qualification est « *l'opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus. Le concept de validation est parfois élargi pour comprendre celui de qualification.* ». Ainsi, la validation est un complément de la qualification qui intègre l'environnement (formation et habilitation du personnel, procédures d'exploitation, de maintenance, de contrôle, informatiques, de suivi des sous-traitants, maîtrise statistique du processus par l'analyse du produit...). Cependant,

étant donné la diversité des problèmes posés pour chacune des opérations pharmaceutiques, il ne peut être donné que des recommandations d'ordre général.

## II- Objectifs de la qualification

La qualification doit établir, à l'aide de preuves documentées, que :

- Les bâtiments, les locaux, et l'équipement ont été conçus dans le respect des exigences BPF ;
- Les bâtiments, les locaux et l'équipement ont été construits et installés en conformité avec les spécifications établies lors de la conception ;
- Les locaux et l'équipement fonctionnent selon les spécifications établies et cela de manière reproductible, fiable, pour générer un produit de qualité désirée. La qualification permet en effet de démontrer la fiabilité de fonctionnement, la maîtrise des résultats fournis ou la maîtrise des procédés appliqués au produit (équipements de laboratoire d'analyse ou de recherche et équipements de production.) (2)

La qualification des installations et des équipements de contrôle et de production se justifie en plusieurs points :

- La qualification est un élément du système d'assurance qualité. En effet, le contrôle du produit fini a des limites (représentativité de l'échantillonnage, sensibilité des méthodes d'analyse). Or, la qualification permet d'avoir confiance dans la qualité des produits fabriqués, car elle implique un procédé bien connu et sous contrôle. Elle permet également de vérifier et de garantir la fiabilité des installations et des équipements, d'établir des procédures de fonctionnement, de prévoir la maintenance, l'entretien, le changement des éléments défectueux afin d'assurer la conformité aux normes ou spécifications définies et nécessaires à la qualité des produits fabriqués. Elle permet de construire la qualité du produit et d'en conserver les standards depuis la conception jusqu'à la fin de la commercialisation.
- Elle est également un élément de maîtrise des coûts de production et de contrôle par une meilleure connaissance et une meilleure maîtrise des procédés. En effet, elle diminue le nombre de contrôles à réaliser, et elle évite

la production de lots dans un environnement qui serait non conforme ou l'utilisation d'équipements non appropriés, ce qui pourrait avoir des conséquences sur la qualité du produit fabriqué ; elle limite les rappels, les retours, les non conformités. C'est une démarche structurée qui permet d'anticiper les problèmes et d'agir au plus tôt dans un processus. Elle est donc un facteur de gain de temps et d'argent. (3)

Ainsi, un laboratoire a estimé le gain économique d'une validation. Tout d'abord, l'avantage de l'investissement d'une validation dès l'initialisation du projet permet d'éviter les coûts exorbitants des validations rétrospectives. De plus, le choix d'équipements est plus rationnel (c'est-à-dire que l'on choisira par exemple un instrument de précision moindre en adéquation avec la précision réellement nécessaire.) En phase de production, une telle politique apporte une réduction des délais de mise en service, une réduction des incidents impliquant des pertes de production en temps et en matière, une réduction du nombre d'échantillonnage sur des procédés validés. Les résultats d'une estimation des coûts relatifs à l'effort de validation, prenant en compte différents éléments intervenant lors d'une telle opération (coût du poste de responsable de validation, des heures des techniciens de laboratoire et du personnel de production....), montrent que le ratio coût validation rapporté au fonctionnement de l'usine représente 1,2%, et les coûts de validation comparés à ceux du département qualité sont évalués à 7,8%, le reste étant consacré au fonctionnement des services « hors validation ». (4)

- Enfin, la qualification est une exigence réglementaire. En effet, dans de nombreux domaines, les recommandations des BPF y font référence. Ainsi, en ce qui concerne les bâtiments et les locaux, il est stipulé que « *les locaux et matériels destinés à des opérations essentielles pour la qualité des produits doivent avoir fait l'objet d'une qualification correcte* » (principe du chapitre 3 des BPF). En ce qui concerne la documentation, il est dit que « *des procédures écrites, et, le cas échéant, les comptes rendus des mesures prises et des résultats obtenus doivent être établis pour : les validations, le montage des appareils et de leur étalonnage, l'entretien, le nettoyage et la désinfection, les questions de personnel.* » (paragraphe 4.26 des BPF). Dans ce même domaine, il est précisé plus loin que « *les équipements importants ou essentiels doivent être accompagnés d'un cahier de vie mentionnant, selon les cas, toutes les validations, les étalonnages, les opérations d'entretien, de nettoyage ou de réparation, avec les dates et le nom des personnes ayant effectué ces opérations.* » (paragraphe 4.28 des BPF).

De plus, en ce qui concerne le cas particulier des préparations aseptiques, la monographie de la Pharmacopée Européenne quatrième édition intitulée « Méthode de préparation des produits stériles » souligne que « *l'assurance de stérilité passe par l'application de procédés de production appropriés et validés, et la mise au point de tels procédés repose sur les principes suivants de bonnes pratiques de fabrication : maîtrise des locaux, des équipements, des documents, du personnel et des matières.* » (5)

## III Méthodologie

### III-1 Introduction

La qualification est un processus démontrant de façon tangible et documentée qu'un équipement est capable de répondre aux exigences spécifiées. Elle est sous la responsabilité de l'utilisateur.

Il existe trois types de qualification : lorsqu'elle est réalisée lors de l'achat d'un équipement, elle est dite prospective. C'est la preuve documentée qu'un sous-système ou un équipement fait ce qu'il est censé faire, selon l'examen et l'analyse des informations générées avant la fabrication d'un nouveau produit ou d'un produit selon un procédé modifié. Dans ce cas, la qualification doit faire partie intégrante du projet d'achat, d'installation et de mise en place de ce nouvel équipement.

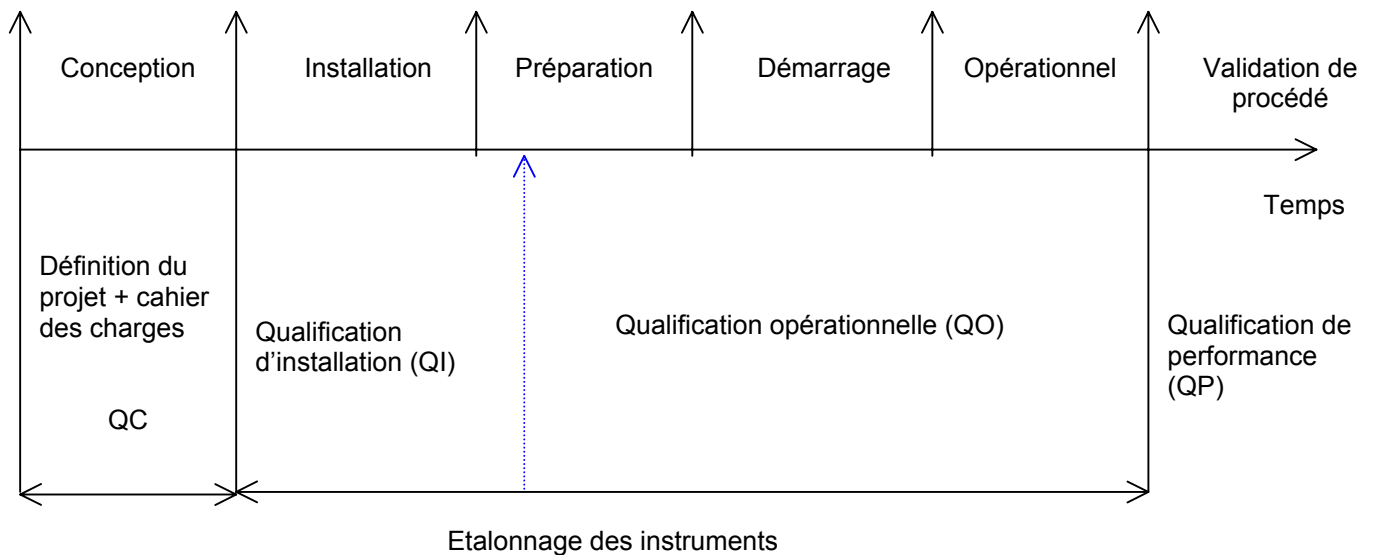
Ce concept de qualification et son caractère réglementaire étant relativement récents, elle peut également être effectuée sur un appareil qui fonctionne en routine depuis plusieurs années ; elle est alors dite rétrospective. C'est dans ce cas la preuve documentée qu'un sous-système ou un équipement fait ce qu'il est supposé faire, en s'appuyant sur une revue et une analyse historique des données de fabrication. Elle se base sur la documentation de fonctionnement accumulé au cours du temps (rapports de maintenance, de modifications apportées...). Elle implique que les éventuelles modifications apportées à l'équipement aient été documentées.

Enfin, suite à une intervention importante (remplacement de pièces ou mise à jour d'un logiciel) ou à une modification de la législation, l'utilisateur peut être amené à revoir la qualification initiale de l'équipement ; on parle alors de requalification. (6)

Quelle que soit sa nature, la mise en place d'une telle opération nécessite la mobilisation de moyens importants (personnel, argent, temps...) qui conditionnent sa validité et sa réussite. Lors de l'exposé des différentes étapes nécessaires à une qualification, nous prendrons comme exemple le cas rencontré le plus fréquemment, la qualification prospective.

### III-2 Réalisation

La figure 1 représente le diagramme temps/étapes de qualification qui permet de situer les différentes étapes d'une qualification :



**Figure 1 : diagramme temps/étapes de qualification (7)**

La qualification fait partie intégrante du projet d'achat et d'utilisation en routine de l'équipement. Elle commence dès la conception de l'appareil. A l'issue de l'approbation du plan directeur de qualification (ou *Validation Master Plan (ou VMP)*), un cahier des charges est rédigé. Il est ensuite envoyé à différents fournisseurs ; le futur utilisateur en sélectionne un, et réalise la qualification de conception en se rendant sur le site de fabrication. A l'arrivée de l'appareil est réalisée la qualification d'installation, suivie de la qualification opérationnelle et de performance.

### III-2-1 Elaboration du groupe de travail

Il faut tout d'abord désigner les personnes responsables, définir leurs domaines d'activité, pour éviter les oublis ou la répétition des tâches. Le groupe en charge du management de la qualification doit planifier, décrire les ressources nécessaires (humaines, internes et de sous-traitances, techniques, matériel à acquérir, produits consommables et documentation à constituer et collecter), exécuter et vérifier le programme de qualification. Il est souvent multidisciplinaire ; en effet, dans l'industrie pharmaceutique, il y a souvent plusieurs services concernés par une qualification.

Au sein de ce groupe de travail est désigné un coordinateur généraliste rattaché au département qualité, qui est le garant de la cohérence entre tous les projets de validation et la politique du site, ce coordinateur pouvant être dans les petites structures le responsable de l'assurance qualité, ou dans les structures plus importantes, un responsable de qualification. Une liste des personnes habilitées à viser les opérations de qualification est détenue et mise à jour tout au long du projet par le groupe de travail.

A titre d'exemple, lors de la qualification d'une chaîne de fabrication, le service production (service utilisateur) est responsable de la détermination des paramètres critiques et de l'élaboration des protocoles et des spécifications garantissant la qualité de l'installation ; le service ingénierie intervient pour les manipulations et superviser les réglages à apporter ; enfin, l'assurance qualité gère les protocoles de qualification et la conduite des essais ; ce service vérifie et approuve la conformité des résultats obtenus. (2)

Le tableau 1 résume les responsabilités du groupe de travail au cours d'une qualification :

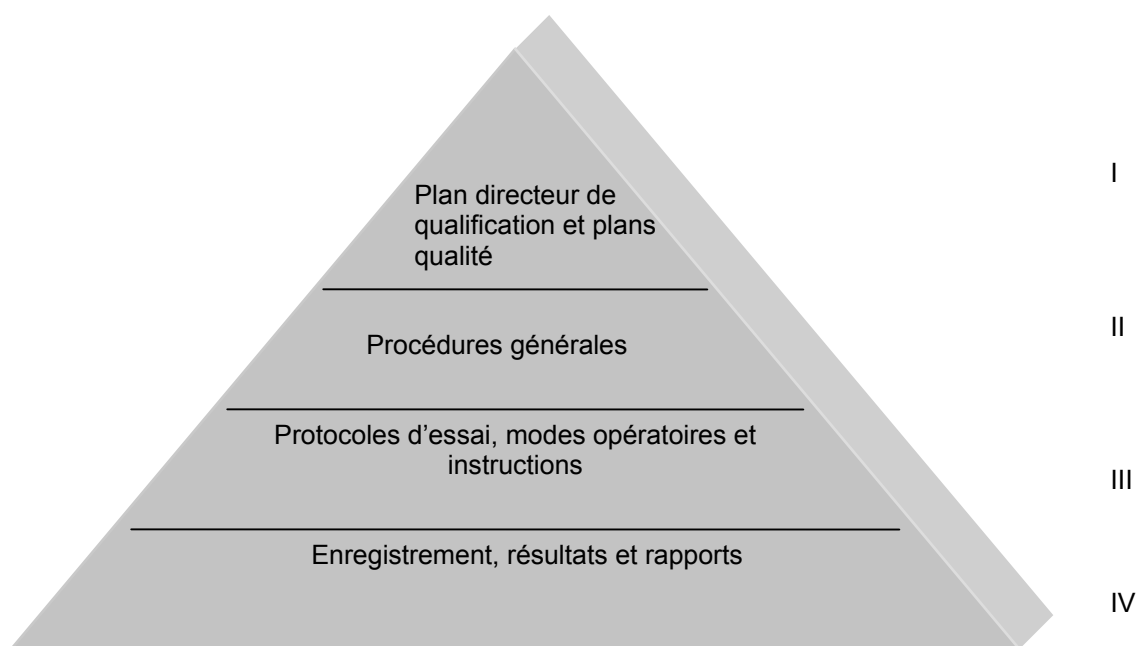
Etapes du projet	Documentation	Comité de qualification	Etapes de qualification
Projet Avant projet sommaire	Spécifications des besoins des utilisateurs Spécifications fonctionnelles Spécifications de qualification	Est informé et participe	Qualification de conception (QC)
Avant-projet de détail	Plan directeur de qualification (VMP) Protocoles de qualification de conception (QC)	Rédige et approuve	
Dossier de consultation des entreprises	Cahiers des charges, appels d'offres, consultations	Est informé	
Réalisation	Protocoles QI et QO, fiches de tests	Rédige et approuve	
Réalisation	Plans et dossiers d'exécution des ouvrages (P/DEO)	Rédige et approuve	Qualification d'installation (QI)
Installation	Procès-verbaux des tests, essais et vérifications statiques	Approuve	
Réception	Protocoles de QO, rapports d'essai de QI	Rédige et approuve	
Démarrage, mise en service	Procès-verbaux des tests, essais et vérifications dynamiques, rapports QO	Approuve	Qualification opérationnelle (QO)
Exploitation	Procès-verbaux des essais QP, rapports QP	Approuve	Qualification de performance (QP)
Exploitation, décision de production	Rapport final de qualification	Approuve	

**Tableau 1 : responsabilités du groupe de travail (6)**

### III-2-2 La documentation

La documentation s'organise en plusieurs niveaux, en structure pyramidale, tous révisables, même en cours de qualification.

Sont présentés sur la figure 2 quelques exemples de documents et données gérés en qualification.



**Figure 2 : pyramide de la documentation (6)**

Niveau I : -Plan directeur de qualification (ou *Validation Master Plan*)  
-Cahier des charges validé  
-Organigrammes du projet de qualification

Niveau II : -Organisation générale de la qualification et de la validation  
-Gestion documentaire  
-Gestion des non-conformités

Niveau III : -Modes opératoires de nettoyage et de décontamination  
-Protocoles d'essai et de vérification  
-Instructions d'étalonnage

Niveau IV : -Certificats d'étalonnage  
-Rapports de qualification et décision  
-Compte-rendu de réunion

Un plan de qualification (ou Validation Master Plan VMP), rédigé par le groupe en charge de la qualification, est mis au point. Ce document permet de définir par écrit les



responsabilités de chaque participant au projet de qualification. Il doit être considéré comme un référentiel qualité dont la forme reprend la présentation générale d'une procédure.

Il doit décrire de manière claire le projet de qualification de l'équipement en donnant une vision globale et synthétique de son fonctionnement (8). Il sert également de guide pour les personnes qui dirigent et accomplissent les opérations, et de document de référence pouvant être présenté à des inspecteurs des autorités sanitaires en donnant une vue d'ensemble à la qualification et prouvant le respect des BPF. Il expose le programme prévu (buts, durée), il établit les coûts prévisionnels ; il décrit également : les locaux, les équipements, le programme de formation du personnel, une définition des référentiels (BPF, cGMP), une liste des procédures opératoires de fonctionnement, le programme de maintenance, une liste des protocoles de qualification, le mode d'approbation des résultats et le mode d'archivage de la documentation (2).

Pour rédiger un tel document, il faut pouvoir répondre aux questions suivantes :

- que cherche-t-on à prouver ?
- Qu'est-ce qui peut altérer la qualité du produit pendant le fonctionnement de l'équipement ?
- Qui fait quoi, quand ? Comment ? (8)

Les procédures de qualification sont des documents de premier ordre qui serviront de référence tout au long de la qualification. Elles définissent les objectifs à atteindre, le calendrier, identifient les points critiques à qualifier et listent les essais qui doivent être réalisés pour permettre de vérifier la maîtrise de l'équipement et les résultats attendus. Elles contiennent, au moins, le plan de l'unité de production, une description des locaux, des caractéristiques de l'environnement, du matériel utilisé ainsi que des fluides. Elles font référence à des procédures opératoires d'utilisation, de maintenance, d'étalonnage des instruments de mesure, des essais à conduire pour les vérifications, aux plans d'échantillonnage et de contrôle, aux méthodes d'analyse à utiliser. Enfin elles reprennent les spécifications attendues et les critères d'acceptation.

Enfin, à l'issue de la qualification, les rapports reprennent les protocoles suivis, recueillent les compte rendus des réunions, les rapports d'exécution, les résultats des analyses. Grâce à ces éléments, le groupe de travail pourra accepter la mise en service en routine de l'équipement, en signant les documents d'approbation, ou refuser la clôture de la qualification et demander l'élaboration de tests supplémentaires. (2)

## IV- Les différentes étapes de la qualification

### IV-1 Le cahier des charges

Ce document est rédigé par le groupe de travail. Il doit définir les performances de l'équipement. Le service ingénierie ou travaux neufs est en charge de la rédaction du cahier des charges technique : il traduit le cahier des charges utilisateur en spécifications techniques et fonctionnelles. (8)

Pour effectuer une consultation des fournisseurs potentiels, le service utilisateur leur envoie un dossier de consultation qui doit comprendre les éléments suivants : le plan de validation, les cahiers des charges utilisateur et technique. En retour, le fournisseur doit donner une description du principe de l'installation qu'il propose : la conception, le fonctionnement, les performances attendues. Il décrit également les systèmes d'alarme et d'enregistrement éventuellement présents sur l'appareil. Enfin, il définit les postes du personnel à qualifier. Des représentants du service utilisateur peuvent également auditer le fournisseur, en vérifiant ses installations, les procédures de fonctionnement interne, les capacités de production... (9) En effet, l'équipement devrait être commandé uniquement au fabricant qui présente des bons standards de qualité de conception, de développement, de fabrication et de conformités réglementaires, ainsi qu'une assistance technique et un service après-vente satisfaisants. Ainsi, la documentation attestant de la conformité de l'appareillage aux normes de fabrication en vigueur (normes ISO 9001 et EN 45014) doit être fournie lors de la livraison. Cette déclaration de conformité doit présenter clairement :

- Le nom et l'adresse du fournisseur
- Une identification claire du produit (nom, type et numéro du modèle)
- Le lieu et la date d'élaboration de cette déclaration
- Le nom et la signature de la personne compétente auteur des tests
- La liste des tests réalisés avec la mention « conforme » ou « non conforme »

La capacité du vendeur à satisfaire les critères définis dans le cahier des charges conditionnera sa sélection par le groupe de travail.

#### IV-2 La qualification de conception (QC)

Cette notion n'est pas réglementairement obligatoire, mais elle est nécessaire au bon déroulement d'une qualification. Il s'agit de vérifier que le système en cours de préparation correspond aux exigences préalablement définies et que les éléments critiques sont bien maîtrisés (des revues de conception sont régulièrement organisées à cet effet). Pour cela des tests de pré-qualifications peuvent être réalisés sur le site de production du fournisseur. En effet, si l'équipement peut être amélioré à cette étape, cela représente des gains de temps et d'argent considérables pour le service utilisateur. De plus, les futurs opérateurs et des représentants du service de maintenance peuvent profiter de cette étape pour avoir un premier contact avec le système, et s'informer sur place auprès du fabricant. (8)

C'est à ce niveau que les documents nécessaires à la rédaction des protocoles sont recueillis. En effet, la documentation fournie par le vendeur (manuel d'utilisation, plan de conception, manuel de maintenance) doit être livrée en même temps que l'appareil afin d'être assuré de les obtenir et éviter la relance du fournisseur, ce qui est un gain de temps non négligeable. Ces documents doivent être rigoureusement classés et identifiés.

De plus, préalablement à l'arrivée de l'appareil sur le site il est nécessaire de préparer le local à son arrivée. Pour cela il faut une description précise de l'environnement indispensable à son bon fonctionnement : surface nécessaire, raccord aux utilités (vapeur d'eau, gaz, électricité...).

#### IV-3 La qualification d'installation (QI)

Les dossiers de qualification d'installation, opérationnelle et de performance sont constitués de deux parties : le protocole décrit ce que l'on va faire et inclut les critères d'acceptation de chaque élément à qualifier ; le rapport recense ce que l'on a fait et apporte la décision finale au regard des résultats des vérifications et essais effectués. (6)

La QI est la preuve documentée qu'un sous-système ou un équipement est installé conformément aux spécifications du cahier des charges, des normes, des codes et des règlements. Ses objectifs sont :

- Examiner et évaluer la documentation « telle que construite » complète et utilisable par l'utilisateur. C'est une mention légale reconnue par les

autorités et engageant la responsabilité du fournisseur. Elle correspond à la traduction de la mention anglo-saxonne « as built »

- Effectuer et tracer les vérifications visuelles et les tests statiques sur l'équipement installé.
- Permettre la prise en main de l'équipement, sous ses aspects exploitation, maintenance, sécurité, validation et métrologie, formation et réglementation.

#### IV-3-1 Le protocole de QI

Il comporte une description de l'installation avec :

- le nom de l'équipement ou du composant,
- la marque,
- le type,
- le fournisseur,
- le constructeur,
- le numéro de série... ;
- la localisation de l'équipement avec le numéro de bâtiment... ;
- la description détaillée des composants et de leur raccordement, des systèmes de contrôle.

Il fait référence au plan directeur de qualification, au cahier des charges, à la réglementation, aux procédures opérationnelles...La documentation pour effectuer cette opération est fondée sur les recommandations des fabricants, les plans de l'installation, les manuels d'utilisation, les fiches techniques, les schémas de fonctionnement. C'est à ce niveau que les procédures d'utilisation et les documents pour enregistrer les déficiences et prévoir les actions correctives sont élaborés. Ce protocole doit être approuvé avant l'exécution des essais.

#### IV-3-2 La réalisation de la QI

Sur un plan pratique, cette qualification débute par l'enregistrement de l'appareil nouvellement arrivé, auquel est attribué un numéro; les noms des utilisateurs et du responsable ; il est ainsi répertorié dans le parc des appareils du site. Cette qualification

s'effectue avec le fournisseur et le service ingénierie pour vérifier la conformité aux exigences du cahier des charges. Il s'agit de contrôles statiques qui ont pour but de vérifier que tous les éléments critiques sont montés correctement et correspondent à la conception prévue. La qualification de l'installation doit permettre de détecter des défauts de conception, de fabrication et d'installation par une simple inspection visuelle. Il faut donc tout d'abord s'assurer du respect des exigences définies par l'utilisateur dans le cahier des charges, et celles définies par le fournisseur, en terme d'installation physique et de caractéristiques. L'installation de l'équipement, et son raccord avec les canalisations, les services (air, électricité etc....), la vérification du respect des exigences de fonctionnement, sont réalisées et enregistrées en suivant les plans d'installation et les documents de spécification définis à l'étape de cahier des charges. Le fournisseur doit également assurer la formation des opérateurs et du service de maintenance.

Voici quelques exemples de documents dont la présence est indispensable pour valider une qualification d'installation :

- Schémas de principe
- Plans détaillés électriques, hydrauliques, pneumatiques...
- Manuel d'utilisation et de maintenance
- Certificats de conformités matière
- Procès-verbaux d'étalonnage
- Dossier réglementaire de sécurité (MINES...)
- Fiches produit de toxicité et de sécurité

#### IV-3-3 Le rapport de QI

Durant la réalisation des tests, tous les contrôles sont réalisés et les résultats sont reportés par écrit. Toutes les fiches de résultats sont datées et signées. Les non conformités sont identifiées et les actions correctives éventuellement entreprises (8). Lorsque celles-ci sont levées, le rapport de QI est édité. Son objectif est de documenter et de conclure sur les tests et vérifications effectués, conformément au protocole de qualification d'installation référencé. Ce rapport est approuvé par l'équipe de qualification. Des procédures de maîtrise des changements doivent exister et toute modification doit être documentée. La qualification de l'installation aboutit à un compte rendu du groupe de qualification et à un rapport technique de réception avec le fournisseur, comportant les consignes de mise en marche et d'entretien.

Le rapport doit comporter tous les éléments d'aide à la décision finale. Il faut statuer sur l'état de la qualification : le dossier est-il complet ou incomplet ? Quelles dérogations et réserves ? La conclusion entraîne une autorisation de mise en service des étapes QO et prévoit les conditions de requalification QI.

#### IV-4 La qualification opérationnelle (QO)

C'est la preuve documentée établissant que le sous-système ou l'équipement est capable de fonctionnements conformes répétés dans les limites déterminées par le cahier des charges et les spécifications.

Elle concerne les équipements installés, raccordés, ayant fait l'objet d'une qualification d'installation. Tous les composants ne font pas l'objet d'une qualification opérationnelle spécifique. En effet, un équipement présentant plusieurs composants peut faire l'objet d'une seule qualification opérationnelle. Cependant, si un problème est rencontré, l'utilisateur devra tester chaque composant individuellement. (6)

##### IV-4-1 Le protocole de QO

Le protocole fait référence au plan directeur de qualification, aux spécifications du cahier des charges, aux normes et réglementation en vigueur, aux normalisations de tests, de schémas et de plans, et à des procédures opérationnelles. Il envisage l'étalonnage des instruments de mesure ou de contrôle (10); les BPF définissent l'étalonnage comme *« l'ensemble des opérations qui établissent, sous certaines conditions précisées, la relation entre les valeurs indiquées par un appareil ou un système de mesure ou encore les valeurs données par une mesure matérielle et les valeurs correspondantes d'un étalon. »*. Le protocole explicite également les procédures opératoires de fonctionnement, de maintenance préventive et de nettoyage. Le contrôle de l'installation doit être réalisé en utilisant des études des variables critiques incluant les limites supérieures (concept appelé *worst case* (2)) et inférieures.

Le protocole comprend également une description des méthodes d'analyse des résultats, le nombre d'essais à réaliser afin de rendre les tests significatifs, et les critères d'acceptation. Ils doivent bien sûr être approuvés et signés par l'équipe de validation.

#### IV-4-2 La réalisation de la QO

Sur le plan pratique, cette étape intervient à l'issue de la phase de QI, lorsque le rapport est approuvé. Elle a pour but de vérifier les conditions de fonctionnement qui seront utilisées lors de la mise en service de l'équipement, et de s'assurer par des essais adaptés que l'installation fonctionne selon les critères définis et les spécifications préétablies. Cependant, elle doit démontrer que l'équipement est adapté à son utilisation future, et non pas qu'il présente effectivement les critères avancés par le fournisseur. Par exemple, lors de la qualification opérationnelle d'une chromatographie liquide haute performance (HPLC) dont la pompe peut fonctionner en régime isocratique ou en gradient, l'utilisateur peut ne tester que la pompe en débit isocratique si les gradients ne seront jamais utilisés (11). Il s'agit de contrôles dynamiques à vide (même si parfois l'utilisation de placebo est nécessaire) à un moment précis et dans des conditions données. C'est une sorte de cliché des fonctions. Un planning précis, les protocoles de qualification opérationnelle, le personnel qualifié, de maintenance, une assistance technique et des instruments de mesure sont autant d'éléments indispensables à un bon déroulement de la qualification opérationnelle.

#### IV-4-3 Le rapport de QO

La qualification opérationnelle aboutit à un rapport de qualification opérationnelle qui reprend les mêmes éléments que le rapport de qualification de l'installation : résultats obtenus sur des fiches datées et signées, non-conformités explicitées et traitées, statut de la qualification à l'issue des délibérations du groupe de travail. Il est la somme des résultats, décisions et commentaires visés. Il a pour but de documenter et conclure sur les tests et vérifications effectués. Ce rapport de QO est rédigé et approuvé par le groupe de travail.

Voici quelques exemples de tests de QO à réaliser sur des appareils courant au laboratoire de contrôle (12) :

- Sur une HPLC : l'exactitude du temps de rétention des pics
  - l'exactitude de l'aire sous la courbe
  - l'exactitude du débit de la phase mobile
  - l'exactitude de la température du four contenant la colonne
  - la linéarité du détecteur
- Sur électrophorèse capillaire : la stabilité du voltage
  - l'exactitude de l'aire sous la courbe

- Sur un appareil de spectroscopie proche infra-rouge :
  - l'exactitude de la longueur d'onde
  - la résolution de la longueur d'onde
  - la précision photométrique (pour un usage quantitatif).

#### IV-5 La qualification de performance (QP)

Le but de la qualification de performance est de vérifier et d'apporter la preuve documentée que l'équipement ou le système dans son ensemble et dans des conditions réelles de production fonctionne correctement et répond aux besoins et aux spécifications exprimés dans le cahier des charges de l'utilisateur, et ceci de façon reproductible.

##### IV-5-1 Le protocole de QP

Avant de procéder aux tests, il faut élaborer un protocole de qualification de performance. Ce protocole décrit les essais à réaliser, les critères d'acceptation, les tableaux formant le rapport de qualification. Avant le début des tests, ce protocole doit être approuvé.

Une fois la qualification opérationnelle terminée, et le rapport approuvé, la qualification de performance du système ou de l'équipement peut débuter. La qualification de performance d'un équipement est liée au procédé de fabrication et au produit. Pour cette raison, elle est parfois remplacée par la qualification de procédé (également appelée dans certains cas validation).

##### IV-5-2 La réalisation de la QP

Contrairement à la qualification opérationnelle, basée sur les spécifications fonctionnelles, et qui est une image instantanée et à vide des fonctions du système prises séparément, la QP se fait avec des produits, dans les conditions réelles de production, avec le personnel utilisateur et sur une durée plus longue (10). Les tests se font soit avec chaque produit (s'ils sont peu nombreux), soit avec les produits les plus représentatifs pour les fonctions à tester (famille de produits, taille de lot minimale et maximale, *worst case*).



#### IV-5-3 Le rapport de QP

Une fois les essais effectués conformément au protocole établi, une comparaison entre les résultats obtenus et attendus est réalisée. Si des anomalies apparaissent en cours de test, des fiches de déviation sont remplies avec la description de la non conformité. Un rapport de qualification de performance, qui reprend tous les résultats obtenus, est élaboré. Une fois les actions correctives effectuées et les non conformités levées, ce rapport peut être validé et signé par le groupe de travail.

#### IV-6 Le rapport final de qualification

Lorsque la qualification de performance est achevée, il faut procéder à une revue finale et complète des dossiers de qualification (QI, QO, et QP) pour vérifier que tout ce qu'il était prévu de faire dans le plan de validation a été réalisé et s'est déroulé correctement. Il faut vérifier également que toutes les actions correctives ont été réalisées et les non-conformités levées (6).

Le service d'assurance qualité rédige alors un rapport final de qualification pour déclarer l'installation validée et utilisable par le service concerné. Cependant, bien que ce rapport porte le nom de rapport final, la validation ne s'arrête pas à cette étape : elle n'est jamais totalement terminée, et ne s'arrête qu'au retrait du produit, de l'équipement ou du système. En effet, il est très important à ce stade de ne pas oublier que pour conserver le statut de « valide », un équipement doit être régulièrement entretenu et maintenu pour garantir un bon fonctionnement et la qualité des produits fabriqués. Pour cela il faut impérativement avoir rédigé :

- Le plan de maintenance : vérifier que le système est bien intégré dans le plan de maintenance général de la société, et que les procédures de maintenance de chaque équipement tiennent compte des résultats obtenus au cours de la qualification (par exemple la périodicité des changements de filtres ou les fréquences de désinfection).
- Le programme de suivi périodique : vérifier que le programme d'étalonnage périodique des instruments critiques est en place ainsi que les procédures correspondantes.
- La procédure de suivi des modifications : toute modification apportée à un système doit être analysée et évaluée avant sa mise en œuvre pour appréhender les impacts qu'elle aura sur le système et le degré de requalification qui sera nécessaire pour garantir la validité du système. En

effet des modifications jugées mineures ou qui n'ont pas d'impact direct sur le procédé et la qualité du produit final ne nécessitent pas une requalification, mais ces modifications doivent être documentées et consignées dans un cahier de vie (ou logbook) de l'appareil (13). Ce cahier de vie est mis en place pour chaque appareil. Il présente un numéro d'identifiant, l'identification de l'instrument (son nom ; le nom du fournisseur, son numéro de série, sa date de réception...), des colonnes dans lesquelles sont répertoriées les dates d'intervention, leur description (étalonnage, opération de maintenance...), le nom et la signature de leur auteur.

## V- Cas particulier de la sous-traitance

La qualification d'un équipement nécessite donc des compétences pointues dans des domaines très variés. Lorsque l'utilisateur de l'équipement ne peut pas assurer une qualification satisfaisante, il peut faire appel à une société sous-traitante qui possède un savoir-faire important dans le domaine. Un contrat spécifiant très clairement les exigences et les attentes du service utilisateur est alors élaboré et signé par les deux parties. Dans ce cas, la rédaction de la documentation décrite précédemment (*Validation Master Plan*, protocoles et rapports de qualification, rapport final...), ainsi que la réalisation des tests nécessaires peut lui être déléguée. Le service utilisateur peut également bénéficier de l'expertise et de conseils de la part de la société sous-traitante. Cependant, l'utilisateur doit rester présent et superviser ces tests, et c'est à lui qu'incombe la responsabilité et la prise de décision finale. En effet, lors d'une inspection d'une autorité sanitaire, c'est ce même utilisateur qui devra démontrer et donner la preuve que les systèmes sont qualifiés. (9)

## VI- Suivi de la qualification

### VI-1 Gestion des modifications (ou *Change Control*)

Quelle que soit la nature de la modification apportée lors des différentes étapes de conception, construction, installation, mise en route et exploitation, celle-ci doit être documentée et saisie en archivage, justifiée, acceptée sous une responsabilité précise. L'influence de la modification doit être mesurée par rapport aux phases amont et aval de l'étape du procédé concerné. Les notions d'environnement et de relation entre cette étape et les autres composantes du procédé, ainsi qu'avec la qualité finale du produit, sont prises en

compte. Les liens avec la gestion du projet doivent être établis pour éviter l'inflation des essais et des vérifications ainsi que la non-application d'un plan directeur de qualification trop théorique. Le niveau de criticité de la modification doit être défini de façon objective et utiliser le plus possible les méthodes d'analyse de risque. (6)

## VI-2 Gestion des requalifications

### ➤ *La requalification systématique :*

Elle est réalisée par rapport aux points critiques définis, selon les fréquences procédurées et/ou en respect avec les réglementations qui l'imposent (répartition aseptique, stérilisation...) ou encore à cause d'une maintenance planifiée l'exigeant (démontages, remontages d'organes essentiels...).

### ➤ *La requalification suite à une intervention technique*

Elle est exceptionnelle, et survient à la suite d'un changement de pièces essentielles d'un équipement ou d'un composant, ou lors de la modification des caractéristiques propres des composants... L'entreprise doit évaluer l'impact de toutes les modifications et décider si elles entraînent une revue de la qualification, comme par exemple le déplacement d'un équipement d'analyse qui entraîne un raccordement à de nouvelles utilités (électricité, gaz...). La QI est concernée avec la mise à jour des plans, la QO par la mise en place de tests de QO fonctionnels, et la QP par le test sur un échantillon témoin, sans remettre en cause la validation de la technique d'analyse. (6)

### ➤ *L'étalonnage des instruments de mesure*

Il doit être effectué à intervalle régulier et défini à l'issue de la qualification. En effet un instrument de mesure (sonde de mesure de température, de pression) qui sort des limites de l'étalonnage peut entraîner de graves conséquences. Ces interventions font l'objet d'un suivi dans le logbook et par le service utilisateur et ingénierie. (13)

## VII- Conclusion

La qualification des installations, locaux et équipements est une nécessité pour garantir la qualité des produits fabriqués sur le site. Elle concerne les concepteurs, les fournisseurs et les utilisateurs industriels pharmaceutiques, dès la rédaction du cahier des charges et jusqu'à la conclusion du dossier de qualification. C'est un moyen de maîtriser les coûts dus aux non-qualités (produits non conformes aux spécifications). C'est enfin une exigence réglementaire : l'entreprise doit pouvoir apporter, à l'aide de documents, la preuve de l'étendue des qualifications réalisées et montrer les résultats établissant la conformité par rapport aux spécifications définies. C'est un processus vivant, sans cesse en évolution. En effet, certains tests exécutés lors de la qualification opérationnelle peuvent être repris lors d'une importante opération de maintenance, ou à un intervalle régulier déterminé par le groupe de travail (de manière générale tous les ans). Les éléments qui nécessitent une maintenance de routine font partie d'un programme de maintenance préventive ; ce type de changement doit être documenté mais ne nécessite pas de requalification. En effet, tout n'est pas à qualifier sur un site de production pharmaceutique ; seuls les équipements ayant un impact direct ou indirect sur la qualité du produit final sont soumis à une telle réglementation. De plus, sur un ensemble d'appareils agissant en interaction, des systèmes indépendants peuvent être qualifiés séparément :

- Locaux et équipement,
- Chauffage (température et humidité relative),
- Ventilation : circulation de l'air, filtration,
- Filtres HEPA (Haute Efficacité vis-à-vis des Particules de l'Air),
- Systèmes de production d'eau (purifiée, distillée, osmosée),
- Gaz comprimé (azote, dioxyde de carbone).

Enfin, lors de la qualification, ou à l'issue de celle-ci, il est important de répertorier l'équipement comme étant en cours de qualification ou qualifié, afin d'éviter l'utilisation d'appareils dont l'utilisateur ne pourrait prouver la validité des résultats obtenus. L'équipement qualifié doit présenter les dates de dernière et de prochaine vérification ou calibration.

Ainsi, des équipements tels que des autoclaves de laboratoire, utilisés notamment pour la stérilisation de milieux de culture biologiques, doivent être qualifiés selon cette procédure.

C'est pourquoi, après des rappels sur le comportement des micro-organismes vis-à-vis de la chaleur et la quantification de la stérilisation, nous décrirons le déroulement d'une qualification prospective adaptée à un autoclave.

## B- La qualification d'un autoclave

### I- Notions de stérilisation

#### I-1 Introduction

La notion d'asepsie et son importance se sont affinées peu à peu au cours des siècles. Dans tous les foyers des grandes civilisations, les moyens de préserver l'eau, les aliments et les matières organiques ont fait l'objet d'intenses recherches. Hippocrate, déjà, préconisait l'utilisation de substances acide ou alcoolique pour traiter les blessures (14). Au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle, les partisans et les détracteurs de la théorie des générations spontanées ont permis de faire avancer les connaissances dans ce domaine. Mais il aura fallu attendre la contribution de Pasteur, reconnu comme le père de la microbiologie, pour mettre un terme à ces querelles et permettre de préserver ce qui est stérile des contaminations externes en fonction de bases réellement objectives, en démontrant l'existence des agents infectieux et de leur rôle (15).

De nos jours, la stérilisation est définie comme étant l'étape essentielle dans le processus d'obtention de produits stériles. Les Pharmacopées Européenne et Américaine définissent la stérilité comme étant « *l'absence de microorganismes viables* » (5, 16). Cependant, la stérilité n'est possible que dans le cadre de la protection de cet état : c'est un état éphémère, qui doit être conçu dans son concept global (en amont, pendant et en aval de la stérilisation). Ainsi, les éléments à stériliser subissent un nettoyage préalable, et doivent être conditionnés et stockés de façon à préserver leur stérilité. L'obligation de résultat rend donc indispensable le respect du concept des bonnes pratiques de fabrication en général et de stérilisation en particulier.

#### I-2 Les différents procédés de stérilisation

On distingue généralement les méthodes appliquées au produit dans son conditionnement définitif, et les méthodes appliquées lorsque cette dernière est impossible (14, 17, 18, 19).

## I-2-1 Stérilisation dans un conditionnement définitif

### a- La stérilisation par la vapeur d'eau

- Indications : matériel non thermosensible : verrerie, caoutchouc, certains plastiques, textiles, instruments en acier inox.
- Principe théorique : l'association de la chaleur et de la vapeur d'eau entraîne une dénaturation protéique.
- Appareillage : autoclave.
- Avantages : cette technique est fiable, économique, simple, efficace et c'est la moins toxique. Par conséquent c'est la méthode à mettre en œuvre chaque fois que cela est possible.
- Inconvénients : elle est contre-indiquée pour les matériaux thermosensibles.

Ce procédé sera plus développé dans le paragraphe I-3.

### b- La stérilisation par la chaleur sèche

- Indications : tout matériel thermorésistant risquant d'être détérioré en présence de vapeur d'eau : instruments nickelés, chromés, en acier inoxydable, certains verres. La stérilisation de liquides est *a contrario* contre-indiquée.
- Principe théorique : l'agent stérilisant est l'oxygène de l'air porté à une température élevée et provoquant la dénaturation des protéines bactériennes par coagulation.
- Appareillage : stérilisateur à air chaud de type Poupinel.
- Avantages : méthode simple, peu coûteuse, fiable si l'appareil est perfectionné et tous les paramètres maintenus.
- Inconvénients : - les moyens de conditionnement sont inadaptés : les boîtes métalliques n'ont pas un couvercle jointif, ceci rendant difficile le maintien de l'état stérile à la sortie du four.
  - L'air, vecteur de l'agent stérilisant, est un isolant et donc un mauvais conducteur de chaleur. Ainsi, en l'absence de système de ventilation, la température n'est pas homogène à l'intérieur du four.
  - La montée en température est importante et risque de détériorer le matériel.

### c- La stérilisation par l'oxyde d'éthylène

- Indications : stérilisation de matériel thermosensible (PVC, caoutchouc).
- Principe théorique : l'agent stérilisant est un gaz : l'oxyde d'éthylène. C'est un puissant bactéricide, virucide et sporicide. Il agit par alkylation des macromolécules (ADN, ARN...) des micro-organismes.
- Appareillage : son utilisation nécessite une enceinte close, simple ou double ouverture ; un dispositif permettant de faire le vide ; un générateur de vapeur et une armoire de désorption chauffée et ventilée.
- Avantages : c'est une méthode fiable et utilisable en milieu hospitalier pour le matériel thermosensible.
- Inconvénients :- c'est une méthode nécessitant une installation particulière et une vérification permanente des normes de sécurité.
  - Elle est relativement compliquée car elle nécessite l'établissement de délais de désorption élaborés grâce à la connaissance approfondie des matériaux stérilisés.
  - Les cycles sont donc plus longs.

### d- La stérilisation par le formaldéhyde

- Indications : stérilisation de matériel thermosensible.
- Principe théorique : l'agent stérilisant est le formaldéhyde sous forme gazeuse. Il est bactéricide, fongicide et virucide en présence de vapeur à 55 ou 80°C.
- L'appareillage est constitué d'un autoclave à fonction mixte : vapeur d'eau et formol vapeur.
- Avantages : - cette méthode permet la stérilisation de matériel thermosensible ; elle est simple d'utilisation (stérilisateur mixte vapeur d'eau + formol).
  - Son coût est faible.
  - Elle ne présente pas de risques d'explosion et les fuites sont rapidement repérées à l'odorat.
- Inconvénients : c'est un gaz très instable, rendant le procédé difficile à maîtriser.



### e- La stérilisation par les radiations ionisantes

- Indications : stérilisation du matériel thermosensible.
- Principe théorique : les radiations ionisantes peuvent être de deux types : soit des rayons gamma ou des électrons accélérés. Les rayons gamma proviennent du cobalt 60 ou du césium 137. Les électrons accélérés proviennent d'un canon à électrons. Les radiations ionisantes possèdent une propriété bactéricide en arrachant des électrons aux atomes.
- L'appareillage : les rayons gamma nécessitent la présence d'une source d'irradiation, d'un dispositif de stockage de la source (piscine), d'une cellule d'irradiation, des dispositifs de commande, de contrôle et de sécurité, de nacelles permettant l'acheminement des produits à stériliser.  
Les électrons accélérés nécessitent quant à eux un accélérateur d'électrons, un modulateur, un convoyeur et une enceinte de protection.
- Avantages : cette méthode permet une stérilisation à froid, elle ne nécessite pas de désorption. C'est un procédé fiable et reproductible. Il est surtout utilisé pour le matériel médico-chirurgical et dans le domaine agroalimentaire.
- Inconvénients : son utilisation nécessite des installations coûteuses et lourdes. Elle présente en outre de nombreuses incompatibilités, et peut entraîner des modifications des propriétés mécaniques de certains matériaux.

### I-2-2 Méthodes alternatives à aux précédentes

#### a- La filtration stérilisante

- Indications : elle est préconisée pour les liquides ne pouvant être stérilisés dans leur conditionnement (certains collyres...).
- Principe théorique : la solution à stériliser est passée à travers un préfiltre puis un filtre bactérien (dont les pores mesurent 0,22  $\mu\text{m}$  de diamètre) qui permettra l'élimination des bactéries et de leurs spores. En revanche les virus ne sont pas arrêtés.  
La solution ainsi filtrée est acheminée sous hotte à flux laminaire dans des récipients stériles (poches, flacons...).
- Avantages : c'est une méthode simple qui permet la stérilisation de solutions instables.

- Inconvénients : elle ne permet pas l'élimination des virus ; un risque de défaut d'asepsie a de fortes probabilités d'apparaître (il faut suivre la procédure avec précaution et utiliser les filtres sur une durée d'une journée maximum).

#### b- La préparation dans des conditions aseptiques

- Indications : elle est mise en œuvre pour des produits ne pouvant être stérilisés dans leur emballage définitif (solution pour nutrition parentérale, reconstitution et association de cytostatiques).
- Principe théorique : utilisation de produits stériles que l'on conditionne dans un emballage stérile dans une atmosphère stérile.
- Avantages : elle représente parfois la seule solution pour obtenir certains produits stériles.
- Inconvénients : ce sont des procédés lourds nécessitant l'établissement de procédures précises ; le personnel doit être qualifié.

#### I-2-3 Les procédés en cours d'élaboration

Il existe deux procédés de stérilisation qui font l'objet de recherche et qui pourrait venir étoffer la palette des procédés actuellement existant : il s'agit de la stérilisation par les micro-ondes, et la stérilisation par le gaz plasma. Cette dernière méthode consiste en l'utilisation des propriétés bactéricides, sporicides, fongicides, et virucides du peroxyde d'hydrogène activé à l'état de plasma par un champ électromagnétique, et introduit sous un vide très poussé.

#### I-3 La stérilisation par la vapeur d'eau

##### I-3-1 Mécanismes de la mort microbienne

En général, les microorganismes sont détruits lorsque la température sort des limites  $-5^{\circ}\text{C}$  et  $+80^{\circ}\text{C}$ . Même si les mécanismes responsables de la destruction des microorganismes par la chaleur stérilisante n'ont pas encore été entièrement élucidés, il est admis que cette destruction est engendrée par la dénaturation des acides nucléiques et des protéines intracellulaires. Ces dénaturations seraient provoquées par la destruction des

liaisons hydrogène permettant la conformation et donc la fonctionnalité de ces éléments. Cependant, si ce phénomène d'altération des liaisons hydrogène est stoppé avant qu'un nombre critique de liaisons soit détruit, le processus est réversible (20).

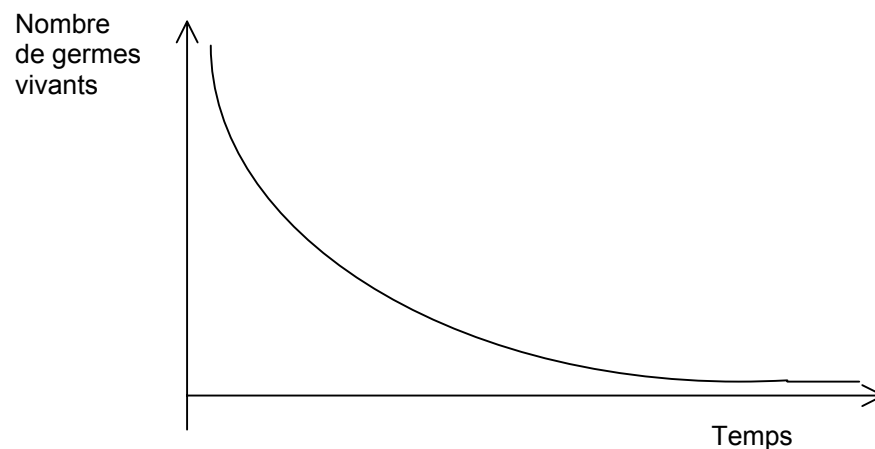
Les spores bactériennes, pour lesquelles les fonctions vitales sont réduites au minimum, sont les formes les plus résistantes à la stérilisation par la chaleur, du fait de l'absence d'eau intracellulaire. Elles apparaissent comme un espace clair, réfringent, ovoïde, limité par un contour régulier. Elles ont une position centrale chez *Bacillus*, subterminale chez *Clostridium*, terminale chez les *Plectridium*. Elles sont en générale composées d'une paroi sporale, d'un cortex, de tuniques et d'un exosporium. (21)

Leur humidification par la vapeur entraîne leur destruction et explique la moins grande efficacité de la stérilisation de la chaleur sèche vis-à-vis des spores bactériennes. Ce sera donc l'inactivation de spores, et notamment de celles de *Bacillus stearothermophilus*, qui seront, entre autres, témoin d'une stérilisation satisfaisante. (22)

### I-3-2 Les lois de destruction thermique

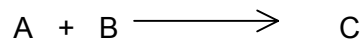
#### a- Variation du nombre de germes en fonction du temps

A température constante, le nombre de germes survivant au chauffage varie inversement à la durée. Une représentation graphique (figure 3) de cette évolution est asymptotique :



**Figure 3 : représentation graphique de l'évolution de la population microbienne (20)**

Cette représentation montre qu'il est impossible d'atteindre la stérilité absolue. Expérimentalement, lorsque des microorganismes (dans le cas d'une souche pure et homogène) sont soumis à un cycle de stérilisation par la vapeur d'eau, tout se passe comme si la réaction était une hydrolyse, c'est à dire une réaction obéissant à une cinétique de premier ordre : une molécule A, en présence d'une molécule B, donne un composé C :



Mathématiquement, la cinétique d'une telle réaction peut être représentée de la façon suivante : si N est le nombre de germes revivifiables présents à un moment donné, et t le temps, N décroît selon l'équation :

$$dN / dt = - kt$$

Ce qui revient à dire :

$$N = N_0 * e^{-kt}$$

Avec  $N_0$  : population microbienne de départ (t=0)

N : nombre de germes survivant au temps t

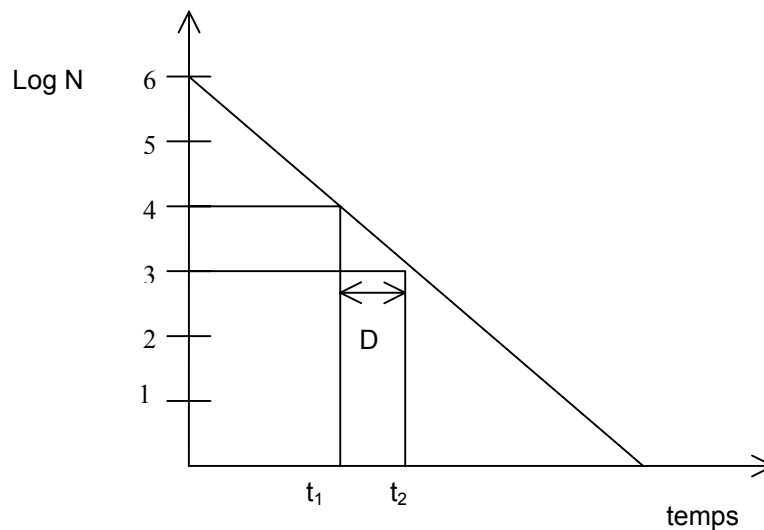
t : temps

k : constante de vitesse qui ne dépend que du temps, selon la loi d'Arrhénius

#### b- Temps de réduction décimale

Ce temps de réduction décimale, appelé également valeur D, exprimé en minutes, est le temps nécessaire pour diviser par 10, ou réduire de 90 %, le nombre de germes initialement présents. En effet, il est plus aisé d'exploiter la variation du nombre de germes en fonction du temps précédemment décrite par une représentation de la formule logarithmique suivante :

$$\text{Log } N_0/N = kt \text{ où } k = 1/D$$



**Figure 4 : Courbe de survie (20)**

Cette représentation est habituellement appelée courbe de survie. Elle est rencontrée dans les faits chez certains germes (environ 40% dont *Bacillus stearothermophilus*) ; les autres présentent des courbes de survie moins linéaires. Cette valeur D, obtenue dans des conditions bien déterminées, est caractéristique du microorganisme à une température donnée. Plus elle est élevée et plus le microorganisme est résistant à la stérilisation ; sa détermination permet donc d'estimer la durée des cycles de stérilisation.

➤ *Détermination expérimentale de la valeur D :*

Il est possible, au laboratoire, de déterminer la valeur D de n'importe quel microorganisme. Ceci pourra être utilisé notamment lors de la mise en œuvre de la qualification de l'autoclave par la méthode « bioburden » développée plus loin.

Deux approches sont possibles : la méthode de la courbe de survie et la méthode de la fraction négative.

*Méthode de la courbe de survie :* un nombre connu de spores (entre  $10^4$  et  $10^7$ ) est ensemencé soit dans la solution habituellement stérilisée, soit dans de l'eau distillée, pour former un échantillon. Au moins cinq échantillons doivent être disposés dans le stérilisateur à une température donnée (généralement  $121^\circ\text{C}$ ) pendant un temps déterminé ; au moins trois intervalles de températures doivent être testés. La courbe de survie ( $\text{Log } N = f(t)$ ) est alors tracée à l'issue des cycles de stérilisation. La valeur D est l'inverse de la pente.

*Méthode de la fraction négative* : à une température donnée, des échantillons identiques sont soumis à un cycle de surdestruction thermique. Au moins cinq échantillons sont nécessaires. La valeur D est calculée à partir de la relation :

$$D = U/N_0 - 2,303 \log (n/q)$$

Où : U : durée du cycle en minutes

$N_0$  : nombre initial de spores par échantillon

n : nombre total d'échantillons

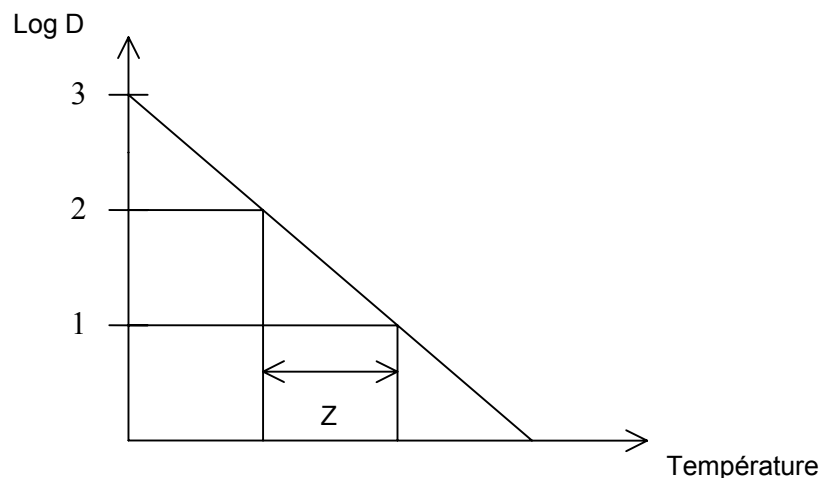
q : nombre d'échantillon ne présentant pas de repousse microbienne après incubation.

### c- Valeur d'inactivation thermique z

On a vu que la valeur D est obtenue à une température donnée. Or cette valeur varie également en fonction de la température : plus celle-ci augmente et plus la valeur D diminue. La valeur d'inactivation thermique z est exprimée en degrés Celsius et est définie comme l'augmentation de température nécessaire pour diviser par 10 le temps de réduction décimal, et donc multiplier par 10 la vitesse de destruction des microorganismes. Cette valeur z permet le calcul de la valeur D à différentes températures :

$$\text{Log} (D_{T_1} / D_{T_2}) = (T_2 - T_1) / z$$

On obtient la représentation semi-logarithmique  $\log D = f(T)$  suivante (figure 5) :



**Figure 5 : courbe d'inactivation thermique (20)**

Cette représentation est appelée la courbe d'inactivation thermique. Les valeurs z varient en fonction de l'état dans lequel se trouvent les germes : z= 5°C pour les germes sous forme végétative, et z= 10 °C pour les spores.

Le tableau 2 regroupe différentes valeurs D et z, à 121°C, en fonction du microorganisme :

Microorganisme	N° ATCC (American Type Culture Cell)	Valeur D <sub>121°C</sub> , en minutes	Valeur z, en degré Celsius
<i>Bacillus subtilis</i>	5230	0,3 à 0,5	7 à 9
<i>Clostridium sporogenes</i>	7955	05, à 1	10
<i>Bacillus coagulans</i>	51232	0,8 à 2	7 à 10
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	7953	1 à 2	7 à 10

**Tableau 2 :valeurs D et z de certains microorganismes (23)**

d- Valeur stérilisatrice  $F_T^z$

Dans la pratique, il a fallu trouver un concept permettant de quantifier une stérilisation : c'est la valeur stérilisatrice, qui sert à évaluer l'efficacité d'un procédé de stérilisation. Elle est définie comme le temps nécessaire pour produire un certain effet de stérilisation. Elle exprime le temps, en minute, correspondant à la réduction d'une population initiale  $N_0$  de spores à une population N de spores revivifiables. Ceci répond à la relation :

$$F_T^z = D_T * \log N_0 / N$$

Dans la pratique la température de référence de 250° F (Fahrenheit) a été retenue. Cette température est la plus efficace et la moins coûteuse, selon le fruit de recherches anglo-saxonnes, pour détruire un germe pouvant sporuler, le *Bacillus stearothermophilus*. C'est une souche de thermorésistance élevée, qui présente un comportement constant, donc reproductible, et une valeur z proche de 10°C. Ce germe permet en outre, avec les mêmes spores, de couvrir une large gamme de valeurs stérilisatrices ; de plus il n'est ni pathogène, ni toxique et n'étant pas un germe banal, il permet d'éviter les faux positifs. En Europe, la

conversion exacte de 250 °F est 121,1°C, mais pour des raisons pratiques on retrouve 121 voire 120°C dans la littérature (dans le reste de l'exposé la valeur 121°C sera utilisée).

Ainsi, lorsque l'on parle d'une valeur stérilisatrice à 121°C,  $F_T^Z$  devient  $F_0$  :

$$F_0 = F_{121}^{10} = D_{121} * \log N_0 / N \quad (24,25,26,27,28)$$

A chaque minute à 121 °C, la valeur de  $F_0$  s'incrémente de 1. Cependant, dans la pratique, lors d'un cycle de stérilisation, la température du produit n'atteint pas instantanément la température de 121°C, et ne redescend pas instantanément à la température ambiante lors du refroidissement. De plus, la température est rarement maintenue à 121°C pendant toute la durée du palier de stérilisation. Des travaux expérimentaux ont montré que les temps intermédiaires de stérilisation, en particulier les temps de montée en chauffage et de refroidissement, produisent des effets stérilisants qui sont cumulatifs. (29)

Donc, pour connaître l'effet stérilisant à un instant t, est introduite la notion de taux de létalité L. Cette valeur est définie comme étant le nombre de minutes à la température de référence (121 °C) produisant le même effet de stérilisation qu'une minute à la température T (supérieure à 100°C, car en dessous il a été démontré que les valeurs de L sont négligeables) : (30)

$$L = 10^{(T-T_{ref})/Z}$$

La valeur stérilisatrice devient la somme des effets létaux (L) à chaque minute d'exposition de la charge à une température supérieure à 100°C.:

$$F_T^Z = \sum L_T^Z \times \Delta t$$

$\Delta t$  : intervalle de temps entre deux calculs de valeur stérilisatrice

T : Température moyenne enregistrée pendant cet intervalle de temps



Ainsi, par la formule  $F_T^Z = F_0 * 10^{(T-T_{ref})/Z}$ , la relation entre la valeur stérilisatrice et le temps étant linéaire, on sait par exemple que 15 minutes à 121 °C équivalent à :

- 1,89 minutes de stérilisation à 130 °C
- 59,72 minutes de stérilisation à 115 °C
- 1888,9 minutes de stérilisation à 110 °C

#### e- Niveau d' Assurance Stérilité (NAS) ou Sterility Assurance Level (SAL)

Lorsqu'un ensemble de contenants a fait l'objet d'une stérilisation, on ne peut pas contrôler tous les articles de cette population. De plus, comme nous l'avons vu précédemment, il est impossible d'obtenir la destruction complète de tous les germes initialement présents, il existe toujours une certaine probabilité statistique qu'un microorganisme survive à la stérilisation. Pour un procédé donné, cette probabilité est fonction du nombre, du type et de la résistance du microorganisme présent.

Ainsi, pour un procédé donné, le NAS est exprimé comme la probabilité d'occurrence d'un article non stérile dans une population donnée. Il indique donc le degré d'assurance avec lequel une population d'articles est rendue stérile pour un procédé donné.

Dans les faits, les Pharmacopées Européenne et Américaine exigent un NAS de  $10^{-6}$  (16, 21), ce qui signifie qu'il existe une chance de retrouver un article non stérile dans une population d'un million de contenants, ou, ramené à un contenant, il a un risque sur un million de ne pas être stérile.

Ce concept de NAS est très important car il permet de fixer la longueur des cycles de stérilisation d'un autoclave. Il existe à ce sujet deux approches possibles : l'approche du « bioburden », ou charge biologique, et l'approche « overkill » qui seront développées plus loin.

#### I-3-3 Caractéristiques de la vapeur d'eau

Lors de la stérilisation par la vapeur d'eau, c'est l'apport de calories provoqué par la condensation de la vapeur au contact d'une surface solide qui entraîne l'effet stérilisant, et qui provoque les réactions d'hydrolyse au sein des microorganismes (30). Si le produit à stériliser est dans un contenant étanche (exemple des solutés injectables en stérilisation

finale), l'élévation de température est transmise au liquide via le contenant (verre...). Si le conditionnement est perméable, la vapeur se condense directement au contact du produit (matériel solide...).

La chaleur libérée lors de la condensation est la somme de deux termes : la chaleur latente et l'enthalpie de vaporisation. Elle peut se calculer de la manière suivante (31):

$$\Delta Q = 606,5 + 0,305 (\Theta_0 - \Theta_1)$$

Avec :  $\Delta Q$  : chaleur cédée en cal/g

$\Theta_0$  : température de la vapeur en °C

$\Theta_1$  : température de l'eau condensée en °C

Ainsi, on sait que chaque kilogramme de vapeur introduit dans l'autoclave libère environ 504 kilocalories en se condensant sur les parois ou le contenu.

La vapeur utilisée dans les autoclaves est dite « saturée », c'est à dire qu'elle est en équilibre avec l'eau à l'état liquide à la température considérée. Ainsi, au-delà de ces valeurs d'équilibre la vapeur est dite « surchauffée » et perd de son efficacité car elle se condense plus difficilement. Cette vapeur surchauffée, nécessairement sèche, peut apparaître dans les autoclaves à double paroi lorsque celle-ci est à une température plus élevée que dans la chambre intérieure. En deçà de cet équilibre, la vapeur est dite « sursaturée » ; elle est humide et également moins efficace que la vapeur saturée.

Les conditions d'équilibre sont celles étudiées par Regnault (tableau 3), qui exprime la pression relative en présence de vapeur d'eau saturée en fonction de la température :

Pression relative (en Pa)	0	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$
Température d'ébullition de l'eau (en °C)	99,63	120,23	133,54	143,62	151,84

**Tableau 3 : Tables de Regnault (28)**

Si cette relation est suivie au cours d'un cycle de stérilisation, cela prouve l'absence de poche d'air dans l'autoclave, donc l'obtention d'un vide satisfaisant en début de cycle et une stérilisation efficace.

#### I-4 Conclusion

La stérilisation ne relève pas de l'empirisme, c'est une démarche scientifique. Les procédés de stérilisation décrits dans cette partie sont un maillon d'un ensemble de méthodes en amont (prétraitement) et en aval (conditions de stockages satisfaisantes). Il ne faut pas perdre de vue que l'état stérile est un état temporaire difficile à maintenir.

La stérilisation par la vapeur d'eau, malgré l'ancienneté relative de sa découverte par rapport aux autres procédés, reste la méthode la plus efficace et la moins coûteuse à mettre en œuvre. Cependant son usage reste limité aux articles thermorésistants.

## II- Qualification d'un cycle de stérilisation d'un autoclave

### II-1 Introduction

La chaleur humide est un procédé de stérilisation utilisé depuis plus de 100 ans. C'est le procédé de stérilisation le plus répandu et le plus simple à mettre en œuvre. Cependant, sa compréhension et la réalisation de sa qualification datent d'une trentaine d'années. En effet, dans les années 1970, une série d'événements mettant en péril la vie de patients, traités par des médicaments à usage parentéral de grands volumes supposés stériles, a accéléré les choses (23). Durant les deux décennies suivantes, les agences de régulation nationales ont renforcé la législation concernant la stérilisation, et des recommandations ont été publiées par la FDA dans le Code of Federal Regulation (CFR), ou les BPF en France.

Ainsi, aujourd'hui, la qualification de cycles de stérilisation par la chaleur humide constitue peut-être le problème d'assurance qualité le plus étudié et le mieux compris par l'industrie pharmaceutique. Cependant, même si les principes biologiques de base de la stérilisation restent les mêmes depuis leurs découvertes, l'appareillage, les exigences, les méthodes de production pharmaceutique évoluent sans cesse.

Nous verrons donc dans cette partie les différentes étapes nécessaires à la qualification d'un autoclave nouvellement arrivé et le cheminement indispensable à l'élaboration et la qualification de cycles de stérilisation conformes à une assurance de stérilité satisfaisante et donc une conformité à la réglementation en vigueur.

### II-2 Elaboration du groupe de travail

La qualification prospective d'un tel équipement fait appel à plusieurs disciplines, et le groupe de travail, dont les prérogatives ont été décrites précédemment, pourra être composé de représentants du service utilisateur (service production ou laboratoire de contrôle qualité), d'un expert en microbiologie, du service d'ingénierie (travaux neufs, utilités, maintenance et métrologie), et du service d'assurance qualité.

## II-3 La qualification de conception

### II-3-1 La conception d'un autoclave

#### a- Les éléments constitutifs

Un autoclave est un appareil à pression de vapeur à couvercle amovible, constitué d'un générateur de vapeur et d'un récipient. Le générateur de vapeur va permettre la transformation de l'eau en vapeur d'eau. La vapeur produite est ensuite distribuée dans des canalisations et acheminée à l'appareil utilisateur désigné sous le nom général de récipient.

Le cycle type d'un autoclave est composé de cinq phases :

- une phase de vide,
- une phase de chauffage,
- une phase de plateau de température, dont la durée est mise au point au cours de la qualification opérationnelle,
- une phase de refroidissement,
- et enfin une phase de retour à la pression atmosphérique.

Afin de fournir une stérilisation efficace par la vapeur saturée humide, et de se soumettre à la réglementation en vigueur, les autoclaves doivent présenter un certain nombre d'éléments (20) :

- Une chambre pouvant supporter un excès de pression de 50% supérieure à la pression interne requise. Ces tests sont réalisés lors de la conception de l'appareil par les services de contrôle agréés par l'Etat.
- Un revêtement isolant type laine de verre destiné au départ à accélérer le réchauffement de la chambre, puis à éviter les déperditions de chaleur lors de l'exécution des cycles. Il est également placé sur la tuyauterie faisant parvenir la vapeur du générateur à l'autoclave.
- Un couvercle auquel est attribué un mécanisme de fermeture sécurisé. Ceci doit permettre d'empêcher toute ouverture au cours d'un cycle, et d'autoriser l'ouverture uniquement lorsque la température et la pression sont redescendues à des niveaux convenables.
- Un système de vanne permettant l'élimination du condensat et de l'air.
- Un système de contrôle de la température.
- Un indicateur de pression dans la chambre (32).
- Un système de chronométrage des cycles.
- Un filtre permettant la rétention de microorganismes à l'entrée de la chambre.

### b- Les systèmes de contrôle

Un autoclave doit donc présenter des systèmes de contrôle. Le paramètre le plus suivi lors d'un cycle de stérilisation est la température. Celle-ci peut être mesurée à l'aide de différents détecteurs, parmi lequel les sondes RTD (Resistant Temperature Device). Ce sont les plus utilisées car elles présentent une bonne précision sur une gamme de températures importantes, elles sont solides et leur utilisation est préconisée à une position fixe. Leur principe est le suivant : la résistance électrique d'un fil métallique (dans la plupart des cas du platine) varie en fonction de la température à laquelle ils sont exposés. Le fil est inséré dans une gaine de métal inoxydable. Un transmetteur traduit la résistance mesurée en signal électrique et l'envoie au contrôleur, qui, en fonction de la température cible et les tolérances admises, peut diminuer la température au sein de la chambre en injectant de l'air sous pression, ou réchauffer la chambre en injectant de la vapeur saturée humide (33).

Ce capteur est placé dans la chambre à l'endroit qui a été défini comme étant le plus froid lors de la qualification opérationnelle. Il peut également exister un ou plusieurs autres capteurs de température placés directement au cœur de la charge et qui gèrent la température de celle-ci (34).

Un deuxième élément de contrôle nécessaire à la conception d'un autoclave est le système de documentation (35). A l'issue d'un cycle, les données enregistrées par les détecteurs de température et de pression sont enregistrées sur un support (disque dur), et peuvent être imprimées. Elles se retrouvent sous forme de listing, de graphique, ou sous forme d'un tracé d'un crayon sur un disque pivotant.

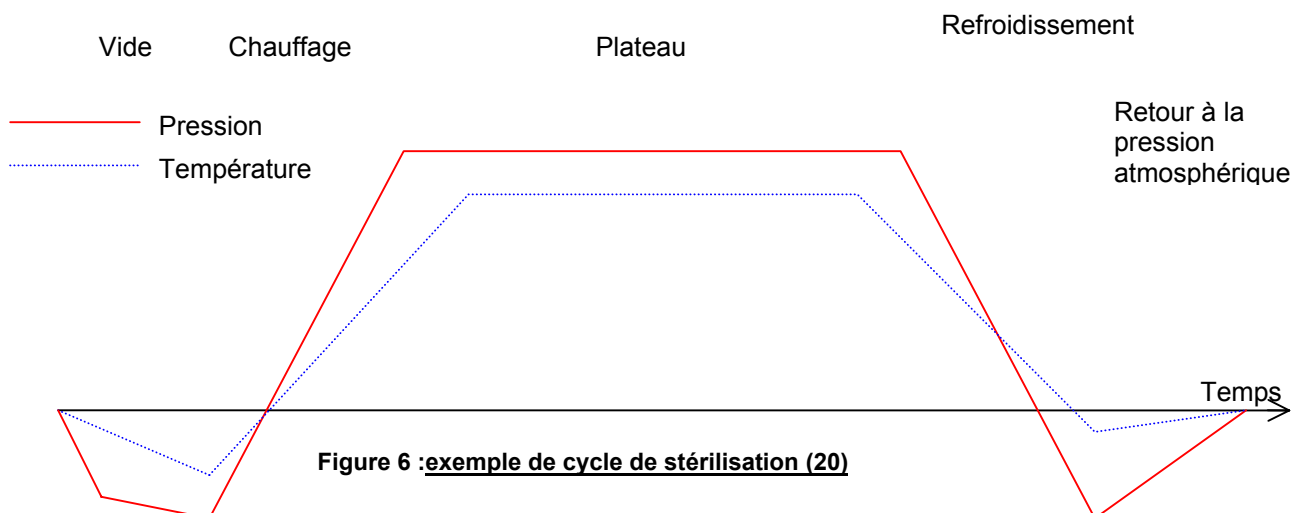
Enfin, le troisième système de contrôle du cycle est constitué des alarmes. Elles se déclenchent lorsque les données mesurées sortent de la normale ; elles peuvent soit suspendre le cycle jusqu'à ce qu'il retrouve des données acceptables, ou interrompre le cycle en cours.

### c- Elimination de l'air

Le dernier élément entrant en jeu dans la conception de l'autoclave est le système d'élimination de l'air en début de cycle. En effet, pour une stérilisation efficace, qui puisse atteindre la totalité de la charge, il est primordial que toutes les poches d'air disparaissent. Il existe pour ce faire plusieurs techniques possibles, le choix se faisant en fonction de la charge utilisée (20).

- Le déplacement par gravité : cette technique est basée sur le fait que l'air froid a une densité inférieure à la vapeur d'eau. Lorsque la vapeur pénètre dans la chambre de l'autoclave, elle pousse l'air qui est éliminé via une trappe conçue pour se refermer au contact de la vapeur. Pour que cette opération se réalise dans les meilleures conditions, la vapeur doit être injectée très lentement afin d'éviter la formation de poche d'air qui serait coincée dans la partie supérieure de la chambre. Cependant si la vapeur parvient trop lentement dans l'autoclave, l'air peut se réchauffer à son contact et se mélanger avec ; son élimination en sera plus difficile.
- La formation de vide : ce système, plus efficace que le précédent, consiste en l'élimination de l'air mécaniquement à l'aide d'une pompe à vide. Cette technique est adéquate pour stériliser des matériels poreux. Des études montrent qu'un vide poussé à 15-20 mmHg ( soit 0,11-0,15 Pa) pendant 8 à 10 minutes est optimum.
- Le cycle pulsé : ce système permet d'éliminer l'air dans la chambre de façon efficace sans avoir à atteindre le niveau de vide de la technique précédente. Il consiste en l'envoi alternatif de vapeur suivi de tirage au vide de façon mécanique. La vapeur permet de remplacer l'air éliminé et de forcer l'air résiduel à sortir. Sur un enregistrement édité ce mécanisme est représenté par une variation de la pression en dents de scie en début de cycle dans la chambre.

Voici par exemple sur la figure 6 la représentation graphique d'un cycle typique qui pourrait être édité par les systèmes de contrôle (la technique d'élimination de l'air en début de cycle est la formation de vide) :



### II-3-2 La qualification de conception

Le premier point d'une qualification, comme décrit dans la partie précédente, est la qualification de conception. La conception des autoclaves modernes est le résultat de nombreuses années d'expérience des fournisseurs et des utilisateurs. Ils peuvent être destinés à des usages variés ou être hautement spécialisés.

Afin que la qualification de conception se déroule de manière satisfaisante, le groupe de travail doit élaborer un cahier des charges décrivant avec précision les spécificités attendues du futur appareil. Ce document est le point de départ du contrôle des installations et servira de référence tout au long de la qualification.

Les autres documents nécessaires à une telle qualification sont les plans de construction de l'appareil. Ils sont fournis à l'utilisateur par le fournisseur avant que l'élaboration de l'appareil n'ait atteint un point trop avancé. Ceux-ci sont minutieusement étudiés, et la conformité avec les exigences émises précédemment est vérifiée. Les commentaires émis, les divergences et les résolutions de problèmes sont documentés et conservés (plans révisés....). Le processus continue jusqu'à l'approbation finale des plans.

### II-4 La qualification d'installation

Lors de l'arrivée de l'autoclave sur son lieu d'exploitation, la loi exige que les dispositifs de sécurité soient contrôlés par un organisme agréé par l'Etat (par exemple l'Association des Propriétaires d'Appareil à Vapeur ou Electrique ou A.P.A.V.E.) qui délivrera une attestation de conformité. Puis une déclaration d'appareil à vapeur doit être adressée à la Préfecture (à la Direction Régionale de la Recherche et de l'Environnement) accompagnée de l'attestation de conformité (36).

Une fois l'appareil installé, il doit être inspecté minutieusement par les nouveaux propriétaires dans le cadre de la qualification d'installation. Ils doivent notamment comparer les éléments physiques avec la dernière version des plans de conception qui a été approuvée, et vérifier les spécifications, et la qualité de l'ouvrage.



Le tableau 4 montre quelques exemples des opérations à réaliser lors de la qualification d'installation d'un autoclave, ainsi que les responsabilités en jeu (37):

Opérations	Responsabilité		
	Constructeur	Fournisseur	Exploitant
Récupérer et/ou élaborer des documents techniques (spécifications, notices...)	X	X	X
Plans et synoptiques de fonctionnement	X	X	X
Identification et description des performances des instruments de mesure	X	X	X
Description et fonction des automatismes (programmes...)	X	X	X
Vérification des connexions des fluides, des « utilités » (électricité, air, eau, vapeur, vide)		X	X
Dimensions, conformité aux plans		X	X
Certificats officiels (A.P.A.V.E.)		X	X
Inventaire des soudures		X	X
Isolation thermique	X	X	X
Classification des atmosphères environnantes		X	X
Gestion de l'ouverture des portes		X	X
Etanchéité des joints de porte		X	X
Régulation et soupapes de sécurité	X	X	X
Raccordement au réseau de vapeur		X	X
Certificats essais de pression	X	X	X
Présence du filtre casse vide		X	X

**Tableau 4 : exemples d'opérations à réaliser au cours d'une QI (37)**

Les résultats de la qualification d'installation sont décrits dans le rapport de qualification qui doit recevoir l'aval du groupe de travail.

## II-5 La qualification opérationnelle

La qualification opérationnelle du système de stérilisation et des éléments annexes est l'étape suivant la qualification d'installation. Au-delà de la qualification de l'autoclave en lui-même, il est nécessaire de contrôler les éléments annexes indispensables à un déroulement correct des cycles (pompe à vide, filtres) et des utilités (contrôle de la qualité de la vapeur). Cette étape permet une bonne compréhension de l'appareil, car chacun des éléments définis comme critique est testé individuellement, dans les conditions de l'utilisation de l'équipement en routine. L'exécution de la mise au point des cycles ou la résolution d'éventuels problèmes n'en sera que plus facile.

Le tableau 5 montre quelques exemples des opérations à réaliser lors de la qualification opérationnelle d'un autoclave, ainsi que les responsabilités en jeu (37) :

Opérations	Responsabilité		
	Constructeur	Fournisseur	Exploitant
Formation des personnels (habilitation)			
Spécification des fluides			
Marche des capteurs et enregistreurs			
Certificats d'étalonnage			
Suivis d'alarmes et sécurité			
Marche manuelle/automatique des pilotes et régulations			
Contrôle des soudures, de la fabrication	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
Tenue au vide	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
Intégrité filtration air/vapeur			
Diagramme température vs pression			
Compteur température et pression			
Enregistreur (temps, température, pression)			
Analyse de l'air et de la vapeur			

**Tableau 5 : exemples d'opérations à réaliser lors d'une QO (37)**

Cette qualification regroupe également la documentation prouvant que les instruments utilisés pour la qualification des cycles sont en état d'étalonnage satisfaisant. Enfin, elle est composée de la mise au point des cycles et de l'étude de l'homogénéité de la distribution de la chaleur dans l'autoclave lorsque la chambre est vide (38).

### II-5-1 Mise au point des cycles

La première étape à mettre en œuvre est de calculer les valeurs théoriques à appliquer pour obtenir une stérilisation satisfaisante. Il est couramment admis qu'il existe deux approches possibles lors de l'élaboration de cycles de stérilisation au moment de la mise en service d'un nouvel autoclave : l'approche dite de surdestruction (« overkill ») et l'approche à partir de la détermination de la charge biologique (« bioburden »). Ce choix repose sur plusieurs critères, dont la nature de la charge autoclavée. En effet, lorsque la charge ne risque pas de se dégrader sous l'effet de la chaleur (par exemple du matériel de conditionnement, des tuyaux...) c'est l'approche overkill qui est préconisée. Dans le cas contraire, si elle est thermosensible, l'approche bioburden sera appliquée (39, 40, 41).

#### a- Approche overkill

Nous savons que les instances réglementaires (Pharmacopée Européenne, FDA), exigent un niveau d'assurance de stérilité de  $10^{-6}$ . L'objectif de cette approche est d'atteindre un tel niveau sans prendre en compte la contamination réelle des articles autoclavés, que ce soit leur population ou leur résistance à la chaleur. Ici, l'utilisateur se place dans les conditions extrêmes et s'impose des exigences drastiques. En effet, l'hypothèse est que la population de micro-organismes présente contaminant la charge est de  $10^6$ , et que sa valeur D à 121 °C est égale à 1, et ce quel que soit le type de charge à stériliser. Selon les calculs décrits précédemment, il faut donc atteindre une réduction logarithmique de la population d'une valeur de 12, et un  $F_0$  minimum également de 12. Or, dans un environnement régi par les BPF et les cGMP, ces valeurs sont largement au-dessus de celles effectivement rencontrées dans l'environnement de production et de contrôle. Donc les microorganismes seront réduits à une population bien inférieure à  $10^{-6}$  et le niveau d'assurance de stérilité sera largement atteint.

Cependant, malgré cela, il est préférable de se réserver une marge. En effet, les indicateurs biologiques utilisés pour la validation de tels cycles (le plus souvent des spores de *Bacillus stearothermophilus*, 42) ont une valeur D comprise entre 1,5 et 4 et une

population de  $10^4$  à  $10^7$  spores. Une valeur  $F_0$  calculée au plus juste risquerait de ne pas être suffisante pour détruire toutes les populations inoculées. A titre d'exemple, par cette approche, les cGMP exigent un  $F_0$  supérieur ou égal à 12 minutes, et les BPF supérieur ou égal à 15 minutes. De plus, même avec cette méthode il est nécessaire de ne jamais perdre de vue les conditions de production et de contrôle exigées par les BPF et les cGMP.

L'avantage d'une telle approche est que l'on peut s'affranchir d'étudier la charge biologique des éléments à stériliser. L'inconvénient est la perte d'énergie et de temps nécessaires à l'atteinte d'un  $F_0$  élevé. De plus il est nécessaire de contrôler l'attitude des produits autoclavés vis-à-vis de la chaleur.

#### b- Approche bioburden

Lors des stérilisations finales de produits se dégradant sous l'effet de la chaleur, cette alternative doit être préférée à l'approche overkill. En effet cette méthode permet de déterminer la quantité de chaleur minimale à appliquer à une charge donnée afin d'obtenir un niveau d'assurance de stérilité satisfaisant.

Dans ce but, des études microbiologiques doivent être effectuées sur les éléments à stériliser avant leur passage dans l'autoclave, ou sur la flore microbienne présente dans l'environnement ou sur les matières premières. L'utilisateur doit déterminer les valeurs z et D de la souche la plus résistante à la chaleur et dénombrer sa population.

Pour illustrer cette technique, prenons comme exemple la stérilisation d'une solution injectable :

- Soumettre l'échantillon de solution à un choc thermique (10-15 minutes à 80-100 °C) ; ceci permet d'éliminer les souches les moins résistantes et de provoquer la formation de spores des souches les plus résistantes.
- Filtrer la solution à travers une membrane filtrante dont les pores ont un diamètre de 0,22  $\mu\text{m}$
- Incuber une moitié de filtre sur un milieu aérobie et l'autre moitié au sein d'un milieu anaérobie
- Déterminer les valeurs z et D des souches en présence et dénombrer la plus thermorésistante.
- Calculer à partir de ces éléments la durée de stérilisation nécessaire pour obtenir un niveau d'assurance de stérilité de  $10^{-6}$ .

Cette approche permet donc de limiter la quantité de chaleur à fournir. Cependant, les cycles ne sont adaptés qu'à un type de charge et les études de contamination doivent être menées régulièrement, afin de s'assurer que la flore microbienne ne se modifie pas au cours du temps.

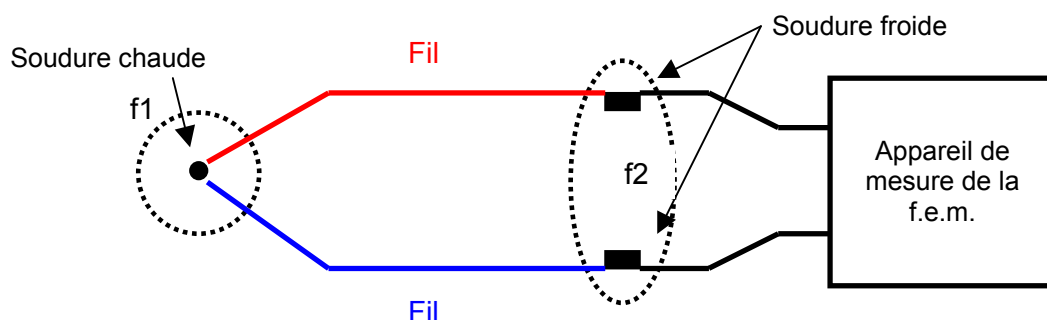
On peut cependant noter qu'une alternative à ces deux possibilités existe. Elle consiste à combiner les deux approches : la méthode overkill est appliquée avec comme indicateur biologique la flore environnementale, et non un germe type tel que *Bacillus stearothermophilus*. (23, 39).

## II-5-2 Distribution thermique au sein de l'autoclave à vide

### a- Les thermocouples

L'étude de la distribution thermique au sein de l'autoclave est réalisée avec la chambre à vide. Du fait de son aspect très critique, cette opération s'effectue avec des sondes de température dont les caractéristiques (sensibilité, précision) sont pointues. Les plus répandues pour cette opération sont les thermocouples, car ils présentent des caractéristiques satisfaisantes, ils ont une section très faible et sont flexibles. En outre, la plupart des constructeurs proposent des accès hermétiques à l'intérieur de la chambre permettant de faire passer les thermocouples tout en garantissant l'homogénéité de l'autoclave.

Le principe de la mesure par des thermocouples est basé sur le phénomène dit « effet thermoélectrique » (43). Un thermocouple est composé de 2 fils métalliques de nature différente que l'on soude à une extrémité, le tout étant glissé dans une gaine isolante (figure 7). La soudure ainsi réalisée provoque la formation d'une force électromotrice (f.e.m.). C'est une fonction (sensiblement linéaire) de la température à laquelle se trouve portée cette soudure : il suffit alors de mesurer cette force électromotrice et de la transcrire en valeur de température.



**Figure 7 : Schéma de principe d'un thermocouple**

La mesure d'une f.e.m. implique la fermeture du circuit électrique comme le montre le schéma ci-dessus : il existe alors 2 soudures communément appelées soudure « chaude » et soudure « froide ».

Le problème est que l'appareil de mesure va donner la f.e.m. résultante et donc pour avoir la f.e.m.  $f_1$  il faut tenir compte de  $f_2$  ( $f_2 = f \text{ totale} - f_1$ ). On utilisera donc un appareil de mesure comportant un dispositif automatique de compensation de la f.e.m. de la soudure « froide ».

L'autre extrémité des thermocouples est reliée à une centrale d'acquisition, qui permet de collecter les données enregistrées à un intervalle donné et de les conserver. Elle permet également de calculer la valeur stérilisatrice  $F_0$  à partir des températures enregistrées.

Il existe différents types de thermocouples, en fonction de la nature de leurs fils métalliques, chacun étant désigné par une lettre. Le type le plus approprié pour la validation de cycle d'autoclave est le type T.

Voici la table de référence des 5 principaux types de thermocouples (tableau 6)

<b>Symboles</b>	<b>Métaux</b>	<b>Domaine de température</b>
<b>K</b>	Ni-Cr + Ni-Al -	-270 à + 1372°C
<b>T</b>	Cu + Cu-Ni -	-270 à +400°C
<b>J</b>	Fe + Cu-Ni -	-210 à +1200°C
<b>E</b>	Ni-Cr + Cu-Ni -	-270 à +1000°C
<b>N</b>	Ni-Cr-Si + Ni-Si -	-270 à +1300°C

**Tableau 6 : caractéristiques de cinq types de thermocouples (43)**

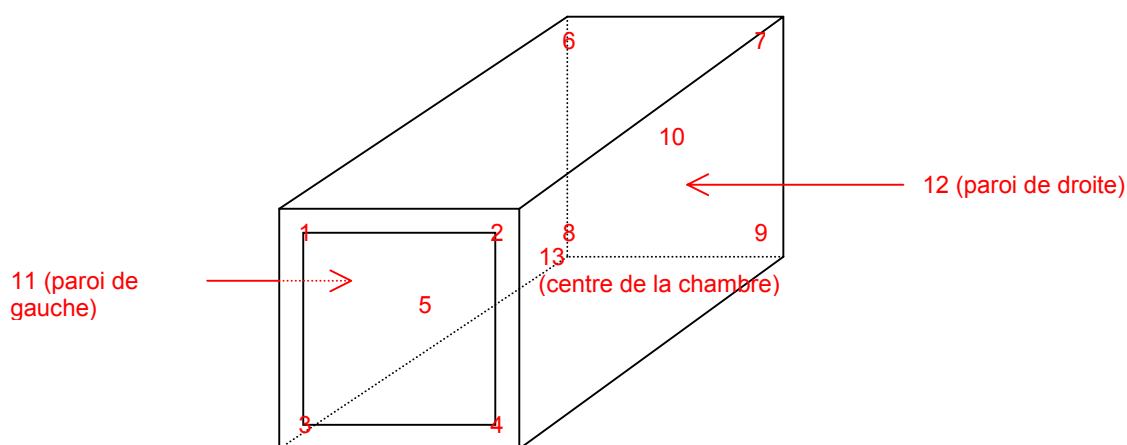
#### b- Réalisation de l'étude de distribution thermique

Elle a pour but de démontrer l'uniformité et la stabilité de la température au sein de la chambre au cours du plateau du cycle de stérilisation. Elle se réalise sur les cycles mis au point précédemment et qui seront les cycles utilisés en routine, si aucune modification n'est à apporter après l'étude des résultats de la qualification.

La première étape consiste en l'étalonnage des thermocouples qui seront utilisés. Pour ce faire, les thermocouples sont placés dans un milieu thermique stable (par exemple un bain d'huile) en présence d'une sonde de température de référence (dans la plupart des cas c'est une sonde RTD en Platine). L'étalonnage se fait à deux points de mesure : à 0°C et à une température légèrement supérieure à la température de stérilisation, soit le plus souvent à 130°C. Un écart de 0,5°C est toléré entre le thermocouple et la température de référence. L'étalonnage doit être réalisé avant et après leur utilisation.

Le nombre de thermocouples utilisés varie en fonction de la taille de l'autoclave, mais aussi des normes auxquelles se réfère l'utilisateur ; ainsi les cGMP préconisent un « nombre suffisant mais minimum 10 », et la Norme Européenne EN 554, qui régie la stérilisation des dispositifs médicaux à l'hôpital, « 12 capteurs par mètre cube. ». Mais dans tous les cas un ou deux thermocouples supplémentaires peuvent être étalonnés afin de remplacer un thermocouple qui se montrerait défectueux au cours de la qualification (43) .

A l'issue de leur étalonnage les thermocouples sont disposés de manière homogène dans des plans horizontaux et verticaux de la chambre (figure 8). Il faut veiller à ce qu'ils n'entrent pas en contact avec les parois métalliques pour éviter de fausser les mesures. De plus, un thermocouple est placé à proximité de la sonde de température de l'autoclave (44, 45).



**Figure 8 :Disposition des thermocouples dans l'enceinte de l'autoclave (45)**

Afin d'assurer leur répétabilité, ces tests de distribution de chaleur doivent être réalisés au moins trois fois de suite. Une série de tests doit être menée pour chaque type de charge (46).

L'enregistrement des mesures débute lorsque la température de stérilisation est atteinte et stabilisée (phase de plateau). L'intervalle d'enregistrement des mesures est généralement fixé à une minute. En ce qui concerne les critères d'acceptations, les cGMP préconisent des valeurs de chaque thermocouple comprises entre  $\pm 1^{\circ}\text{C}$  de la température moyenne de l'ensemble des thermocouples à l'instant t (généralement toutes les minutes). Il est cependant inutile de se fixer des limites que l'appareil ne serait pas en mesure d'atteindre.

Cette étude permet également de mettre en évidence les points froids, c'est à dire les points pour lesquels on relève souvent la température la plus faible. Ce sont ces points froids qui seront donc les plus critiques et qui seront étudiés lors de la qualification de performance (28).

## II-6 La qualification de performance

### II-6-1 Distribution thermique en charge

Cette étude est réalisée avec deux types de remplissages de la chambre : le remplissage minimal et le remplissage maximal (20, 41) . Bien sûr, ces deux cas de figure concernent le même type de charge. Celle-ci est répartie selon un plan défini par le groupe de travail et documenté. Les thermocouples restent au même emplacement que pour les études chambre à vide. Trois essais consécutifs doivent être réalisés afin de rendre l'étude représentative (47).

Le but est d'étudier l'influence de la charge sur la répartition de chaleur en comparant les résultats obtenus avec ceux de l'étude précédente.

### II-6-2 Cartographie thermique des contenants

Si le conditionnement est de volume important, il est conseillé de réaliser une étude de répartition de la chaleur au sein de celui-ci, préalablement à l'étude de pénétration de la chaleur. Par exemple si l'utilisateur stérilise des flacons, des thermocouples peuvent y être glissés afin d'étudier la répartition de chaleur au fond du flacon, au milieu et dans sa partie supérieure. Le but d'une telle étude est également de déterminer le point froid de l'article stérilisé, afin d'y placer le thermocouple lors de l'étude de pénétration de la chaleur.



Si le contenant est de petite taille, le thermocouple devra être placé dans son axe vertical à une profondeur d'environ 85 % de la hauteur du contenant.

### II-6-3 Etude de pénétration de la chaleur

Cette étude a pour but de démontrer qu'au point le plus froid de la charge, donc le plus difficile à stériliser, celle-ci reçoit une quantité de chaleur suffisante pour atteindre le niveau de stérilité voulu. Celui-ci est mis en évidence par des moyens physiques (48) et biologiques. Cette étude doit également être menée trois fois par type de configuration des thermocouples en fonction de la charge étudiée.

#### a- Etudes physiques

Cette étude est réalisée à l'aide des thermocouples placés dans la charge (par exemple au sein d'un flacon, dont le système de fermeture doit rester hermétique malgré le passage du thermocouple (49)). L'exploitation des résultats obtenus lors des précédentes cartographies thermiques permet de les disposer judicieusement au sein de la charge. En effet ils seront insérés dans les contenants placés aux points les plus froids de la chambre, et à l'endroit déterminé lors des études de cartographie thermique du contenant. D'autres thermocouples seront placés afin de couvrir de façon géométrique la charge autoclavée.

Cette étude doit être menée avec les charges minimales et maximales. Il faut donc utiliser un nombre adéquat de thermocouples. L'étude de la charge minimale trouve sa justification si le produit à stériliser est thermosensible. L'utilisateur pourra vérifier que cette charge minimale ne reçoit pas une quantité de chaleur qui risquerait de dégrader le produit, car le cycle sera conçu pour la stérilisation de la charge maximale, donc pour fournir une quantité de chaleur importante.

#### b- Etudes biologiques

En parallèle de l'utilisation des thermocouples, une étude doit être menée à l'aide de bioindicateurs (42). Ce sont des bactéries sous forme de spores qui sont reconnues pour leur résistance à la chaleur. Ces spores sont inoculées sur différents supports, ceux-ci

pouvant être liquides ou solides en fonction du type de charge à étudier, et en présence d'un indicateur coloré dont la teinte se modifiera lors d'une pousse microbienne. Leur choix varie également selon le type d'approche choisie lors de l'élaboration des cycles. Les bioindicateurs sont disposés au voisinage des thermocouples (soit dans le même contenant ou dans les contenants voisins). Pour plus de sûreté ils sont généralement utilisés par paire.

Si la surdestruction thermique est choisie, les indicateurs biologiques préconisés sont soit des spores de *Bacillus stearothermophilus* ou des spores de *Clostridium sporogenes* ensemencés sur un milieu nutritif. Ils présentent en effet une valeur D élevée. Il existe donc des fournisseurs qui proposent ces spores inoculées dans des milieux nutritifs liquides (par exemple en ampoule) ou solides (par exemple des bandelettes). Ces bioindicateurs sont accompagnés de certificats donnant la valeur D et la population de spores présentes, ces résultats étant certifiés par le fournisseur sont des documents à conserver dans le rapport de qualification.

Si l'approche de la charge biologique est choisie, l'utilisateur a deux possibilités : il peut acheter des indicateurs biologiques auprès de fournisseurs dont les caractéristiques sont proches de la flore indigène isolée (*Bacillus subtilis* possède par exemple une valeur D comprise entre 0,5 et 0,8 en suspension dans un tampon) ; la solution stérilisée en routine peut être remplacée par un placebo si un de ses constituants a des propriétés antimicrobiennes (conservateur...). Cette méthode est dite approche combinée bioburden/indicateurs biologiques. L'autre possibilité est l'utilisation des spores de la flore indigène qui au cours de différentes études, se sont montrées les plus résistantes à la chaleur. Ensuite, il faut préparer une solution de spores de concentration connue qui sera inoculée soit dans une solution dans le cas de stérilisation de milieu liquide ou soit sur une surface sèche dans le cas de matériel ou de dispositifs médicaux. Cette méthode est l'approche bioburden au sens strict du terme.

En parallèle de chaque test lancé, un indicateur biologique directement incubé sans subir de cycle de stérilisation constituera un témoin positif. Un témoin négatif sera constitué d'un milieu de culture identique à celui des indicateurs biologiques mais non ensemencé. Il subira les mêmes conditions que les indicateurs biologiques disposés dans la charge.

A l'issue du test les indicateurs biologiques sont incubés dans des conditions de température et de durée adéquates variant en fonction de leur nature.

## II-7 Rapport de qualification final

A l'issue de la qualification et lorsque toutes les non conformités ont été levées, le rapport de qualification final peut être rédigé et approuvé. Il regroupe les rapports des différentes étapes de la qualification (QI, QO, QP), tous les documents et les résultats des tests. Lorsqu'il est signé par les représentants du groupe de travail l'autoclave peut être utilisé en routine.

## II-8 Maintenance de la qualification de l'autoclave

La dernière étape de la qualification est la mise en place d'un programme permettant de s'assurer que les résultats obtenus lors de la qualification de l'appareil seront maintenus (35). Les points importants à mettre en œuvre pour une telle opération sont les suivants :

- Un programme d'étalonnage à intervalles réguliers des instruments de mesure critiques (sondes de mesure de température et de pression)
- Un programme de maintenance préventive pour les autres composants du système (filtres...), qui permet l'archivage du détail des interventions.
- Une étude régulière de la charge biologique lors de la stérilisation des produits thermosensibles, et une vérification régulière des cycles à l'aide de bioindicateurs appropriés.
- La conservation des enregistrements des données recueillies par les sondes de mesure
- Les procédures de change control lors de modification importante, et leur conservation.

De plus, de par la nature critique de la stérilisation, il est conseillé de refaire des tests réalisés lors de la qualification sur une base annuelle. Il n'est cependant pas nécessaire de tous les refaire ; les plus critiques, tels ceux effectués sur la pénétration de chaleur sur la charge maximale (étude physique et biologique), peuvent être mis en place.

Enfin, la loi exige un contrôle régulier effectué par l'A.P.A.V.E. ou tout établissement agréé par l'Etat. Une visite est réalisée au maximum tous les 18 mois, et une réépreuve tous les dix ans.

## II-9 Conclusion

La qualification d'un autoclave suit le même cheminement que la qualification de n'importe quel autre appareil. Cependant la stérilisation reste l'un des processus les plus critiques de l'industrie pharmaceutique, de par sa complexité et les conséquences qu'une stérilisation défailante pourrait engendrer. Elle nécessite une connaissance approfondie de la destruction microbologique, des paramètres pouvant l'influencer, et bien sûr de la réglementation en vigueur. Heureusement, grâce aux connaissances acquises lors des dernières décennies, les autoclaves aujourd'hui sur le marché restent très fiables.

## I- Introduction

La qualification réalisée est celle d'un autoclave du laboratoire de contrôle des établissements Pfizer Global Manufacturing d'Amboise géré par le service de Support Contrôle Qualité.

En effet le site a pour but de produire un médicament injectable pour le marché des Etats-Unis. Or, l'autoclave du laboratoire de contrôle intervient dans cette production. Il avait déjà fait l'objet d'une qualification il y a une dizaine d'année, mais afin de se conformer aux exigences de la Food and Drug Administration actuelles, il a été décidé la requalification de cet autoclave. A cet effet, le rôle de « coordinateur » du projet m'a été confié.

Nous verrons dans un premier temps la présentation de l'équipement, puis la réalisation pratique de la qualification telle qu'elle a été effectuée au sein du laboratoire de contrôle.

## II- Description de l'équipement

L'autoclave de contrôle est composé de trois éléments (figure 9): la chambre en elle-même, un automate qui pilote le déroulement des cycles de stérilisation, et un superviseur qui gère l'automate et permet l'interface avec l'opérateur.

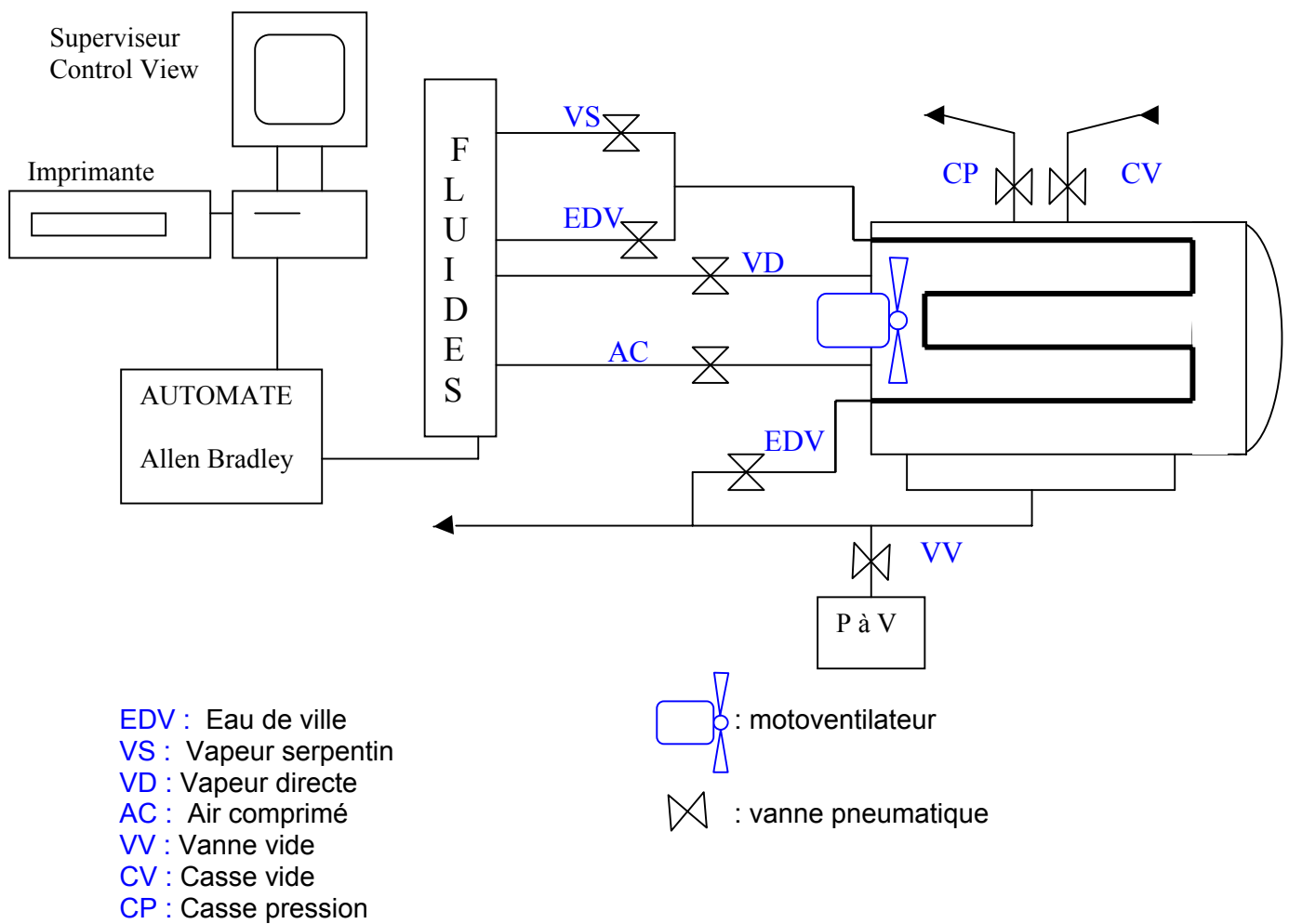


Figure 9 : schéma de l'équipement

## II-1 Description de l'autoclave



Figure 10 : Vue de face porte ouverte



Figure 11 : Vue de dessus



Figure 12 : vue arrière

Il a été conçu par la Société Nouvelle Lagarde ; son numéro de série est PH 46. Il est répertorié sur le site sous le numéro 558. Il est entré en activité au sein du laboratoire de contrôle après déclaration à la préfecture d'Indre-et-Loire et approbation de l'Association des Propriétaires d'Appareils à Vapeur et Electriques (APAVE), en Octobre 1983. Il est composé d'une chambre horizontale cylindrique de 1,230 m<sup>3</sup>, de deux serpentins échangeurs situés de part et d'autre de cette chambre, d'un système de ventilation composé d'un motoventilateur séparé de la chambre par une grille, et d'un couvercle amovible à fermeture rapide à baïonnettes. Ce couvercle est percé d'un hublot permettant de surveiller l'intérieur de l'enceinte au cours d'un cycle.

Pour son fonctionnement, il est raccordé au réseau de fluides du site. Leur arrivée est contrôlée par l'ouverture/fermeture de vannes pneumatiques, elles-même gérées par l'automate. Ces fluides sont au nombre de trois :

- La vapeur saturée sous pression : ce sont ses propriétés physiques qui sont utilisées lors de la stérilisation par autoclave. En effet, elle se condense dès qu'elle entre en contact avec un article à stériliser. Lors de sa condensation, elle relargue l'énergie emmagasinée nécessaire à sa vaporisation. C'est pourquoi la stérilisation par la vapeur est plus efficace que la stérilisation par chaleur sèche. La vapeur utilisée par l'autoclave Lagarde est de qualité industrielle. Elle arrive soit directement dans la chambre (vapeur directe) ou soit via les serpentins (vapeur serpentin). Actuellement seule la vapeur directe est utilisée.
- L'eau de ville, qui ne subit aucun traitement particulier et qui circule dans les serpentins lors de la phase de refroidissement d'un cycle.

- L'air comprimé, qui arrive directement dans la chambre pendant la phase de refroidissement.

La chambre possède également un système de mise à vide grâce à une pompe à vide, un système de casse-vide et un système de casse-pression.

En plus de ces éléments permettant le bon fonctionnement de l'autoclave, le laboratoire est soumis à des exigences réglementaires assurant la sécurité des opérateurs : un robinet de mise à l'air libre, qui témoigne de la présence de vapeur résiduelle dans la chambre à l'issue d'un cycle, deux soupapes de sécurité qui permettent d'évacuer une pression trop élevée, un témoin lumineux du bon assujettissement de la porte ; enfin sont présents également la plaque du constructeur, le timbre indiquant la pression maximale d'utilisation et une affiche rappelant les consignes de sécurité.

L'APAVE réalise une visite annuelle de l'appareil et un contrôle décennal plus poussé.

## II-2 Description de l'automate Allen Bradley

L'automate et le système de supervision ont été installés en 1994. Lorsqu'un cycle est lancé, il gère :

- Le bon déroulement des phases du cycle, en permettant l'ouverture et la fermeture des vannes pneumatiques grâce à des électrovannes.

- Les éventuelles alarmes pouvant intervenir. Elles sont classées en trois niveaux :

- les alarmes de niveau 1 entraînent la mise en sécurité de l'autoclave, (fermeture des vannes, en dehors de celles permettant le refroidissement de la chambre), exemple : déverrouillage de la porte au cours d'un cycle, pression trop élevée dans la chambre. Il est nécessaire de les acquitter et elles apparaissent sur la page d'alarme du superviseur et sur le rapport d'autoclave.
- les alarmes de niveau 2 : elles n'entraînent pas la mise en sécurité de l'autoclave et ne sont pas à acquitter. Ce sont des informations mais elles apparaissent sur la page d'alarme du superviseur.. Elles se déclenchent lors d'une coupure d'alimentation, ou lorsque la température du produit sort des spécifications fixées ( $121 \pm 1^\circ\text{C}$ ).
- Enfin, le niveau 3 ne concerne que le capot de protection du système de verrouillage. Cette alarme n'apparaît pas dans la page d'alarme du superviseur ni



sur le rapport. Elle a pour fonction de protéger l'opérateur en interdisant le verrouillage de la porte si le capot n'est pas baissé.

Les mesures sont enregistrées par les sondes de température et les capteurs de pression. Les sondes de température sont au nombre de deux : une sonde fixe mesurant la température de la chambre, et une sonde mobile placée dans un flacon rempli d'un litre d'eau (sonde produit). Ces sondes sont du type Pt 100. (sondes RTD en Platine) ;

En plus de ces sondes de mesure il existe un thermostat de sécurité de température haute (125 °C), et un vaccuostat de sécurité de pression basse ( $- 0,9.10^5$  Pa) et haute ( $2.10^5$  Pa). Une mesure en dehors de ces limites entraîne une alarme de niveau 1. Ces cinq sondes sont étalonnées tous les ans par le service de métrologie du site, selon les procédures en vigueur.

Enfin, il permet le calcul de la valeur  $F_0$  du cycle.

### II-3 Description du superviseur Allen Bradley ControlView



**Figure 13- : Vue de côté avec le PC de supervision**

Ce logiciel de supervision est composé de deux éléments : le ControlView builder et le ControlView runtime. Le builder contient tous les paramètres nécessaires au bon déroulement d'un cycle, et permet la création de nouveaux cycles, de modification de l'impression.... Il est accessible uniquement aux agents de maintenance. Le runtime joue un peu le rôle d'interface entre le builder et l'automate. Il permet le transfert des paramètres d'un cycle dans l'automate avant son lancement. De plus, il est composé d'un ensemble de vues accessibles à l'opérateur : la vue d'accueil, grâce à laquelle l'opérateur renseigne ses

initiales, le produit à stériliser et son numéro de lot ; il existe également la vue des alarmes, la vue d'élaboration des courbes...

A l'issue du cycle, après l'envoi des données enregistrées de l'automate vers le superviseur, un rapport d'autoclave est édité (cf. annexe 1). Celui-ci est composé d'une première page avec deux graphiques ; l'un représente la variation de la température chambre et de la température produit en fonction du temps, l'autre représente la variation de la pression en fonction du temps. Puis un rapport de données chiffrées est imprimé, détaillant les éléments renseignés par l'opérateur, le déroulement des phases d'un cycle, le suivi de la pression pendant la phase de vide et le suivi de la pression et de la température produit pendant la phase de stérilisation. Les alarmes de niveau 1 et 2 y sont également reportées en cas de déclenchement.

#### II-4 Fonctionnement de l'autoclave : (cf. annexe 2)

Actuellement, six cycles sont utilisés en routine ; les cycles 2 et 3 sont des cycles de stérilisation à proprement parler. Ils sont utilisés pour la stérilisation de milieux de culture (eau peptonée, eau purifiée, bouillon détergent, tampons de pH...) utilisés par le laboratoire de biologie; de matériel de prélèvement d'eau ou appartenant à l'isolateur du laboratoire de biologie.

Le cycle 4 est utilisé pour traiter la verrerie qui a été en contact avec un principe actif vétérinaire dangereux pour l'environnement.

Pour les trois derniers cycles, il est attendu une montée en température et le maintien d'un palier à 121°C plus long que celui d'un cycle de stérilisation. Ils sont utilisés pour des tests physico-chimiques réalisés soit sur les bouchons employés pour la fermeture des flacons à usage parentéral, soit pour les tests de résistance hydrolytique du verre de conditionnement. Ainsi, le cycle 6 est conçu pour répondre aux exigences de la Pharmacopée américaine pour les tests sur les bouchons destinés au marché des U.S.A, (monographie 381 de l'USP), le cycle 9 pour les bouchons destinés au marché européen (monographie 3-2-9 de la PE), et le cycle 10 pour les flacons et ampoules destinés au marché européen (monographie 3-2-1 de la PE).

Lorsqu'un cycle est lancé, il se déroule de la manière suivante :

- *Phase de vide* : à l'aide de la pompe à vide, la pression descend jusqu'à  $-0,8.10^5$  Pa.

- *Phase de préchauffage* : par injection de vapeur directe dans l'enceinte, la température monte à 70 °C.
- *Phase de chauffage* : par injection de vapeur directe, la température augmente selon un incrément prédéterminé (3°C/min pour les cycles de stérilisation et 8°C/min pour les cycles physico-chimiques). Lors de ces deux phases, c'est la sonde chambre qui pilote l'installation et la régulation de température.
- *Phase de stérilisation* : ici c'est la sonde produit qui pilote la phase. Pour tous les cycles, la température de consigne est  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  ; seule la durée de cette phase varie en fonction des cycles. Elle est régulée par injection de vapeur directe.
- *Phase de séchage* : elle est facultative et n'intervient qu'à l'issue de la phase de stérilisation du cycle 3. Il y a l'ouverture de la vanne de casse-pression ; la pression chute jusqu'à la pression atmosphérique, puis il y a un tirage au vide jusqu'à  $-0,5 \cdot 10^5$  Pa. Enfin, il y a ouverture de la vanne de casse-vide de nouveau jusqu'à retour à la pression atmosphérique.
- *Phase de refroidissement* : à la suite de la phase de stérilisation, elle consiste en la descente progressive de la pression par injection d'air de refroidissement, et circulation d'eau dans les serpentins. A l'issue d'une phase de séchage, elle consiste en la circulation d'eau de refroidissement dans les serpentins, et du maintien de la pression vers  $0,3 \cdot 10^5$  Pa par injection d'air comprimé.
- *Phase de casse-pression* : l'ouverture de la vanne de casse-pression permet le retour de la chambre à la pression atmosphérique.

Le cycle est terminé lorsque la pression est comprise entre  $-0,05 \cdot 10^5$  et  $0,05 \cdot 10^5$  Pa, et que la température dans la chambre est inférieure à 65°C.

Afin d'assurer un fonctionnement et un entretien en conformité avec les exigences qualité, l'autoclave fait l'objet de plusieurs procédures (utilisation, contrôle périodique, maintenance...).

#### II-5 Les change controls :

Lorsqu'une modification non temporaire, planifiée, est réalisée sur un équipement ou un système utilisés pour la fabrication, le contrôle, le conditionnement ou le stockage des matières à visée pharmaceutique une procédure dite de « change control » est engagée. Celle-ci a pour but de conserver une trace écrite des actions mises en œuvre, afin de maîtriser les changements sur les équipements. Elle est initiée par le service utilisateur de l'équipement, en coopération étroite avec le service technique qui sera responsable de la

réalisation de la modification, et le service d'assurance qualité systèmes, qui détermine l'aspect critique ou non du changement, et attribue un numéro au Change Control.

En pratique, le service utilisateur renseigne le nom et l'identification interne de l'équipement, ainsi que la situation actuelle et future, l'action souhaitée, et l'impact sur la procédure d'utilisation de l'équipement. Ensuite, le service d'Assurance Qualité Système détermine si le changement est déclaré critique, c'est à dire s'il a un impact direct ou indirect sur la qualité finale du produit, ou s'il est non critique. Dans le premier cas, un plan d'action est établi avec des responsabilités définies (ex : réalisations de tests, recueil de documents, mise à jour de procédure, intervention de fournisseur...). Dans le second cas, le change control est clos sans action. Enfin, l'AQS est responsable de l'archivage du document, ainsi que de tous les éléments qui permettent de tracer la réalisation du change control.

Ces procédures de change control ne concernent pas les réglages et les opérations de maintenance: réglage machine pour obtenir un état normal de fonctionnement pendant la fabrication (car opération non planifiée), le remplacement à l'identique d'un composant de l'équipement ou une modification dans le cadre de la maintenance préventive.

### III- Qualification de l'équipement

La partie théorique a montré que l'objectif d'une qualification est de justifier par écrit que l'équipement est situé, conçu, construit, adapté, utilisé et entretenu de façon à convenir au mieux aux opérations à effectuer.

Sur le site, les qualifications des équipements suivent un déroulement procéduré, afin de répondre aux exigences réglementaires et internes à Pfizer. Les étapes sont les suivantes :

- Analyse de criticité/ Plan de qualification (ACPQ)
- Qualification d'Installation (QI)
- Qualification Opérationnelle (QO)
- Qualification de Performance (QP)

Chacune de ces qualifications est composée d'un protocole approuvé (annexe 3) avant exécution ; de la réalisation des tests spécifiés dans le protocole, et d'un rapport (annexe 4) déclarant la qualification prononcée ou refusée.

### III-1 L'Analyse de Criticité/ Plan de Qualification (ACPQ) (annexe 5)

L'objectif de l'analyse de criticité est de faire ressortir et d'évaluer les paramètres critiques pharmaceutiques de l'équipement. Un élément est considéré comme critique s'il a un impact direct ou indirect sur la qualité finale du produit. De cette évaluation découle le plan de qualification qui permettra d'orienter la rédaction et l'exécution des protocoles de qualification.

L'analyse de criticité peut être rédigée soit en identifiant tous les sous-systèmes de l'équipement, soit en listant toutes ses fonctions. Dans le cas de l'autoclave Lagarde, c'est la première solution qui a été retenue.

Pour élaborer une analyse de criticité, on liste tous les dysfonctionnements qui sont susceptibles de se produire sur l'équipement, puis on évalue la gravité et la probabilité de survenue de ce dysfonctionnement.

La rédaction d'une ACPQ se déroule de la manière suivante :

- sur la page de garde est renseigné le service utilisateur de l'équipement (Support Contrôle Qualité),
- le domaine auquel appartient le service (laboratoire de contrôle),
- la date,
- l'équipement concerné (autoclave Lagarde PH 46 n°558) ;
- le numéro de l'ACPQ attribué par le service d' Assurance Qualité Système selon une procédure interne, ainsi qu' un numéro de version.
- Un titre (« analyse de criticité/plan de qualification de l'autoclave Lagarde PH 46 »)
- Le motif de cette ACPQ : S'assurer que la qualification de l'autoclave Lagarde PH 46 est réalisée selon les standards qualité internes à Pfizer Global Manufacturing d'Amboise. Pour cela, cette analyse va permettre d'identifier les paramètres critiques qui seront à prendre en compte lors de la qualification de cet équipement.

Puis sont renseignés :

- l'objectif de l'ACPQ : l'objectif d'une telle analyse est de mettre en évidence les paramètres critiques de l'autoclave Lagarde PH 46 afin de les intégrer dans les protocoles de qualification en vue de leur maîtrise.
- les responsabilités : cet élément reprend la composition du groupe de travail ; j'ai donc assuré sa rédaction et son évaluation qui a été approuvée à la fois par le responsable du service utilisateur et par l'Assurance Qualité Système.
- La date de mise en service de l'équipement : l'autoclave : Octobre 1983 ; le superviseur et l'automate : Septembre 1994.
- la localisation : Laboratoire de contrôle, salle 145, bâtiment 17, premier étage.
- la liste des composants de l'équipement ; en effet, l'équipement a été découpé en sous-systèmes pour faciliter l'étude ; ces sous-systèmes sont :
  - Enceinte
  - réseau de vapeur industrielle
  - réseau d'air comprimé
  - réseau d'eau de ville
  - système de mise à vide
  - système d'évacuation des condensats
  - superviseur ControlView et son PC
  - automate SLC 5/03
  - imprimante.
- son descriptif ; comprenant le descriptif du système, du fonctionnement et des alarmes. Je vous renvoie pour cela au paragraphe II.
- les produits utilisés par l'équipement :
  - Flacons de 500 ml contenant 200 ml d'isopropyl myristate
  - Flacons 1 l contenant 800 ml d'eau purifiée
  - Flacons 1 l contenant 600 ml de bouillon détergent
  - Flacons d' 1 l contenant 800 ml de tampon phosphate pH 4,5 ou 7
  - Bocaux pyrex d' 1 l contenant 800 ml de tampon phosphate pH 10,5
  - Flacons perfusion 1 l contenant 800 ml d'eau peptonée AES®

- Flacons d' 1 l de prélèvement d'eau contenant quelques millilitres d'eau purifiée
- Tubes à vis contenant 4 à 5 ml de gélose VF
- Rampe de filtration, bol aluminium, préfiltre, swinnex, seringue, tuyaux (pour rampe et pour prélèvement), raccord alu + joint pour prélèvement, flacons de prélèvement bio (eau PU et PPI), lingette. Le tout est autoclavé en panier métallique.
- Verreries, pinces et flacons ayant été en contact avec du Dectomax<sup>®</sup> (autoclavé en panier métallique).
- Erlens contenant des bouchons + eau PU
- Flacons Article de conditionnement de 20,50,100,250 et 500ml
- Ampoules de verre de 2 et 5ml

- et enfin les documents de référence : Classeur « autoclave Lagarde 0558 dossier de maintenance ».

A l'issue du renseignement de ces éléments débute l'analyse de criticité proprement dite. Elle est présentée, pour chaque sous-système, sous forme d'un tableau dans lequel est répertorié : le dysfonctionnement qui est susceptible de se produire, ses conséquences, son origine, la probabilité et la gravité de sa survenue, qui vont permettre de déterminer une zone de criticité à laquelle est associée un niveau de qualification.

Un exemple d'Analyse de Criticité est donné page suivante, il concerne l'autoclave en lui-même (sous-système n°1 : enceinte).

Sous-système n°1 : Enceinte :

Dysfonctionnement	Conséquences	Origines	Probabilité	Gravité	Facteur Z
Mauvaise fermeture du couvercle (alarme de niveau 1)	-Mauvaise étanchéité de la chambre -Perte des conditions de température et de pression nécessaires au bon déroulement du cycle (Si absence de mise en sécurité et d'intervention humaine)	-Levier de gonflement du joint de la porte n'est pas suffisamment remonté	C	D	3
		-Défaut de fonctionnement du pressostat contrôlant la pression du joint	D	D	4
		-La poignée de la porte est insuffisamment remontée	A	D	3
		-Défaut de fonctionnement du joint	A	D	3
		-Défaut d'approvisionnement en air comprimé	A	D	3
Absence de détection du mauvais abaissement du capot de protection	-Alarme de niveau 3 : apparition de l'alarme sur l'écran du superviseur -Le cycle ne peut pas être lancé -Le voyant témoin de la fermeture du capot est éteint	-Le détecteur de fermeture du capot est hors service	D	A	1
		-Défaut de connexion du détecteur	D	A	1
Déverrouillage du couvercle au cours d'un cycle (alarme de niveau 1)	-Risques élevés d'accident pour l'utilisateur -Perte des conditions de stérilisation -Risque de destruction des éléments autoclavés (Si absence de mise en sécurité et d'intervention humaine)	-Absence d'étalonnage de la sonde de température de la chambre (T002/0558) et de la sonde de mesure de pression (P001/0558) qui commandent l'ouverture du couvercle en fin de cycle	C	D	3
		-Défaut de fonctionnement de ces sondes	C	D	3
Absence de verrouillage de la porte (alarme de niveau 1)	-Possibilité d'ouverture de la porte au cours du cycle (Si absence de mise en sécurité et d'intervention humaine)	-Tige vérin bloquée	A	D	3
		-L'électrovanne gérant le système de verrouillage est mal connectée.	D	D	3
		-Défaut de connexion de la sortie « verrouillage porte » de l'automate	D	D	3
		-Défaut d'approvisionnement en air comprimé	A	D	3
		-Le détecteur de fermeture du capot est hors service	D	D	4



Sous-système n°1 : enceinte (suite)

Dysfonctionnement	Conséquences	Origines	Probabilité	Gravité	Facteur Z
Température trop élevée dans la chambre (alarme de niveau 1)	-Risque de destruction des éléments autoclavés -Risque d'endommagement de l'autoclave -(Si absence de mise en sécurité et d'intervention humaine)	-Absence d'étalonnage du thermostat de sécurité température haute (TS01/0558) -Défaut de fonctionnement du thermostat	C	D	3
			C	D	3
Pression trop basse ou trop élevée dans la chambre (alarme de niveau 1)	-Risque de destruction des éléments autoclavés -Risque d'endommagement de l'autoclave -(Si absence de mise en sécurité et d'intervention humaine)	-Absence d'étalonnage du pressostat de sécurité de pression haute et basse (PS01/0558) -Défaut de fonctionnement du pressostat	C	D	3
			C	D	3
Absence de retour de la chambre en pression atmosphérique en fin de cycle	-La porte n'est pas déverrouillée	-L'électrovanne gérant le casse vide et/ou le casse pression est mal connectée -La vanne de casse vide et/ou de casse pression est bloquée -Défaut de fonctionnement de la sonde mesurant la pression dans l'enceinte	D	D	4
			A	D	3
			D	D	4
Absence de ventilation (alarme de niveau 1)	-La distribution de chaleur et de vapeur industrielle dans la chambre n'est pas homogène (si absence de mise en sécurité et d'intervention humaine)	-Disjonction du moteur du ventilateur -Problème d'alimentation électrique du moteur du ventilateur -Sortie de l'automate « marche ventilateur » mal connectée -Problème de liaison ventilateur/axe du moteur	B	D	3
			B	D	3
			D	D	4
			A	D	3

Afin de pouvoir quantifier la criticité est d'abord évaluée la probabilité P d'apparition du dysfonctionnement. Celle-ci est déterminée sur une échelle de A à E (E= probabilité la plus élevée ) en fonction de la complexité du système présentant ce dysfonctionnement (nombre de fonctions électriques, mécaniques, présence d'interface entre ces fonctions....). Puis la gravité G du dysfonctionnement est à son tour estimée sur une échelle de A à E (E = évènement le plus grave) en fonction de l'impact du dysfonctionnement sur la qualité finale du produit.

Une fois ces deux paramètres déterminés est évaluée une zone de criticité figure 14) et par la suite des actions de qualification nécessaires.

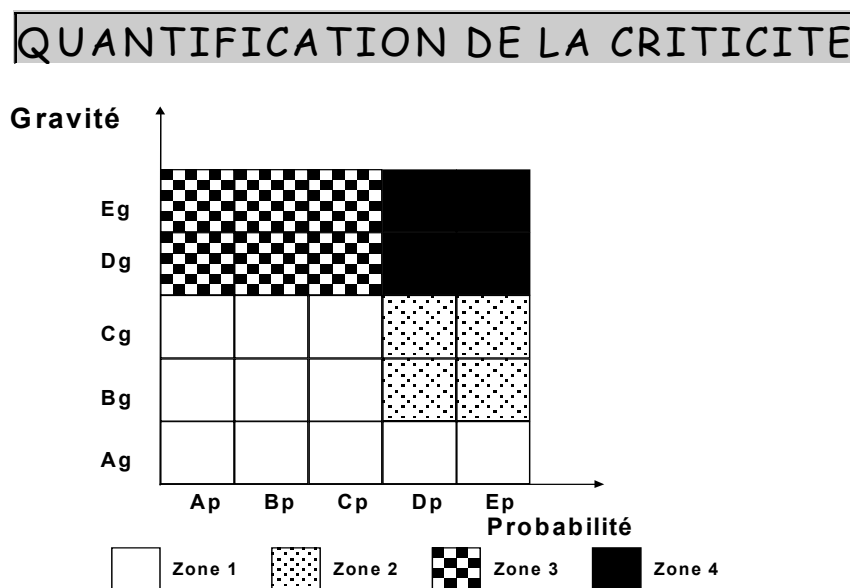


Figure 14 : schéma de quantification de la criticité

#### NIVEAU DE QUALIFICATION ASSOCIE A LA ZONE DE CRITICITE

- **Zone 1 : pas de qualification**
  - Réception mécanique classique,
  - Collecte des documents de réception mécanique d'ingénierie,
  - Test de réception mécanique.
  
- **Zone 2 : pas de qualification**
  - Réception ingénierie,
  - Collecte des documents de réception ingénierie,
  - Procédures de tests d'installations/opérationnels d'ingénierie.

- **Zone 3 : Qualification d'installation et/ou opérationnelle**

- Qualification basée sur les documents de réception d'ingénierie,
- Protocoles de qualification d'installation et opérationnels ne nécessitant pas la réalisation de placebo.
- Ces protocoles sont visés par l'assurance qualité,
- Surveillance de l'exécution des procédures de tests par l'assurance qualité.

- **Zone 4 : Qualification de performance**

- Qualification basée sur les documents de réception d'ingénierie,
- Protocole de qualification de performance avec utilisation de placebo.
- Protocoles visés par l'assurance qualité.
- Surveillance de l'exécution des procédures de tests par l'assurance qualité.

A l'issue de cette évaluation est élaboré le plan de qualification, qui découle de la quantification de la criticité .

#### PLAN DE QUALIFICATION DE L'AUTOCLAVE LAGARDE PH 46

Sous-systèmes équipement	Codification	Niveau de qualification		
		QI	QO	QP
Enceinte		X	X	X
Réseau de vapeur industrielle	VI	X	X	X
Réseau d'air comprimé	AC	X	X	X
Réseau d'eau de ville	EDV	X	X	X
Système de mise à vide et d'évacuation des condensats		X	X	X
Superviseur ControlView et son PC		X	X	X
Automate Allen Bradley		X	X	X
Imprimante		X	X	X

**Tableau 7 : plan de qualification de l'autoclave**

Il a donc été conclu que tous les sous-systèmes de l'autoclave Lagarde feront l'objet d'une qualification d'installation, opérationnelle et de performance.

A l'issue de l'approbation de l'ACPQ par les différents protagonistes du groupe de travail, ce document est signé par le rédacteur et approuvé par le responsable du service utilisateur et par le représentant de l'assurance qualité système.

## III-2 Réalisation de la Qualification d'Installation (QI)

### III-2-1 Protocole de qualification d'installation

C'est l'étape suivant l'ACPQ. Dans la majorité des cas, elle consiste à rassembler la documentation de l'équipement (notice d'utilisation, certificats d'usine), et de vérifier que ce dernier répond aux exigences listées dans le cahier des charges. Cependant, l'autoclave datant d'une vingtaine d'années, aucun cahier de charges n'a été élaboré. Nous nous sommes donc basés en partie sur la correspondance entre les laboratoires Pfizer et la Société Nouvelle Lagarde. La qualification d'installation a consisté à réunir tous les documents le concernant existant sur le site, et à décrire « physiquement » l'appareil.

La page de garde du protocole de qualification d'installation diffère très peu de celle de l'ACPQ. Les autres éléments à renseigner sont :

- Un numéro qui est donné par le service d'assurance qualité ;
- Son titre « qualification d'installation rétrospective de l'autoclave Lagarde PH 46 n° 558 » ;
- C'est une requalification d'un équipement existant ;
- C'est un protocole spécifique ;
- Le motif de son initiation est le fait qu'une qualification rétrospective de l'autoclave Lagarde PH 46 n° 558 est nécessaire afin de s'assurer de son installation adéquate.

Puis sont décrits:

- L'objectif du protocole :

Le but de cette qualification d'installation est de décrire l'autoclave Lagarde PH 46 n°558 situé pièce 145 du laboratoire de contrôle qualité. Elle permet également de vérifier que l'installation de ces appareils correspond bien aux spécifications fournies.

- Responsabilités :

Rédaction du protocole : service Support Contrôle Qualité

Approbation : service Support Contrôle Qualité- service Assurance Qualité Système

Exécution : services SCQ – AQS – Maintenance Electricité / Automatisme / Instrumentation (MEAI)

➤ Déroulement de la qualification avant exécution :

Elle consistera en une vérification de la documentation fournie ainsi que de l'appareillage présent sur le site. Toute la documentation devra respecter les règles d'écriture BPF (date-référence-signature).

Puis l'ensemble des tests à exécuter est listé dans un tableau reprenant la fonction du test, le numéro du test , la responsabilité de sa réalisation, les résultats attendus et les résultats réels (conforme ou non conforme). Le statut des tests est étudié à l'issue de leur exécution, et une non conformité ou une déviation entraîne la rédaction d'une fiche de déviation.

FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
<b><u>Vérification de la documentation</u></b>		
Vérifier la documentation	Fiche Test n°1	Documentation présente et complète
Vérifier les courriers	Fiche Test n°2	Documentation présente et complète
Vérifier les procédures	Fiche Test n°3	Procédures à jour
Vérifier les plans de l'autoclave	Fiche Test n°4	Présence des plans de l'autoclave
Vérifier la documentation relative au superviseur de l'automate	Fiche Test n°5	Présence de documentation décrivant le superviseur
Vérifier la documentation relative à la composition de la vapeur industrielle	Fiche Test n°6	Présence de la documentation décrivant la composition de la vapeur industrielle
Vérifier la documentation relative à l'automate	Fiche Test n°7	Présence de documentation décrivant l'automate
Vérifier la documentation relative à l'imprimante	Fiche Test n°8	Présence de documentation décrivant l'imprimante
<b><u>Vérification de l'équipement</u></b>		
Identification et caractéristiques de l'autoclave	Fiche Test n°9	Equipement principal identifié
Description du couvercle de l'autoclave	Fiche Test n°10	Couvercle identifié

Identification du moto ventilateur	Fiche Test n°11	Moto ventilateur identifié
Identification de la pompe à vide et des éléments permettant son fonctionnement	Fiche Test n°12	Pompe à vide identifiée
Identification des vannes	Fiche Test n°13	Vannes identifiés
<b>FONCTION</b>	<b>METHODE/TEST</b>	<b>RESULTATS ATTENDUS</b>
Identification des fluides	Fiche Test n°14	Fluides identifiés
Identification des éléments réglementaires	Fiche Test n°15	Eléments réglementaires identifiés
Identification des sondes de température (éléments critiques) et contrôle des PV de calibration	Fiche Test n°16	Sondes de température identifiées
Identification des sondes de pression (éléments critiques) et contrôle des PV de calibration	Fiche Test n°17	Sondes de pression identifiées
Identification du PC	Fiche Test n°18	PC identifié
Identification des logiciels	Fiche Test n°19	Logiciels identifiés
Identification de l'armoire électrique	Fiche Test n°20	Armoire électrique identifiée
Identification de l'automate	Fiche Test n°21	Automate identifié
Identification de l'imprimante	Fiche Test n°22	Imprimante identifiée

A la suite de ces tableaux qui permettent d'avoir une vue d'ensemble sur les tests à réaliser sont insérées les fiche-tests. Elles sont renseignées de la manière suivante :

- Le numéro de la fiche test et le numéro du protocole ;
- L'objectif du test
- Les résultats attendus ;
- Le mode opératoire adopté pour la réalisation du test ;
- Les résultats obtenus ;
- La conformité ou non du test ;
- Des remarques et commentaires éventuels ;
- La signature par la personne exécutant et approuvant le test.

Cette qualification d'installation étant rétrospective, nous avons décidé de la séparer en deux parties : l'une concernant l'inventaire de la documentation de l'autoclave Lagarde existant sur le site, l'autre détaillant la partie « physique » de l'équipement.

Deux fiches-test appartenant à chacune de deux parties sont présentées ci-dessous : la fiche-test 1 (partie documentaire) et la fiche-test 9 (partie « physique ») :

### FICHE TEST 1

#### INTITULE DU TEST : CONTROLE DOCUMENTAIRE

**OBJECTIF DU TEST :** Vérifier la présence des documents servant à cette qualification d'installation

#### **-RESULTATS ATTENDUS**

- 1- Déclaration de l'autoclave à l'APAVE de l'Ouest en date du 13/10/1983 et à la préfecture en date du 12/10/1983
- 2- Registre d'entretien de l'APAVE de l'Ouest et rapports de visite annuelle et d'épreuves décennales entre 1983 et 2001
- 3- Dossier des Mines de l'autoclave en date du 7/09/1983
- 4- Document AFNOR décrivant le matériau de construction de l'autoclave
- 5- PV de calibration annuelle des sondes entre 1995 et 2001
- 6- Fiche équipement autoclave 0558 des cartouches filtrantes eau de ville n° 05077 et filtre vapeur n° 05108
- 7- Description des 6 interventions survenues sur l'autoclave.
- 8- PV d'installation du capteur de pression Cerabar du 11/09/1998 n°4

#### **MODE OPERATOIRE**

Vérification de la présence de ces documents

### FICHE TEST 9

#### INTITULE DU TEST : IDENTIFICATION ET CARACTERISTIQUES DE L'AUTOCLAVE

**OBJECTIF DU TEST :** Vérifier que les caractéristiques spécifiées de l'autoclave sont celles effectivement rencontrées

#### **-RESULTATS ATTENDUS**

- 1- Le fabricant de l'autoclave est la Société Nouvelle Lagarde
- 2- C'est un autoclave horizontal cylindrique
- 3- Le numéro de série est PH 46
- 4- Son volume de 1230 litres
- 5- L'année de construction est 1983
- 6- La pression maximale d'utilisation est de  $3.10^5$  Pa
- 7- Le numéro d'identification est 558
- 8- Etiquette noire avec l'identification de l'appareil, son numéro de série et sa date de mise en service
- 9- Etiquette verte témoin des contrôles périodiques biologiques avec la dernière date de contrôle, les

initiales des auteurs de ce contrôle et la date de prochain contrôle.

10- La date de prochain contrôle doit être au-delà de la date d'exécution du protocole

11- Localisation au laboratoire de contrôle, bâtiment 17, pièce 145

#### **-MODE OPERATOIRE**

Vérification sur l'appareillage des spécifications fournies dans la documentation.

Une fois le protocole approuvé par les membres du groupe de travail, il est signé et archivé au service d'Assurance Qualité Système. Cette version, imprimée sur papier blanc, reste complètement vierge, sans éléments manuscrits hormis les signatures.

Avant l'exécution des fiches-tests, ce protocole vierge est photocopié sur du papier jaune ; c'est sur cette version que seront reportés les résultats et les éventuels commentaires sur les tests effectués. Toutes les annexes nécessaires à l'exécution des tests y sont glissées.

Au cours de l'exécution des fiche-tests, si une déviation ou une non-conformité est rencontrée, une fiche de déviation est émise. Il faut y renseigner :

- Son numéro et le numéro de protocole correspondant ;
- La déviation constatée ;
- L' action corrective proposée, qui peut impliquer la mise en œuvre de nouveaux tests ;
- Le responsable concerné

Ces éléments sont approuvés par un représentant des services Assurance Qualité et Utilisateur.

Puis l'exécution de l'action corrective est décrite avec les résultats obtenus, et la fiche de déviation est à nouveau approuvée et signée par les mêmes représentants.

#### III-2-2 Rapport de qualification d'installation

A l'issue de l'exécution de la qualification, un rapport est réalisé. C'est un document structuré qui a pour but de regrouper les documents/éléments issus des tests prouvant la qualification de l'équipement d'une part, et de statuer sur la démarche de qualification dans sa globalité d'autre part. Un rapport de qualification ne concerne qu'un seul protocole.



Le rapport est caractérisé par un numéro, qui est le même que celui du protocole. Il est organisé selon le plan type suivant :

- Page de garde qui reprend le numéro du protocole de qualification, l'équipement concerné.... Et les conclusions de la qualification : les tests de qualification ont été exécutés et sont conformes ; et ses conséquences : la qualification d'installation est prononcée. Elle est signée par les membres du groupe de travail.
  
- Sommaire :
  - Page de garde → Conclusions / Conséquences
  - Sommaire du rapport de qualification
  - Chapitre 1 → Sommaire des fiches et déviations et fiche de déviation
  - Chapitre 2 → Protocole de qualification PQ 02-057 exécuté
  - Chapitre 3 → Protocole de qualification PQ 02-057 vierge
  
- Sommaire des fiches de déviation
  
- Fiches de déviation
  
- Protocole de qualification exécuté et ses annexes
  
- Protocole de qualification vierge

Le rapporteur, en collaboration avec le groupe de projet, statue sur les tests une fois exécutés. Les différents statuts sont :

- -Conforme : sans ambiguïtés, les résultats obtenus sont ceux attendus selon le mode opératoire défini
  
- -Acceptable : le test n'est pas conforme au sens strict tel que le protocole initial le décrit ; toutefois, la non conformité n'a pas d'impact direct avec le produit et le groupe de projet décide de ne pas initier de déviation.  
C'est le cas par exemple d'une évolution dans le déroulement du protocole de qualification ou bien d'un résultat proche de celui attendu mais ne remettant pas en

cause la conformité globale du test. Un test acceptable n'exclut pas de statuer positivement sur la qualification globale.

- -Non conforme : conduisant à l'engagement d'une correction puis au déroulement de nouveau(x) test(s).

Tous ces éléments sont archivés dans un classeur correctement étiqueté et conservés à l'Assurance Qualité Système.

### III-3 Réalisation de la Qualification Opérationnelle (QO)

#### III-3-1 Protocole de qualification opérationnelle

La qualification opérationnelle correspond à l'évaluation du fonctionnement unitaire d'une opération réalisée par l'équipement. Les éléments qui ont été définis comme critiques dans l'ACPQ vont y être testés individuellement.

Il a été décidé de confier la rédaction et l'exécution des protocoles de QO et de QP (qualification de performance) à une société de services proposant des prestations de qualification. En effet, elles offrent l'avantage de posséder des bonnes connaissances dans le domaine de la qualification, et de fournir le matériel approprié.

Lors du choix du prestataire de services nous avons mis en concurrence trois sociétés : Validapro, ITS Sigma Conseil et l'APAVE. Après leur évaluation il est apparu que Validapro était le prestataire le plus approprié et qui offrait les meilleures garanties. De plus cette société était déjà intervenue sur le site pour la qualification d'un autoclave de production.

Il a donc été conclu un accord entre Pfizer et Validapro sous forme d'une offre de prestation de services ; Validapro a été chargé de la rédaction, de l'exécution des protocoles en accord avec les standards réglementaires et internes, de la rédaction des rapports, mais également de proposer des actions correctives en cas de non-conformité. Toutes ces étapes se font en partenariat avec Pfizer, et l'approbation des protocoles, de leur exécution, et des rapports sont entièrement sous la responsabilité de Pfizer.

Avant la rédaction proprement dite ont été réalisés au sein du laboratoire des tests de pré-qualification. Ils consistaient à s'assurer de l'efficacité de la stérilisation à l'aide d'indicateurs biologiques placés dans les flacons autoclavés. Des tests ont également été réalisés afin de s'assurer de l'absence d'influence de la vapeur et de la chaleur sur la fertilité

des milieux de culture. Les résultats de ces tests ont été satisfaisants. De plus, nous avons harmonisé les cycles qui existaient auparavant.

Les protocoles ont donc été rédigés à l'aide d'un échange constant entre Validapro et Pfizer. Ils ont été reçus par courrier en attente d'approbation interne.

La page de garde reprend les éléments de la page de garde de la QI, seuls le numéro, le titre (PLAN DE QUALIFICATION DE L'AUTOCLAVE LAGARDE PH 46), le motif de qualification (Une Qualification Opérationnelle rétrospective de l'autoclave LAGARDE PH 46 n° 558 est nécessaire afin de s'assurer de son bon fonctionnement ) diffèrent.

Puis les éléments suivants ont été listés :

- objectif du protocole : Le but de cette Qualification Opérationnelle est de vérifier que l'autoclave LAGARDE PH 46 n° 558 fonctionne selon les spécifications pré-établies du fabricant et les procédures qualité internes de Pfizer Global Manufacturing Amboise.
- Responsabilités : rédaction du protocole : Société Validapro et service SCQ de Pfizer Amboise, approbation du protocole : Services SCQ, AQS et MEAI de Pfizer Amboise, exécution du protocole : société Validapro et les services SCQ, AQS et MEAI de Pfizer Amboise.
- Déroulement de la qualification (avant exécution) :

Le protocole de Qualification Opérationnelle est conçu pour permettre une analyse technique de toutes les fonctions applicables liées à l'utilisation qui est faite de l'équipement.

Voici le tableau récapitulant les tests exécutés lors de la qualification opérationnelle :

FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
<u>Vérification de l'étalonnage</u> : Vérifier que les instruments critiques sont étalonnés, que l'étalonnage est valide et que les PV de calibration sont disponibles.	Voir fiche Test n° 1	Les instruments critiques sont étalonnés, les étalonnages sont valides et les PV de calibration sont disponibles dans la fiche Test n° 1.
<u>Vérification du système de</u>	Voir fiche Test n° 2	Le système de sécurité d'accès

<u>sécurité d'accès :</u> Vérifier le fonctionnement correct de la combinaison utilisateur/mot de passe pour les niveaux d'accès opérateur et agent de maintenance.		fonctionne selon les spécifications pré-établies décrites dans la fiche Test n° 2.
<u>Vérification de la navigation des vues du système de supervision Allen Bradley :</u> Vérifier la navigation correcte dans les vues du système de supervision Allen Bradley	Voir fiche Test n° 3	La navigation dans les vues du système de supervision Allen Bradley se fait selon les spécifications pré-établies décrites dans la fiche Test n° 3.
<b>FONCTION</b>	<b>METHODE/TEST</b>	<b>RESULTATS ATTENDUS</b>
<u>Vérification des entrées et sorties de l'automate Allen Bradley :</u> Vérifier que les entrées et sorties de l'automate correspondent aux adresses programmées telles que décrites dans le classeur du service Maintenance.	Voir fiche Test n° 4	Les entrées et sorties de l'automate Allen Bradley SLC 5/03 correspondent à la programmation décrite dans la fiche Test n° 4.
<u>Vérification des alarmes :</u> Vérifier que les alarmes programmées dans l'automate sont générées après simulation.	Voir fiche Test n° 5	Chacune des alarmes est générée après simulation comme décrit dans la fiche Test n° 5.
<u>Test de coupure d'alimentation électrique :</u> Vérifier le fonctionnement de l'automate et du système de supervision lors d'une coupure d'alimentation électrique.	Voir fiche Test n° 6	Le système de supervision fonctionne selon les spécifications pré-établies lors d'une coupure d'alimentation électrique comme décrit dans la fiche Test n°6.
<u>Vérification du déroulement et de la composition des cycles</u> Vérifier l'enchaînement correct des différentes phases et les paramètres des cycles couverts par ce protocole.	Voir fiche Test n° 7	La programmation des paramètres et la séquence de chacun des cycles couverts par ce protocole (n° 2, 3, 6, 9 et 10) sont conformes aux spécifications pré-établies et décrites dans la fiche Test n° 7.
<u>Vérification de l'impression des rapports des cycles :</u> Vérifier que l'information imprimée sur les rapports est exacte.	Voir fiche Test n° 8	Les informations éditées sur les rapports de stérilisation sont exactes, selon les spécifications décrites dans la fiche Test n° 8.

<p><u>Vérification de la sauvegarde manuelle :</u> Vérifier que la sauvegarde manuelle restaure l'application correctement et sans altérer son fonctionnement.</p>	<p>Voir fiche Test n° 9</p>	<p>L'information contenue dans l'application du répertoire Lagarde de l'ordinateur du système de supervision de l'autoclave est intacte et non corrompue lors d'une sauvegarde et d'un recouvrement (restore), tels que décrits dans la fiche Test n° 9.</p> <p>La navigation dans les vues du système de supervision Allen Bradley, utilisant la copie restaurée de l'application qui provient de la disquette de sauvegarde, se fait selon les résultats attendus spécifiés dans la fiche test n° 3.</p>
<p><u>Test d'étanchéité :</u> Vérifier l'étanchéité de l'autoclave.</p>	<p>Voir fiche Test n° 10</p>	<p>Le cycle test n°1 tire le vide à <math>-0,8.10^5</math> Pa et le maintient pour 15 minutes. La pression ne doit pas varier de plus de 8 mPa par minute et ce pour trois jours consécutifs à raison d'un cycle par jour.</p>
FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
<p><u>Vérification de la durée des phases de stérilisation :</u> Vérifier que la durée de la phase de stérilisation des cycles n° 2 et 6 (worst-case) est conforme à la durée programmée.</p>	<p>Voir fiche Test n° 11</p>	<p>Pour trois cycles consécutifs :</p> <p>La durée de la phase de stérilisation du cycle n° 2 est 15 minutes <math>\pm</math> 30 secondes à <math>121 \pm 1^\circ\text{C}</math>.</p> <p>La durée de la phase de stérilisation du cycle n° 6 est 120 minutes <math>\pm</math> 30 secondes à <math>121 \pm 1^\circ\text{C}</math>.</p>
<p><u>Étude de la distribution de la température de l'enceinte vide :</u> Vérifier que l'autoclave est capable de maintenir une température constante et uniforme dans l'enceinte vide</p>	<p>Voir fiche Test n° 12</p>	<p>Pour les cycles sélectionnés n° 2 et 6 : la température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à <math>121^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de <math>\pm 1^\circ\text{C}</math> de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La différence entre la température minimale et maximale enregistrée pour chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder <math>2^\circ\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</p>

La réalisation de cette qualification opérationnelle peut être illustrée par l'exécution de la fiche-test 12. Elle permet de mettre en évidence l'homogénéité de température dans l'enceinte vide. Ces températures seront mesurées à l'aide de thermocouples placés dans la chambre. Le nombre minimum de thermocouples à utiliser varie en fonction de la taille de l'autoclave, et est fixé par des normes (par exemple, la norme EN 554 préconise d'en disposer 12 par m<sup>3</sup>). Cependant, leur disposition n'est décrite dans aucun texte réglementaire. On s'appuie alors sur des publications de spécialistes, ou sur l'expérience de Validapro.

Les thermocouples sont reliés à une centrale d'acquisition qui permet l'enregistrement des températures, et leur envoi sur un PC.

La fiche-test 12 est présentée ci-dessous :

#### FICHE TEST N° 12

**INTITULE DU TEST :** Etude de la distribution de la température de l'enceinte vide

**- OBJECTIF DU TEST :** Vérifier que l'autoclave est capable de maintenir une température constante et uniforme dans l'enceinte vide.

**- RESULTATS ATTENDUS :**

Pour les cycles sélectionnés (cycles n° 2 et 6), les résultats attendus sont les suivants :

1. La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient de 1 L rempli d'eau, doit être maintenue à 121°C ± 1°C lors de la phase de stérilisation.
2. La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de ± 1°C de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.
3. La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder 2°C lors de la phase de stérilisation.
4. Au moins 13 des 14 thermocouples restent fonctionnels et dans les spécifications d'étalonnage.

Note : Un temps de stabilisation de 5 minutes au début de la phase de stérilisation est alloué.

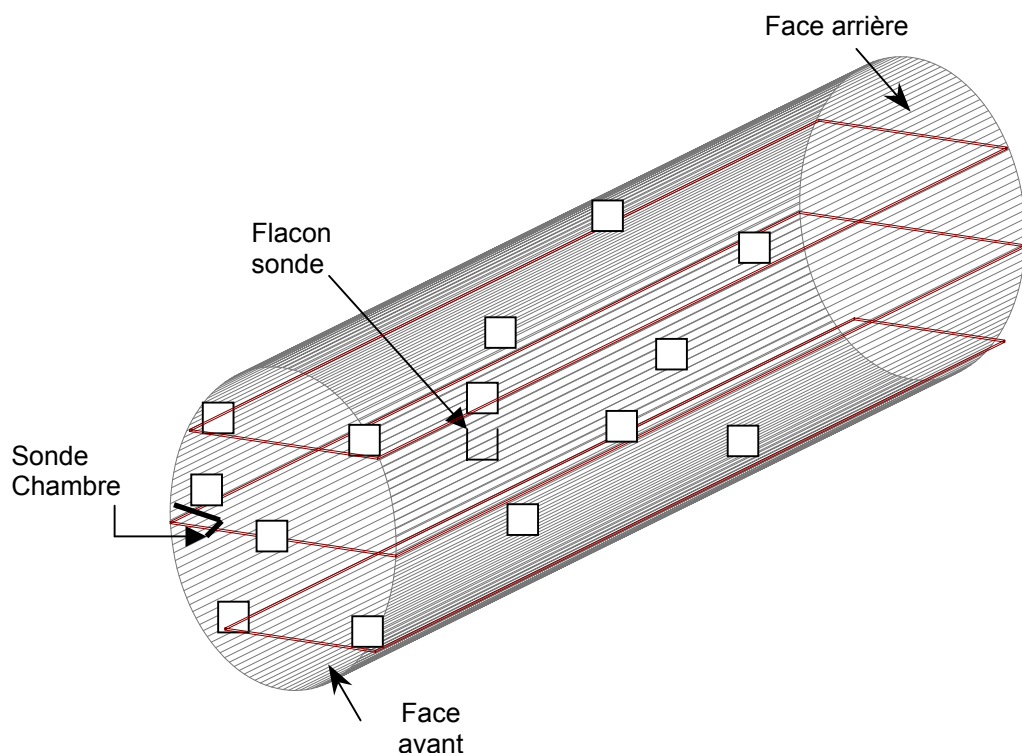
**- MODE OPERATOIRE :**

- a. Installer les thermocouples dans l'enceinte vide de l'autoclave (sur les clayettes) tel que décrit sur le diagramme de l'annexe 2 ci-jointe intitulé Diagramme 1 – Position des thermocouples dans l'enceinte vide de l'autoclave.
- b. Programmer le Kaye Validator pour l'enregistrement des lectures à des intervalles d'une minute.
- c. Initier en simultané le cycle de stérilisation n° 2 et le Kaye Validator.
- d. Générer le rapport de l'autoclave et du Kaye Validator et les joindre à cette fiche test.
- e. Répéter à deux reprises les étapes b à d.
- f. Répéter les étapes a à e pour le cycle de stérilisation n° 6.

- g. Compiler et analyser l'ensemble des résultats obtenus pour chacun des cycles et les joindre à la présente fiche test.
- h. Joindre le certificat d'étalonnage de la centrale Kaye à cette fiche test.

Les cycles qui ont été testés sont les cycles 2 et 6 . En effet, ils représentent les extrémités d'incrémentations de température lors de la phase de chauffage ( $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$  pour le cycle 2 et  $8^{\circ}\text{C}/\text{min}$  pour le cycle 6), et de longueur de plateau à  $121^{\circ}\text{C}$  (15 minutes pour le cycle 2 et 120 pour le cycle 6). C'est le principe du Bracketing.

La centrale d'acquisition utilisée est de marque Kaye, et le logiciel, également fourni par Kaye, est agréé par la Food and Drug Administration conformément aux exigences du Code of Federal Regulation 21 part 11 concernant la sécurité des données informatiques. Il a été décidé d'utiliser quatorze thermocouples.



**Figure 15 :schéma de disposition des thermocouples**

## Localisation des thermocouples

TC \_\_\_\_ = A côté de la sonde chambre  
TC \_\_\_\_ = A côté de la sonde produit  
TC \_\_\_\_ = Porte en haut à gauche  
TC \_\_\_\_ = Porte en haut à droite  
TC \_\_\_\_ = Porte en bas à gauche  
TC \_\_\_\_ = Porte en bas à droite  
TC \_\_\_\_ = Porte au centre

TC \_\_\_\_ = Arrière en haut à gauche  
TC \_\_\_\_ = Arrière en haut à droite  
TC \_\_\_\_ = Arrière en bas à gauche  
TC \_\_\_\_ = Arrière en bas à droite  
TC \_\_\_\_ = Arrière au centre  
TC \_\_\_\_ = Au centre en bas de l'enceinte  
TC \_\_\_\_ = Au centre en haut de l'enceinte

Chaque thermocouple est identifié par un numéro qui est renseigné lors de l'exécution du protocole, sur la version sur papier jaune. Les résultats sont édités sous forme de listing reprenant les températures enregistrées chaque minute par les quatorze thermocouples.

Les photos suivantes ont été prises lors de l'exécution du test :

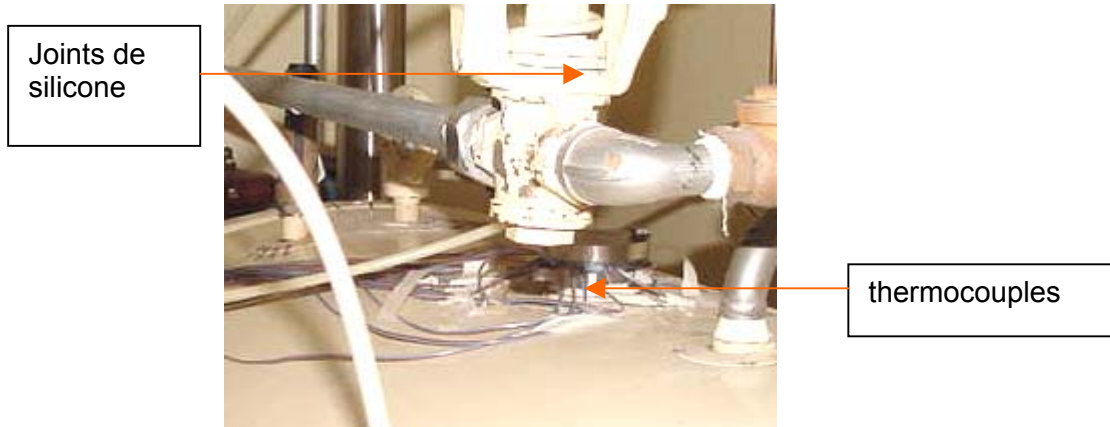


**Figure 16 : photographie de la centrale d'acquisition**

Une difficulté est de parvenir à faire passer les thermocouples dans l'autoclave tout en conservant une totale étanchéité de la chambre. Or, la chambre possède une ouverture située sur la partie supérieure et qui avait été demandée lors de la conception, dans

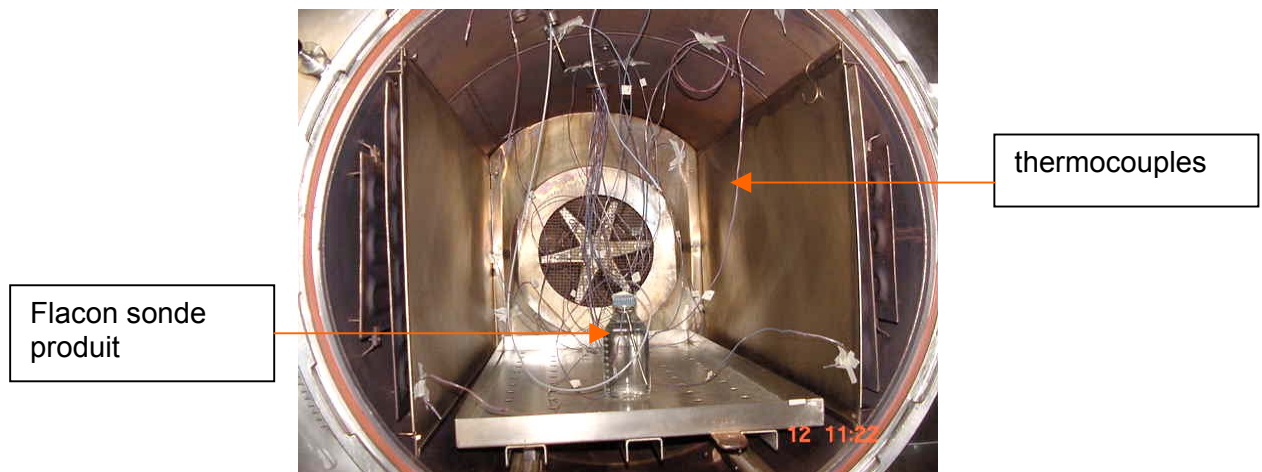


l'éventualité d'y adapter un système de refroidissement par « spray cooling ». Il a donc été décidé de les introduire dans la chambre via cette ouverture et à l'aide de joints de silicone :



**Figure 17 : photographie du passage des thermocouples dans l'enceinte**

Les thermocouples ont été disposés de la manière suivante :



**Figure 18 : photographie de la disposition des thermocouples dans la chambre**

### III-3-2 Rapport de qualification opérationnelle

Il comprend :

- La page de garde qui reprend le numéro du protocole de qualification opérationnelle, la date d'approbation, le nom de l'équipement concerné, le titre du

rapport : qualification opérationnelle rétrospective de l'autoclave Lagarde PH 46 n° 558 ; les conclusions du rapport : « les tests relatifs à la qualification opérationnelle de l'autoclave Lagarde ont été exécutés conformément aux exigences du protocole de qualification. Les résultats des tests sont conformes aux exigences requises à l'exception de déviations mineures qui ont fait l'objet d'actions immédiates. Les déviations étant clôturées, la qualification opérationnelle de l'autoclave Lagarde est donc close. », les conséquences : « la qualification opérationnelle de l'autoclave Lagarde est prononcée. Toute modification apportée aux fonctionnalités critiques de cet équipement impliquera la mise en application de la procédure change control du site PGM Amboise. »

➤ Le sommaire du rapport de qualification :

- Page de garde → fiche rapport de qualification
- Sommaire du rapport de qualification
- Chapitre 1 : Protocole vierge
- Chapitre 2 : Protocoles exécutés et annexes
- Annexe 1 : Curriculum Vitae des intervenants
- Annexe 2 : Rapport d'étalonnage des thermocouples
- Annexe 3 : Rapport de vérification des thermocouples
- Annexe 4 : Certification 21 CFR part 11 (Kaye)
- Annexe 5 : Protocole pour la vérification d'un chiffrier de calcul Excel
- Annexe 6 : Fiche-test 12 cycle 2 (Données brutes-Rapports d'autoclave-Données travaillées)
- Annexe 7 : Fiche-test 12 cycle 6 (Données brutes-Rapports d'autoclave-Données travaillées)
- Chapitre 3 : Résumé des résultats
- Chapitre 4 : Fiche de synthèse des déviations et Fiches de déviations.

➤ Puis est rappelé l'objectif de la qualification opérationnelle : Le but de cette Qualification Opérationnelle (QO) est de s'assurer que l'unité décrite fonctionne de façon correcte permettant d'effectuer toutes les opérations en lien avec son utilisation. Pour ce faire, des tests spécifiques sont conçus afin de vérifier que l'équipement fonctionne selon les spécifications ; l'approche adoptée lors de la réalisation pratique : « La qualification opérationnelle est l'établissement de preuves documentées que l'équipement fonctionne en accord avec les spécifications de conception et avec l'utilisation prévue ». Le protocole de QO est

conçu pour permettre une analyse technique de toutes les fonctions applicables liées à l'utilisation qui sera faite de l'équipement. Un fonctionnement acceptable est défini selon les caractéristiques suivantes:

- Séquence d'opération adéquate ;
- Fonctions de contrôle adéquates ;
- Opération adéquate des mécanismes de sécurité et des alarmes ;
- Distribution de la température dans l'enceinte vide adéquate, la température était enregistrée par des thermocouples pendant toutes les phases de stérilisation afin de s'assurer que la température est maintenue dans un intervalle acceptable et uniforme.

Enfin, est rappelé le résumé des résultats : Le protocole de qualification opérationnelle est un document intégrant les résultats réels ainsi que ceux attendus de l'opération, les méthodologies des tests et les données de vérification soutenant ce rapport. Le protocole de qualification opérationnelle est inclus dans le protocole vierge et dans le protocole exécuté.

Voici le tableau récapitulatif des fiches de déviation :

<b>Fiche de synthèse des déviations</b>
---

Item	Description	Référence	Constat	Date	Levé	Date
FD-01	Pour le test de distribution de la température - enceinte vide - (Fiche Test n° 12), pour le cycle n° 2, durant les 3 runs consécutifs, le thermocouple n° 8 a été placé avec la sonde produit dans une bouteille d'eau d'un litre. Ainsi pour les 3 runs consécutifs, des écarts par rapport aux résultats attendus ont été constatés.	Test N° 12	Non critique	26/09/2002	oui	18/10/2002

FD-02	Pour le test de distribution de la température - enceinte vide - (Fiche Test n° 12), pour le cycle n° 6, durant les 3 runs consécutifs, le thermocouple n° 1 a montré des signes de défektivité. En effet, les températures enregistrées ne sont pas constantes et des excursions de températures ont été remarquées lors des runs 1 et 3. On constate ainsi des passages de la température de 117°C à 124,9°C (en 1 minute).	Test N° 12	Non critique	26/09/2002	oui	18/10/2002
FD-03	Pour le test de distribution de la température - enceinte vide - (Fiche Test n° 12), pour le cycle n° 6, des déviations de températures ont été enregistrées.	Test N° 12	Non critique	26/09/2002	oui	30/10/2002
FD-04	Pour le test de distribution de la température - enceinte vide - (Fiche Test n° 12), pour le cycle n° 2, une déviation de température a été enregistrée.	Test N° 12	Non critique	26/09/2002	oui	30/10/2002

Voici pour exemple la fiche de déviation n° 1 :

<p><b>Déviatiion constatée :</b> pour le test de distribution de la température - enceinte vide - (Fiche Test n° 12), pour le cycle n° 2, durant les 3 runs consécutifs, le thermocouple n° 8 a été placé avec la sonde produit dans une bouteille d'eau d'un litre. Ainsi pour les 3 runs consécutifs, les écarts suivants par rapport aux résultats attendus ont été constatés :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- La température enregistrée par ce thermocouple n° 8 n'est pas maintenue dans une plage de <math>\pm 1^{\circ}\text{C}</math> de la température moyenne de chaque lecture (toutes les minutes) lors de la phase de stérilisation.</li> <li>- La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par ce thermocouple à chaque lecture excède <math>2^{\circ}\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</li> </ul> <p><b>Action corrective proposée :</b> le thermocouple n° 8 ayant été placé dans la bouteille d'eau d'un litre ne se trouve pas dans les mêmes conditions que les autres thermocouples, placés dans l'enceinte de l'autoclave (emplacement non défini comme tel dans le protocole). Du fait de son immersion dans un liquide, sa réaction aux variations de température est plus lente car son inertie est plus importante.</p>
--

L'objectif du test étant de vérifier que l'autoclave est capable de maintenir une température constante et uniforme dans l'enceinte vide; le thermocouple n° 8 est écarté de l'analyse des résultats des 3 cycles consécutifs car il n'est pas représentatif. Cette déviation n'a pas d'impact sur la qualification opérationnelle de l'autoclave.  
Pour la fin du test n° 12, le thermocouple n° 8 sera placé à côté de la sonde produit.

**Responsable concerné :** Estelle Towell (Validapro)

**Exécution :** Pour les 3 runs du cycle 6, le thermocouple n° 8 a été placé à coté de la sonde produit comme stipulé dans le protocole. L'ensemble des résultats obtenus par la suite pour le thermocouple n° 8 est conforme aux résultats attendus.

### III-4 Qualification de Performance (QP)

#### III-4-1 Protocole de qualification de performance

La qualification opérationnelle consiste à étudier les fonctionnalités de l'équipement de façon individuelle ; la qualification de performance les teste dans leur globalité. Elle fait intervenir des tests qualitatifs et quantitatifs de l'appareil dans sa configuration définitive en y intégrant son environnement.

Dans certains cas, la qualification de performance s'apparente à une validation, car elle fait souvent appel à l'utilisation de placebo.

La page de garde du protocole de qualification de performance est identique à celle du protocole de QO ; seul son numéro, son titre (« Qualification de Performance rétrospective de l'autoclave LAGARDE PH 46 N°558 »), et son motif (« Une Qualification rétrospective de Performance de l'autoclave LAGARDE PH 46 n° 558 est nécessaire afin de s'assurer de sa performance adéquate ») diffèrent.

Puis sont renseignés :

➤ L'objectif du protocole : Une Qualification de Performance de l'autoclave LAGARDE PH 46 n° 558 est nécessaire afin de :

- Démontrer que la température à l'intérieur de l'enceinte est maintenue dans une plage définie et est uniforme pendant la phase de stérilisation et ce, pour les deux cycles de stérilisation couverts par ce protocole (n° 2 et 3).

- Démontrer que les cycles de stérilisation permettent d'atteindre un Niveau d'Assurance de Stérilité minimal (*Sterility Assurance Level*) de  $1 \times 10^{-6}$  pour les cycles de stérilisation couverts par ce protocole (n° 2 et 3).
- Démontrer que les cycles de chauffage permettent une montée de température et une température homogène rencontrant les normes de la Pharmacopée Américaine USP 25 § 381 (cycle n° 6) et de la Pharmacopée Européenne PE 4<sup>ième</sup> édition 2002 § 3.2.1 et 3.2.9 (cycles n° 10 et 9 respectivement).
- S'assurer que les cycles de stérilisation et de chauffage sont reproductibles.

➤ Les responsabilités sont les même que celles du protocole de QO

➤ Produits/Placebo mis en oeuvre lors de l'exécution du protocole

Les charges utilisées lors de la Qualification de Performance correspondent aux charges maximales déterminées pour chaque type de contenant et de contenu.

Cycle n° 2 intitulé CONTENANT ETANCHE ET FLACON PERFUSION

Charge maximale A : 54 flacons de 1 L contenant 800 ml d'eau purifiée.

Charge maximale B : 12 flacons de 1 L contenant 600 ml de bouillon détergent.

20 flacons de 500 ml contenant 200 ml d'isopropyl myristate.

90 tubes à vis contenant de la gélose Viande/Foie à 6 %.

Cycle n° 3 intitulé MATERIEL ISOLATEUR ET PRELEVEMENT EAU

Charge maximale C : 3 paniers remplis de petit matériel

Charge maximale D : 54 flacons de prélèvement d'eau de 1 L contenant un fond d'eau purifiée.

Cycle n° 6 intitulé BOUCHONS 120 MN 121° C

Charge maximale E : 4 lots de 4 erlens de 500 ml. Chaque lot comprend 2 erlens avec 100 cm<sup>2</sup> de bouchons dans 200 ml d'eau purifiée et 2 erlens avec 200 ml d'eau purifiée (témoins).

Cycle n° 9 intitulé BOUCHONS

Charge maximale F : 4 lots de 4 erlens. Chaque lot comprend 1 erlen de 500 ml avec 100 cm<sup>2</sup> de bouchons dans 200 ml d'eau PPI, 1 erlen de 500 ml avec 200 ml d'eau PPI (témoin), 1 erlen de 100 ml avec  $20 \pm 2$  cm<sup>2</sup> de bouchons dans 50 ml d'une

solution d'acide citrique à 20 g/l et 1 erlen de 100 ml avec 50 ml d'une solution d'acide citrique à 20 g/l (témoin).

Remarque : Pour cette charge, l'eau PPI et l'acide citrique seront remplacés par de l'eau purifiée car aucune sonde n'est placée dans ces erlens et seule l'efficacité de l'homogénéité de température de l'enceinte est recherchée.

Cycle n° 10 intitulé FLACONS (AMPOULE)

Charge maximale G : 24 flacons de conditionnement de 500 ml contenant 450 ml d'eau purifiée.

➤ Déroulement de la qualification avant exécution

La Qualification de Performance est l'établissement de preuves documentées que l'équipement fonctionne dans sa globalité en accord avec les spécifications de conception dans sa configuration définitive et en intégrant son environnement. Elle est également basée sur les « Guidance for Industry » émis par la FDA.

Voici le tableau récapitulatif des tests réalisés lors de la qualification de performance :

FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
----------	--------------	--------------------

<p style="text-align: center;"><u>Étude de la distribution de température – conditions avec charge</u></p> <p>Démontrer que la distribution de température est uniforme dans l'enceinte de l'autoclave pour les cycles de stérilisation.</p>	<p style="text-align: center;">Voir fiche Test n° 1</p>	<p>La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à <math>121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de <math>\pm 1^{\circ}\text{C}</math> de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder <math>2^{\circ}\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</p> <p style="text-align: center;">Au moins 13 des 14 thermocouples demeurent fonctionnels et en état d'étalonnage.</p>
--	---	--



FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
<p style="text-align: center;"><u>Étude de la pénétration de chaleur avec indicateurs biologiques</u></p> <p>Démontrer la capacité des cycles de stérilisation à fournir un Niveau d'Assurance de Stérilité (NAS) minimum de <math>1 \times 10^{-6}</math> pour chacune des charges.</p>	<p style="text-align: center;">Voir fiche Test n° 2</p>	<p>Les indicateurs biologiques doivent présenter les caractéristiques suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Les témoins positifs montrent une prolifération bactérienne après l'incubation.</li> <li>-Les témoins négatifs ne montrent aucun changement de couleur après l'incubation.</li> <li>-Les indicateurs biologiques placés dans la charge doivent être stériles après le cycle de stérilisation</li> </ul> <p>La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à <math>121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de <math>\pm 1^{\circ}\text{C}</math> de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder <math>2^{\circ}\text{C}</math> lors de la phase de stérilisation.</p> <p>À la fin de la phase de stérilisation, la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, a atteint un minimum de <math>18 F_0</math> et <math>20 F_0</math> pour les charges des cycles n° 2 et 3 respectivement.</p> <p>À la fin de la phase de stérilisation, les thermocouples (fonctionnels) situés dans la charge ont atteint un minimum de <math>18 F_0</math> et <math>20 F_0</math> pour les charges des cycles n° 2 et 3 respectivement</p> <p>Au moins 13 des 14 thermocouples demeurent fonctionnels et en état d'étalonnage.</p>

FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
<p style="text-align: center;"><u>Étude de l'efficacité et de l'homogénéité de température des cycles de chauffage</u></p> <p>Démontrer que les cycles de chauffage sont capables d'augmenter et de maintenir de façon homogène la température tel que spécifié dans les Pharmacopées Américaine et Européenne.</p>	<p style="text-align: center;">Voir fiche Test n° 3</p>	<p>Pour le cycle n° 6, les résultats attendus sont les suivants :</p> <p>La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à 121°C ± 1°C lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de ± 1°C de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder 2°C lors de la phase de stérilisation.</p> <p>Au moins 13 des 14 thermocouples demeurent fonctionnels et en état d'étalonnage.</p> <p>Pour le cycle n° 9, les résultats attendus sont les suivants :</p> <p>La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à 121°C ± 1°C lors de la phase de stérilisation</p> <p>La montée de température jusqu'au point de consigne de 121°C se fait en 30 minutes ± 3 minutes</p> <p>La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de ± 1°C de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder 2°C lors de la phase de stérilisation.</p> <p>Au moins 13 des 14 thermocouples demeurent fonctionnels et en état d'étalonnage.</p>

FONCTION	METHODE/TEST	RESULTATS ATTENDUS
<p><u>Étude de l'efficacité et de l'homogénéité de température des cycles de chauffage (suite)</u></p>	<p>Fiche Test n° 3</p>	<p>Pour le cycle n° 10, les résultats attendus sont les suivants :</p> <p>La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à 121°C ± 1°C lors de la phase de stérilisation</p> <p>La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de ± 1°C de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.</p> <p>La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder 2°C lors de la phase de stérilisation.</p> <p>Au moins 13 des 14 thermocouples demeurent fonctionnels et en état d'étalonnage.</p>

Le premier test se rapproche de l'homogénéité de température de la chambre à vide effectuée lors de la qualification opérationnelle, car la disposition des thermocouples y est identique. La différence majeure est que la chambre y est en charge pleine. Ce test ne concerne que les cycles pour lesquels il est recherché une stérilisation (cycles 2 et 3).

Le deuxième test, que nous allons développer, consiste à tester la pénétration de la chaleur dans les charges ; ceci est réalisé à la fois à l'aide des thermocouples placés dans les flacons constituant la charge, et permettant le calcul du  $F_0$  et par l'utilisation d'indicateurs biologiques.

Enfin, le dernier test concerne les cycles pour lesquels sont recherchés une montée en température et un plateau à 121°C, selon les directives des Pharmacopées Européenne et Américaine.

Voici la fiche-test 2 concernant le test de pénétration de chaleur.

## FICHE TEST N° 2

### INTITULE DU TEST : Etude de la pénétration de chaleur avec indicateurs biologiques

#### -OBJECTIF DU TEST :

Démontrer la capacité des cycles de stérilisation à fournir un Niveau d'Assurance Stérilité (NAS) minimum de  $1 \times 10^{-6}$  pour chacune des charges

#### - RESULTATS ATTENDUS

1. Les indicateurs biologiques doivent présenter les caractéristiques suivantes :
  - Les témoins positifs montrent une prolifération bactérienne après l'incubation.
  - Les témoins négatifs ne montrent aucun changement de couleur après l'incubation.
  - les indicateurs biologiques placés dans la charge doivent être stériles après le cycle de stérilisation.
2. La température enregistrée par la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau, doit être maintenue à  $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  lors de la phase de stérilisation.
3. La température enregistrée par chaque thermocouple (fonctionnel) situé dans l'enceinte doit être maintenue à l'intérieur de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$  de la température moyenne de chaque intervalle d'une minute (lecture) lors de la phase de stérilisation.
4. La différence entre la température minimale et maximale enregistrée par chaque thermocouple à chaque intervalle d'une minute ne doit pas excéder  $2^{\circ}\text{C}$  lors de la phase de stérilisation.
5. À la fin de la phase de stérilisation, la sonde de température produit (T001/0558), placée à l'intérieur d'un récipient rempli de 1 L d'eau a atteint un minimum de  $18 F_0$  et  $20 F_0$  pour chacune des deux charges des cycles n° 2 et 3 respectivement.
6. À la fin de la phase de stérilisation, les thermocouples (fonctionnels) situés dans la charge ont atteint un minimum de  $18 F_0$  et  $20 F_0$  pour chacune des deux charges des cycles n° 2 et 3 respectivement.
7. Au moins 13 des 14 thermocouples demeurent fonctionnels et en état d'étalonnage.

Note : Une période de 5 minutes de stabilisation au début de la phase de stérilisation est autorisée.

#### -3- MODE OPERATOIRE

- a. Charger l'autoclave avec la charge maximale A du cycle n° 2 intitulé *Contenant étanche et flacon perfusion*.
- b. Installer les thermocouples dans l'enceinte et dans la charge ainsi que les indicateurs biologiques dans la charge tel que décrit sur le diagramme à l'annexe 5 intitulée *Contenant étanche et flacon perfusion charge maximale A*. Renseigner les numéros des thermocouples installés sur l'annexe 5.
- c. Programmer le Kaye Validator pour permettre l'enregistrement des lectures à des intervalles d'une minute.
- d. Initier en simultané le cycle de stérilisation n° 2 et le Kaye Validator.
- e. Relever la valeur  $F_0$  dans le superviseur à l'issue de la phase de stérilisation et renseigner l'annexe 9.

- f. Générer les rapports de l'autoclave et du Kaye Validator et les joindre à la fiche test.
- g. Récupérer les indicateurs biologiques et les envoyer au Service L.C.Q.P Injectables pour procéder à l'analyse selon les procédures en vigueur. Incuber également les témoins positifs et négatifs.
- h. Exécuter les étapes a à g à deux reprises.
- i. Charger l'autoclave avec la charge maximale B du cycle n° 2 intitulé *Contenant étanche et flacon perfusion*.
- j. Installer les thermocouples dans l'enceinte et dans la charge ainsi que les indicateurs biologiques dans la charge tel que décrit sur le diagramme de l'annexe 6 intitulée *Contenant étanche et flacon perfusion charge maximale B*. Renseigner les numéros des thermocouples installés sur l'annexe 6.
- k. Programmer le Kaye Validator pour permettre l'enregistrement des lectures à des intervalles d'une minute.
- l. Initier en simultané le cycle de stérilisation n° 2 et le Kaye Validator.
- m. Relever la valeur  $F_0$  dans le superviseur à l'issue de la phase de stérilisation et renseigner l'annexe 9.
- n. Générer les rapports de l'autoclave et du Kaye Validator et les joindre à la fiche test.
- o. Récupérer les indicateurs biologiques et les envoyer au Service L.C.Q.P Injectables pour procéder à l'analyse selon les procédures en vigueur. Incuber également les témoins positifs et négatifs.
- p. Exécuter les étapes i à o à deux reprises.
- q. Charger l'autoclave avec la charge maximale C du cycle n° 3 intitulé *Matériel isolateur et prélèvement eau*.
- r. Installer les thermocouples dans l'enceinte et dans la charge ainsi que les indicateurs biologiques dans la charge tel que décrit sur le diagramme de l'annexe 7 intitulée *Matériel isolateur et prélèvement eau charge maximale C*. Renseigner les numéros des thermocouples installés sur l'annexe 7.
- s. Programmer le Kaye Validator pour permettre l'enregistrement des lectures à des intervalles d'une minute.
- t. Initier en simultané le cycle de stérilisation n° 3 et le Kaye Validator.
- u. Relever la valeur  $F_0$  dans le superviseur à l'issue de la phase de stérilisation et renseigner l'annexe 9.
- v. Générer les rapports de l'autoclave et du Kaye Validator et les joindre à la fiche test.
- w. Récupérer les indicateurs biologiques et les envoyer au Service L.C.Q.P Injectables pour procéder à l'analyse selon les procédures en vigueur. Incuber également les témoins positifs et négatifs.
- x. Exécuter les étapes q à w à deux reprises.
- y. Charger l'autoclave avec la charge maximale D du cycle n° 3 intitulé *Matériel isolateur et prélèvement eau*.
- z. Installer les thermocouples dans l'enceinte et dans la charge ainsi que les indicateurs biologiques dans la charge tel que décrit sur le diagramme de l'annexe 8 intitulée *Matériel isolateur et prélèvement eau charge maximale D*. Renseigner les numéros des thermocouples installés sur l'annexe 8.
- aa. Programmer le Kaye Validator pour l'enregistrement des lectures à des intervalles d'une minute.
- bb. Initier en simultané le cycle de stérilisation n° 3 et le Kaye Validator.
- cc. Relever la valeur  $F_0$  dans le superviseur à l'issue de la phase de stérilisation et renseigner l'annexe 9.
- dd. Générer les rapports de l'autoclave et du Kaye Validator et les joindre à la fiche test.
- ee. Récupérer les indicateurs biologiques et les envoyer au Service L.C.Q.P Injectables pour procéder à l'analyse selon les procédures en place. Incuber également les témoins positifs et négatifs.

ff. Exécuter les étapes y à ee à deux reprises

gg. Les résultats seront compilés et analysés à l'aide d'une feuille de calcul Excel par Validapro. Ces résultats seront joints à cette fiche test.

hh. Les certificats d'analyses des indicateurs biologiques seront joints à la fiche test.

ii. Les résultats seront compilés et analysés à l'aide d'une feuille de calcul Excel par Validapro. Ces résultats seront joints à cette fiche test.

jj. Les certificats d'analyses des indicateurs biologiques seront joints à la fiche test.

Les valeurs que l'on se fixe pour les critères d'acceptation (par exemple 121 °C  $\pm$ 1°C), ont été choisies soit en fonction de l'historique de l'appareil, en fonction de normes internes (Pfizer Quality Standard ou PQS), ou en fonction de qualification déjà réalisée sur des autoclaves du site.

Deux indicateurs biologiques différents ont été utilisés en fonction du type de charge : l'un, utilisé dans les milieux liquides, est composé d'une suspension de spores de *Bacillus stearothermophilus* dans son milieu de culture ; le tout est présenté sous forme de petites ampoules : ce sont des Sterilamp® commercialisés par SGM Biotech. L'autre, utilisé dans les milieux secs, est composé des spores de la même espèce qui sont fixées sur un support solide et ne baignent pas dans le milieu de culture lors de l'exposition au cycle de stérilisation. Ce sont des Verify® commercialisées par Stéris. A chaque thermocouple placé dans un flacon sont associés deux indicateurs biologiques.

A l'issue du cycle, les Sterilamp sont incubés 48 heures à 55 °C avec un témoin positif et négatif; pour les Verify, avant d'être incubés dans les mêmes conditions, le disque sur lequel sont fixés les spores et le milieu de culture sont mis en contact.

Après 48 heures, les indicateurs sont inspectés à l'œil nu ; s'il y a une pousse bactérienne, le glucose contenu dans le milieu est consommé ; le pH est modifié donc l'indicateur coloré vire du mauve au jaune.

Les thermocouples ont été répartis dans la chambre et dans la charge de la manière suivante (l'exemple pris est celui de la charge maximale A, composée de flacons de perfusion contenant de l'eau purifiée.)

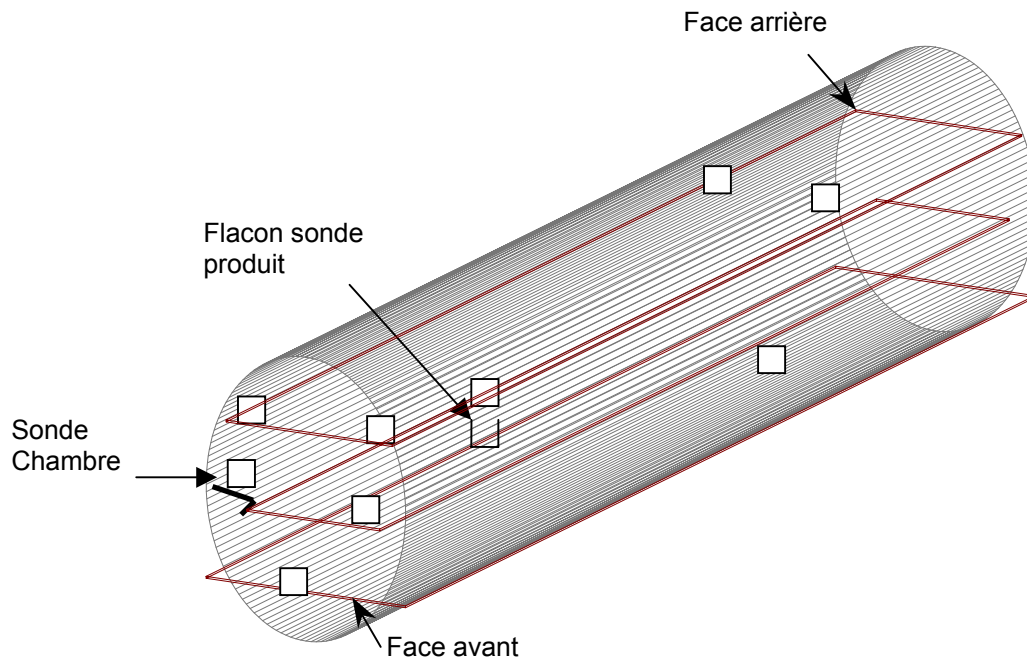
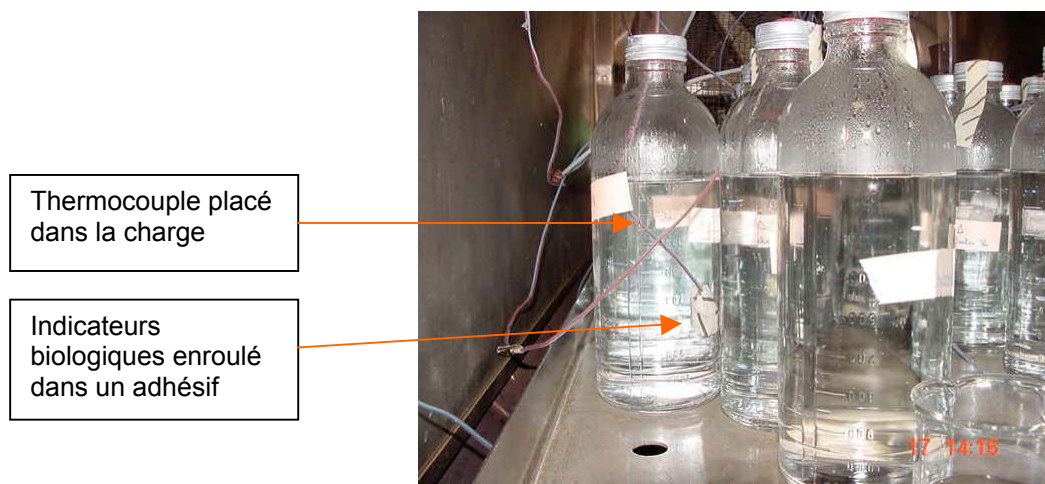
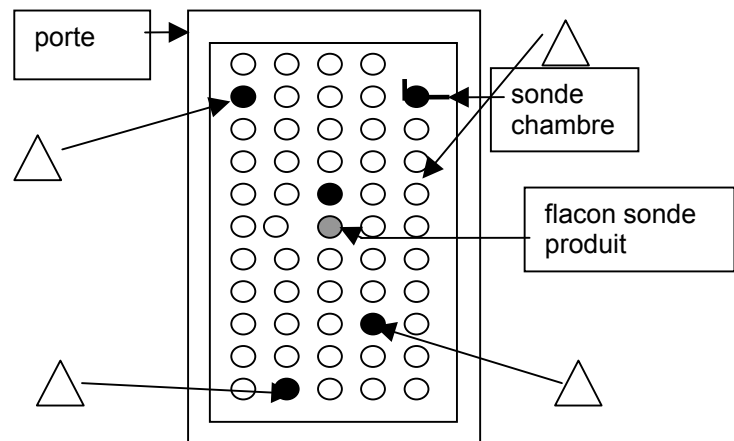


Figure 19 : schéma de la disposition des thermocouples

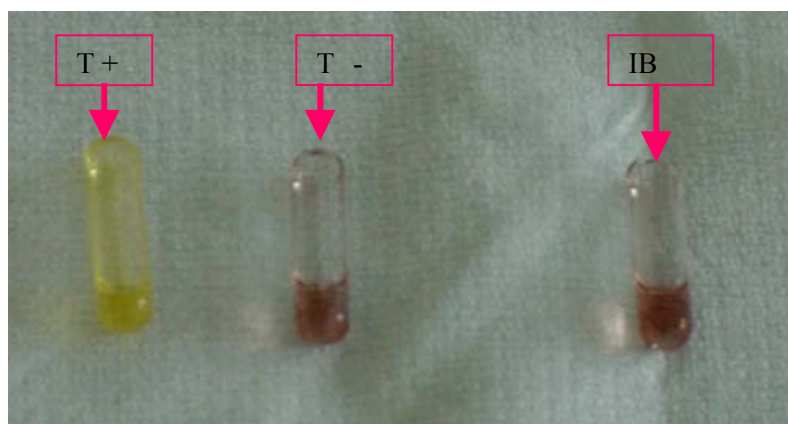
### Localisation des thermocouples

- TC= \_ A côté de la sonde chambre
- TC= \_ A côté de la sonde produit
- TC= \_ Arrière en haut à droite
- TC = \_ Arrière en haut à gauche
- TC = \_ Arrière en bas au centre
- TC= \_ Porte en haut à droite
- TC= \_ Porte en haut à gauche
- TC= \_ Porte en bas à droite
- TC = \_ Porte en bas à gauche
- TC= \_ Introduits dans la charge, i.e dans les flacons représentés par les disques noirs. La localisation de chacun des thermocouples et de la paire d'indicateurs biologiques s'y rattachant est représentée par le triangle

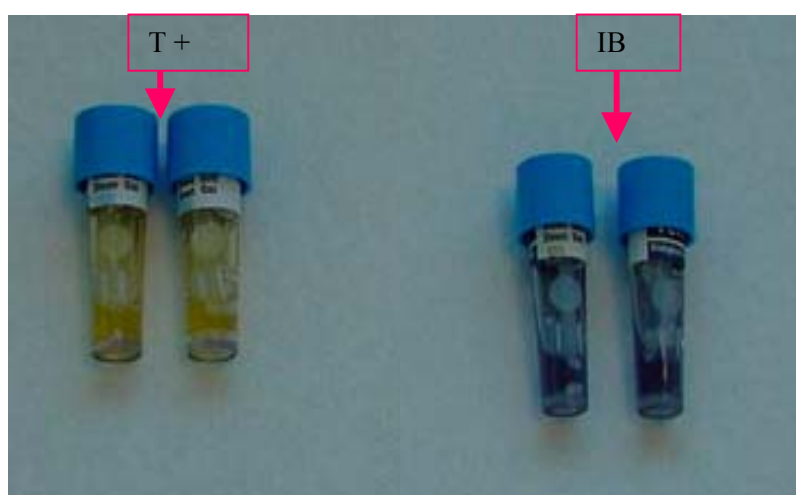


**Figure 20 : photographie de la charge soumise au test de pénétration de chaleur**

Exemples de résultats obtenus à l'issue de l'incubation des bio indicateurs :



**Figure 21 : Photographie des Sterilamp après incubation**



**Figure 22 : Photographie des Verify après incubation**

#### III-4-2 Rapport de qualification de performance

- A l'instar du rapport de qualification opérationnelle, la page de garde de ce rapport reprend le service concerné par la qualification, la date d'approbation du rapport, l'équipement concerné.... Le rapport décrit également les conclusions de cette qualification de performance : « Les tests relatifs à la qualification de performance de la stérilisation des charges A, B, C et D maximales (correspondant aux cycles 2 et 3) et des charges E, F et G maximales (correspondant aux cycle 6, 9 et 10) par l'autoclave Lagarde ont été exécutés conformément aux exigences du protocole de qualification. Les



résultats des tests sont conformes aux exigences requises, à l'exception de quelques déviations, qui ont fait l'objet d'actions immédiates. Les fiches de déviations étant clôturées, la qualification de performance de la stérilisation des charges A, B, C et D maximales (correspondant aux cycles 2 et 3), et des charges E, F, et G maximales (correspondant aux cycles 6,9 et 10) par l'autoclave Lagarde est donc close » ; et les conséquences de cette qualification «La qualification de performance de la stérilisation des charges A, B, C et D maximales (correspondant aux cycles 2 et 3) et des charges E, F et G maximales (correspondant aux cycle 6, 9 et 10) par l'autoclave Lagarde est prononcée. La stérilisation des charges est validée selon le cycle de stérilisation défini dans le protocole. Toute modification apportée aux paramètres critiques de cet équipement impliquera la mise en application de la procédure change control du site PGM Amboise. »

➤ Le sommaire du rapport de qualification :

- Page de garde → fiche rapport de qualification
- Chapitre 1 : protocole vierge
- Chapitre 2 : Protocole exécuté et annexes
- Annexe 1 : rapport d'étalonnage des thermocouples
- Annexe 2 : rapport de vérification des thermocouples
- Annexe 3 : Certification 21 CFR part 11
- Annexe 4 : protocole pour la vérification d'un chiffrier de calcul Excel
- Annexe 5 : Fiche-test 1 charges maximales A, B, C, D (Données brutes-rapports d'autoclave-Données travaillées)
- Annexe 6 : Fiche-test 2 charges maximales A, B, C, D (Certificats d'analyse de bioindicateurs- Données brutes- Rapport d'autoclave-Données travaillées)
- Annexe 7 : Fiche-test 3 charges maximales E, F, G (Données brutes-rapports d'autoclave-Données travaillées)
- Chapitre 3 : Résumé des résultats
- Chapitre 4 : Fiche de synthèse des déviations et fiches de déviations

Puis est rappelé l'objectif de la qualification de performance : Le but de la qualification de la performance (QP) de la stérilisation des charges A, B, C et D maximales (correspondant aux cycles 2 et 3) ainsi que des charge E, F et G maximales (correspondant aux cycles 6,9 et 10) avec l'autoclave Lagarde. PH 46 n° 558 est de :

- Démontrer que la température à l'intérieur de l'enceinte est maintenue dans un intervalle défini et qu'elle est uniforme pendant la phase de stérilisation (cycles 2 et 3 seulement);
- Démontrer que les cycles de stérilisation (cycles 2 et 3 seulement) permettent d'atteindre un Niveau d'Assurance de Stérilité minimum (Sterility Assurance Level) de  $1 \times 10^{-6}$ .
- Démontrer que les cycles de chauffage (cycles 6, 9 et 10) sont capables d'augmenter et de maintenir de façon homogène la température selon les spécifications des Pharmacopées Américaines et Européennes.

L'approche de la qualification a été la suivante : la qualification de performance est l'établissement de preuves documentées que l'équipement fonctionne en accord avec les spécifications de conception et avec l'usage prévu.

Une performance acceptable est définie sur la base des caractéristiques suivantes :

- Etude de la distribution de la température : la température a été enregistrée par 14 thermocouples (charge maximum) pendant les phases de stérilisation afin de s'assurer que la température était maintenue dans un intervalle acceptable.
- Vérification de l'efficacité du cycle de stérilisation dans les conditions « avec charge ». Le calcul du Niveau d'Assurance de Stérilité (NAS) fourni par le cycle de stérilisation était basé sur le minimum de  $F_0$  accumulé. Par exemple, avec un minimum de 20  $F_0$ , en supposant un micro-organisme avec une valeur D de 1 minute et une population de 1 000 000 ( $1 \times 10^6$ ) micro-organismes, 20 minutes de  $F_0$  fournissent  $1 \times 10^{-14}$  de NAS ( $6 \log - 20 \text{ minutes de } F_0 = -14 \log$ ). Pour confirmer l'efficacité de la stérilisation, des indicateurs biologiques (*Bacillus stearothermophilus*) ont été utilisés pendant l'étude de pénétration de chaleur.
- Etude de l'efficacité et de l'homogénéité de température des cycles de chauffage : la température a été enregistrée par 14 thermocouples (charge maximum) pendant les phases de chauffage afin de s'assurer que la température était maintenue dans un intervalle acceptable.

Enfin est rappelé le résumé des résultats : le protocole de Qualification de Performance est un document intégrant les résultats réels ainsi que ceux attendus de performance, les méthodologies des tests et les données de vérification soutenant ce rapport. Le protocole vierge de Qualification de Performance est inclus dans l'Annexe 2 (protocole vierge) et les résultats de qualification sont résumés dans le tableau ci-dessous. Pour plus de détails par rapport à l'exécution du protocole, se référer en Annexe 3 (protocole exécuté). S'assurer que les cycles de stérilisation et de chauffages sont reproductibles.

Voici le tableau récapitulatif des fiches de déviation :

**Fiche de synthèse des déviations -**

Item	Description	Référence	Constat	Date	Levé	Date
FD-01	Pour l'étude de la pénétration de chaleur (Fiche test n° 2), en fin de phase de stérilisation, la valeur de $F_0$ atteinte par la sonde produit immergée dans une bouteille de 1L d'eau purifiée n'a pas été relevée pour le run n° 3 (charge A maximale).	Fiche test n° 2	Non critique	26/09/2002	oui	26/09/2002
FD-02	Pour l'étude de la distribution de la température pour la charge A maximale (Fiche test n° 1), pour le 3 <sup>ème</sup> run, une mauvaise acquisition des données a été constatée lors de la phase de stérilisation. Lors de l'acquisition des données, le message suivant apparaissait : "Sensor Failure" pendant quelques dixième de seconde.  Ensuite, l'étude de pénétration de la chaleur (Fiche Test n° 2) a été lancée pour la charge A maximale, et pour les runs 1 et 2, ces mêmes problèmes sont survenus. Pour ces deux runs, le calcul du $F_0$ au niveau des thermocouples placés dans l'enceinte et dans la charge ne s'est pas réalisé.	Fiche test n° 1	Non critique	26/09/2002	oui	18/10/2002

Voici pour exemple la fiche de déviation n°2 :

**Déviati** **on constatée** : pour l'étude de la distribution de la température pour la charge A maximale (Fiche test n° 1), pour le 3<sup>ème</sup> run, une mauvaise acquisition des données a été constatée lors de la phase de stérilisation. Lors de l'acquisition des données, le message suivant apparaissait : "Sensor Failure" pendant quelques dixièmes de seconde.

Ensuite, l'étude de pénétration de la chaleur (Fiche Test n° 2) a été lancée pour la charge A maximale, et pour les runs 1 et 2, ces mêmes problèmes sont survenus. Pour ces deux runs, le calcul du F<sub>0</sub> au niveau des thermocouples placés dans l'enceinte et dans la charge ne s'est pas réalisé.

**Action corrective proposée** : après appel du fournisseur (Kaye), l'origine de cette erreur est des perturbations électriques. Pour remédier à ce problème, un électricien a relié la terre de la centrale d'acquisition Kaye à celle de l'autoclave, permettant ainsi de s'affranchir des différentiels de potentiels.

Pour le test 1, l'acquisition des températures s'est faite toutefois toutes les minutes et les valeurs enregistrées sont correctes. On considère donc ces résultats comme acceptables et conformes.

Pour le test 2, les 2 runs ont été relancés.

**Responsable concerné** : Estelle Towell (Validapro)

**Exécution** : après intervention de l'électricien, l'étude de pénétration de chaleur des runs 1 et 2 de la charge A maximale a été relancée le 19/09/02 (run 1 bis et 2 bis). Par la suite, ce problème a disparu. La liaison entre les terres est restée en place durant tous les tests de QP.

### III-5 Le protocole de qualification générique (PQG)

A la suite de la qualification d'un appareil, des tests sont réalisés à intervalles réguliers, afin de s'assurer que les résultats obtenus lors de la qualification restent toujours d'actualité. Ces tests sont décrits dans un protocole de qualification générique, ou PQG, et reprennent les essais réalisés lors de la qualification.

Ces PQG sont initiés par un représentant du service utilisateur, et approuvés en collaboration avec le service AQS. Ils sont caractérisés par un numéro d'indice placé en tête. Le plan type d'un PQG est le suivant :

- Une page de garde sur laquelle sont renseignés la date d'initialisation du protocole générique ; des renseignements concernant le service, l'équipement ; des informations relatives à l'exécution du PQG ; les motifs et la date d'approbation du PQG.

- Le corps du PQG est composé des fiches-tests du protocole de qualification de l'équipement qui sont exécutées lors des PQG. Ces tests sont réalisés par des représentants des services utilisateur et technique.
- Enfin, la dernière page du PQG constitue le rapport de qualification générique. Cette fiche établit la synthèse des opérations puis apporte les conclusions et les conséquences de la tests réalisés.

L'archivage de ces PQG est sous la responsabilité du service d'Assurance Qualité système.

Dans le cadre de la requalification périodique de l'autoclave Lagarde, il a été envisagé de rédiger deux types de PQG, en fonction de leur périodicité, et qui reprennent des tests réalisés lors de la qualification.

- En effet, des tests d'étanchéité de la chambre (fiche test n°10 du protocole de qualification opérationnelle) seront effectués tous les six mois.
- Annuellement seront vérifiés le bon fonctionnement des alarmes (fiche-test 5 du protocole de QO), la durée de la phase de stérilisation, (fiche-test 11 du QO), la distribution de la température à vide (fiche-test 12 du QO). Des tests de pénétration de chaleur (fiche-test 2 du protocole de qualification de performance) seront réalisés sur la charge A maximale (worst-case du cycle 2) et sur la charge B maximale (worst case du cycle 3). Enfin, l'homogénéité de température des cycles de chauffages (fiche-test 3 du protocole de QP) sera testée avec le cycle 6 (cycle le plus long).

#### IV- CONCLUSION

La qualification d'un autoclave de contrôle en milieu industriel est donc l'application pratique d'un ensemble de normes régissant la qualité dans le domaine pharmaceutique. Elle aboutit à la possibilité de la mise en routine de l'équipement en toute sécurité, mais elle ne permet pas de s'affranchir d'une étroite surveillance et d'un recontrôle régulier.

La qualification de l'autoclave Lagarde du laboratoire de contrôle a été prononcée par le service Assurance Qualité Systèmes environ un mois après l'intervention de la société Validapro sur le site, ceci respectant le calendrier fixé. Actuellement, cet autoclave fait l'objet

d'une requalification périodique gérée par l'assurance qualité en collaboration étroite avec le service exploitant.

Le but de ce travail était de montrer de façon théorique, puis d'illustrer par un exemple pratique, la qualification rétrospective d'un autoclave du laboratoire de contrôle en milieu industriel.

Ainsi, malgré son apparition depuis trois décennies, son déroulement n'a que peu varié : le groupe de travail élabore le cahier des charges, et supervise la rédaction du dossier final de qualification de l'autoclave qui regroupe toujours quatre éléments : les rapports de qualification de conception, d'installation, opérationnelle et de performance. Cependant, la qualification est un concept vivant, évolutif, et à la suite de l'approbation finale de mise en production l'appareil fait toujours l'objet de requalification périodique, ou de programme de maintenance.

Actuellement, malgré l'apparition de techniques de stérilisation plus modernes, la stérilisation par la vapeur d'eau reste la plus économique et la plus efficace des méthodes employées. De plus, la stérilisation, en dépit des nombreuses recherches dont elle a fait l'objet, est un procédé tellement critique qu'elle justifie tous les efforts fournis pour la qualification d'un autoclave. Parallèlement, la législation en matière d'assurance qualité ne cesse de se renforcer. Les procédures de qualification d'autoclave vont donc encore être nombreuses dans les prochaines années.

# ANNEXE 1

Exemple de rapport d'autoclave



AUTOCLAVE LAGARDE

RAPPORT

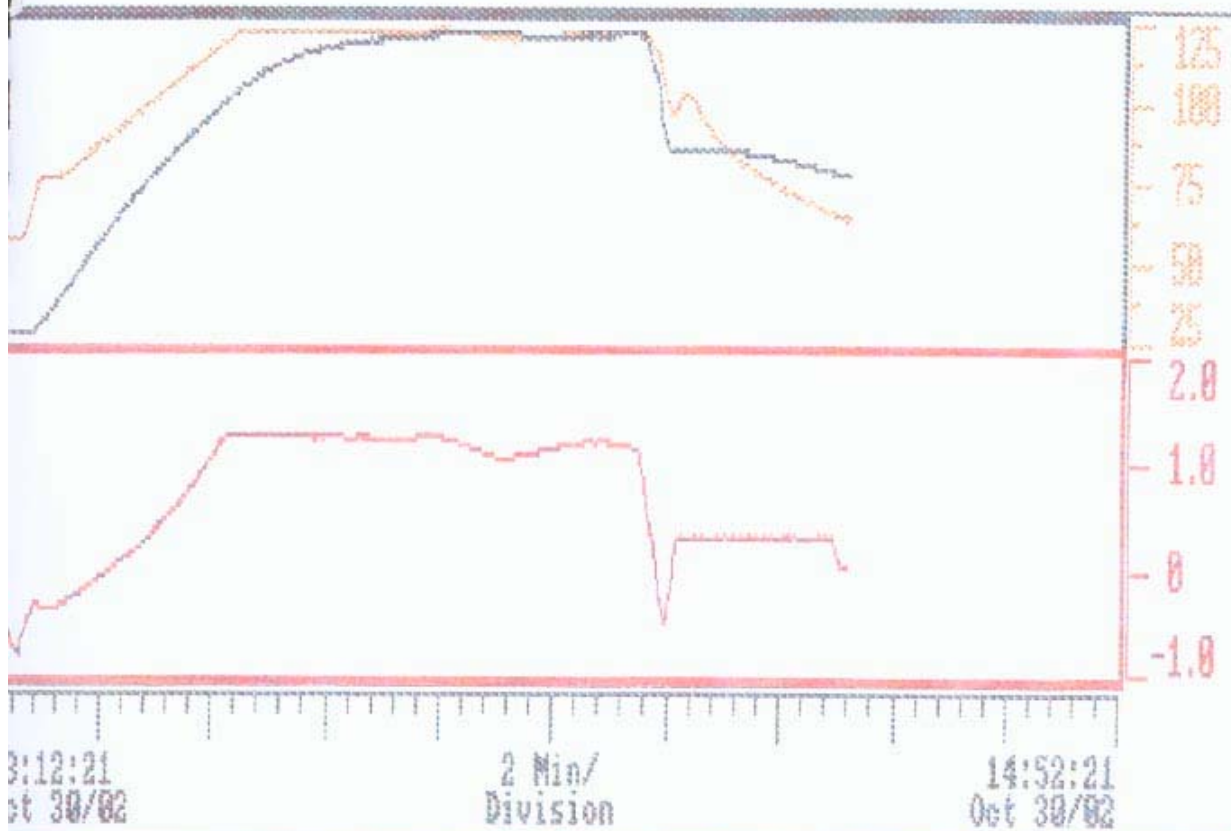
OPERATEUR: dj

CYCLE: 3 20 mn A 121 deg

PRODUIT:  
materiel de bulle

MATERIEL ISOLATEUR ET PRELEVEMENT EAU  
flacons prelevement

FB: 24.794



TEMPERATURE AUTOCLAVE  
TEMPERATURE PRODUIT  
PRESSION AUTOCLAVE

LOT N° \_\_\_\_\_

30 / 10 / 02

1: 1

30 10 2002 - 14:28:36

30/10/2002	13:12:17	CYCLE.NOM	"MATERIEL ISOLATEUR ET PRELEVEMENT E
30/10/2002	13:12:17	CYCLE.NUM	3
30/10/2002	13:12:17	NOM_OP	"ci"
30/10/2002	13:12:17	NOM_PROD	"materiel de bulle
		flacons prelevement"	
30/10/2002	13:12:17	STERIL.TEMP.DUREE	20
30/10/2002	13:12:18	STERIL.CONSIGNE	121
30/10/2002	13:12:22	CYCLE.PHASE	"Depart cycle"
30/10/2002	13:12:24	CYCLE.PHASE	"Vide"
30/10/2002	13:12:38	DEBUT.VIDE.TMP_AUTO	56.831
30/10/2002	13:12:38	DEBUT.VIDE.TMP_PROD	28.0951
30/10/2002	13:12:38	VIDE.PRESSION	-0.13563
30/10/2002	13:12:59	VIDE.PRESSION	-0.28813
30/10/2002	13:13:20	VIDE.PRESSION	-0.425685
30/10/2002	13:13:37	VIDE.PRESSION	-0.53579
30/10/2002	13:13:57	VIDE.PRESSION	-0.625155
30/10/2002	13:14:18	VIDE.PRESSION	-0.695915
30/10/2002	13:14:39	VIDE.PRESSION	-0.75051
30/10/2002	13:15:00	VIDE.PRESSION	-0.79321
30/10/2002	13:15:01	CYCLE.PHASE	"Prechauffage"
30/10/2002	13:15:01	DEBUT.PRECH.PRESSION	-0.798395
30/10/2002	13:15:01	DEBUT.PRECH.TMP_AUTO	57.8724
30/10/2002	13:15:01	DEBUT.PRECH.TMP_PROD	28.0264
30/10/2002	13:16:25	CYCLE.PHASE	"Chauffage"
30/10/2002	13:16:25	DEBUT.CHAUF.PRESSION	-0.301245
30/10/2002	13:16:25	DEBUT.CHAUF.TMP_AUTO	71.239
30/10/2002	13:16:25	DEBUT.CHAUF.TMP_PROD	28.9877
30/10/2002	13:49:45	ALARME.STE_EXCES	0
30/10/2002	13:49:45	ALARME.STE_SUSP	0
30/10/2002	13:49:46	CYCLE.PHASE	"Sterilisation"
30/10/2002	13:49:46	DEBUT.STE.TMP_AUTO	121.65
30/10/2002	13:49:46	STERIL.PRESSION	1.20789
30/10/2002	13:49:46	STERIL.TEMP.PROD	120.025
30/10/2002	13:50:47	STERIL.PRESSION	1.23168
30/10/2002	13:50:47	STERIL.TEMP.PROD	120.471
30/10/2002	13:51:45	STERIL.TEMP.PROD	120.643
30/10/2002	13:52:47	STERIL.PRESSION	1.21094
30/10/2002	13:52:47	STERIL.TEMP.PROD	120.792
30/10/2002	13:53:45	STERIL.PRESSION	1.1777
30/10/2002	13:53:45	STERIL.TEMP.PROD	120.952
30/10/2002	13:54:48	STERIL.PRESSION	1.13866
30/10/2002	13:54:48	STERIL.TEMP.PROD	121.089
30/10/2002	13:55:46	STERIL.PRESSION	1.0987
30/10/2002	13:55:46	STERIL.TEMP.PROD	121.055
30/10/2002	13:56:48	STERIL.PRESSION	1.05783
30/10/2002	13:56:48	STERIL.TEMP.PROD	120.997
30/10/2002	13:57:46	STERIL.PRESSION	1.0374
30/10/2002	13:57:46	STERIL.TEMP.PROD	120.78
30/10/2002	13:58:48	STERIL.PRESSION	1.04258
30/10/2002	13:58:48	STERIL.TEMP.PROD	120.654
30/10/2002	13:59:45	STERIL.PRESSION	1.05783
30/10/2002	13:59:45	STERIL.TEMP.PROD	120.563
30/10/2002	14:00:48	STERIL.PRESSION	1.08101
30/10/2002	14:00:48	STERIL.TEMP.PROD	120.494
30/10/2002	14:01:46	STERIL.PRESSION	1.1048
30/10/2002	14:01:46	STERIL.TEMP.PROD	120.46
30/10/2002	14:02:44	STERIL.PRESSION	1.12981
30/10/2002	14:02:44	STERIL.TEMP.PROD	120.608
30/10/2002	14:03:46	STERIL.PRESSION	1.15421
30/10/2002	14:03:46	STERIL.TEMP.PROD	120.551
30/10/2002	14:04:44	STERIL.PRESSION	1.17221
30/10/2002	14:04:44	STERIL.TEMP.PROD	120.477

30/10/2002	14:05:46	STERIL.PRESSION	1.17495
30/10/2002	14:05:46	STERIL.TEMP.PROD	120.723
30/10/2002	14:06:45	STERIL.PRESSION	1.18197
30/10/2002	14:06:45	STERIL.TEMP.PROD	120.7
30/10/2002	14:07:47	STERIL.PRESSION	1.16916
30/10/2002	14:07:47	STERIL.TEMP.PROD	120.746
30/10/2002	14:08:45	STERIL.PRESSION	1.14293
30/10/2002	14:08:45	STERIL.TEMP.PROD	120.814
30/10/2002	14:09:44	CYCLE.PHASE	"Sechage"
30/10/2002	14:09:47	DEBUT.SECH.PRESSION	1.11304
30/10/2002	14:09:47	DEBUT.SECH.TMP_AUTO	121.146
30/10/2002	14:09:47	DEBUT.SECH.TMP_PROD	120.883
30/10/2002	14:12:48	SECHAGE.PRESS.MINIE	-0.500105
30/10/2002	14:27:29	CYCLE.PHASE	"cycle termine"
30/10/2002	14:27:30	STERIL.FOTOTAL	24.7945
30/10/2002	14:27:30	STERIL.TEMP.MAXI	121.329
30/10/2002	14:27:30	STERIL.TEMP.MINI	120.025

## ANNEXE 2

Spécification des cycles de l'autoclave Lagarde

## AUTOCLAVE LAGARDE CONFIGURATION DES CYCLES

Mise à jour après les modifications qui ont eu lieu du 18 au 21/03/02

CYCLES		VIDE	PRECHAUFFAGE		STERILISATION			SECHAGE	REFROIDISSEMENT	CASSE
N°	Intitulés	Seuil en Pa	Type	T°C	Incrément	T°C	Durée	Décrément Pa/min	PRESSION	
2	Contenant étanche et flacon perfusion	-0,8.10 <sup>5</sup>	vapeur directe	70°C	3°C /min	121 °C	15 min	0	0,1 .10 <sup>5</sup>	1
3	Matériel isolateur et prélèvement eau	-0,8.10 <sup>5</sup>	vapeur directe	70°C	3°C /min	121°C	20 min	1	0,1 .10 <sup>5</sup>	1
4	Destruction Dectomax	-0,8.10 <sup>5</sup>	vapeur directe	70°C	8°C /min	121°C	30 min	0	0,1 .10 <sup>5</sup>	1
6	bouchons 120 mn 121 °C	-0,8.10 <sup>5</sup>	vapeur directe	70°C	8°C /min	121°C	120 min	0	0,1 .10 <sup>5</sup>	1
9	bouchons	-0,8.10 <sup>5</sup>	vapeur directe	70°C	8°C /min	121°C	30 min	0	0,1 .10 <sup>5</sup>	1
10	flacons (ampoule)	-0,8.10 <sup>5</sup>	vapeur directe	70°C	8°C /min	121°C	60 min	0	0,1 .10 <sup>5</sup>	1

- Notes :
- 0: la fonction n'est pas activée
  - 1: la fonction est activée
  - les cycles 1,5,7 et 8 sont désactivés
  - cycles "biologie" : cycles 2 et 3 où une stérilisation est demandée
  - cycles "chimie" : cycles 6, 9 et 10 où une montée en température est demandée
  - cycle 4 à part :destruction chimique de traces Dectomax sur verrerie qui a été en contact avec ce produit

## ANNEXE 3

Matrice vierge de protocole de qualification



## PROTOCOLE DE QUALIFICATION D'EQUIPEMENT

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

SERVICE	
Domaine	
Date :	<u>Equipement concerné :</u>
Numéro Protocole :	
N° version :	

**TITRE :**

- Nouvel équipement
- Modification de l'équipement existant
- Requalification de l'équipement existant
- Autre

Type de protocole :

Spécifique  Générique

Lieu d'archivage de l'original : ASSURANCE QUALITE

Groupe de Travail :

Responsable :	Service Assurance Qualité :
Service Utilisateur :	Service Laboratoire :
Service Technique :	Service Instrumentation :

MOTIF DU PROTOCOLE DE QUALIFICATION

PROTOCOLE :

PREPARE PAR :	AUTORISE PAR :	AUTORISE PAR :

PROCOLE N°

- EQUIPEMENT :

-1- OBJECTIF DU PROCOLE

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

-2- RESPONSABILITES

REDACTION DU PROCOLE :

APPROBATION DU PROCOLE :

EXECUTION DU PROCOLE :

-3- PRODUITS/PLACEBO MIS EN OEUVRE LORS DE L'EXECUTION DU PROCOLE

-4- DEROULEMENT DE LA QUALIFICATION (AVANT EXECUTION)

-4- DEROULEMENT DE LA QUALIFICATION (APRES EXECUTION)

(\*) Indiquer N.A (non applicable) si nécessaire



QUALIFICATION D'EQUIPEMENT

<u>Préparé par :</u>	<u>Atelier :</u>	<u>Emis le :</u>	<u>Equipement :</u>
<u>N° Protocole :</u>			
<u>N° Version :</u>			
<u>FONCTION</u>	<u>METHODE/TEST</u>	<u>RESPONSABILITE</u>	<u>RESULTATS ATTENDUS</u>
			<u>RESULTATS REELS</u> (Non conforme - Conforme)

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

réf. : 3.Q.10.0003

INDICE : 1

EMISE LE : 14 Janvier 1999

ANNEXE 1 - Page 4/4



MANUFACTURING  
Amboise France

FICHE TEST N°

Protocole n°

INTITULE DU TEST

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

-1- OBJECTIF DU TEST

-2- RESULTATS ATTENDUS

-3- MODE OPERATOIRE

-4- RESULTATS OBTENUS

-5- CONFORMITE OUI  - NON

-6- REMARQUES / COMMENTAIRES

TEST

EXECUTE PAR  
(Nom / Date / Visa)

APPROUVE PAR  
(Nom / Date / Visa)

## ANNEXE 4

Matrice vierge de rapport de qualification



MANUFACTURING  
Amboise France

## RAPPORT DE QUALIFICATION

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

SERVICE	
Domaine	
Date :	<u>Equipement concerné :</u>
Numéro Rapport	
N° version :	

### TITRE :

- Nouvel équipement
- Modification de l'équipement existant
- Requalification de l'équipement existant
- Autre

LIEU D'ARCHIVAGE DE L'ORIGINAL : ASSURANCE QUALITE

### CONCLUSIONS

### CONSEQUENCES

### RAPPORT :

PREPARE PAR :	AUTORISE PAR :	AUTORISE PAR :

FD n°	FICHE DE DEVIATION	Protocole n°
-------	--------------------	--------------

<u>Déviati</u> constatée :	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> COPIE NON CONTRÔLÉE  (Pour info seulement) </div>
Nom/Date/Visa	

<u>Action corrective proposée :</u>	
<u>Responsable concerné :</u>	
Nom/Date/Visa	
Approuvée par	
Représentant Assurance Qualité	Représentant Utilisateur

<u>Exécution :</u>	
Nom/Date/Visa	
Approuvée par	
Représentant Assurance Qualité	Représentant Utilisateur


### Fiche de synthèse des déviations - Protocole n°

Item	Description	Référence	Constat	Date	Levé	Date

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

## ANNEXE 5

Matrice vierge d'Analyse de Criticité/ Plan de Qualification

 <b>MANUFACTURING</b> Amboise France		<u>ANALYSE DE CRITICITE</u> <u>PLAN DE QUALIFICATION</u>	
		COPIE NON CONTRA (Pour info seulement)	
SERVICE			
Domaine			
Date :		<u>Equipement concerné :</u>	
Numéro ACPQ :			
N° version :			
<u>TITRE :</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nouvel équipement <input type="checkbox"/></li> <li>• Modification de l'analyse de criticité <input type="checkbox"/></li> <li>• Modification du plan de qualification <input type="checkbox"/></li> <li>• Modification suite à la revue de qualification <input type="checkbox"/></li> <li>• Autre <input type="checkbox"/></li> </ul>			
<u>Motif de l'analyse de criticité / plan de qualification :</u>			
<b>APPROUVE PAR :</b>			
CHEF DE PROJET	ASSURANCE QUALITE	SERVICE UTILISATEUR	



**ANALYSE DE CRITICITE**  
**PLAN DE QUALIFICATION/VALIDATION**

COPIE NON CONT  
Pour info seule

-1- OBJECTIF DE L'ANALYSE DE CRITICITE - DU PLAN DE QUALIFICATION / VALIDATION

-2- RESPONSABILITES

-3- DATE DE MISE EN SERVICE DE L'EQUIPEMENT

-4- LOCALISATION

-5- LISTE DES COMPOSANTS DE L'EQUIPEMENT / DU SYSTEME

-6- DESCRIPTIF DE L'EQUIPEMENT / SYSTEME

-7- PRODUITS UTILISES PAR L'EQUIPEMENT

-8- DOCUMENTS DE REFERENCE

ANALYSE DE CRITICITE - EQUIPEMENT : ..... (n°: .....)

Sous-système N°1 / Fonction n°1

Dysfonctionnement	Conséquence	Origine	P	G	Z

Sous-système N°2 / Fonction n°2

Dysfonctionnement	Conséquence	Origine	P	G	Z

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

Toute reproduction sans autorisation est interdite

**PLAN DE QUALIFICATION - EQUIPEMENT :** ..... (N° : .....)

Sous-systèmes / Equipements	Codification	Niveau de qualification				Remarque / Motif
		QI	QO	QP	VAL	

COPIE NON CONTRÔLÉE  
(Pour info seulement)

**ANALYSE DE CRITICITE  
PLAN DE QUALIFICATION/VALIDATION  
\*\*\*  
PRINCIPES GENERAUX**

COPIE NON CONTRE  
(Pour info seulement)

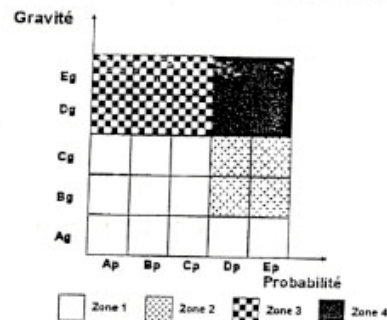
**PROBABILITE - Echelle de A à E**

- **Ap** : - Une seule fonction mécanique,  
- Pas de fonction électrique,  
- Pas de fonction automatisme/informatique,  
- Pas d'opérateur nécessaire pour le maintien de la fonction.
- **Bp** : - Plus d'une fonction mécanique mais non interfacées,  
- Une seule fonction électrique,  
- Pas de fonction d'automatisme/informatique,  
- Un opérateur est nécessaire pour le maintien de la fonction.
- **Cp** : - Plus d'une fonction mécanique interfacées,  
- Une seule fonction électrique,  
- Pas de fonction d'automatisme/informatique,  
- Un opérateur est nécessaire pour le maintien de la fonction.
- **Dp** : - Fonctions électriques, automatisme mécanique interfacées,  
- Une seule fonction avec paramétrage,  
- Automatisme/informatique simple ou standard,  
- Un opérateur est nécessaire pour déclencher et maintenir la fonction.
- **Ep** : - Fonctions électriques, automatisme mécanique interfacées,  
- Plusieurs fonctions avec paramétrages,  
- Automatisme/informatique complexe et non standard,  
- Un opérateur et /ou une commande sont nécessaires pour déclencher et maintenir la fonction.

**GRAVITE - Echelle de A à E**

- **Ag** : - Pas d'impact direct ou indirect sur le produit. Aucune spécification procédée ne peut être affectée par le dysfonctionnement.
- **Bg** : - Pas d'impact direct ou indirect sur le produit. Impact mineur sur une spécification procédée quantitative de l'installation.
- **Cg** : - Pas d'impact direct ou indirect sur le produit. Impact majeur sur une spécification procédée quantitative de l'installation. (A classer ici les détériorations de produit qui seraient inmanquablement repérées et par suite auraient pour conséquence non pas une dégradation de la qualité du produit délivré, mais une perte de production.)
- **Dg** : - Impact direct et/ou indirect du produit. La qualité du produit est potentiellement affectée. (Par exemple en liaison avec un dysfonctionnement du système).
- **Eg** : - Impact direct et/ou indirect du produit. La qualité du produit est affectée.

**QUANTIFICATION DE LA CRITICITE**



**NIVEAU DE QUALIFICATION ASSOCIE A LA ZONE DE CRITICITE**

- **Zone 1 : pas de qualification**
  - Réception mécanique classique,
  - Collecte des documents de réception mécanique d'ingénierie,
  - Test de réception mécanique.
- **Zone 2 : pas de qualification**
  - Réception ingénierie,
  - Collecte des documents de réception ingénierie,
  - Procédures de tests d'installations/opérationnels d'ingénierie.
- **Zone 3 : Qualification d'installation et/ou opérationnelle**
  - Qualification basée sur les documents de réception d'ingénierie,
  - Protocoles de qualification d'installation et opérationnels ne nécessitant pas la réalisation de placebo,
  - Ces protocoles sont visés par l'assurance qualité,
  - Surveillance de l'exécution des procédures de tests par l'assurance qualité.
- **Zone 4 : Qualification de performance**
  - Qualification basée sur les documents de réception d'ingénierie,
  - Protocole de qualification de performance avec utilisation de placebo,
  - Protocoles visés par l'assurance qualité,
  - Surveillance de l'exécution des procédures de tests par l'assurance qualité.

## BIBLIOGRAPHIE

### 1- MINISTERE DE LA SANTE

Bonnes Pratiques de Fabrication- Paris Bulletin Officiel, 1998

### 2- CHEMTOB C.

Principes généraux de la qualification des installations- STP Pharma Pratiques, 1997, 7 (6), 431-434

### 3- ROMAN S.

Pourquoi et comment valider ?- STP Pharma Pratiques, 1997, 7 (5), 332-338

### 4- GIRAULT M. J.

La validation : un outil essentiel dans la culture qualité- STP Pharma Pratiques, 1997, 7 (5), 346-348

### 5- PHARMACOPEE EUROPEENNE

Textes généraux sur la stérilité (5.1)- 4<sup>ème</sup> édition, 2002, 439-444

### 6- EUZEN A., ANDRE T., BAUER T., FONTAINE L., GUILLEBERT D., MENOZZI P., MICHEL P., NACHER F.

Guide de qualification d'un équipement dans les industries de santé- STP Pharma Pratiques, 1999, 9 (3), 212-224

### 7- GUILLAUD Jean-Philippe

« Qualification décennale d'un autoclave »- Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie- 1998- Paris V

### 8- DERRIEN P.H., DEUTSCH J.

Déroulement d'une validation: approche concrète- STP Pharma Pratiques, 1997, 7 (5), 340-344

### 9- LANGE B.,

GMP Manufacturing Equipment Purchase and Qualification : An Interates Approach- Pharmaceutical engineering, 1997, 17, 18-24

### 10- GRISANTI V. , ZACHOWSKI J.

Operational and performance qualification – LCGC North America, 2002, 20 (4), 356-362

### 11- HUBER L., WELEBOB L.

Selecting parameters and limits for equipment operational qualification- Accred Qual Assur, 1997, 2, 316-322

### 12- SIVARDSON K., MANALO J., ROLLER R., SALESS F., WASSERMAN D

Laboratory Equipment Qualification- Pharmaceutical Technology, 2001, 25, 102-108

### 13- HUBER L.

Quality assurance and instrumentation- Accred qual Assur, 1996, 1, 24-34

- 14- ALLAUX-BOIKO V., CHOPINEAU J.  
Stérilisation : principes, mise en œuvre, contrôles- in Hygiènes, Publication des Presses Universitaires de Lyon, 1998, 213-240
- 15- GALTIER F.,  
Sur la stérilisation par la vapeur d'eau- la pharmacie hospitalière française, 1997, 39, 23-31
- 16- UNITED STATES PHARMACOPOEIA,  
Sterilization and sterility assurance of compendial articles- 24<sup>ème</sup> édition, 2143-2148
- 17- GOULLET *et al.*  
La stérilisation 1<sup>ère</sup> partie- Lyon pharmaceutique, 1990, 41, 455-465
- 18- GOULLET *et al.*  
La stérilisation 2<sup>ème</sup> partie- Lyon pharmaceutique, 1991, 42, 11-22
- 19- GOULLET *et al.*  
La stérilisation 3<sup>ème</sup> partie- Lyon pharmaceutique, 1991, 42, 113-123
- 20- DE SANTIS P.  
Validation of steam sterilization in autoclaves – in Validation of aseptic pharmaceutical processes, Marcel Dekker 2<sup>ème</sup> édition, New York, 1986, p 413-449
- 21- MEYER A. *et al.*  
Spores bactériennes- in « cours de microbiologie générale », collection Biosciences et techniques, Edition Doin, 1995, p 66-72
- 22- GALTIER F.  
La stérilisation par la vapeur d'eau- la pharmacie hospitalière française, 1981, 56, 127-141
- 23- PFLUG I., EVANS K.  
Carrying out qualification, the control operation of moist-heat (steam sterilization) processes for producing sterile pharmaceuticals and medical device- PDA Journal of Pharmaceutical Science and technology, 2000, 54 (2), 117-134
- 24- GALTIER F.  
Sur la stérilisation par la vapeur d'eau (suite)- la pharmacie hospitalière française, 1978, 46, 257-272
- 25- ROSSETTO Y. *et al.*  
Pharmacotechnie industrielle : le  $\phi$  41- I.M.T. éditions, 1998
- 26- ASSOCIATION DES PROPRIETAIRES D' APPAREIL A VAPEUR ET ELECTRIQUE  
Préparation à l'habilitation du personnel affecté à la conduite d'autoclaves dans l'industrie agro-alimentaire- tome 1, 1995
- 27- ASSOCIATION DES PROPRIETAIRES D' APPAREIL A VAPEUR ET ELECTRIQUE  
Préparation à l'habilitation du personnel affecté à la conduite d'autoclaves dans l'industrie agro-alimentaire- tome 2, 1995

- 28- ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION (AAMI)  
Principles of industrial moist heat sterilization- Technical information report 1997, 13
- 29- GALTIER F.  
Que signifie  $F_0$  ?- Labo-pharma probl. Tech., 1982, 30 (316), 21-29
- 30- GALTIER F.  
A quoi sert le temps équivalent ?- Sci. Techn. Pharm., 1983, 12(9), 399-409
- 31- GETINGE France  
Recherches fondamentales en stérilisation : études théoriques sur les échanges thermodynamiques dans un stérilisateur à vapeur lors d'un cycle de stérilisation- techniques hospitalières, 2002, 669, 48-52
- 32- GODFRY-FRANCOIS N., GAYTE-SORBIER A.,  
Intérêt du contrôle de la pression dans la qualification des cycles d'autoclave vapeur et de sa corrélation avec la température- J. Pharm. Clin., 1999, 18 (1), 72-74
- 33- BUILLES N., ELISSALT D., GOULLET D.  
Essai de détermination de l'intervalle de mesure de la température lors de la validation des procédés de stérilisation des dispositifs médicaux par la vapeur d'eau- STP pharma pratiques, 2001, 11 (1), 24-37
- 34- ROVARCH D., MORTHA G., JEANNIN C.  
Assurance qualité : pilotage d'un procédé de stérilisation à la chaleur humide par la mise en place de sondes thermiques à l'intérieur des contenants : Cas des petits volumes (ampoules, flacons)- STP Pharma Pratiques, 1996, 6 (1), 41-46
- 35- INTERNATIONAL FEDERATION OF THE PHARMACEUTICAL INDUSTRIES (F.I.P.)  
Sterility assurance based on validation of the sterilization process using steam under pressure- Journal of Parenteral Science and technology- 1989, 43 (5), 226-230
- 36- PASSELAC A., BOREL K., CHAILLARD C.,  
Autoclaves- le moniteur hospitalier, 1992, 49, 25-30
- 37- FEDEGARI,  
Validation des procédés de stérilisation par la chaleur- Séminaire de formation- 1995
- 38- LE GUEVELLO.  
Hygiène stérilisation : la qualification d'un autoclave- Inter bloc, 2000, 19 (3), 205-207
- 39- BOCA *et al.*  
An overview of the validation approach for moist heat sterilization, part I- Pharmaceutical technology, Septembre 2002, 62-70
- 40- ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION (AAMI),  
Sterilization of health care products- Requirements for validation and routine control- Industrial moist heat sterilization- American National standard, 1993

41- PARENTERAL DRUG ASSOCIATION,

Technical monograph n°1 : Validation of steam sterilization cycles- 1978

42- PFEIFFER M.

Microbiological validation of the  $F_0$  concept for the steam sterilisation of aqueous preparations using spores of *Bacillus stearothermophilus* as biological indicator organism- Pharm. Ind., 1998, 60, 621-625

43- KAYE INSTRUMENTS FRANCE

Séminaire Validation thermique (dans l'industrie pharmaceutique)- 2000

44- DECLERT G., CHEMTOB C.

Gestion des moyens de mesure dans le cadre d'une certification ISO 9002- STP Pharma Pratiques, 1996, 6 (6), 465-470

45- LOUVEL D. *et al.*

Procédure pour la vérification d'enceintes climatiques et thermostatiques- STP Pharma Pratiques, 2001, 11(4), 164-188

46- GOULLET D., DEWEERDT C., VALENCE B., CALOP J.

Validation du procédé de stérilisation par la vapeur- Hygiènes, 1996, 12, 59-60

47- BOCA *et al.*

An overview of the validation approach for moist heat sterilization, part II- Pharmaceutical technology, Octobre 2002, 96-112

48- DEGEZ B., CLEROUIN B.

Du bon usage des indicateurs chimiques pour stérilisation à la vapeur d'eau- Hygiènes, 2001, 9 (3), 219-220

49- CANDEIAS A.

Méthodes de qualification d'un autoclave à vapeur d'eau- Salles propres et maîtrise de la contamination, 2000, 8, 52-53



**Nom - Prénoms** : LIMOUSIN Vincent

**Titre de la thèse** : Qualification rétrospective d'un autoclave du laboratoire de contrôle d'un site industriel de production pharmaceutique.

---

**Résumé de la Thèse :**

La stérilisation par la vapeur d'eau reste une méthode de choix pour l'industrie pharmaceutique, notamment par son coût de mise en œuvre peu élevé en regard de sa grande efficacité. Si l'appareillage utilisé ne cesse d'évoluer, le déroulement d'une qualification d'autoclave au sein d'un site de production industriel est toujours supervisé par un groupe de travail transversal et comprend :

- La rédaction d'un cahier des charges
- Une qualification de conception
- Une qualification d'installation
- Une qualification opérationnelle
- Une qualification de performance

Puis l'appareil est inclus dans un programme de maintenance et de requalification périodique, car la qualification n'est jamais totalement close tant que l'appareil est en cours d'exploitation.

Ce travail regroupe deux parties : la première partie bibliographique est consacrée aux rappels des principes d'une qualification d'un autoclave, et la deuxième partie pratique expose l'application de ces principes à la qualification d'un autoclave de contrôle au sein d'un site de production pharmaceutique.

---

**MOTS CLES** : Qualification – Autoclave – Stérilisation – Vapeur d'eau

---

**JURY**

**PRESIDENT** : PEGON Yves, Professeur, Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté de Pharmacie de Nantes

**ASSESEURS** : GAUTIER Hélène, Maître de Conférence, Laboratoire Pharmacie Galénique, faculté de Pharmacie de Nantes

TOWELL Estelle, Ingénieur spécialiste en validation/conformité, Société Validapro

---

**Adresse de l'auteur** : 28, Promenade Chanteclair  
85000 Mouilleron-Le-Captif