UNIVERSITÉ DE NANTES
FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 2013 **N° 067**

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT

DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

Mylène Frongia

Présentée et soutenue publiquement le 11 Octobre 2013

Maîtrise de la contamination dans un isolateur de répartition aseptique
Expérience menée lors de la qualification initiale d'un nouvel équipement ajouté au sein d'un isolateur de répartition

Président : **Mme Christine HERRENKNECHT, Professeur de Chimie Analytique**

Directeur de Thèse : Mme. Le Doyen Virginie FERRE, Professeur de Virologie

Membres du jury : **M. Sylvain Cacheleux, Responsable Assurance Qualité Technique, GlaxoSmithKline Notre Dame de Bondeville**

M. Christophe ASSIRE, Pharmacien Manager Opérationnel des secteurs remplissage et mirage chez GlaxoSmithKline Notre-Dame-de-Bondeville.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier dans un premier temps, toute l'équipe pédagogique de la Faculté de Pharmacie de Nantes, pour la qualité de l'enseignement dispensé pendant ces six années d'études. Et plus particulièrement Madame Le Doyen Virginie Ferré d'avoir accepté de m'accompagner dans l'élaboration de ma thèse.

Je remercie également mes tuteurs, Messieurs Sylvain Cacheleux et Olivier Manchon pour l'aide, les conseils et la bonne humeur apportés pendant ce stage au sein de l'Assurance Qualité Technique. Ainsi que pour les conseils et les notions techniques qu'ils m'ont apportés pendant cette période et lors de la relecture de ce manuscrit.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance à mes collègues du service Assurance Qualité Technique, pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'ils m'ont fait vivre durant ces trois mois.

Et enfin je remercie Madame Sonia Kasperowicz, Pharmacien Responsable Assurance Qualité ainsi que l'ensemble du personnel de GlaxoSmithKline de Notre-Dame de Bondeville pour leur accueil et leur coopération tout au long de cette année et demie.

Une chaleureuse pensée à mes amis apprentis du Master Management de la Qualité, pour cette dernière année d'études passée à leurs côtés. Mais aussi et surtout à toute ma promotion Nantes 2013, et plus particulièrement notre groupe de TP.

Mes remerciements vont aussi et surtout à ma famille et mes amis de longue date. Pour leur soutien pendant cette longue période faite de joie, de doutes et de privations. Vous avez su comprendre l'importance qu'avaient ces études à mes yeux. J'espère que le résultat vous plaît malgré la distance géographique qui s'est installée ces derniers temps. Merci à Mély, Lucie, Morgane, Héloïse, Clémentine, Charlotte, Maider, Chrystèle, Maxime, Olivier, Samuel, Marie, Sylvain. Mais aussi à Florian, qui à trouver le courage de me suivre dans cette aventure Rouennaise, devant pour cela, lui aussi, quitter sa famille et ses amis.

Au futur Docteur Loren Dejoies, ma binôme et complice, pour ces longues heures de travaux pratiques réussies avec succès.

À mes parents,

Merci.

Sommaire

REMERCIEMENTS 2
TABLE DES ILLUSTRATIONS 6
Table des abréviations 8
Introduction 9
PARTIE I Maîtrise de la contamination dans un isolateur de répartition aseptique 10
1) Définition 11
a. Stérilité et contamination 11
b. Historique de l'utilisation d'isolateurs 11
c. Aspect réglementaire 12
d. La contamination 12
i. Contamination particulaire et exigences 13
ii. Contamination microbiologique et exigences 14
2) Les sources de contamination et moyens de maîtrise 16
a. L'humain : la première source de contamination 16
b. Les locaux 19
c. L'environnement 19
i. La mise en surpression 20
ii. L'aéraulique 20
iii. Les centrales de traitement d'air 21
d. Les équipements et le matériel 24
e. Le nettoyage et la désinfection 24
3) Monitoring environnemental associé au travail en zone à atmosphère contrôlée 25
a. Contrôle microbiologique de l'air 25
b. Contrôle microbiologique des surfaces 27
c. Contrôle particulaire de l'environnement 28
d. Contrôle du personnel 28
e. Contrôles effectués sur les flux d'air 28
f. Fréquence du monitoring 30
i. Essais périodiques de maintien de la conformité des ZAC 30
ii. Essais de routine 30
4) Une ZAC particulière : l'isolateur 31
a. Structure d'un isolateur de répartition 31

b. Isotechnie 32
c. Fonctionnement d'un isolateur de répartition aseptique 32
d. Le travail sous isolateur 34
e. Surveillance de routine 36
f. Exemple d'une méthode de décontamination de l'environnement 37
i. Méthode au peroxyde d'hydrogène gazeux 37
ii. Mesure de l'efficacité de la décontamination 39
PARTIE II Qualification initiale d'un nouvel équipement ajouté au sein d'un isolateur de répartition 40
1) Présentation de l'équipement 41
2) Procédé de remplissage-bouchage 42
3) Objectifs de la mission 43
a. Problématique 43
b. Les solutions apportées 43
4) Notions de qualification 45
5) Déroulement du projet 46
a. Analyse de risque 46
b. Rationnel de validation 50
6) Déroulement des tests 58
7) Résultats des points de qualification abordés 58
a. Les tests de fumée 58
b. Les tests d'utilisation de la boîte à gant 58
c. Les essais de décontamination 59
d. Les monitorings particulaire et microbiologique 62
e. Phase d'utilisation – Post Implementation Review 62
i. Monitoring particulaire 62
ii. Monitoring microbiologique 64
f. Conclusion du projet 64
CONCLUSION 65
ANNEXE 1 : Détermination et dénomination des l'intégralité des surfaces du nouvel équipement 66
ANNEXE 2 : Position des Indicateurs Biologiques retenues 71
ANNEXE 3 : Positions des Indicateurs Chimiques retenues 73
BIBLIOGRAPHIE INTERNET *(Par Ordre Alphabétique)* 77
BIBLIOGRAPHIE LITTÉRAIRE 77

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau I Nombre maximal de particules autorisées par mètre cube en ZAC 14
Tableau II Nombre maximal de micro-organismes autorisés en ZAC 15
Tableau III Tableau d'équivalence de classification environnementale BPF-ISO 15
Tableau IV Valeurs d'efficacité et de pénétration en fonction des différentes classes de filtres à haute efficacité 23
Tableau V Avantages et inconvénients de la méthode par sédimentation 26
Tableau VI Avantages et inconvénients de la méthode par aspiration 26
Tableau VII Avantages et inconvénients des méthodes de prélèvements de surface 27
Tableau VIII Contrôles du flux d'air et matériels utilisés 29
Tableau IX Fréquence du monitoring pour prouver le maintien de l'efficacité 30
Tableau X Fréquence du monitoring en routine 30
Tableau XI Surveillance de routine dans l'isolateur 36
Tableau XIII Positions retenues suite à l'application du logigramme (1/5) 54
Tableau XIV Positions retenues suite à l'application du logigramme (2/5) 55
Tableau XV Positions retenues suite à l'application du logigramme (3/5) 56
Tableau XVI Positions retenues suite à l'application du logigramme (4/5) 57
Tableau XVII Positions retenues suite à l'application du logigramme (5/5) 58

Figure 1 Schéma d'implantation d'un isolateur de répartition aseptique en ZAC 13
Figure 2 Quantité de particules que peut émettre un être humain 16
Figure 3 Quantité de particules que peut émettre une personne en fonction de son activité 17
Figure 4 Tenue vestimentaire adaptée au travail en classe A/B 18
Figure 5 Schéma général d'une chaîne de filtration 22
Figure 6 Schéma général d'une CTA 22
Figure 7 Exemple de chaîne de filtration pour une classe A 24
Figure 8 Méthode par sédimentation 25
Figure 9 Méthode par aspiration 26
Figure 10 Schéma en coupe d'un isolateur 31
Figure 11 Boîtes à gants 33
Figure 12 Mode de fonctionnement d'une porte DPTE 33
Figure 13 Bonne position sous isolateur 34
Figure 14 Mauvaise conduite sous isolateur 1/2 35
Figure 15 Mauvaise conduite sous isolateur 2/2 35
Figure 16 Processus de dégradation du peroxyde d'hydrogène 37
Figure 17 Phases du cycle de décontamination par le peroxyde d'hydrogène gazeux 38
Figure 18 Isolateur de répartition ayant été modifié 41
Figure 19 Principe du procédé de production de l'isolateur ayant été modifié 42
Figure 20 Schéma de la conception initiale du séparateur de joints de piston 44
Figure 21 Photo du séparateur après installation dans l'isolateur 44
Figure 22 Sens de circulation des Joints de Piston et de rotation de séparateur de joint de piston 45
Figure 23 Rationnel décrivant les positions des indicateurs chimiques et biologiques retenues 52
Figure 24 Indicateur AO non conforme 59
Figure 25 Photographie en plongée de la zone AO quadrillée d'indicateurs chimiques 60
Figure 26 Scan des indicateurs chimiques suite au 3ème cycle de validation de décontamination 61
Figure 27 Position du compteur particulaire dans l'isolateur 62
Figure 28 Données de comptage particulaire avant implémentation du séparateur 63
Figure 29 Données de comptage particulaire après implémentation du séparateur 63

Table des Annexes :

ANNEXE 1 : 67

ANNEXE 2 : 72

ANNEXE 3 : 74

Table des abréviations

BI : Biological Indicator (Indicateur Biologique)

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CI : Chemical Indicator (Indicateur Chimique)

CTA : Centrale de Traitement d'Air

DPTE : Double Porte de Transfert Etanche

ICH : International Conference of Harmonisation

ISO : International Organisation for Standardisation.

NA : Non Applicable

UFC : Unité Formant Colonie

WHO : World Health Organization (OMS : Organisation Mondiale de la Santé)

ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

Introduction

Afin de garantir la qualité, l'efficacité et la sécurité des produits qu'elle fabrique, l'industrie pharmaceutique doit maîtriser l'intégralité de ses procédés de fabrication. Un des procédé les plus exigent est celui permettant d'obtenir des médicaments stériles.

La fabrication de médicaments stériles nécessite de respecter une règlementation stricte. En effet, pour pouvoir revendiquer une apyrogénicité, une absence de micro-organismes vivants ou revivifiables et un état aparticulaire, l'industrie pharmaceutique doit mettre en place des mesures adéquates. Ceci afin de maîtriser la qualité du médicament tout au long de sa fabrication. ***(BPF, 2011)***

Un des moyens de répondre à ces exigences est l'emploi d'isolateur de répartition. La conception d'un tel équipement permet de limiter la contamination particulaire et microbiologique lors des étapes critiques du procédé.

L'objectif de cet exposé est de présenter quels moyens doivent être mis en place pour assurer cette maîtrise de l'environnement de production. L'utilisation de zones à atmosphère contrôlée est nécessaire, il sera vu au cours de cet exposé que celle-ci peut se traduire par l'utilisation d'isolateur de répartition.

Dans un premier temps, afin de répondre à cet objectif, nous présenterons les exigences environnementales des zones à atmosphère contrôlée pour la production de médicaments stériles, la traduction pratique de ces exigences ainsi que les surveillances associées. Puis nous présenterons l'isotechnie et les spécificités qui s'y rapportent.

Dans un deuxième temps sera présenté un retour d'expérience, réalisé lors d'un stage industriel de trois mois chez GlaxoSmithKline, à Notre Dame de Bondeville, au sein de l'équipe Assurance Qualité Technique. Le service assurance qualité technique est en charge des validations initiales et requalifications périodiques sur l'ensemble du site. La mission de ce stage était de réaliser les étapes de qualification d'un nouvel équipement ajouté au sein d'un isolateur de répartition aseptique. Une grande partie de ces étapes de qualification ont tenu compte de cette maîtrise de l'environnement, ces dernières seront abordées dans cette seconde partie.

PARTIE I
Maîtrise de la contamination dans un isolateur de répartition aseptique

1) Définition

La fabrication de médicaments stériles doit obligatoirement se faire dans des Zones à Atmosphère Contrôlées (ZAC). On entend par ZAC une pièce dont « le contrôle de la contamination particulaire et microbienne dans l'environnement est défini et qui est construite et utilisée de façon à réduire l'introduction, la multiplication ou la persistance de substances contaminantes ». ***(BPF, 2011, LD1 et Glossaire)***

Le terme de zone propre est aussi employé, on entend par zone propre « un espace dédié dans lequel la concentration des particules en suspension dans l'air est maîtrisée et qui est construit et utilisé de façon à minimiser l'introduction, la production et la rétention de particules à l'intérieur de la pièce, et dans laquelle d'autres paramètres pertinents, tels que la température, l'humidité et la pression sont maîtrisés comme il convient ». Ce terme de zone propre englobe donc d'autres paramètres par rapport à celui de ZAC. En effet, les paramètres tels que la température, la pression et l'humidité sont d'une importance toute aussi égale à celle de la concentration en particules dans l'air. Mais dans cette définition, la notion de contamination microbiologique n'est pas abordée. ***(ISO 14644-1, 1999)***

Pour des raisons de simplification, le terme de Zone à atmosphère contrôlée sera préféré tout au long de cet exposé.

L'isolateur est lui-même considéré comme un élément de cette zone à atmosphère contrôlée. L'environnement l'entourant doit lui aussi respecter les exigences d'une zone à atmosphère contrôlée.

a. Stérilité et contamination

Un médicament dit stérile doit répondre à trois critères :

- l'absence de particules
- l'apyrogénicité
- l'absence de micro-organismes viables ou revivifiables

Ces différents points sont des exigences réglementaires que l'on peut retrouver lors des tests réalisés sur le produit au laboratoire de contrôle. La Pharmacopée propose des tests permettant d'assurer que le produit fabriqué est exempt de ces éléments cités ci-dessus.

Cette définition de la stérilité amène à la notion de contamination. La contamination se défini comme l''introduction non intentionnelle d'impuretés de nature chimique ou microbiologique, ou de matière étrangère, à l'intérieur ou à la surface d'une matière première, d'un intermédiaire, ou d'une substance active, pendant la production, l'échantillonnage, le conditionnement ou le reconditionnement, le stockage ou le transport. ***(BPF, 2011)***

b. Historique de l'utilisation d'isolateurs

Dans les années 1940, afin de pouvoir élever des animaux sans qu'ils soient contaminés par des germes extérieurs, le Laboratory Of Bacteriology University Notre-Dame (LOBUND), aux Etats-Unis, a utilisé les premiers isolateurs. Tout comme ceux d'aujourd'hui, ils étaient en acier inoxydable et stérilisables à la vapeur. Avec l'avènement du plastique, les isolateurs souples furent créés dix ans après. En Europe, la construction d'isolateurs fut plus tardive. La société la Calhène était pionnière

dans les années 70. C'est dans les années 80 que l'utilisation quasi systématique en industrie pharmaceutique commence.
(P.C. Trexler, 1962*)**, ***(BCMI, 2005)

c. Aspect réglementaire

D'un point de vue règlementaire, deux grandes catégories de documents existent : les opposables et les non opposables.

Les documents opposables sont par définition les textes que l'entreprise est dans l'obligation d'appliquer. Nous pouvons citer les Bonnes pratiques de Fabrication (BPF), les lignes directrices éditées par l'International Conference for Harmonisation (ICH), le Code de la Santé Publique (CSP), la Pharmacopée Européenne, des directives…
Les documents non opposables sont au contraire d'application volontaire. Ce sont des textes support à l'industrie pharmaceutique, ils ont une vocation de conseil. Nous pouvons citer la famille des normes ISO (International Organisation for Standardisation). Ces textes ne sont pas figés, ils évoluent et sont constamment mis à jour.

Des documents opposables peuvent faire référence à des documents non opposables, comme par exemple la Ligne directrice n°1 des BPF faisant référence à la norme ISO 14644.

d. La contamination

Les contaminants peuvent être classés en trois grandes catégories ***(BCMI, 2005, p38)*** :

- Les particules inertes (les fibres, les pollens, les cendres…), on parle alors de contamination particulaire.
- Les particules viables et les microorganismes (bactéries, levures, moisissures, virus, endotoxines ***(Ernst T. Rietschel, 1994)***…), on parle alors de biocontamination
- Les contaminants chimiques (résidus de produit de dégradation chimiques, traces de produit de nettoyage, contamination croisée…), on parle alors de contamination chimique

Les contaminants particulaires ont plusieurs origines, nous pouvons citer l'air, les équipements, l'humain …

On entend par particule tout « objet solide ou liquide, dans le cadre de la classification de la propreté de l'air, appartenant à une distribution cumulée qui est fondée sur une taille limite inférieure se situant dans une gamme de taille allant de 0,1µm à 5µm ». ***(ISO 14644-1, 1999)***

Concernant la fabrication de médicaments stériles, il est imposé de mettre en place des moyens permettant de réduire au minimum les contaminations particulaires, microbiologiques et pyrogènes. Nous nous devons alors de contrôler l'environnement de production tout au long du procédé de fabrication : l'Homme, l'air, les locaux, le matériel, la désinfection, la production, la stérilisation ainsi que toutes les étapes réalisées par le laboratoire de contrôle. ***(BPF, 2011, LD1)***

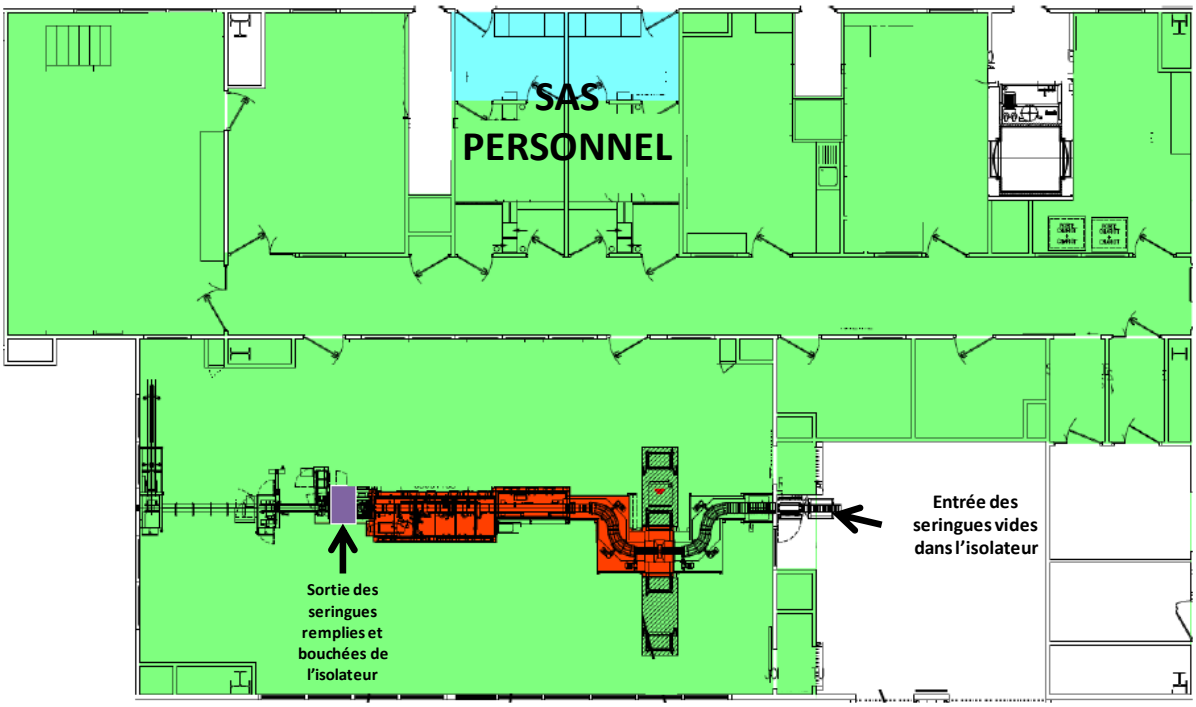


Figure 1 Schéma d'implantation d'un isolateur de répartition aseptique en ZAC

En rouge est représenté un isolateur de répartition aseptique au sein de la Zone à atmosphère contrôlée à laquelle il appartient.
Les couleurs correspondent aux différentes classes environnementales qui seront détaillées dans la suite de cet exposé. (rouge : classe A, Violet : classe B, Vert : classe C, blanc : non classé/hors ZAC).

i. Contamination particulaire et exigences

Concernant la contamination particulaire, les BPF imposent des classes de qualité d'air, correspondant à la présence d'une quantité limite de particules en fonction des activités réalisées. La maîtrise de la contamination particulaire est très importante car les particules se retrouvant dans le produit peuvent être à l'origine d'effets indésirables pour le patient mais aussi, elles peuvent être le vecteur de micro-organismes pathogènes.

La classe A est la zone où sont réalisées les opérations à haut risque, tel que le remplissage. L'air doit y être unidirectionnel et avoir une vitesse homogène comprise entre 0,36 et 0,54 m/s (pour des systèmes non clos). Un flux d'air unidirectionnel et des vitesses inférieures peuvent être utilisés dans les isolateurs. La classe A correspond donc à l'environnement présent dans l'isolateur de répartition.

La classe B est la zone où se déroulent les opérations de préparation et de remplissage aseptiques, cette classe constitue l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A.

Les classes C et D sont destinées aux étapes moins critiques de la fabrication des médicaments stériles. Ces classes sont l'environnement direct entourant l'isolateur de répartition.

Le tableau 1 récapitule la concentration maximale autorisée, en zone à atmosphère contrôlée, de particules en suspension dans l'air : ***(BPF, 2011, LD1)***

Tableau I Nombre maximal de particules autorisées par mètre cube en ZAC

	Au repos		En activité	
Classe	Nombre maximal autorisé de particules par m^3 de taille égale ou supérieure aux tailles précisées.			
	0.5 µm (d)	5 µm	0.5 µm (d)	5 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352000	2900
C	352000	2900	3520000	29000
D	3520000	29000	Non défini	Non défini

Deux tailles de particules représentatives sont utilisées pour ces relevés d'air : 0,5 et 5µm.

Les particules, par définition, sont les éléments ayant une très petite taille, par conséquent, nous devons prendre en compte leur vitesse de sédimentation. En effet, une particule de diamètre 5µm sédimentera plus vite et plus facilement qu'une particule de diamètre 0,5µm. ***(BCMI, 2005, p38)***

La vitesse de chute dans une salle au repos est très faible, voire quasi nulle pour les particules de diamètre inférieur à 1µm. En flux turbulent, pour ces mêmes particules, il n'y a plus ou quasiment plus de phénomène de sédimentation.

C'est donc pour cela que l'on doit mesurer la contamination particulaire d'une salle au repos et en activité. Ces deux termes se définissent comme suit :

- ***(ISO 14644-6, 2007)*** **Installation au repos** : installation complète avec toutes les servitudes connectées et en fonctionnement, mais sans équipement ni matières de production et sans personnel présent. Une installation au repos s'obtient après un temps de 15 à 20 minutes en l'absence du personnel et après la fin des opérations de production.
- ***(ISO 14644-6, 2007)*** **Installation en activité :** installation fonctionnant selon le mode prescrit, avec l'effectif spécifié travaillant dans les conditions convenues.

Dans le cas d'un travail sous isolateur on doit donc : instaurer un système permettant d'éviter toute remise en suspension de particules mais aussi toute turbulence de l'air permettant d'amener les particules dans le produit à répartir. C'est ce que l'on appelle la maîtrise de l'aéraulique par l'emploi de flux d'air unidirectionnels ou non-unidirectionnels. ***(BCMI, 2005, p81)***

ii. Contamination microbiologique et exigences

Ce type de contaminants regroupe les microorganismes vivants tels que les levures, moisissures, bactéries et virus. Ces organismes ont besoin, pour se développer et se multiplier, de conditions d'humidité et de chaleur. Nous devons donc veiller à maîtriser ces différents paramètres afin de minimiser le risque de développement de microorganismes.

La présence de microorganismes dans les préparations stériles peut engendrer différents problèmes. D'une part si des microorganismes pathogènes ou toxiques sont présents, ils peuvent transmettre leur pouvoir pathogène ou toxique au patient. D'autre part, certains microorganismes peuvent

relarguer des endotoxines qui sont responsables de l'effet pyrogène. Ces derniers sont surtout des bactéries à Gram négative, car elles disposent d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides. Le lipopolysaccharide contient un lipide, appelé lipide A. Lors de la lyse de la bactérie, ce lipide A va se retrouver dans l'environnement et potentiellement peut être transporté jusque dans le produit à répartir. Le lipide A une fois dans le corps humain va être phagocyté par les macrophages ce qui va induire une réaction immunitaire de type inflammatoire, dont l'effet pyrogène est un des effets. (**E*rnst T. Rietschel, 1994)***

On entend par biocontamination « la contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des particules viables ». ***(ISO 14644-1, 1999)*** , ***(BPF, 2011, LD1)***

Tableau II Nombre maximal de micro-organismes autorisés en ZAC

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

Notes :

(a) Il s'agit de valeurs moyennes.

(b) Certaines boîtes de Pétri peuvent être exposées pendant moins de quatre heures.

A noter qu'en classe C et D les empreintes de gants ne sont pas obligatoires car le port de gant n'est pas une obligation règlementaire.

Dans l'industrie les classes des salles peuvent être référencées selon la norme ISO 14644. Afin de rendre plus claire l'expression de ces données, voici un tableau d'équivalence BPF-ISO :
(D. Bertin, 2012)

Tableau III Tableau d'équivalence de classification environnementale BPF-ISO

Classe BPF	Equivalent ISO au repos	Equivalent ISO en Activité
A	ISO 4,8	ISO 5
B	ISO 5	ISO 7
C	ISO 7	ISO 8
D	ISO 8	NA

Ces zones à atmosphère contrôlée doivent être placées sous surveillance continue afin de voir en temps réel tout dépassement des seuils d'alerte et d'action. Nous devrons mettre en place les actions correctives adaptées. Des plans d'échantillonnage ponctuels doivent aussi être réalisés ; ***(BPF, 2011, LD1 n°20)***

2) Les sources de contamination et moyens de maîtrise

a. L'humain : la première source de contamination

Un être humain peut produire 100 000 particules au repos et 30 millions de particules (>0,3µm) en activité par minute. ***(BCMI, 2005, p39)***

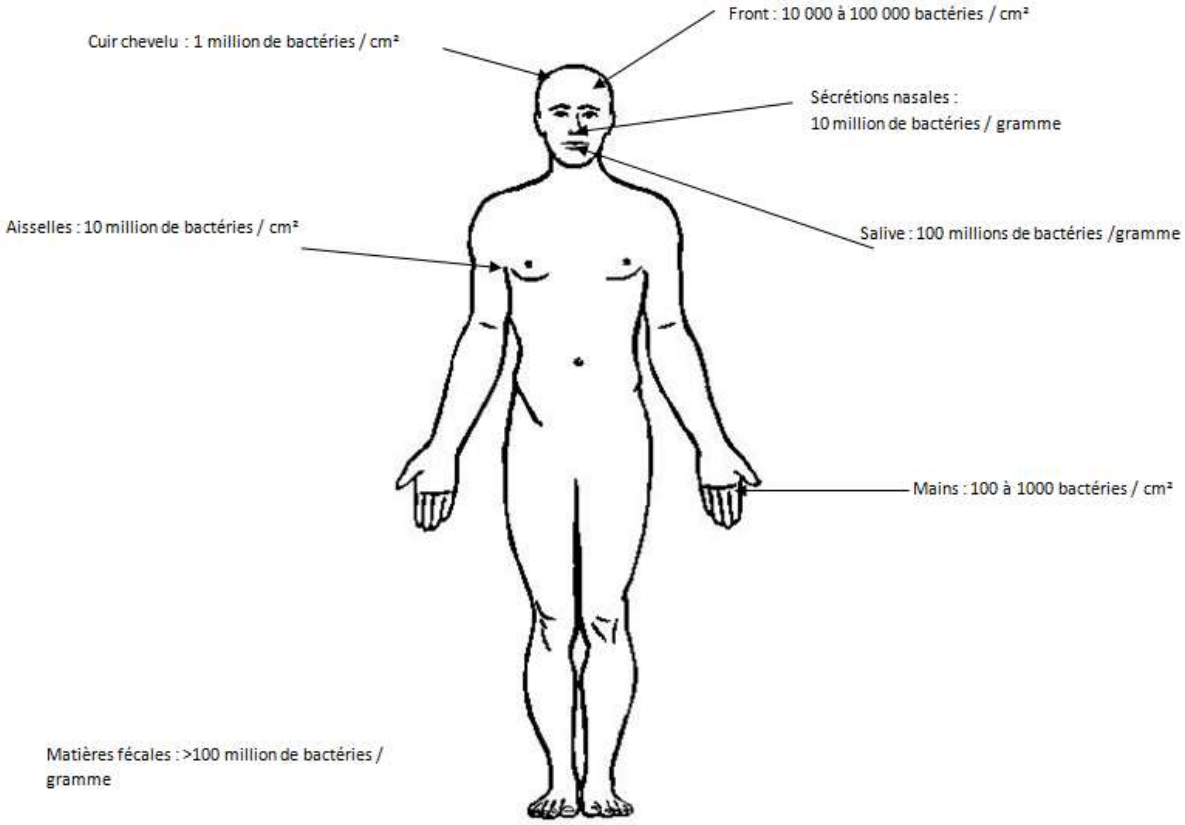


Figure 2 Quantité de bactéries que peut émettre un être humain

Une personne portant du maquillage peut émettre un nombre conséquent de bactéries >0,5µm : ***(Azria M, 1971)***

- Rouge à lèvres : 1 milliard
- Fond de teint : 270 millions
- Fard à paupières : 80 millions
- Mascara : 3 milliards

Les émissions rhinopharyngées, elles-aussi, sont à l'origine d'une grande quantité de particules ayant une taille comprise entre 5 et 100 µm.

Ci-dessous, est reportée la quantité de particules émises lors d'une discussion, d'une toux ou d'un éternuement (>0,5µm) :

- 1 minute de conversation libère près de 20 000 particules
- La lettre « D » libère 30 particules
- La lettre « P » libère 100 particules
- La syllabe « PRE » libère 180 particules
- La toux entraîne la dissémination de 700 000 particules
- L'éternuement, quant à lui, peut libérer jusqu'à 1 400 000 particules.

Les mouvements facilitent l'émission de particules, voici un schéma représentant la quantité de particules que peut émettre une personne en fonction de son activité.

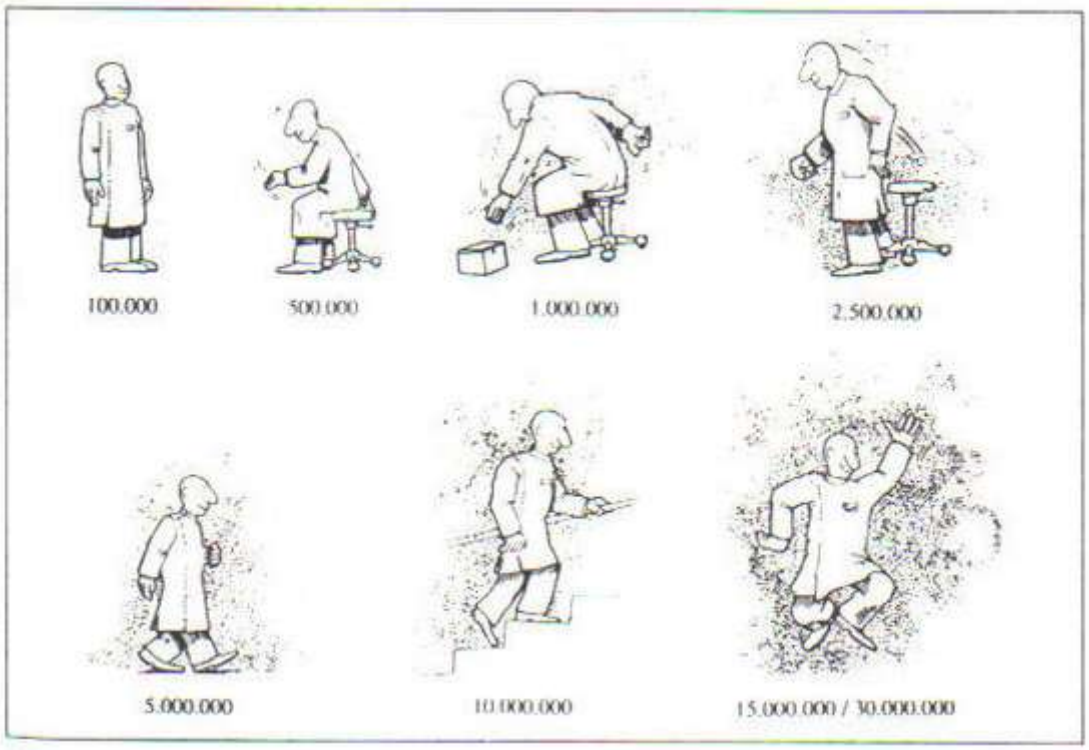


Figure 3 Quantité de particules que peut émettre une personne en fonction de son activité

Les bactéries de la flore commensale humaine peuvent être ***(Infectiologie.com, 2010)*** :

- Pour la peau et les follicules pileux :
  - *Staphylococcus epidermidis*
  - *Staphylococcus aureus*
  - *Propionibactéries*
  - *Corynébactéries*
  - *Cocci à Gram + anaérobies*
- Pour la cavité buccale et les voies aériennes supérieures:
  - Des streptocoques (majoritairement)
  - Des germes anaérobies
  - *Staphylococcus epidermidis*
  - *Neisseria* non pathogènes
  - *Corynébactéries*
  - Et d'autres bactéries à l'origine de pathologies chez l'homme *(Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae,* Streptocoques β-hémolytiques*, Neisseria meningitidis)*

Différents moyens de lutte dans l'industrie pharmaceutique existent : ***(BPF, 2011, p23), (WHO, 2011)***

- La formation du personnel, avec une sensibilisation à la microbiologie et aux exigences BPF. Ainsi qu'une formation à l'habillage et au comportement et gestuelle à avoir au poste de travail.
- La tenue vestimentaire adaptée aux différents postes de travail, qui comprendra selon les exigences, le port d'un masque, de gants, d'une charlotte, de sur-chaussures, de protège-barbe, d'une blouse / combinaison, d'une sous tenue…
  Cette tenue devra disposer d'un faible taux d'émission particulaire, être confortable et couvrir un maximum de surface corporelle.
- Une hygiène personnelle rigoureuse ainsi qu'une hygiène au poste de travail à respecter, comme un lavage des mains minutieux et fréquent et une décontamination des mains ou le port de gants adaptés.
- Le port de maquillage et de bijoux dans les zones de production classées devrait être interdit.

(BPF, 2011, LD1)

La figue 4 représente un exemple de tenue vestimentaire adaptée à chacune des zones à atmosphère contrôlée :

<u>Habillage en classe A/B :</u>

Figure 4 Tenue vestimentaire adaptée au travail en classe A/B

Photo : ***(Cleanroom, 2013)***
Légende : ***(WHO, 2011)***

Habillage en classe C ***(WHO, 2011)*** :

- Une charlotte
- Un cache barbe si nécessaire
- Un pyjama ou une combinaison serré aux poignets et avec un col montant
- Des sur-chaussures
- Le tissus des ces éléments ne dois pas relarguer de particules ou de fibres

Habillage en classe D ***(WHO, 2011)*** :

- Une charlotte
- Un cache barbe si nécessaire
- Un pyjama ou une blouse
- Des sur-chaussures ou chaussures appropriées et propres

b. Les locaux

Concernant la conception des locaux, celle-ci doit obéir à des recommandations bien particulières. Comme dans toute salle de production les murs, sols et plafonds doivent être conçus de manière à relarguer et retenir le moins de particules possible. En plus de cela ils doivent : ***(BPF, 2011, LD1, n°46 à 50)***

- être lisses, imperméables et sans fissures afin de réduire la libération ou l'accumulation de particules ou de micro-organismes
- permettre l'usage répété de produits de nettoyage et/ou de désinfectants
- il ne doit pas y avoir de recoins difficiles à nettoyer. Les saillies, les étagères, les placards et le matériel doivent être réduits au minimum
- Les portes doivent être d'un modèle ne présentant pas d'anfractuosités difficiles à nettoyer
- Les faux plafonds doivent être scellés pour éviter les contaminations provenant de l'espace supérieur
- Les canalisations et les gaines doivent être installées de façon à ne pas créer de recoins, d'orifices non scellés et de surfaces difficiles à nettoyer.
- Les éviers et les canalisations d'évacuation doivent être exclus des zones de classe A/B ;
- Les évacuations au sol des zones d'atmosphère contrôlée de classe inférieure doivent être équipées de siphons ou de gardes d'eau pour éviter tout reflux.

Toutes ces précautions permettent d'éviter la stagnation et le développement de micro-organismes. Les recoins ou fissures vont rendre difficile l'élimination par nettoyage de ces derniers et l'eau va favoriser leur multiplication.

Il convient donc à chaque entreprise de concevoir ses locaux en fonction de ces exigences.

c. L'environnement

Après l'humain, en zone à atmosphère contrôlée, la plus grande source de contamination est l'environnement.

La règlementation impose donc d'avoir des locaux de production appartenant à des classes bien distinctes selon l'activité réalisée. Afin de respecter ces classes particulaires et microbiologiques, différents dispositifs sont mis en place :

- Des systèmes de sas et d'ouverture sur l'extérieur
- Une gestion des flux du matériel, du personnel et des déchets

- Un système de pressions différentielles entre chaque zone classée
- Un système de traitement de l'air

Les systèmes d'ouverture sur l'extérieur sont règlementés : ***(BPF, 2011, LD1, n°51 à 52)***

- Les vestiaires doivent être alimentés en air filtré et être conçus comme des sas, afin de séparer les différentes étapes de l'habillage et donc de diminuer le risque de contamination de la tenue de zone. La dernière partie de ce sas doit relever, au repos, de la même classe de la zone à laquelle il mène.
- Les portes des sas ne peuvent être ouvertes en même temps afin d'éviter toute variation de pression, turbulences et donc générations de particules / contamination microbienne supplémentaire.

La gestion des flux de déplacement du personnel, du matériel et des déchets doit être bien définie et respectée. La disposition des locaux doit aussi être pensée de manière à ne pas propager d'éléments contaminants d'une zone classée à une autre. ***(NF S 90-351, 2003-06, p15)***
Les flux des éléments entrant et sortant, ainsi que celui du personnel, des déchets… doivent éviter de se croiser.

Des plus, les paramètres tels que la pression, la températeure, l'aéraulique et la qualité de l'air doivent être maîtrisés. Ces paramètres sont regroupés sous le terme générique de CVC pour Chauffage, Ventilation et Climatisation. Le terme international étant HVAC pour Heating, Ventilation, Air Conditioning.

i. La mise en surpression

Afin d'éviter toute propagation de particules d'une zone de classe inférieure vers une salle de classe supérieure, un système de mise en surpression des salles doit être installé. Cette pression se fait par un système d'arrivée d'air filtré à un certain débit dans la salle avec une sortie (reprise) de cet air avec un débit plus faible, on obtient donc une salle en pression positive par rapport à la pression atmosphérique. ***(BPF, 2011, LD1, n°53)***

Les BPF nous imposent la règle suivante :

- Des salles adjacentes de classe différentes et communicantes doivent avoir un différentiel de pression de 10 à 15 Pascals.

Il convient donc de mesurer en continu le différentiel de pression entre deux salles afin de s'assurer qu'aucune dérive n'est présente. Et auquel cas, mettre en place des actions correctives le plus rapidement possible.

ii. L'aéraulique

Le système aéraulique à mettre en place en zone propre à pour but de maintenir l'air des zones à empoussièrement contrôlé dans les conditions définies par les exigences (le personnel, le produit, le procédé…). ***(BCMI, 2005, p77-79)***

Cinq critères sont à prendre en compte :

- La filtration de l'air
- La diffusion de l'air

- Le maintien en surpression (ou dépression)
- Le taux de brassage (recyclage, extraction …)
- Le contrôle des conditions physiques de l'air.

La filtration de l'air a pour but de préserver la salle propre de la contamination extérieure apportée par l'air neuf, d'éliminer la génération de contaminants intérieurs et enfin, de préserver la qualité de l'air rejeté. La quantité et la qualité des étages de filtration sont fonction des résultats à obtenir et de l'activité dans les locaux concernés.

La diffusion de l'air permet d'assurer la captation et l'évacuation des contaminants. Les régimes d'écoulement de l'air des salles propres peuvent être caractérisés comme étant soit unidirectionnels soit non unidirectionnels.

Les régimes d'écoulement de l'air dans des salles propres de classe ISO 5 (Classe A) ou plus propre en activité sont souvent unidirectionnels, alors que l'on trouve typiquement des flux de type non unidirectionnel ou mixte dans des salles de classe C ou D. ***(NF S 90-351, 2003-06, A2.1, p15)***

On appelle flux d'air unidirectionnel, un flux d'air maîtrisé traversant l'ensemble d'un plan de coupe d'une zone propre, possédant une vitesse régulière et des lignes de flux parallèles ***(ISO 14644-6 : 2007, p28).*** Ces flux étant très sensibles à toute variation de l'environnement, il faut s'assurer qu'il y ait le minimum de perturbation du flux d'air dans l'environnement immédiat du procédé. (NF ***S 90-351, 2003-06, A2.2, p15)***

Les flux d'air sont donc émis unidirectionnellement au travers d'un filtre terminal, ils vont balayer les zones critiques du procédé puis être réaspirés par des reprises.

Ces flux d'air peuvent être diffusés soit sur des axes horizontaux ou soit sur des axes verticaux, le choix de l'axe dépend lui-même de l'axe du procédé à protéger. Si le procédé se déroule selon un axe vertical, alors l'axe du flux d'air sera horizontal, et inversement. ***(NF S 90-351, 2003-06, A2.1, p15)***

iii. Les centrales de traitement d'air

(D. Bertin, 2012), (Euroflux, 2013)
Afin de maintenir le bon fonctionnement d'une salle propre il faut mettre en place un système de filtration de l'air. Un filtre est un appareil qui va retenir les particules contenues dans le flux d'air qui le traverse. ***(BPF, 2011)***
<u>En zone à atmosphère contrôlée, il faut donc mettre en place un système de chaîne de filtration qui permettra :</u>

- D'apporter un air aussi propre que le prévoit la norme (confère Ligne directrice 1 des BPF)
- De permettre un recyclage de l'air de la salle avec une remise à niveau de la contamination particulaire telle que le prévoir la norme (confère Ligne directrice 1 des BPF).

<u>Une chaîne de filtration contient :</u>

- Une arrivée d'air
- Des gaines de conduite d'air
- Une centrale de traitement d'air (CTA) contenant les filtres de ventilation
- Des filtres à (très) haute efficacité
- Des reprises d'air
- Un système d'évacuation et de recyclage de l'air repris

Cette chaîne de filtration se schématise comme ceci :

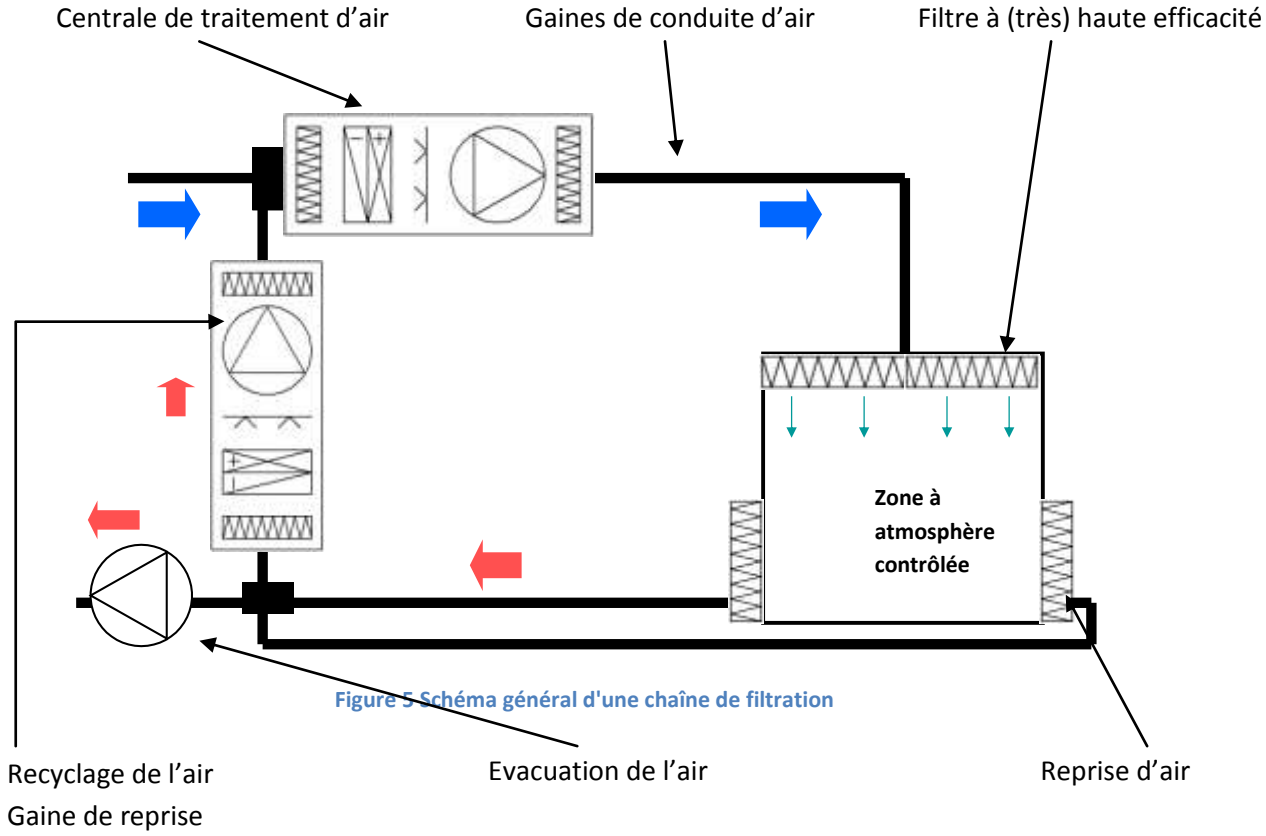


Figure 5 Schéma général d'une chaîne de filtration

Eléments contenus dans une centrale de traitement d'air :

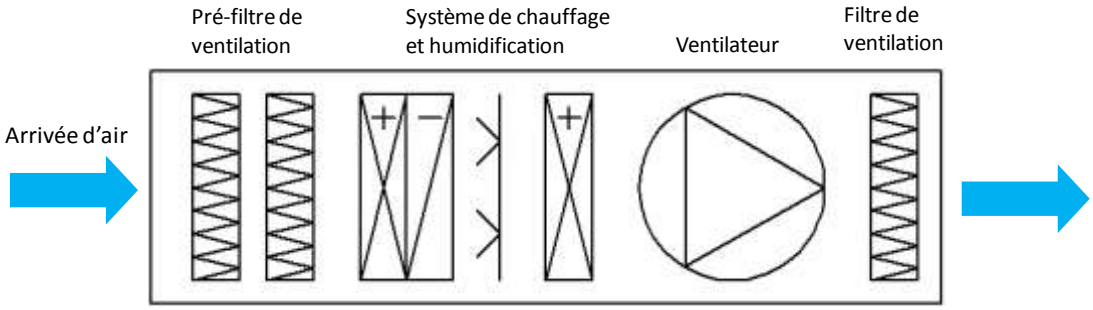


Figure 6 Schéma général d'une CTA

La norme NF EN 779, régit les **filtres de ventilation**. Ces filtres sont utilisés dans les centrales de traitement d'air et dans les gaines de reprise, comme le montrent les schémas ci-dessus. Ils sont divisés en trois catégories : les Grossiers, les Moyens et les Fins (G, M, F). Ces trois catégories sont elles-mêmes divisées en trois classes.

La norme NF EN 1822, régit les **filtres à haute efficacité**. Ces filtres sont utilisés pour filtrer l'air arrivant en zone à atmosphère contrôlée (=filtre terminal) ou bien dans les centrales de traitement d'air. Ces filtres sont divisés en trois groupes ***(*PIC/S, 2009**) :

- Groupe E : Les filtres à haute efficacité (EPA : Efficiency Particulate Air)
- Groupe H : les filtres à très haute efficacité (HEPA : High Efficiency Particulate Air)
- Groupe U : les filtres à très faible pénétration (ULPA : Ultra Low Penetrating air)

L'efficacité des ULPA est plus forte que celle des HEPA, elle-même plus forte que celle des EPA.

Les filtres de ventilation servent donc de filtrant pour l'air arrivant dans la centrale de traitement d'air mais aussi de protection des filtres alimentant en air la zone à atmosphère contrôlée. Ces filtres d'efficacité moindre sont surtout utilisés en amont des filtres terminaux, afin de limiter le colmatage rapide de ces derniers.

Afin de définir quel filtre utiliser et quel endroit de la chaîne de filtration, un paramètre majeur est à prendre en compte : l'efficacité, E, du filtre.

L'efficacité d'un filtre d'air se définit comme le pourcentage du rendement, R, d'un filtre. Le rendement se définit comme le rapport de la quantité de particules captées par le filtre par rapport à la quantité q qui lui a été présentée. Ainsi, si R=0,75, le filtre a une efficacité de filtration de E= 75%, c'est-à-dire qu'il retient 75% des particules qui s'y présentent.

Ainsi, nous obtenons les valeurs d'efficacité en fonction des différentes classes de filtres à haute efficacité pour une taille de particule de 0,3µm (selon la norme NF EN 1822) :

Tableau IV Valeurs d'efficacité et de pénétration en fonction des différentes classes de filtres à haute efficacité

	Valeur intégrale
Classe du filtre	**Efficacité %**
H10	85
H11	95
H12	99,5
H13	99,95
H14	99,995
U15	99,9995
U16	99,99995
U17	99,999995

Par conséquent, la chaîne de filtration sera choisie en fonction de :

- La qualité de l'air à filtrer
- La classe environnementale de la zone
- La position du filtre sur cette chaîne.

Dans le cas de zones à atmosphère contrôle, l'efficacité finale nécessaire est fixée à 0,5µm selon les BPF. Par conséquent, le filtre terminal de la chaîne de filtration recommandé devra être un H14 ou un U15.

La figue 7 représente une chaîne de filtration utilisées pour les zones classées A, et par conséquent dans les isolateurs de répartition.

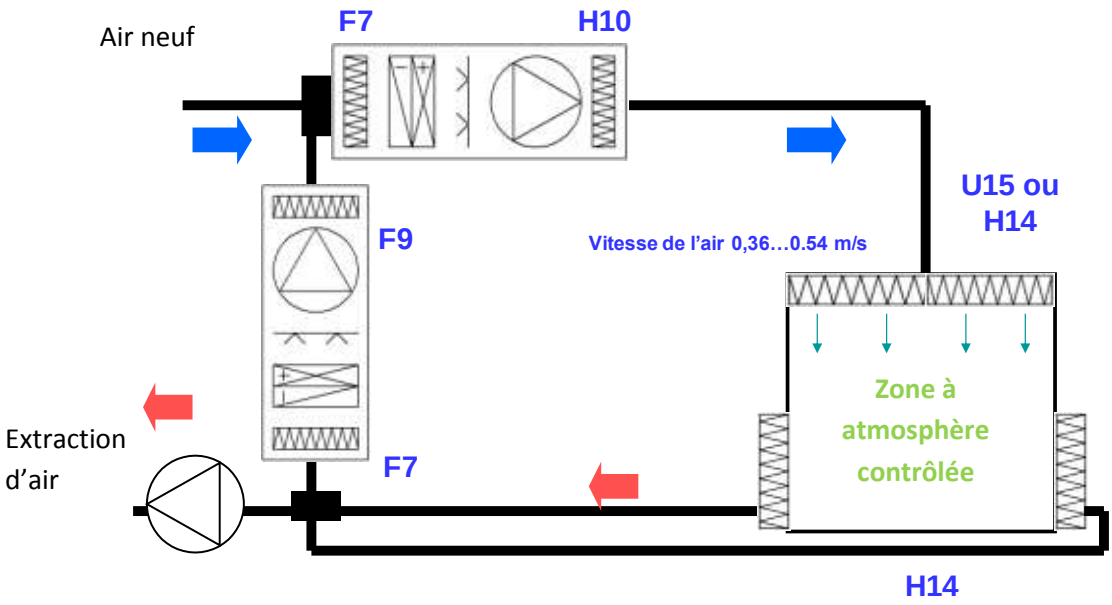


Figure 7 Exemple de chaîne de filtration pour une classe A

d. Les équipements et le matériel

Les équipements et le matériel doivent eux aussi répondre à des critères particuliers. Les BPF imposent, dans la mesure du possible que : ***(BPF, 2011, LD1, n°57 et 75)***

- Le matériel, les appareils et les installations techniques doivent être conçus et installés afin de permettre que les interventions, l'entretien et les réparations puissent être effectués de l'extérieur de la zone d'atmosphère contrôlée.
- Les récipients et les produits susceptibles de libérer des fibres ne doivent pas être introduits dans les zones d'atmosphère contrôlée.

Il faut aussi veiller à ce que les équipements utilisés, de par leur mise en mouvement et les frottements qui s'en suivent, ne relargent pas une quantité trop importante de particules.

e. Le nettoyage et la désinfection

Concernant le nettoyage dans les zones à atmosphère contrôlée, les BPF imposent :
(BPF, 2011, LD1, n°57 , 77, 78, 81)

- Si une stérilisation s'impose après une intervention sur l'équipement, celle-ci doit être effectuée, dans la mesure du possible, après la remise en état.
- Après le dernier processus de nettoyage, les accessoires, les récipients et le matériel doivent être manipulés de façon à ne pas être recontaminés.
- L'intervalle de temps entre le lavage, le séchage et la stérilisation des accessoires, des récipients et du matériel, ainsi qu'entre la stérilisation et l'utilisation, doit être le plus court possible. Une durée limitée doit être fixée en fonction des conditions de stockage.
- Les accessoires, les récipients, le matériel et tout autre article nécessaire en zone d'atmosphère contrôlée lors de fabrications aseptiques doivent être stérilisés et introduits dans la zone par des stérilisateurs à double porte, scellés dans le mur ou suivant une procédure garantissant une non contamination. Les gaz non combustibles doivent passer au travers d'un filtre antimicrobien.

Concernant la désinfection dans les zones à atmosphère contrôlée, les BPF imposent :
(BPF, 2011, LD1, n°61 et 62)

- De les nettoyer minutieusement, conformément à un programme écrit.
- D'employer plusieurs désinfectants et de différents types.
- D'avoir une surveillance microbiologique régulière en vue de détecter tout développement de souches résistantes.
- Les désinfectants et les détergents doivent être contrôlés sur le plan de la contamination microbienne ; leurs dilutions doivent être conservées dans des récipients nettoyés au préalable et ne peuvent être stockées pour une durée déterminée à moins qu'elles n'aient été stérilisées.
- Les désinfectants et détergents utilisés dans des zones de classe A et B doivent être stériles.

3) Monitoring environnemental associé au travail en zone à atmosphère contrôlée

Un programme de monitoring couvrant tous les postes de production incluant l'air, les sols, les murs et les surfaces des équipements doit être mis en place. Ce monitoring doit obligatoirement inclure les points critiques qui entrent en contact direct avec les produits, le contenant ou le système de fermeture de ce contenant. ***(BPF, 2011, LD1, n°18*)**, ***(US FDA, 2004,***
Ce monitoring concerne les particules et les micro-organismes potentiellement présents dans les zonées à atmosphère contrôlée. ***(*PIC/S, 2009**)

Le monitoring microbiologique effectué sur les points les plus à risques permet de prouver que les conditions d'aseptie ont été maintenues tout au long de la production. . ***(*PIC/S, 2013**)

Ce monitoring doit être procéduré et être défini en termes de durée, fréquence et localisation.

Les BPF nous imposent un contrôle de l'air par prélèvement actif et par sédimentation, un contrôle de surface par gélose contact et enfin un contrôle par empreintes des gants des opérateurs travaillant en ZAC. ***(BPF, 2011, LD1)***

a. Contrôle microbiologique de l'air

(US FDA, 2004)

Méthode par sédimentation – prélèvement passif de l'air :

Une boîte de Pétri contenant un milieu gélosé est laissée ouverte pendant une durée prédéterminée, afin de recueillir les particules par sédimentation.

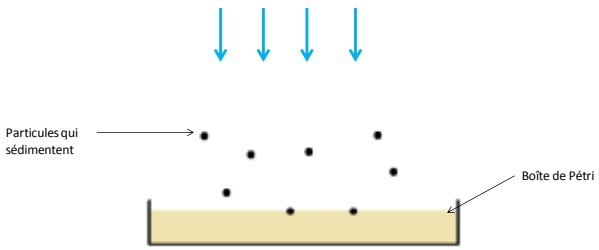


Figure 8 Méthode par sédimentation

Tableau V Avantages et inconvénients de la méthode par sédimentation

Avantages	Inconvénients
Pas besoin de matériel spécifique	Temps de prélèvement long (jusqu'à 4h par boîte)
Méthode peu coûteuse	Seuls les micro-organismes qui tombent sur la gélose seront détectés – pas quantitatif.

Méthode par aspiration – prélèvement actif de l'air :

Un certain volume d'air est aspiré au travers d'un crible qui permet de faire s'impacter les micro-organismes et particules sur une boîte de Pétri contenant un milieu gélosé. Le volume aspiré doit être représentatif de la zone considérée. Le débit d'air doit être suffisant pour pouvoir prélever 1m^3 d'air dans un temps raisonnable et afin d'obtenir une vitesse d'impaction appropriées, afin d'assurer l'impaction des particules, tout en assurant la conservation de la viabilité des particules.

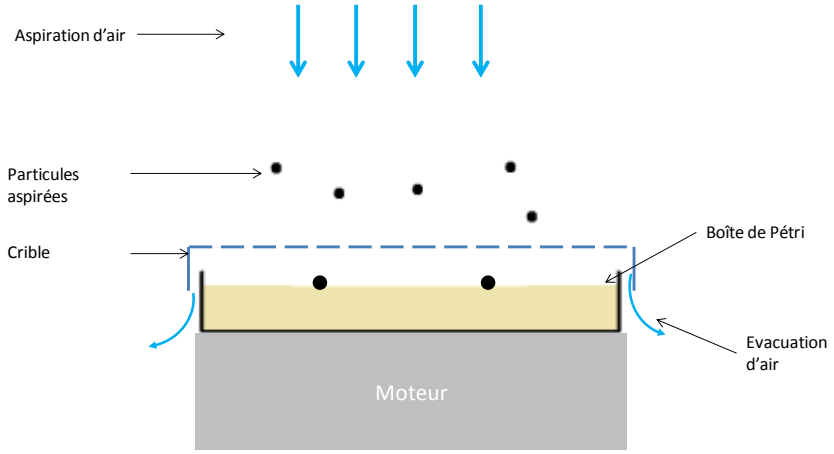


Figure 9 Méthode par aspiration

En classe A, la vitesse de l'air aspiré doit être isocinétique à la vitesse du flux d'air généré. Ceci permet d'éviter la génération involontaire de turbulences des flux d'air. ***(BPF, 2011, LD1, n°6)***

Tableau VI Avantages et inconvénients de la méthode par aspiration

Avantages	Inconvénients
Facile d'utilisation	Altération de la viabilité des micro-organismes si temps de prélèvement trop long
Maniable	Dessèchement de la gélose si temps de prélèvement trop long
Rapidité de prélèvement (environ 1o min pour 1m3 d'air prélevé)	Coût du matériel

b. Contrôle microbiologique des surfaces

Toutes les surfaces doivent faire l'objet d'un monitoring, que se soient les sols, les murs ou les surfaces des équipements. ***(US FDA, 2004)***

Différentes méthodes existent. Celles-ci sont propres à chaque entreprise et doivent avoir été validées par des tests appropriés.

Méthode par empreinte :

- Boîte contact : boîte de Pétri possédant un ménisque de milieu de culture convexe. La boîte de Pétri est fixée à un appareil permettant une application facilitée sur la surface à contrôler. Cet appareil dispose d'une alarme émettant un son indiquant la fin du prélèvement lorsque le temps et la force d'application ont été respectés. On applique directement ce milieu de culture sur la surface à prélever.
- Lame gélosée : lame recouverte de chaque côté par un milieu de culture. On applique directement le milieu de culture sur la surface à contrôler.
- Pétrifilm : milieu gélosé déshydraté placé entre deux films. On l'applique directement sur la surface à contrôler après réhydratation.

Méthode par écouvillonnage :
Ecouvillon sec ou humidifié qui est frotté contre la surface à contrôler. Cet écouvillon sert ensuite à ensemencer des milieux de cultures.

Méthode par chiffonnettes ou épongettes :
La méthodologie est identique à l'écouvillonnage.

Après prélèvement, les milieux de cultures sont mis à incuber à température adéquate.

Avantages et inconvénients des différentes méthodes :

	Boîte Contact	**Lame gélosée**	**Ecouvillonnage**
Prêt à l'emploi	OUI	OUI	NON
Facile d'utilisation	OUI	OUI	NON
Méthode standardisée	OUI	NON	NON
Milieu sélectif possible	OUI	OUI	OUI
Action mécanique possible	NON	NON	OUI
Utilisation sur des surfaces non planes possible	NON	NON	OUI

Tableau VII Avantages et inconvénients des méthodes de prélèvements de surface

c. Contrôle particulaire de l'environnement

(US FDA, 2004) Le contrôle particulaire de routine permet de détecter rapidement toute variation de tendance environnementale en zone classée. Ce monitoring se fait par des compteurs particulaires placés à des endroits stratégiques. Un volume d'air prédéfini est prélevé de façon régulière. Tout dépassement de seuil induit une mise en alarme du système. ***(BPF, 2011, LD1, n°11)***

Ce contrôle permet ainsi de montrer que la classification de la salle est maintenue.

La sonde d'échantillonnage doit être placée verticalement, dirigée vers le haut. ***(NF ISO 14644-3-2006 annexe B1)***

d. Contrôle du personnel

Des échantillons microbiologiques des surfaces de gants de chaque opérateur doivent être prélevés.
Des prélèvements supplémentaires peuvent être réalisés pour le personnel travaillant en zones de classe A/B, tels que par exemple un contact de la cagoule, des avant-bras et du torse.

e. Contrôles effectués sur les flux d'air

La norme ISO 14644-3, propose différents essais permettant de prouver que les moyens mis en œuvre pour maîtriser l'environnement sont efficaces.

Mesure du débit d'air : c'est l'évaluation de la vitesse d'écoulement de l'air et de son uniformité. Il est aussi question de mesurer le débit d'air soufflé. Ces mesures sont nécessaires dans les zones classées.
Le débit d'air soufflé permet d'évaluer le volume d'air soufflé par unité de temps mais aussi il peut servir pour déterminer le taux de renouvellement d'air par unité de temps. Il est mesuré en aval des filtres terminaux ou dans des conduits de soufflage.
Les deux méthodes font appel à la mesure de la vitesse de l'air traversant un plan d'aire connue, le débit de l'air étant le produit de la vitesse de l'écoulement de l'air et de l'aire du plan de mesure.

Tableau VIII Contrôles du flux d'air et matériels utilisés

Test	Equipement utilisé	description
Vitesse de l'air	Anémomètre thermique (pour les flux d'air de faible vitesse)	Mesure la vitesse de l'air par suivi de la variation du transfert thermique d'un petit capteur chauffé par électricité et exposé au flux d'air.
	Anémomètre tridimensionnel à ultrasons	Mesure la vitesse de l'air en captant la dérive de la fréquence du son (ou vitesse acoustique) entre des points séparés placés dans la veine d'air mesurée.
	Anémomètre à Hélice (pour les flux d'air de forte vitesse)	Mesure la vitesse de l'air en comptant le nombre de tours par unité de temps d'une hélice exposée à la veine d'air.
	Tubes de Pitot et manomètre	Mesure la vitesse de l'air à partir de la différence des pressions totale et statique à un endroit dans la veine d'air, à l'aide de manomètres électriques digitaux.
Débit d'air en aval des filtres	Balomètre	Mesure le débit transitant par une section à l'intérieur de laquelle il peut y avoir des variations d'écoulement et fournit un débit global pour cette section. Le débit total est recueilli et concentré de sorte que la vitesse au point de mesure représente la vitesse moyenne sur l'ensemble de la section.
Pression différentielle de l'air	Micromanomètre électronique	Mesure la valeur de la pression différentielle de l'air entre un espace et celui qui l'entoure en détectant la variation de la capacitance électrostatique ou de la résistance électronique provoquée par le déplacement d'un diaphragme.
	Manomètre à tube incliné	Mesure la différence de pression de l'air entre deux points, en détectant visuellement une modulation sur une échelle inclinée qui indique la pression millimétrique dans un tube rempli d'un liquide tel l'eau ou l'alcool.
	Manomètre mécanique de pression différentielle	Mesure la pression différentielle de l'air entre deux zones en détectant l'ampleur du déplacement d'une aiguille reliée à un engrenage ou une tringlerie magnétique, dû au déplacement d'un diaphragme.
Direction du flux d'air (Test de fumée)	Brouillard de fumigène	Visualisation et enregistrement vidéo du flux que suit la fumée diffusée à l'aide d'une poire

f. Fréquence du monitoring

i. Essais périodiques de maintien de la conformité des ZAC

Tableau IX Fréquence du monitoring pour prouver le maintien de l'efficacité

Catégorie	Fréquence recommandée
Classification particulaire	
Compteurs particulaires	Classe A : tous les 6 mois (BPF) Autres classes : au moins 1 par an
Air	
Débit d'air	1 par an
Pression différentielle de l'air	1 par an
Fuite d'un filtre	Tous les 2 ans
Visualisation du flux d'air	Tous les 2 ans
Récupération	Tous les 2 ans

(NF EN ISO 14644-2, 2000)

ii. Essais de routine

Ces essais se font généralement dans une salle en activité. Il est tout à fait possible de réaliser des tests complémentaires dans des salles au repos.

Tableau X Fréquence du monitoring en routine

Catégorie	Fréquence recommandée
Monitoring microbiologique de l'air	
Prélèvement passif	Monitoring continu. 1 boîte est exposée au maximum 4 heures.
Prélèvement actifs	Aux étapes critiques de production prédéfinies.
Monitoring microbiologique de surfaces	
Toute méthode confondue	Aux étapes critiques de production prédéfinies
Monitoring particulaire de l'air	
Comptages particulaires	En continu pour la classe A Fréquence à définir pour les autres classes.
Monitoring du personnel	
Gants	1 prélèvement de chaque main gantée par jour, par lot ou toute autre fréquence prédéfinie par l'entreprise

(BPF, 2011, LD1, n°8 et 9)

4) Une ZAC particulière : l'isolateur

Un isolateur se définit comme, un appareil qui emploie des techniques de barrière étanche pour effectuer la séparation entre l'ambiance interne et l'ambiance externe ou environnante. C'est donc un volume clos, étanche, stérilisable, limité par deux filtres à très haute efficacité dans lesquels les opérateurs peuvent intervenir tout en restant à l'extérieur du volume confiné. ***(ISO 14644-7, 2004), (BCMI, 2005, p101)***

a. Structure d'un isolateur de répartition

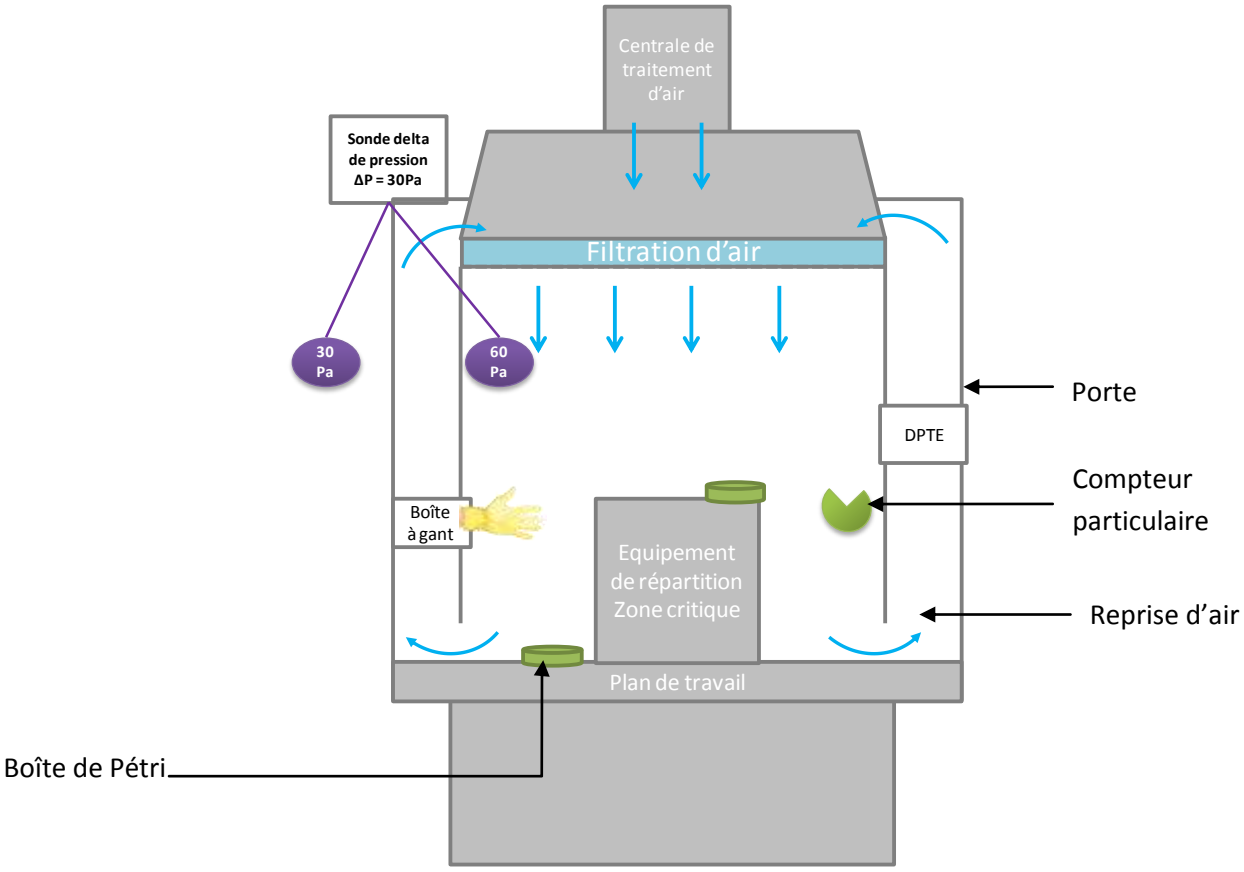


Figure 10 Schéma en coupe d'un isolateur

Un isolateur est constitué des principaux éléments suivants :

- Un système d'arrivée d'air alimenté par une centrale de traitement d'air.
- D'un filtre d'air permettant la diffusion d'un flux d'air unidirectionnel
- D'un système de reprise d'air permettant le recyclage de l'air et une réinjection dans l'isolateur
- D'une ou plusieurs boîtes à gant ou d'hémi-scaphandre ou scaphandre.
- D'un ou plusieurs systèmes de transfert (DPTE…)
- D'un plan de travail où se situe l'équipement de répartition
- De portes permettant le confinement
- De sondes de Pression à l'intérieur et à l'extérieur de l'isolateur, afin de surveiller le delta de pression.

- Des compteurs particulaires en continu et des systèmes permettant l'exposition de boîtes de Pétri.

b. Isotechnie

Les avantages du travail sous isolateur sous nombreux :

- Meilleure protection du produit contre ce qui constitue son plus grand risque de contamination : l'Homme ;
- Une meilleure protection des opérateurs contre les composés potentiellement dangereux ;
- Un niveau plus élevé de garantie de la stérilité
- Une économie de dépense concernant le maintien de classe environnementale, car il est possible d'utiliser un isolateur dans un environnement de classe D. En effet, le renouvellement d'un mètre cube d'air de classe B a un coût plus élevé que celui d'une classe C ou D. Il en est de même concernant l'habillage, les tenues de classes A/B sont plus chères que celles de classes C/D. ***(BPF, 2011, LD1, n°23)***

c. Fonctionnement d'un isolateur de répartition aseptique

Un isolateur dispose de quatre grandes fonctions :

- Le confinement
- Le traitement et la stérilisation de l'air et des surfaces
- La manipulation
- Les transferts

Le confinement se traduit par la présence de barrières matérielles (Carters) qui séparent le produit de l'environnement où se situe le personnel. Ce confinement peut être rigide ou souple, choisi en fonction de la nettoyabilité, la compatibilité avec les produits utilisés, la capacité à ne pas générer d'électricité statique ou de particules et enfin leur coût. ***(BCMI, 2005, p102)***

Le traitement et la stérilisation de l'air et des surfaces doivent être maîtrisés car c'est dans l'isolateur que le produit sera en contact avec l'air. Il faudra donc veiller à ce que le volume interne soit maintenu en surpression par un système de ventilation et de filtration stérile de l'air. Ceci permet de créer un environnement exempt de germes. Un système permettant de décontaminer l'enceinte (air, parois, surfaces des équipements…) de l'isolateur est présent. ***(BCMI, 2005, p102)***
Ce système de décontamination permet d'obtenir une destruction des germes présents sur toutes les surfaces exposées de l'enceinte de l'isolateur. Il ne permet donc pas de décontaminer les surfaces non exposées. Par exemple, la surface interne d'une vis papillon ou d'un écrou sur son support n'est donc pas en contact avec l'enceinte de l'isolateur. Cette surface ne sera donc pas décontaminée, par conséquent, si un incident pendant la production induit la mise en contact de cette surface avec l'enceinte de l'isolateur (chute de la vis, dévissage…), la stérilité de l'enceinte doit immédiatement être remise en cause.

La manipulation, soit l'intervention des opérateurs à l'intérieur de l'enceinte de confinement, se fait par un système de gants, montés sur manchettes ou par un demi-scaphandre ou un scaphandre. Ces systèmes doivent respecter l'étanchéité de l'isolateur. ***(BCMI, 2005, p102)***

Figure 11 Boîtes à gants
(GSK, Notre Dame de Bondeville)

Le transfert (système de transfert) ou l'introduction du matériel de l'extérieur vers l'intérieur de l'isolateur est une étape critique. En effet, tout matériel entrant dans l'isolateur doit être stérile. Ce transfert peur se faire par un système de tunnel de décontamination (accélérateur d'électrons de type E-Beam, Infra-rouge, vapeur…) ou par un système de Double Porte de Transfert Etanche (DPTE). La sortie du matériel doit aussi être maîtrisée, ceci au travers d'un orifice protégé des retours de contamination par un flux d'air.

(ISO 14644-6, 2007, p27), (Getinge.com, 2013, (BCMI, 2005, p102)

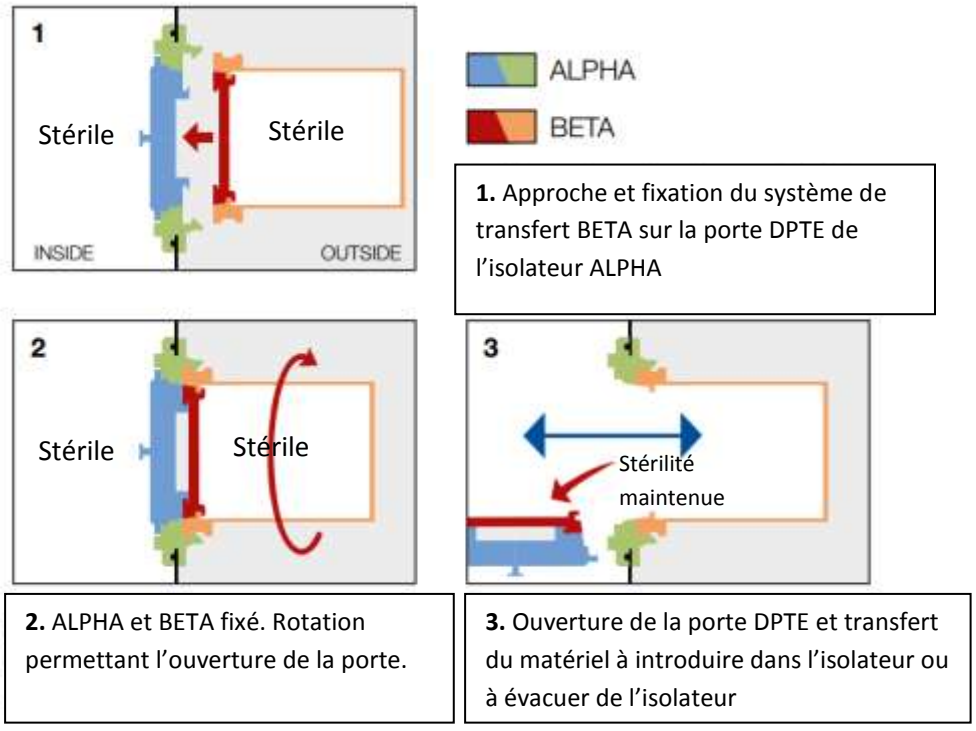


Figure 12 Mode de fonctionnement d'une porte DPTE

d. Le travail sous isolateur

Travailler sous isolateur, soit en classe A, implique un bon nombre de précautions.
Le comportement du personnel sous isolateur est aussi très important. Il faudra donc veiller à limiter ses mouvements avec les boîtes à gants, n'effectuer que les mouvements procédurés, éviter de se déplacer inutilement, faire des gestes lents et calmes.

En effet, les flux unidirectionnels sont fragiles, des turbulences peuvent se créer très facilement et donc provoquer la mise en suspension dans l'air de particules et leur dissémination dans la salle.***(F.Laban, 2012), (US FDA, 2004)***
Afin de maintenir un état stérile de l'enceinte de l'isolateur et éviter la propagation d'une contamination probable, le personnel doit veiller à désinfecter régulièrement ses gants et ceux des boîtes à gants, en utilisant un désinfectant approprié. Cette désinfection doit se faire après chaque contact et avant d'intervenir sous flux ou poste critique, après quelques secondes de contact, car il serait dommageable d'apporter du désinfectant dans le produit à répartir. ***(F.Laban, 2012)***

Lors d'intervention dans l'isolateur, il faudra bien veiller à ***(F.Laban, 2012), (US FDA, 2004)***

- S'assurer que les outils stériles qui entrent potentiellement en contact avec les surfaces de contact produit, soient posés sur des surfaces elles-mêmes stériles
- S'assurer de ne pas se positionner ou déposer d'objet devant les reprises d'air car cela empêche la bonne évacuation de l'air et perturbe le flux unidirectionnel généré et le taux de renouvellement d'air.
- Ne pas se placer juste au-dessus de la zone de remplissage/bouchage du produit. Cette zone est la plus critique du procédé car le produit est en contact direct avec l'environnement.

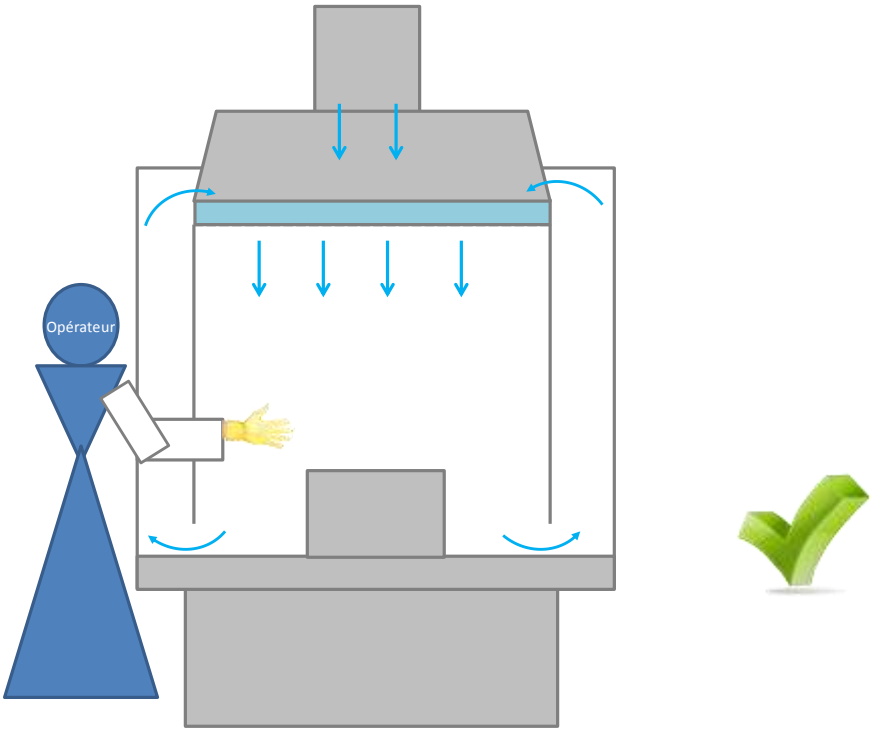


Figure 13 Bonne position sous isolateur

Aucun élément n'influence les flux d'air unidirectionnels. Les reprises d'air ne sont pas obstruées. La zone de remplissage/bouchage n'est pas masquée par le gant ou tout autre élément.

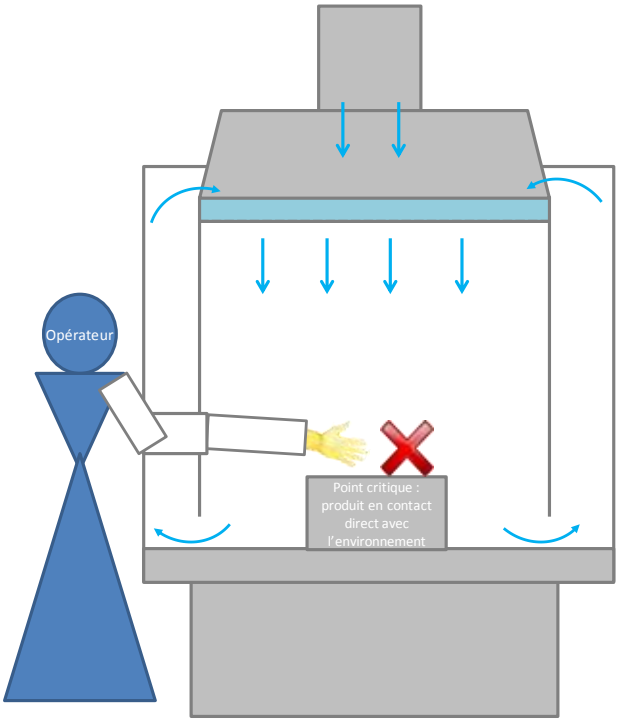


Figure 14 Mauvaise conduite sous isolateur 1/2

Le gant est positionné juste au dessus de la zone la plus critique du procédé, c'est-à-dire là où le produit à répartir est en contact avec l'environnement. Le flux unidirectionnel au dessus de ce point permet de balayer la moindre particule présente. Dans le cas présent, le flux d'air unidirectionnel ne peut pas protéger cet endroit car le gant empêche tout passage du flux d'air. De plus, le relargage potentiel de particules par le gant est un risque supplémentaire de contamination du produit.

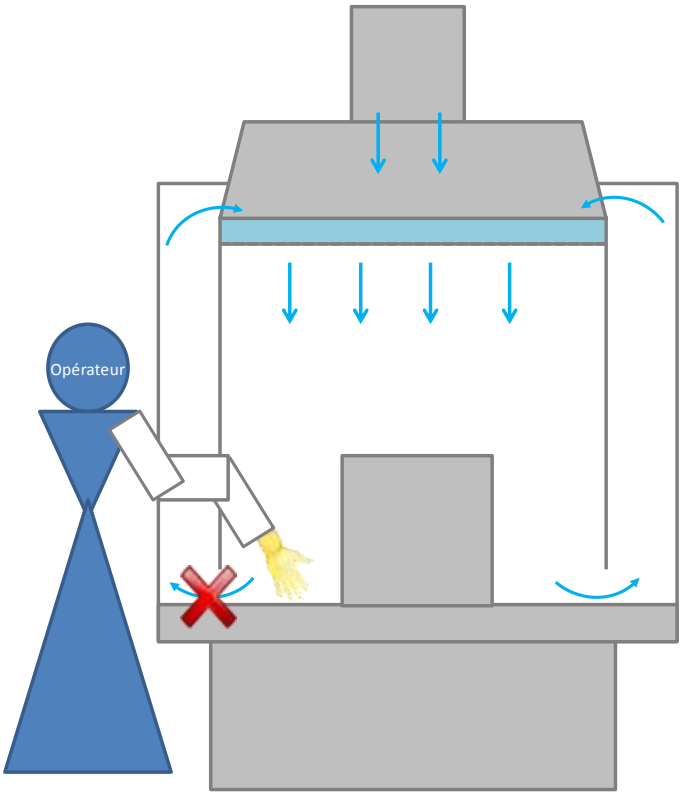


Figure 15 Mauvaise conduite sous isolateur 2/2

Il n'y a pas de reprise d'air possible car la position de la manchette du gant obstrue la reprise d'air.

e. Surveillance de routine

Tableau XI Surveillance de routine dans l'isolateur

Monitoring effectué dans l'isolateur	Fréquence recommandée
Biodécontamination	Au minium à chaque ouverture des portes de l'isolateur ou incident remettant en cause la stérilité de l'enceinte
Monitoring microbiologique de l'air	
Prélèvement passif	Monitoring continu en cours de production 1 boîte est exposée au maximum 4 heures.
Prélèvement actif	Aux étapes critiques de production prédéfinies.
Monitoring microbiologique de surfaces	
Toute méthode confondue	Aux étapes critiques de production prédéfinies
Monitoring particulaire de l'air	
Compteurs particulaires	En continu.
Test d'efficacité du traitement d'air	
Débit d'air	En continu
Pression différentielle	**En continu**
Température	En continu
Test d'étanchéité de l'isolateur	
Test d'étanchéité des systèmes de transfert	Fréquence à définir par l'entreprise
Test d'étanchéité des boîtes à gant	Fréquence à définir par l'entreprise
Test de fuite de l'isolateur	Au minimum avant toute biodécontamination

(BPF, 2011, LD1, n°8 et 9)

Un exemple de test d'étanchéité des boîtes à gant : le test GLT (Glove Leak Test) consiste à utiliser un appareil que l'on nomme contrôleur de gant. Ce dernier permet de contrôler l'étanchéité des gants d'un isolateur sans rompre leur étanchéité, ceci à une température fixe donnée et mesurée tout au long du test. Pour cela le gant est introduit dans une chambre de contrôle qui fait circuler un gaz neutre (azote) de manière à évacuer l'oxygène, puis est mise en dépression. Un oxymètre est connecté à la chambre. Si le gant est poreux ou fuyant, l'air provenant de l'intérieur de l'isolateur pénètre dans la chambre. L'oxymètre va détecter la présence d'oxygène et statuera sur la non-conformité du gant testé. Inversement, si aucune trace d'oxygène n'est relevée, le gant sera déclaré conforme. ***(GSK, 2011)***

Le test de fuite de l'isolateur consiste à comparer la pression différentielle à l'aide d'un capteur de pression. Pour une température donnée (25°C par exemple), l'isolateur est mis en surpression, à une valeur égale à 150 Pascals, après une phase de stabilisation et un retour à une pression de 100 Pascals. Le capteur va mesurer la chute de pression dans l'isolateur sur un temps déterminé. On obtient une valeur de delta de pression. ***(GSK, 2011)***

Le test d'étanchéité des systèmes de transfert est identique à celui du test d'étanchéité de l'isolateur.

f. Exemple d'une méthode de décontamination de l'environnement

En parallèle de la prévention de tout apport de contaminant dans l'enceinte de l'isolateur, il est nécessaire d'assurer une désinfection régulière de ce dernier, ceci afin de limiter tout développement de microorganismes.

La décontamination se définie comme la réduction d'une matière non désirée à un niveau défini. Ce procédé permet d'éliminer la charge d'organismes viables via l'utilisation d'agents chimiques sporicides ***(ISO 14644-6, 2007, p12), (US FDA, 2004)***

La désinfection se définit comme l'élimination, la destruction ou l'inactivation de micro-organismes sur des objets ou des surfaces. Elle permet d'atteindre une réduction en micro-organismes jusqu'à un niveau considéré comme sûr en termes de sécurité ou bien une élimination totale de ces derniers. ***(ISO 14644-6, 2007, p13), (US FDA, 2004)***

Des technologies à base de gaz sont très largement employées. Le formaldéhyde gazeux a été utilisé durant de nombreuses décennies. Il est obtenu en chauffant une solution de formol ou de paraformaldéhyde. Mais les questions d'environnement, d'hygiène et de sécurité ainsi que son efficacité remettent en cause son utilisation. En effet, il est cancérigène et laisse des résidus toxiques qu'il faut neutraliser. ***(G.Dufort, 2010) (M. Nicholson, 2012)***
Des technologies alternatives ont été trouvées. On peut citer l'ozone, l'acide peracétique, le dioxyde de chlore et le peroxyde d'hydrogène gazeux.

Parmi cette liste, le peroxyde d'hydrogène présente plusieurs avantages. Il est facile d'utilisation, efficace contre une large gamme de micro-organismes, compatibles avec les matériels ***(J.E. Meszaros, 2005),*** le temps de cycle de décontamination court, ne porte pas atteinte à la santé ni à l'environnement et est peu coûteux.

i. Méthode au peroxyde d'hydrogène gazeux

La dégradation du peroxyde d'hydrogène :

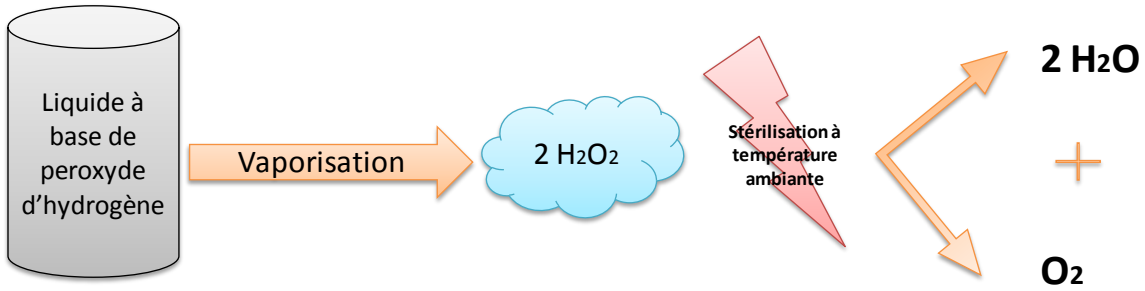


Figure 16 Processus de dégradation du peroxyde d'hydrogène

(M. Nicholson, 2012)

Des produits intermédiaires, tels que des radicaux libres sont générés, ils ont un pouvoir oxydant très fort sur l'ADN et les couches lipidiques des bactéries de manière irréversible. Ces modifications de la structure cellulaire induit la mort de l'organisme exposé.

Des générateurs permettent la vaporisation du peroxyde d'hydrogène. Le gaz est distribué vers l'enceinte de l'isolateur à décontaminer.

Avant de lancer tout cycle de décontamination, un test d'étanchéité de l'isolateur est réalisé afin de s'assurer que celui-ci est bien étanche et donc n'induit pas de fuite de peroxyde d'hydrogène dans la salle environnante. Pendant la décontamination, le personnel ne doit pas pouvoir accéder à la salle de l'isolateur, ceci pour des raisons de sécurité (risque d'intoxication si fuite de peroxyde d'hydrogène en cours de décontamination).

Le cycle de décontamination consiste en quatre phases :

- Déshumidification : l'humidité est réduite à un niveau approprié pour prévenir la condensation par rapport au volume de l'enceinte.
- Conditionnement : le peroxyde d'hydrogène gazeux est produit par la vaporisation de peroxyde d'hydrogène liquide qui est introduit dans la zone pour élever la concentration à un niveau prédéterminé.
- Décontamination : la concentration du peroxyde d'hydrogène gazeux est maintenue à un niveau inférieur au point de condensation pendant cette phase, un plateau de stérilité est obtenu et maintenu par des injections successives pendant un temps prédéfini, cette concentration va permettre la destruction microbienne.
- Aération de la zone afin d'atteindre une concentration dans l'air inférieure à 1 ppm. L'autorisation de retourner dans la zone est alors accordée (Valeur limite d'exposition professionnelle). ***(N. Bonnard, 2007)***

Lors de ces phases, l'équipement est en activité, toutes les pièces sont en mouvement afin de permettre l'exposition et la mise en contact de toutes les surfaces au peroxyde d'hydrogène vapeur.

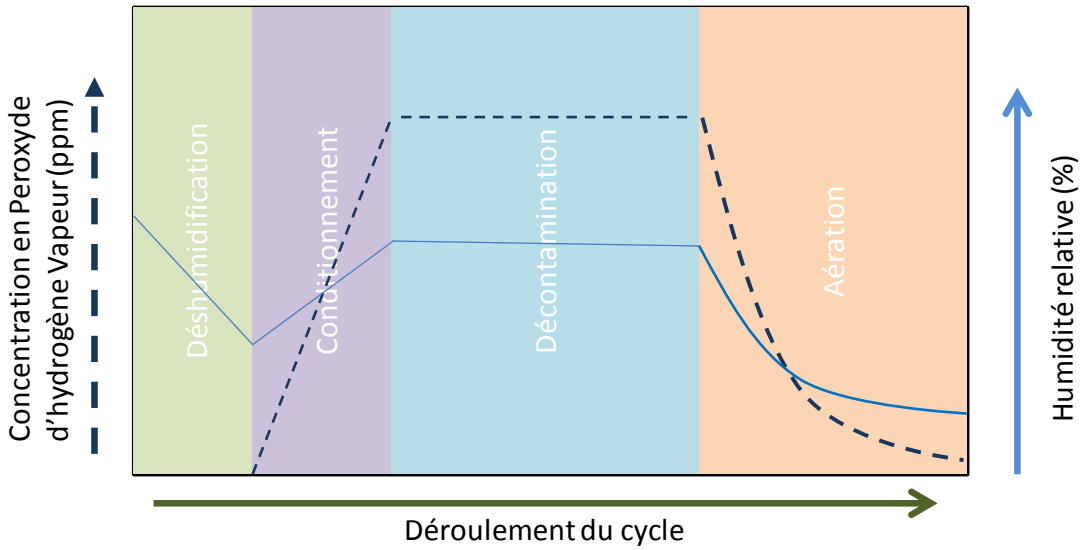


Figure 17 Phases du cycle de décontamination par le peroxyde d'hydrogène gazeux

(Howorthgroup.com, 2013)

ii. Mesure de l'efficacité de la décontamination

(Pharmacopée Européenne, 2002) Un indicateur biologique consiste en une préparation de micro-organismes sélectionnés que l'on utilise pour évaluer l'efficacité d'un procédé de stérilisation. La forme sporulée du micro-organisme est le plus souvent utilisée car elle est plus résistante à l'étape de décontamination que la forme non sporulée. Elle permet d'assurer l'efficacité du cycle de décontamination en étant le cas le plus défavorable.
Une certaine quantité connue de ces spores est déposée sur un support inerte puis emballé de manière à ce que l'agent décontaminant puisse entrer en contact avec l'innocula.
Un indicateur biologique se caractérise par :

- Le nom de l'espèce bactérienne du microorganisme
- Le numéro de la souche dans la collection d'origine
- Le nombre de spores viables par support
- La valeur D, qui est la valeur nécessaire pour réduire jusqu'à 10% de sa valeur initiale le nombre de microorganismes viables. Elle n'a de signification que dans des conditions expérimentales bien définies.

Le choix des micro-organismes témoins est effectué sur la base des critères suivants :

- La résistance de la souche témoin à la méthode de stérilisation considérée doit être importante comparée à celle de tous les microorganismes pathogènes et des micro-organismes potentiellement présents dans le produit.
- La souche témoin doit être non pathogène
- La souche doit pouvoir se développer facilement sur le milieu de culture considéré

Types d'indicateurs biologiques :
Bandelettes papier : l'inoculum est déposé sur une bandelette de papier, elle-même enveloppée dans de la glassine perméable à l'agent stérilisant. La bandelette doit être extraite de l'enveloppe de façon aseptique après le cycle de stérilisation, puis mise en incubation 7 jours dans le bouillon de culture adapté

Systèmes autonomes : l'inoculum est déposé sur une bandelette associée à un milieu de culture en ampoule et un indicateur coloré mettant en évidence une pousse éventuelle. Le système est activé en brisant l'ampoule après le cycle de stérilisation. La lecture se fait en 48 heures.

Ampoules : c'est un système autonome où les spores sont en suspension dans une ampoule contenant le milieu de culture. Un indicateur coloré permet de donner un résultat de pousse au bout de 48 heures.

Le nombre de spores utilisé doit être nettement supérieur à la contamination présente dans l'environnement de l'isolateur à décontaminer. La durée du cycle doit être définie en fonction du D, elle doit être suffisante pour donner un haut degré d'assurance de destruction de la totalité des spores présentes sur le support de l'indicateur biologique.

PARTIE II
Qualification initiale d'un nouvel équipement ajouté au sein d'un isolateur de répartition

Dans ce deuxième chapitre nous montrerons comment les exigences vues précédemment doivent s'appliquer. Nous prendrons comme exemple un retour d'expérience professionnelle, où ces conditions seront mises en œuvre lors d'étapes de qualification initiale d'un séparateur de joints de piston ajouté dans un isolateur de répartition aseptique. On entend par qualification toute «opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus ». ***(BPF, 2011, Glossaire)***

1) Présentation de l'équipement

L'isolateur sur lequel a été faite la modification est un équipement servant au remplissage et au bouchage de seringues. Il est entièrement automatisé. L'humain peut intervenir dans l'isolateur par l'intermédiaire de boîtes à gants et du petit matériel peut y être introduit pas un système de portes DPTE.

L'enceinte de l'isolateur est en classe A et l'environnement direct est en classe C.

Figure 18 Isolateur de répartition ayant été modifié

2) Procédé de remplissage-bouchage

Ce procédé inclut trois arrivées de composants servant à obtenir des seringues remplies et bouchées. Une voie permet d'acheminer les cylindres (corps de la seringue + aiguille + protège aiguille) vers les poste de remplissage. Une seconde voie permet de faire arriver la solution à répartir au niveau du poste de remplissage. Et enfin une troisième voie les joints de piston les amène vers le poste de bouchage.

Les joints de piston sont déposés dans une trémie alimentant un bol vibrant permettant aux joints de circuler dans des rails afin d'arriver vers le poste de bouchage.

Les joints sont déposés dans la trémie par le biais d'une porte DPTE. Ceci implique que les joints soient stérilisés au préalable. Cette stérilisation se fait par autoclavage du sac DPTE dans lequel ils se trouvent.

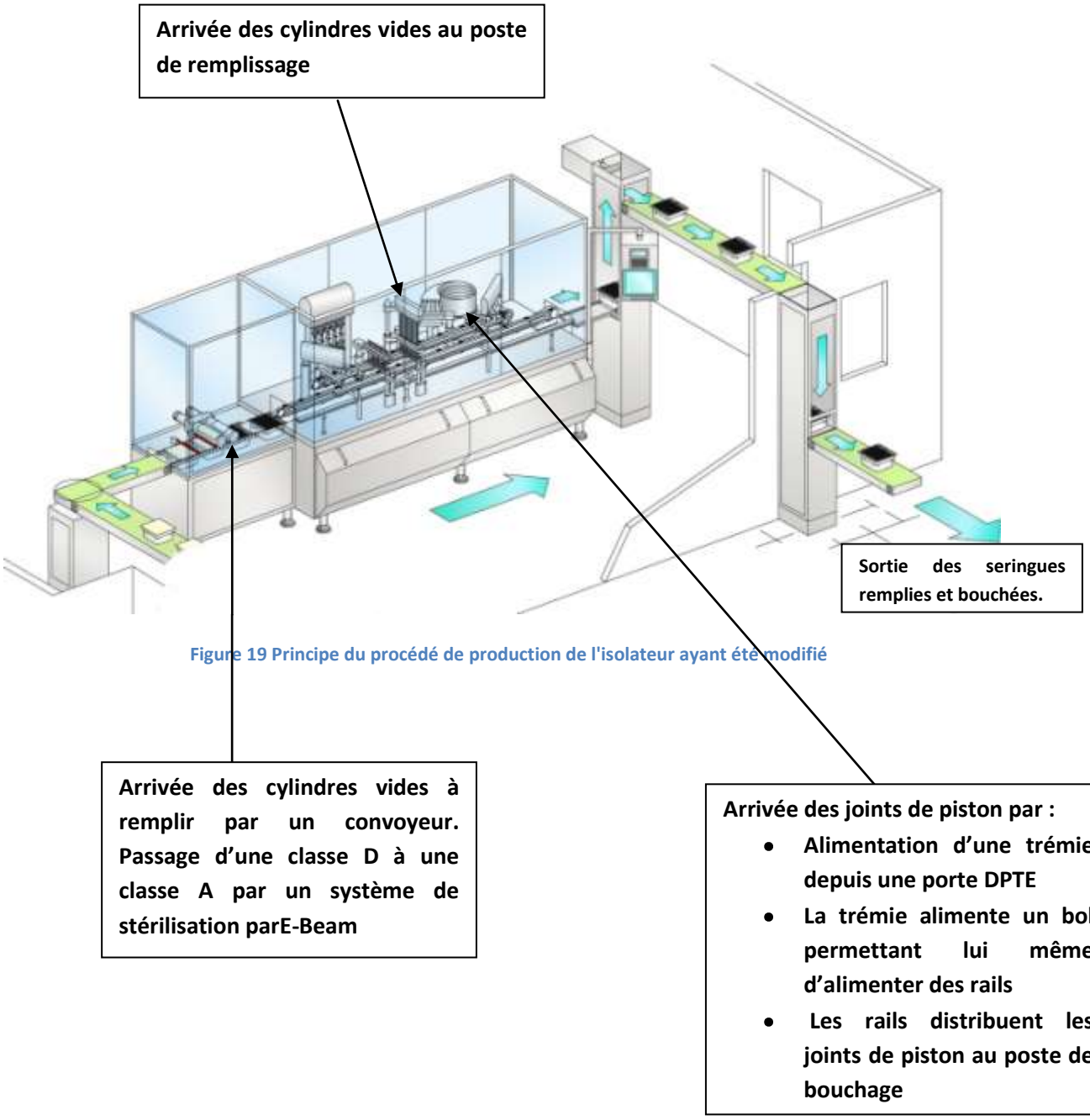


Figure 19 Principe du procédé de production de l'isolateur ayant été modifié

3) Objectifs de la mission

a. Problématique

La stérilisation par autoclavage des joints de piston a pour conséquence de les faire se coller entre eux. Après passage dans la trémie d'alimentation puis dans le bol vibrant on retrouve ces JDP collés dans le rail d'alimentation, ceci provoque une mauvaise distribution des joints de piston et des micro-arrêts de la ligne. Il a été comptabilisé en moyenne 200 arrêts en 24 heures en cours de production, à cause de ce défaut et une usure prématurée du gant utilisé pour débloquer les joints de piston se retrouvant coincés dans les rails.

b. Les solutions apportées

La première solution trouvée à ce problème est d'avoir un opérateur qui, par l'intermédiaire d'une boîte à gant et d'une pince, vienne mettre de côté les joints de piston collés. Ce système fonctionne avec une efficacité de 100% mais a le désavantage de monopoliser un opérateur et d'engendrer un risque qualité, en termes d'usure prématurée du gant et de la manchette associée. L'usure prématurée du gant peut induire une perforation du gant ayant plusieurs conséquences possibles :

- Une chute de pression à l'intérieur de l'isolateur due à la fuite d'air vers l'extérieur
- Une perturbation des flux d'air unidirectionnels de l'isolateur induite par la fuite d'air et la variation de la pression
- L'apport d'une contamination microbiologique dans l'enceinte de l'isolateur car l'environnement direct de cet équipement est une salle de classe D.

La seconde solution, consiste en l'ajout d'un séparateur de joints de piston au sein de l'isolateur. Celui-ci est composé de deux rouleaux en rotation, au travers desquels passeront les joints de piston. La pression et le mouvement qu'exercent ces rouleaux sur les joints de piston induisent leur séparation

C'est sur ce dernier équipement que porte le projet de qualification.

Avant la modification du système d'alimentation en joints de piston, ce dernier était composé des éléments suivant :

- 1 trémie d'alimentation
- 1 bol vibrant
- Des rails d'alimentation en joints de piston

Avec la modification proposée, le système d'alimentation en joints de piston sera composé de :

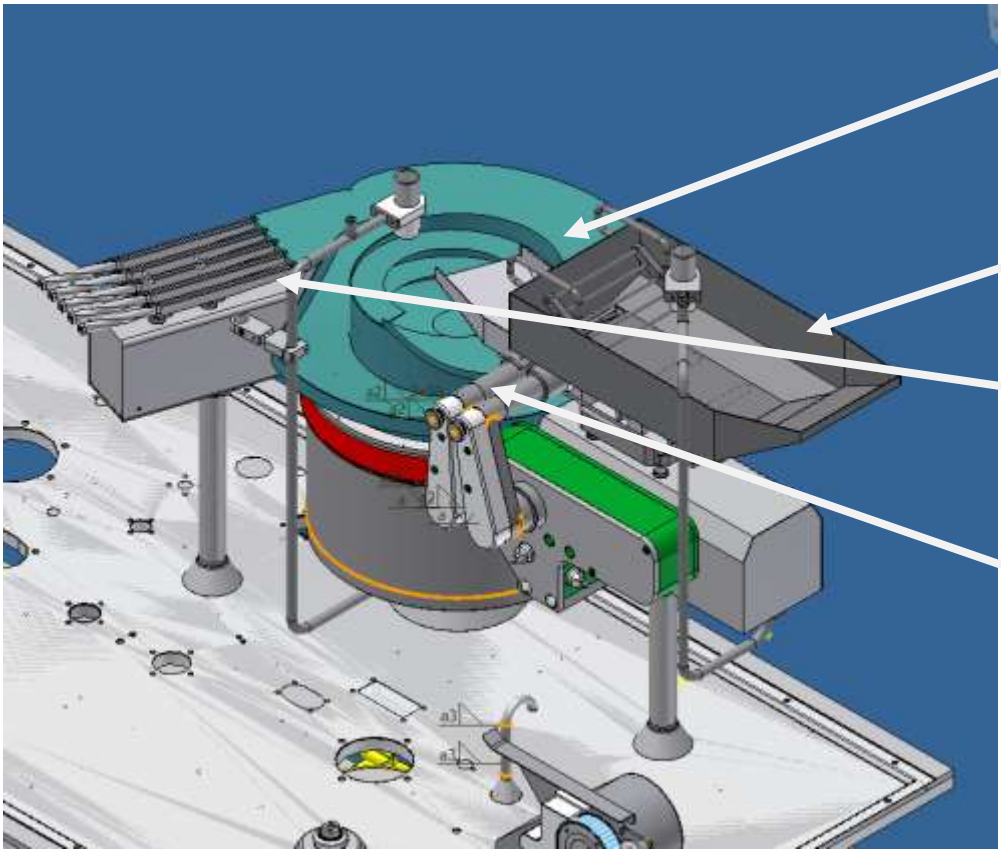


Figure 20 Schéma de la conception initiale du séparateur de joints de piston

Figure 21 Photo du séparateur après installation dans l'isolateur

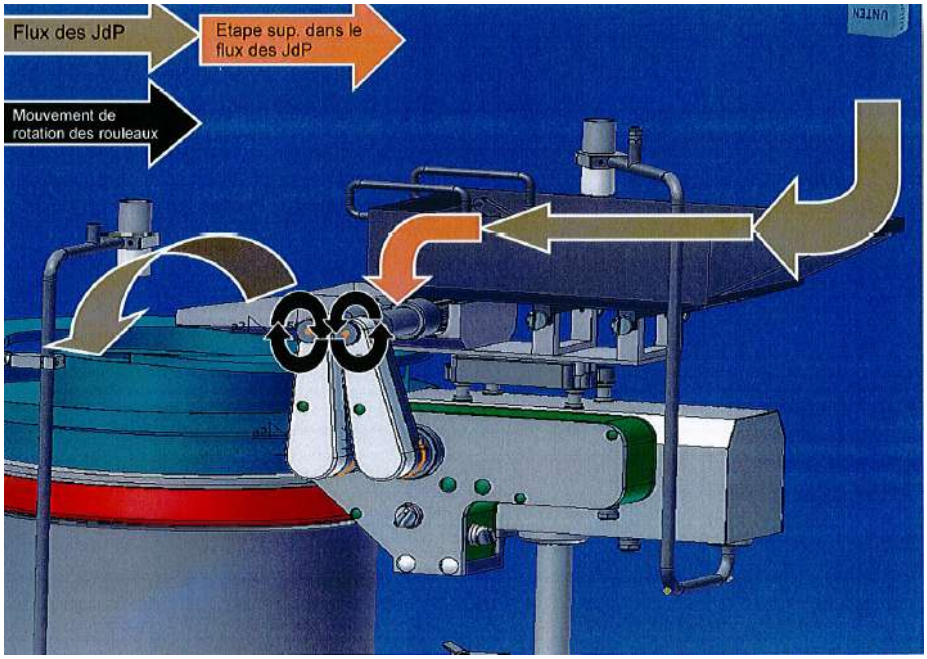


Figure 22 Sens de circulation des Joints de Piston et de rotation de séparateur de joint de piston

4) Notions de qualification

La qualification est une exigence règlementaire. Elle permet de prouver et de documenter qu'un équipement ou ses systèmes auxiliaires sont installés convenablement, travaillent correctement et conduisent réellement aux résultats attendus. La qualification fait partie de la validation, mais les étapes de qualification à elles seules ne constituent pas une validation de procédé.

Cette qualification va permettre d'attester que le procédé reste validé. La validation est un programme documenté qui apporte un haut degré d'assurance qu'un procédé spécifique, une méthode ou un système, fournira de manière régulière un résultat conforme à des critères d'acceptation prédéterminés.

Pour ce projet, la phase d'utilisation (ou Post Implementation Review) du nouveau système va permettre de conclure que l'état validé du système est en permanence maintenu. Elle permet de garantir une maintenance et une utilisation conformes.

Toutes ces étapes nécessitent l'élaboration de documents permettant de garder la traçabilité de toutes les opérations déployées lors des tests. Ces documents consistent pour la plupart en des protocoles et rapports de qualification.

***(BPF, 2011, LD1, n°23,* Annexe 15)**

5) Déroulement du projet

L'objectif de cette qualification est de prouver, par la mise en place de tests et de moyens de maîtrise adéquats, que l'ajout de ce nouvel équipement ne présente aucun risque pour la qualité, l'efficacité et la sécurité du médicament et du patient mais aussi, que le procédé utilisé au préalable ne s'en trouve pas modifié.

La modification concerne l'ajout du séparateur de joints de piston et la modification de la trémie d'alimentation. Cette trémie n'alimentera plus directement le bol vibrant mais les rouleaux du séparateur de joints de piston. Cette modification concerne le nouvel équipement lui-même ainsi que l'environnement dans l'isolateur et le maintien de l'intégrité des joints de piston.

Par conséquent il est nécessaire de faire une liste des risques potentiels de ce changement sur l'environnement de l'isolateur. Une analyse de risque est donc déployée.

a. Analyse de risque

C'est ici que tous les éléments considérés comme critiques pour le maintien de la qualité du produit vont être répertoriés, analysés et donneront lieu à la mise en place de tests de qualification à réaliser.

Elle se doit d'être la plus exhaustive possible afin de ne pas laisser place à tout évènement imprévu.

Pour remarque, les éléments de cette analyse de risque n'ont pas été quottés (gravité, fréquence, détectabilité…) car ils devront tous être maîtrisés et validés à l'issue de ce projet. En effet, l'impact environnemental d'une telle modification ne peut faire l'objet d'aucune mise à l'écart du moindre impact. Il s'agit d'une répartition aseptique dans un environnement de Classe A.

Les éléments en **rouge** dans le tableau sont ceux se rapportant directement ou indirectement au besoin de maîtriser l'environnement. Seuls ces éléments seront traités dans cet exposé. Mais afin de garantir qu'une analyse complète a été réalisée, les autres éléments de cette analyse sont conservés à titre informatif.

Equipement / produit	**Mode de défaillance** **Que peut-il arriver ?**	**Impact(s) de la défaillance**	**Cause(s) du dysfonctionnement**	**Moyen(s) de maîtrise**
Equipements périphériques	Impact du nouvel équipement sur ceux déjà en place	*-Perturbation du fonctionnement du système d'alimentation en joints de piston (bol, trémie, rail)* ***-Perturbation des schémas aérauliques*** ***-Utilisation de la boîte à gant modifiée***	***-Matériau utilisé*** ***-Volume de l'équipement*** *-Bords de la trémie tranchants*	*-Vérifier l'absence d'impact sur les équipements périphériques* ***-Test de fonctionnement opérationnel de la boîte à gant*** ***-Méthode de chargement des joints de piston inchangée*** ***-Vérifier la conformité des matériaux employés et leur mise en œuvre*** ***-Smoke test***
Isolateur	Perte de cadence de la remplisseuse	*-Augmentation du temps de fabrication* *-Augmentation du nombre de micro-arrêts* *-Diminution de rentabilité*	*-Cadence du dispositif insuffisante* *-Dégradation de la transmission* *-Mauvais réglage vibratoire de la trémie* *-Défaillance du moteur*	*-Test de fonctionnement opérationnel* *-Vérifier que la cadence du dispositif n'impacte pas la performance de la machine* *-Défaut d'alimentation en joints de piston alarmé sur la machine* *-Mise en place d'une gamme de maintenance préventive*
	Programmation de l'automate inadaptée	*-Absence de génération des alarmes désirées* *-Absence de certaines commandes*	*-Erreur(s) d'écriture du programme* *-Implémentation du programme au mauvais endroit des lignes de code*	*-Vérifier l'installation du nouveau programme et sauvegarde de l'ancien* *-Vérifier les fonctionnalités Interface Homme-Machine implémentées*

	Réduction du nombre d'interventions manuelles dans l'isolateur non significatif	*-Perte de temps*	*-Mauvaise efficacité du dispositif installé*	*-Test de fonctionnement opérationnel* *Vérifier la possibilité de limiter l'entre-axe des rouleaux* *-Mise en place d'une gamme de maintenance préventive*
Rouleaux de décollage	Entre-axe trop important	*Diminution de la performance de décollage des joints de piston*	*-Mauvais réglage* *-Décalage dans le temps* *-Vibration*	*-Test de fonctionnement opérationnel* *-Vérifier la possibilité de limiter l'entre-axe des rouleaux* *-Mise en place d'une gamme de maintenance préventive*
	Entre-axe trop faible	*-Non passage des joints de piston au travers des rouleaux* *-Perte de cadence* *-Déformation du joint*	*-Mauvais réglage* *-Décalage dans le temps* *-Vibration*	-Test de fonctionnement opérationnel - Vérifier la possibilité de limiter l'entre-axe des rouleaux - Mise en place d'une gamme de maintenance préventive
	Blocage de la rotation des rouleaux	- Perte de cadence - Dégradation du moteur	Corps étranger entre les 2 rouleaux	- Arrêt de la rotation des rouleaux sans coupure moteur - Carter et grille de protection présents
	Vitesse de rotation trop faible	-<100% JDP décollés -Intervention manuelle -Perte de cadence	-Mauvais réglage -Décalage dans le temps -Dégradation de la transmission	-Test de fonctionnement opérationnel. Détermination de la vitesse de rotation -Mise en place d'une gamme de maintenance préventive

	Vitesse de rotation trop importante	-<100% JDP décollés -Intervention manuelle -**Emission particulaire accrue**	-Mauvais réglage -Décalage dans le temps	-Test de fonctionnement opérationnel Détermination de la vitesse de rotation -Mise en place d'une gamme de maintenance préventive -**Monitoring particulaire**
Environnement de l'isolateur	**Flux d'air non unidirectionnel, zone de turbulence**	**-Contamination particulaire et microbiologique. (surface et environnement.)**	**-Equipement perturbe le flux**	**- Smoke test**
	Contamination microbiologique de l'environnement	**- Perte stérilité du produit**	**-Zone(s) difficile(s) d'accès au H_2O_2, (surface non traitée)** **-Mauvaise nettoyablilité** **-Les rouleaux ne sont pas en rotation durant le cycle de décontamination**	**-Qualification opérationnelle** **- Validation de l'efficacité de décontamination** **- Vérifier la nettoyabilité des rouleaux par les BAG** **- Test de l'alarme « absence de rotation des rouleaux en mode VHP »**

D'après l'analyse de risque réalisée, il est facile de remarquer que l'impact environnemental d'un tel équipement n'est pas négligeable.
Les différents impacts relevés sont donc :

- Une perturbation des schémas aérauliques (risque de zones de turbulences, de perte de l'unidirectionnalité)
- Une modification des mouvements réalisables avec la boîte à gant
- Une émission de particules augmentée
- Une dissémination d'une potentielle contamination microbiologique et particulaire

Par conséquent, afin de pallier à ces risques, des moyens de maîtrise sont à mettre en place, comme :

- Des tests de fumée afin de s'assurer que les schémas aérauliques sont maintenus
- Des tests d'utilisation de la boîte à gant afin de constater si les mouvements sont modifiés
- Un monitoring particulaire pour voir si la tendance particulaire à cet emplacement est à la hausse
- Un monitoring microbiologique afin de s'assurer qu'aucune contamination microbienne n'est induite
- Des essais de décontamination sont à réaliser afin de s'assurer que l'ajout du séparateur de joint de piston permet toujours de maintenir une décontamination efficace de ce volume dans l'isolateur

Les tests de fumée, les monitorings particulaires et microbiologiques étant des tests faits en routine lors de requalifications périodiques de l'isolateur, il n'est pas nécessaire de créer de nouveaux protocoles. Car ici le besoin est de démontrer que l'équipement fonctionne de manière équivalente entre avant et après la modification apportée.

Pour ce qui concerne les essais de décontamination, la mise en place de ce nouvel équipement nous impose de vérifier si l'agent stérilisant entre bien et suffisamment en contact avec toutes les surfaces de l'équipement. Ici le peroxyde d'hydrogène sous forme de vapeur qui est utilisé. Pour cela un rationnel permettant de faire un état des lieux est rédigé.

b. Rationnel de validation

Des essais de décontamination par le peroxyde d'hydrogène vapeur sont réalisés. Afin de démontrer l'efficacité de cette décontamination, des indicateurs biologiques (BI) et chimiques (CI) sont positionnés sur le nouvel équipement.

Ce rationnel définit la méthodologie à appliquer afin de positionner les indicateurs microbiologiques et chimiques aux différents points critiques au cours de la décontamination par peroxyde d'hydrogène vapeur.

Ces tests se déroulent a posteriori des tests de fumée car ces derniers permettent de mettre en évidence des points critiques qu'il faut obligatoirement tester lors des futures requalifications de routine.

En ce qui concerne les indicateurs chimiques, ceux-ci ne seront utilisés que lors du premier essai. Ils permettent de s'assurer, par une cartographie complète de toutes les surfaces du nouvel équipement, que le peroxyde d'hydrogène vapeur est distribué de manière homogène autour de l'équipement. Ces indicateurs sont mis de manière à démontrer, de façon qualitative, s'il y a eu

contact ou non avec le peroxyde d'hydrogène vapeur en ce point. Pour cela un nombre important de ces indicateurs doit être disposé sur cet équipement.

L'efficacité de stérilisation est démontrée si, pour chacun des 3 essais réalisés, il y a absence de micro-organismes viables ou revivifiables pour chacun des bio-indicateurs exposés. Les indicateurs seront positionnés à des endroits prédéterminés lors de l'étude réalisée depuis le logigramme et *a posteriori* des tests de fumée.
Afin de savoir où positionner les indicateurs biologiques et chimiques, un état des lieux de toutes les surfaces de l'équipement est fait. **(ANNEXE 1)** Dans un deuxième temps, un logigramme permettant de statuer ou non sur l'emploi de l'indicateur sur la surface considérée est employé.

Les 3 essais vont donc contenir :

- Essai 1 : BI sur les surfaces identifiées à risque selon le logigramme + CI sur toutes les surfaces
- Essai 2 : BI sur les surfaces identifiées à risque selon le logigramme
- Essai 3 : BI sur les surfaces identifiées à risque selon le logigramme

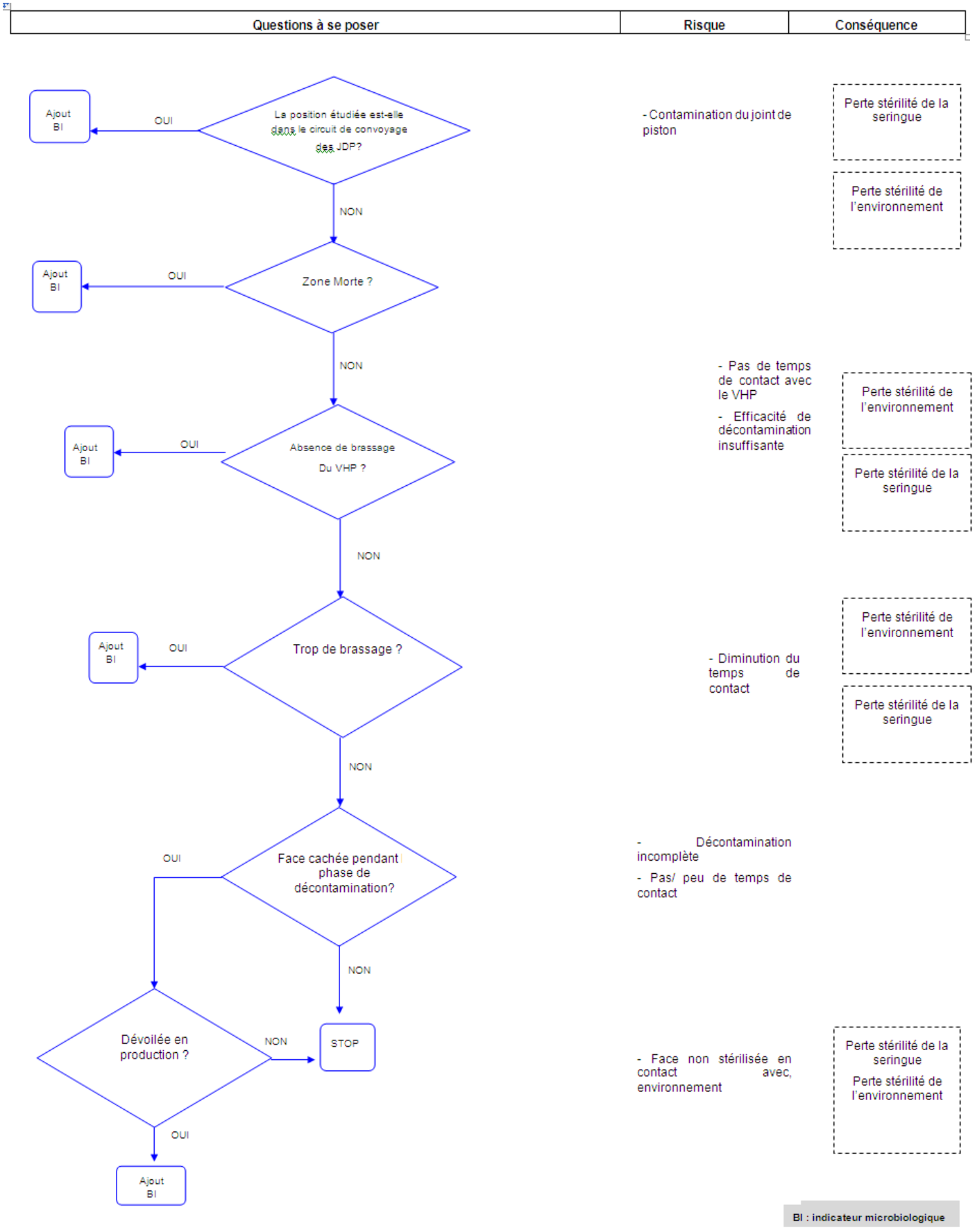


Figure 23 Rationnel décrivant les positions des indicateurs chimiques et biologiques retenues

Cette méthodologie permet de déterminer les positions des nouveaux indicateurs biologiques à ajouter dans l'isolateur afin de valider l'efficacité de la décontamination sur le nouvel équipement. En effet, la décontamination de l'isolateur de répartition est effectuée à l'aide de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en phase vapeur.

Les indicateurs chimiques quant à eux, permettent de constater un contact avec le VHP sur l'ensemble des zones/surfaces, qui peuvent être impactées par la modification et ce, de manière qualitative.

A l'aide des tests de fumée, seront pris en considération les zones de stagnation du VHP, les zones de turbulences et les zones dites mortes. Seront appelées :

- Zones mortes : zones non atteintes par le peroxyde d'hydrogène vapeur
- Zones d'absence de brassage du VHP : zones où le renouvellement du peroxyde d'hydrogène vapeur est faible
- Zone où il y a trop de brassage du peroxyde d'hydrogène vapeur : zones où le renouvellement du peroxyde d'hydrogène vapeur est trop important.

Il faut un certain temps de contact avant que l'action désinfectante ne soit efficace. De plus, la dégradation du peroxyde d'hydrogène étant assez rapide, il est nécessaire avoir un renouvellement du peroxyde d'hydrogène vapeur continu dans l'enceinte de l'isolateur.

Les positions retenues suite à l'application du logigramme pour chacune des surfaces du nouvel équipement sont représentées et justifiées de manière manuscrite dans les tableaux suivants. Ces données découlent directement du déploiement du logigramme vu précédemment.

Tableau XII Positions retenues suite à l'application du logigramme (1/5)

Numéro de la surface étudiée	Position retenue ? oui/non	Rationnel
1 (A)	**OUI**	En lien direct avec le flux des JDP. La position est représentative des positions : 2, 6, 9,
2	NON	Cf position n° 1
3 (B)	**OUI**	En lien direct avec le flux des JDP.
4	NON	Cf point n°15
5	NON	Cf point n°15
6	NON	Cf point n°1
7	NON	Cf point n°15
8	NON	Cf point n°15
9	NON	Cf position n° 1
10	NON	Cf point n°15
11	NON	Cf point n°15
12	NON	Cf point n°15
13	NON	Cf point n°15
14	NON	Cf point n°15
15 (C)	**OUI**	Représentative des surfaces longitudinales de la trémie. Elles sont en lien avec le flux des JDP et peuvent faire l'objet d'un taux de brassage trop important. Ce point est représentatif des positions : 4, 5, 7, 8, 10, 11,12, 13, 14, 15, 17, 18,
16	NON	Cf point n°15
17	NON	Cf point n°15
18	NON	Cf point n°15
19 (D)	**OUI**	La surface de la trémie est augmentée, il y a donc risque de zone morte au dessous de celle-ci. Ce point est le plus représentatif des points suivant, car il est considéré comme le plus critique en termes d'accès au VHP. Les points qu'il englobe sont : 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 50, 51, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84,
20	NON	Cf point n°19
21	NON	Cf point n°19
22	NON	Cf point n°19

Tableau XIII Positions retenues suite à l'application du logigramme (2/5)

Numéro de la surface étudiée	Position retenue ? oui/non	Rationnel
23	NON	Cf point n°19
24	NON	Cf point n°19
25	NON	Cf point n°19
26	NON	Cf point n°19
27	NON	Cf point n°19
28	NON	Cf point n°19
29	NON	Cf point n°19
30	NON	Cf point n°19
31 (E)	**Oui**	La surface de la trémie est augmentée, il y a donc risque de zone morte au dessous de celle-ci. Ce point est le plus représentatif du point suivant, car il est considéré comme le plus critique en termes d'accès au VHP. Le point qu'il englobe est le 44
32	NON	Cf point n°38
33	NON	Cf point n°38
34	NON	Cf point n°38
35	NON	Cf point n°38
36	NON	Cf point n°38
37	NON	Cf point n°38
38 (F)	**OUI**	Surface à contrôler car considérée comme la plus critique des surfaces appartenant aux bras soutenant les rouleaux. Risque d'accès au VHP difficile avec un brassage qui pourrait-être insuffisant. Ce point représente les surfaces : 32, 33, 34, 35, 36, 37,55, 56, 57, 58, 59
39	NON	Ce point existant déjà avant la mise en place du séparateur de JDP. Il n'est pas en lien direct avec le flux de JDP. Même avec l'augmentation de taille de la trémie, il se situe dans une zone dégagée, accessible au VHP, ou le taux de brassage n'est pas critique et ne présente pas de zone cachée dévoilée en cours de production.
40	NON	Ce point existant déjà avant la mise en place du séparateur de JDP. Il n'est pas en lien direct avec le flux de JDP. Même avec l'augmentation de taille de la trémie, il se situe dans une zone dégagée, accessible au VHP, ou le taux de brassage n'est pas critique et ne présente pas de zone cachée dévoilée en cours de production
41	NON	Cf point n°42

Tableau XIV Positions retenues suite à l'application du logigramme (3/5)

Numéro de la surface étudiée	Position retenue ? oui/non	Rationnel
42 (G)	**OUI**	Cette position est retenue compte tenu de l'augmentation de volume de la trémie. Il se peut que le schéma aéraulique soit perturbé de telle façon que le VHP ne décontamine plus efficacement cette zone. Ce point est le plus représentatif des points suivant, car il est considéré comme le plus critique en termes d'accès au VHP. Les point qu'il englobe sont les : 41 et 47.
43 (H)	**OUI**	Cette position est retenue compte tenu du faible espace entre le moteur et le bol de joint de piston représentant potentiellement une zone morte.
44	NON	Cf point n°31
45	NON	Ce point existant déjà avant la mise en place du séparateur de JDP. Il n'est pas en lien direct avec le flux de JDP. Même avec l'augmentation de taille de la trémie, il se situe dans une zone dégagée, accessible au VHP, ou le taux de brassage n'est pas critique et ne présente pas de zone cachée dévoilée en cours de production
46	NON	Ce point existant déjà avant la mise en place du séparateur de JDP. Il n'est pas en lien direct avec le flux de JDP. Même avec l'augmentation de taille de la trémie, il se situe dans une zone dégagée, accessible au VHP, ou le taux de brassage n'est pas critique et ne présente pas de zone cachée dévoilée en cours de production
47	NON	Cf point n°42
48	NON	Ce point existant déjà avant la mise en place du séparateur de JDP. Il n'est pas en lien direct avec le flux de JDP. Même avec l'augmentation de taille de la trémie, il se situe dans une zone dégagée, accessible au VHP, ou le taux de brassage n'est pas critique et ne présente pas de zone cachée dévoilée en cours de production
49 (I)	**OUI**	Avec l'augmentation de la taille de la trémie, la présence des bras des rouleaux, le bac d'alimentation du bol vibrant, le flux d'air va subir des modifications aérauliques aux abords de cette surface.
50	NON	Cf point n°19
51	NON	Cf point n°19
52 (J)	**OUI**	Accès restreint au VHP, taux de brassage à considérer. Dans le circuit de convoyage des JDP.
53 (K)	**OUI**	Accès restreint au VHP, taux de brassage à considérer. Dans le circuit de convoyage des JDP.
54 (L)	**OUI**	Accès restreint au VHP, taux de brassage à considérer. Dans le circuit de convoyage des JDP.
55	NON	Cf point n°38
56	NON	Cf point n°38
57	NON	Cf point n°38
58	NON	Cf point n°38

Tableau XV Positions retenues suite à l'application du logigramme (4/5)

Numéro de la surface étudiée	Position retenue ? oui/non	Rationnel
59	NON	Cf point n°38
60 (M)	**OUI**	Surface en contact direct avec le flux des JDP. Sera représentative des surfaces :62, 63, 64, 65, 66,
61 (N)	**OUI**	Espace confiné entre la trémie et les rouleaux en mouvement. Accessibilité au VHP difficile, taux de brassage pas assez ou trop important.
62	NON	Cf point n° 60
63	NON	Cf point n° 60
64	NON	Cf point n° 60
65	NON	Cf point n° 60
66	NON	Cf point n° 60
67 (O)	**OUI**	Représentative des surfaces longitudinales du déverseur. Elles sont en lien avec le flux des JDP et peuvent faire l'objet d'un taux de brassage trop important. Ce point est représentative des positions : 67, 68, 70 et 71
68	NON	Cf point n°67
69	NON	Cf point n°49
70	NON	Cf point n°67
71	NON	Cf point n°67
72 (P)	**OUI**	Sous le déverseur, cette position est considérée critique car située au dessus du bol joint de piston.
73	NON	Cf point n°31
74	NON	Cf point n°31
75	NON	Cf point n°19
76	NON	Cf point n°19
77	NON	Cf point n°19
78	NON	Cf point n°19
79	NON	Cf point n°19
80	NON	Cf point n°19
81	NON	Cf point n°19
82	NON	Cf point n°19
83	NON	Cf point n°19
84	NON	Cf point n°19
85 (Q)	**OUI**	Espace confiné entre la trémie et les rouleaux en mouvement. Accessibilité au VHP difficile, taux de brassage pas assez ou trop important.

Tableau XVI Positions retenues suite à l'application du logigramme (5/5)

Numéro de la surface étudiée	Position retenue ? oui/non	Rationnel
86 (R)	OUI	Avec l'augmentation de la taille de la trémie, le flux d'air va subir des modifications aérauliques aux abords de cette surface. *(Rq : un espace entre les deux éléments existe mais est non visible sur ce schéma)*
87 (S)	OUI	Espace confiné entre le déverseur et les rouleaux en mouvement. Accessibilité au VHP difficile, taux de brassage pas assez ou trop important.
88 (T)	OUI	Cette position est retenue compte tenu de l'augmentation de volume de la trémie. Il se peut que le schéma aéraulique soit perturbé de telle façon que le VHP ne décontamine plus efficacement cette zone.
89 (U)	OUI	Avec l'augmentation de la taille de la trémie, le flux d'air va subir des modifications aérauliques aux abords de cette surface. *(Rq : un espace entre les deux éléments existe mais est non visible sur ce schéma)*
90 (AO)	OUI	Espace confiné sous la trémie, entre le support et le moteur. Passage du gaz difficile.

Les positions retenues suite à cette analyse sont représentées en Annexe 2.

6) Déroulement des tests

Afin de réaliser ces tests, il est nécessaire de se placer en situation de pire des cas (situation Worst Case). C'est-à-dire que les tests vont se dérouler sur un équipement qui fonctionnera dans les conditions considérées comme les pires pour la réalisation du procédé. Cette situation worst case permet de prouver qu'avec des conditions critiques, le procédé permet toujours d'obtenir un produit de la qualité souhaitée dans une certaine plage de fonctionnement.

Ainsi, en fonctionnement dit « normal » de l'équipement, le produit sera lui aussi conforme.

Dans notre cas, et pour les essais considérés dans ce document, les conditions worst case sont :

- Une diminution de la vitesse des flux d'air dans l'isolateur
- Une diminution de la durée de la phase de décontamination

7) Résultats des points de qualification abordés

a. Les tests de fumée

Les résultats des tests de fumée sont conformes, aucune zone morte ou de trop forte/faible turbulence n'est relevée.

Le nouvel équipement ne perturbe donc pas les flux d'air présents dans l'isolateur.

b. Les tests d'utilisation de la boîte à gant

Un problème d'ergonomie a été constaté. En effet, le nouvel équipement est plus haut que l'ancien, ceci induit un problème pour l'ouverture de la porte DPTE d'alimentation des joints de piston par l'opérateur, à l'aide de la boîte à gant. La présence du capteur de particule empêche de réaliser le mouvement de manière adéquate.

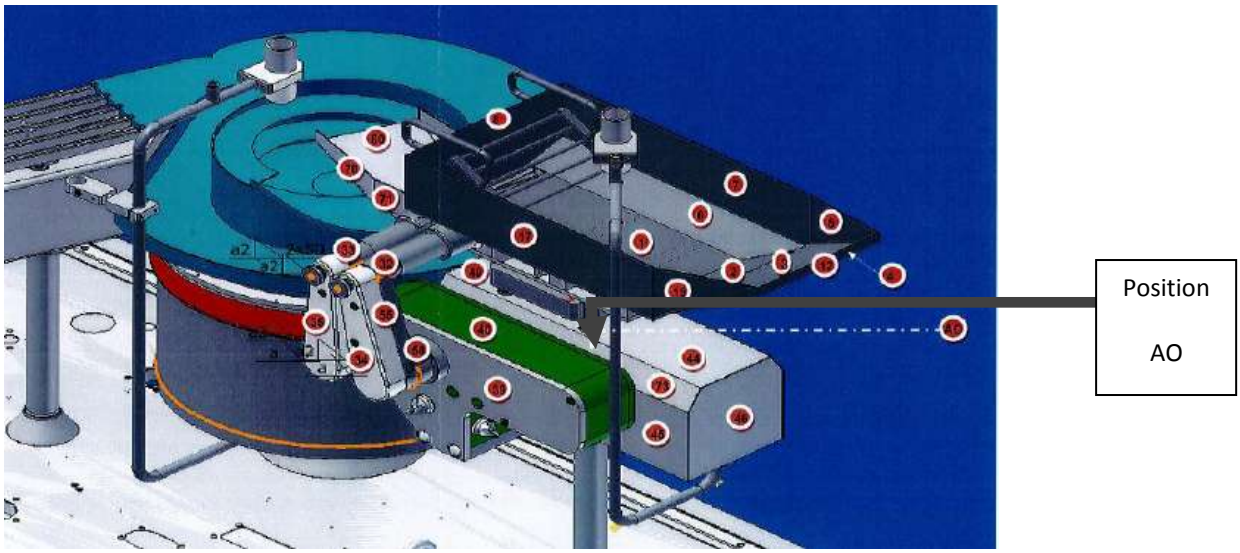
Afin de préserver l'ergonomie d'utilisation de cette porte et l'utilisation de la boîte à gant, il a été décidé de dévier la canne de maintien du capteur de particules présent au dessus de la trémie d'alimentation.

c. Les essais de décontamination

Un des **indicateurs chimiques** (prouvant le contact avec le peroxyde d'hydrogène vapeur par un virage de la pastille colorée du violet au jaune si contact) n'a pas viré. Il est situé en position AO d'après les schémas en Annexe 3.

Figure 24 Indicateur AO non conforme

L'espace disponible pour placer les indicateurs chimiques et biologiques est très confiné en AO (largeur entre 1 et 5mm).



Afin de constater s'il existe un réel contact du VHP sur cette surface nous avons mis en place un quadrillage de la zone à l'aide de 8 nouveaux indicateurs chimiques, lors du prochain essai de validation de la stérilisation.

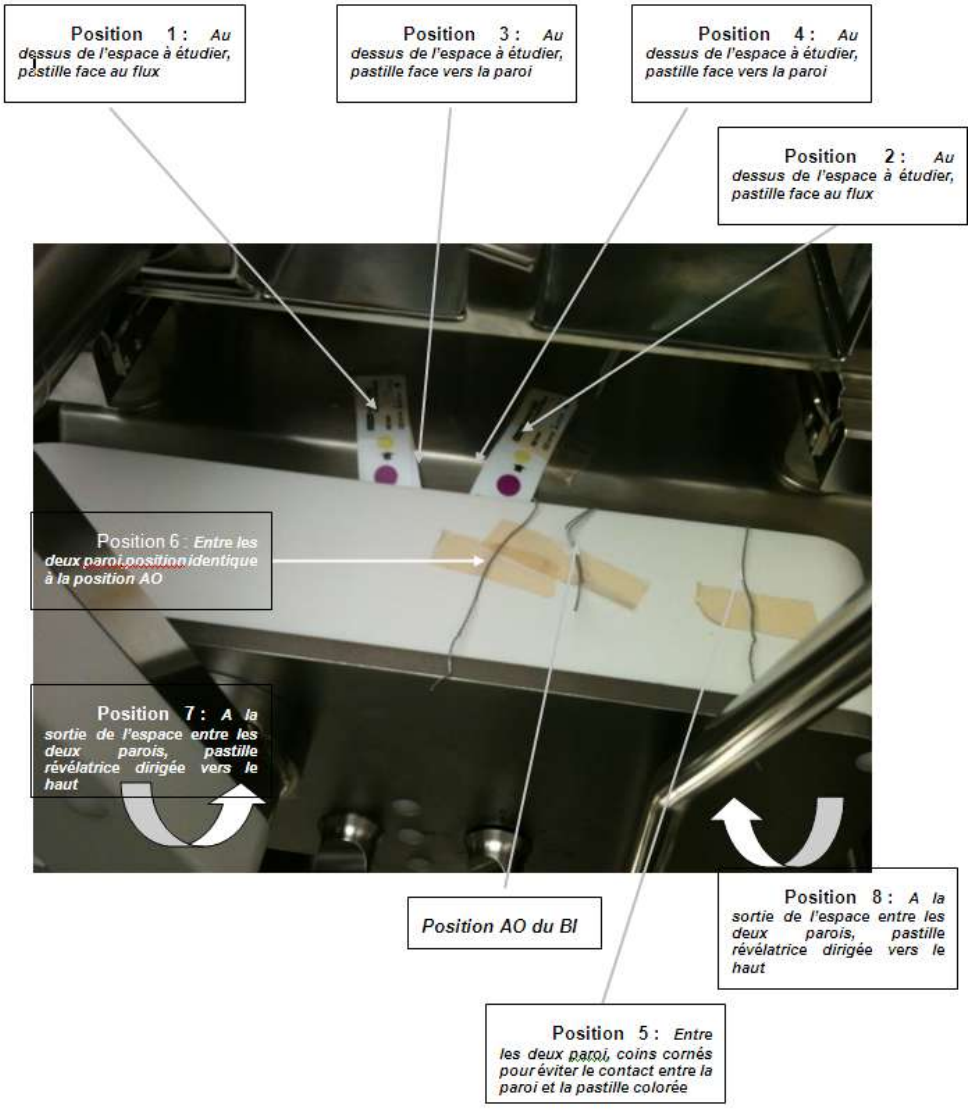


Figure 25 Photographie en plongée de la zone AO quadrillée d'indicateurs chimiques

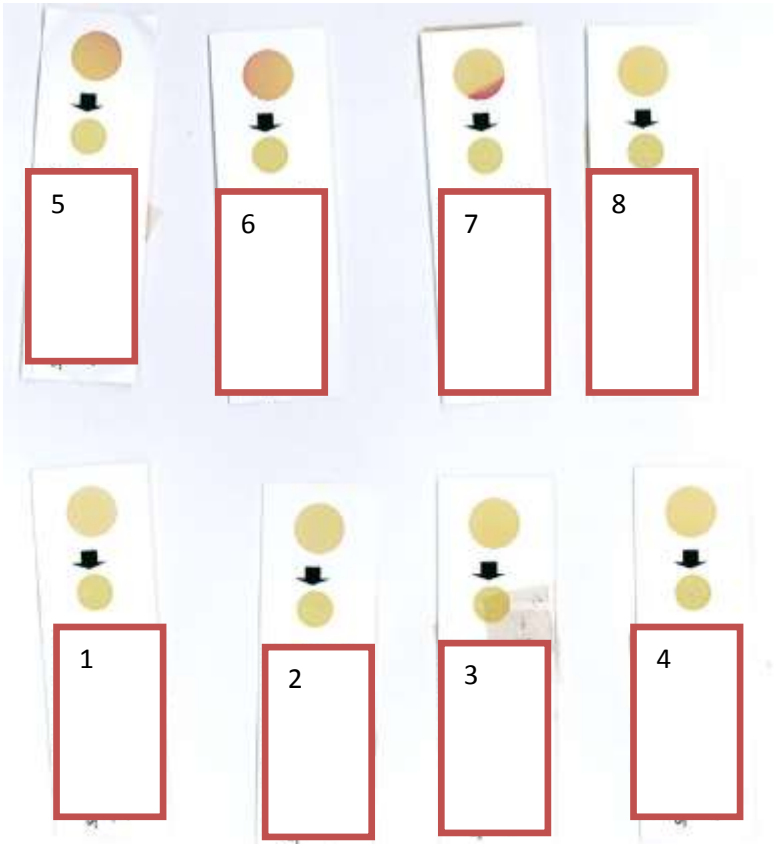


Figure 26 Scan des indicateurs chimiques suite au 3ème cycle de validation de décontamination

On peut constater que les indicateurs des positions 1, 2, 3, 4 et 8 ont tous virés, il y a donc eu contact avec la vapeur de peroxyde d'hydrogène.
L'indicateur 7 présente une partie non virée, ceci est du au fait que cette petite partie était plaquée contre la surface du support de la trémie, le VHP n'a donc pas pu entrer en contact avec cette zone.
L'indicateur 6, équivalente à la position AO du premier test, à partiellement viré, on peut donc constater un contact avec le VHP insuffisant.
L'indicateur 8 est dans le même cas de figure que le n°6, même si le fait de corner ses coins aurait pu améliorer son contact avec le VHP en évitant un contact trop rapproché de la pastille avec une surface.

On peut donc conclure que dans cette zone il y a bien passage du VHP mais en plus faible quantité car les indicateurs 5 et 6 n'ont que partiellement virés. On ne peut pas conclure sur le fait que la dose efficace de VHP soit atteinte dans cette zone.
Seuls les résultats des tests microbiologiques peuvent statuer sur l'efficacité de la stérilisation de cette zone. En effet, les indicateurs chimiques ne sont que qualitatif d'un contact avec le VHP, ils ne présagent en aucun cas d'un contact quantitativement suffisant avec le peroxyde d'hydrogène.
Les résultats des tests **microbiologiques sont conformes.**

On peut alors conclure concernant la surface AO. Les indicateurs biologiques, lors des trois essais réalisés, ont révélé qu'une dose efficace de peroxyde d'hydrogène est bien entrée en contact avec cette surface. Cette zone reste tout de même critique, il est donc décidé de positionner un indicateur biologique en ce point lors des futures requalifications périodiques de la ligne.

d. Les monitorings particulaire et microbiologique

Ces monitorings sont effectués lors de la phase d'utilisation en routine ou Post Implementation Review. Cette dernière permet de vérifier si les tendances environnementales sont bien égales à celles d'avant la modification.

e. Phase d'utilisation – Post Implementation Review

Lors de cette étape, les données d'environnement microbiologique et particulaire ont été suivies, tracées et analysées afin d'en obtenir des tendances. Ceci dans le but de valider l'utilisation du séparateur de joint de piston sur une période donnée.

Cette phase d'utilisation s'est déroulée sur une période de deux mois, soit 1 mois avant le changement et 1 mois après. Ceci afin d'avoir un nombre représentatif de données à comparer.

i. Monitoring particulaire

L'objectif de cette analyse est de constater ou non une augmentation des alarmes du monitoring particulaire dans l'isolateur de répartition. Il s'agit d'une analyse différentielle des comptages particulaires entre la période pré et post implémentation du nouvel équipement.

L'isolateur étudié dispose d'un compteur particulaire situé au niveau du poste dit de bouchage des seringues. Ce compteur est celui qui est le plus proche du séparateur de joint de piston, il est donc utilisé pour cette étude.

Ce compteur contrôle de manière continue la quantité de particules de 0,5µm et 5µm présentes dans l'environnement.

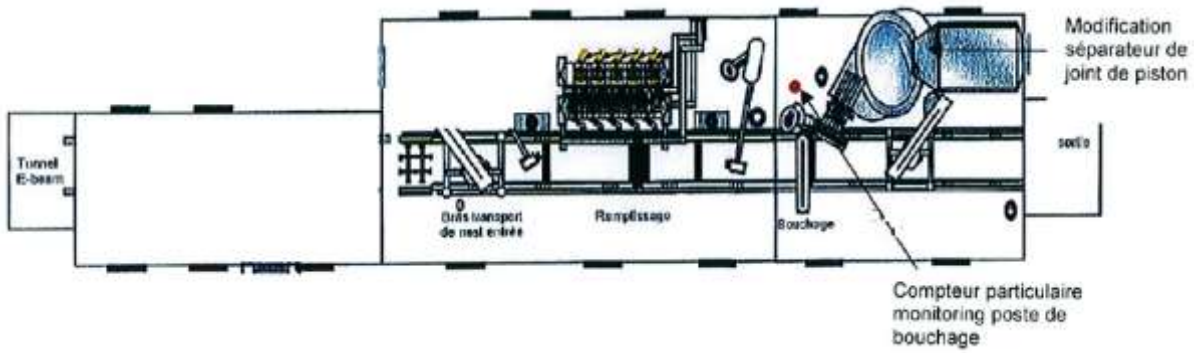


Figure 27 Position du compteur particulaire dans l'isolateur

Les résultats pré et post implémentation du séparateur sont représentés par des données graphiques, enregistrées en temps réel par un logiciel directement connecté au compteur particulaire.

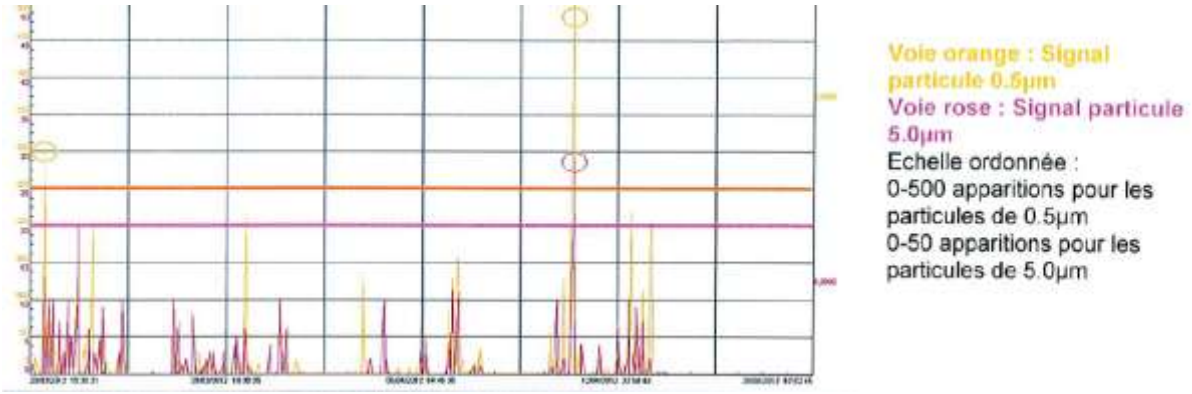


Figure 28 Données de comptage particulaire avant implémentation du séparateur

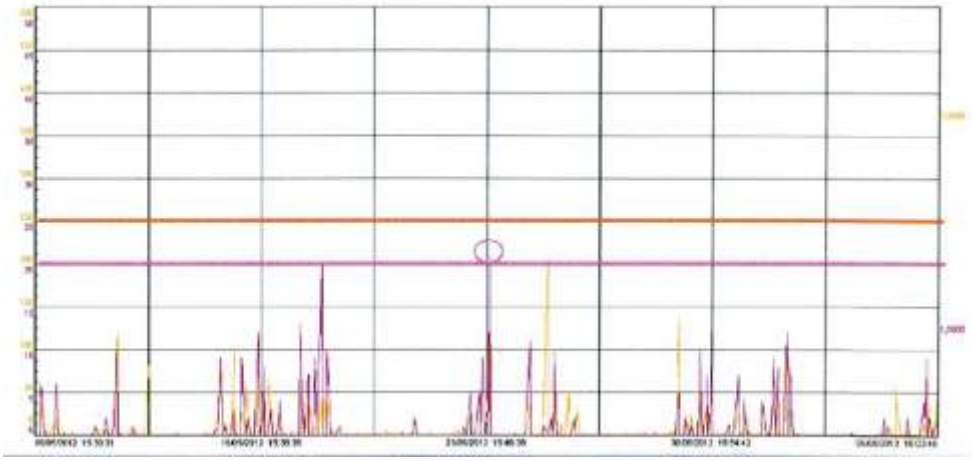


Figure 29 Données de comptage particulaire après implémentation du séparateur

Au regard des tendances du monitoring au poste de bouchage, il est possible d'affirmer que le séparateur de joint de piston n'est pas source d'émission particulaire. En effet, la fréquence d'apparition et d'amplitude des pics de particules (généralement associé à des interventions humaines) ne révèle pas de différence significative.

ii. Monitoring microbiologique

L'objectif de cette analyse est de démontrer que la maîtrise de la contamination microbiologique est conservée après implémentation du séparateur de joints de piston. Il s'agit d'une analyse différentielle des bilans environnement entre la période pré et post implémentation du séparateur de joint de piston.

Le monitoring microbiologique de routine est constitué de :

- Prélèvements passifs de l'air par exposition de boîtes de Pétri toutes les 4 heures.
- Prélèvements actifs de l'air sur 4 positions. Pour chaque point, 3 prélèvements sont effectués.
- Empreintes de doigts de chacune des boîtes à gant de l'isolateur, et ce sur plusieurs journées de production
- Ecouvillons de surface sur une partie du poste de remplissage des seringues, à l'intérieur des rails de convoyage des joints de piston vers le poste de bouchage et dans le bol d'alimentation des joints de piston.

Les résultats microbiologiques ne présentent aucun résultat hors spécification sur les périodes étudiées. Ceci démontre que l'implémentation du séparateur de joint de piston dans l'isolateur n'a pas d'impact sur la maîtrise des contaminations microbiologiques dans l'isolateur.

f. Conclusion du projet

Suite à ces étapes de qualification et aux résultats de la phase d'utilisation il est possible d'affirmer que l'implémentation de ce nouvel équipement n'a pas d'impact sur l'environnement de l'isolateur. Cette qualification a eu lieu en même temps que la requalification périodique de l'isolateur. Cette dernière est elle aussi conforme aux exigences.

CONCLUSION

Cet exposé a permis de montrer quelles sont les exigences environnementales du travail en zone à atmosphère contrôlées et tout particulièrement sous isolateur. La mise en pratique de telles exigences implique la mise en commun de compétences dans divers domaines (isotechnie, microbiologie, ingénierie des fluides et de la robotique, métrologie…).

De plus, la maîtrise de ces exigences implique de nombreuses étapes de qualification et validation que cela soit sur l'équipement, l'environnement, les méthodes analytiques ou bien encore des systèmes informatiques. Tout un panel d'éléments est à prendre en compte lors de modifications d'équipement.

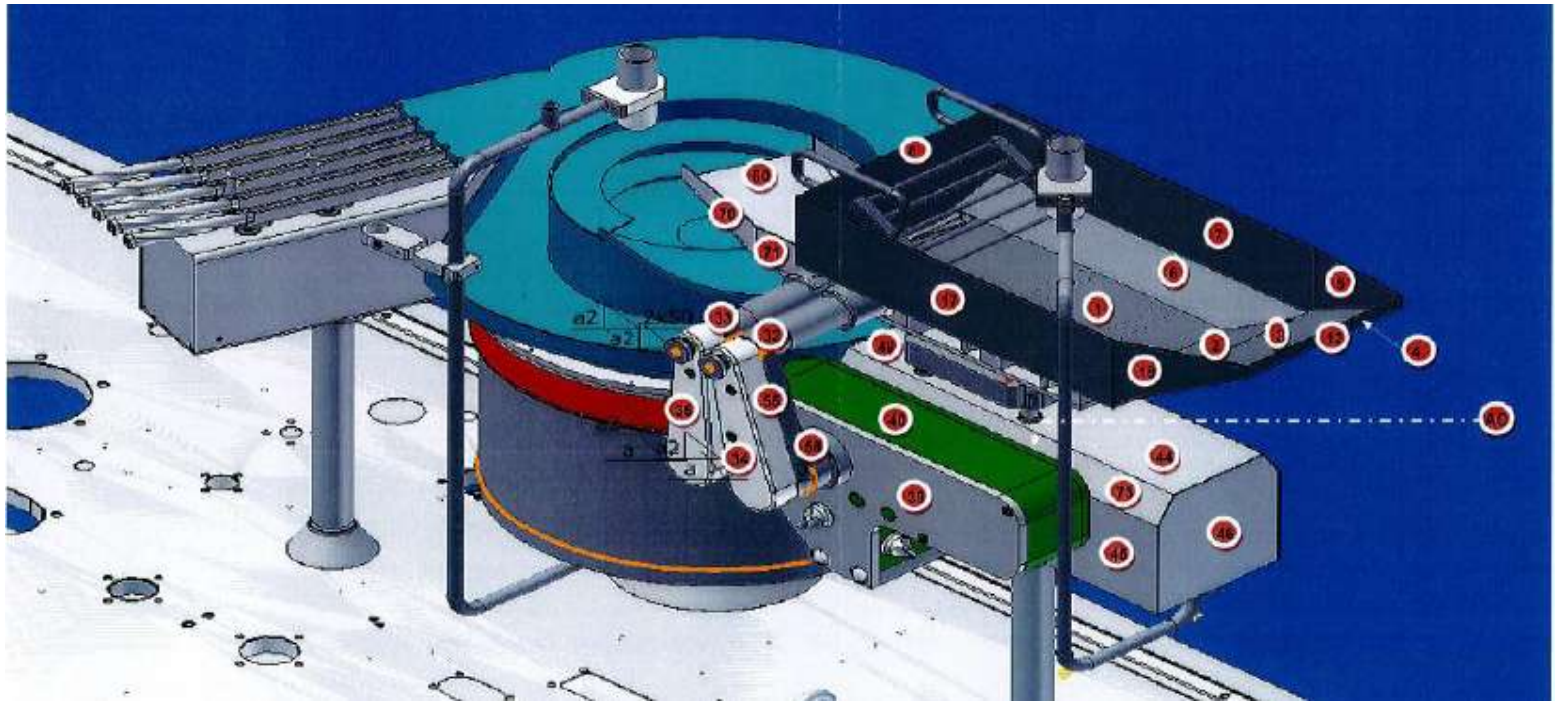
De nombreux textes réglementaires, normes et guides existent, permettant à l'industriel de mener à bien l'élaboration et la mise en place d'infrastructures permettant la production de médicaments stériles.

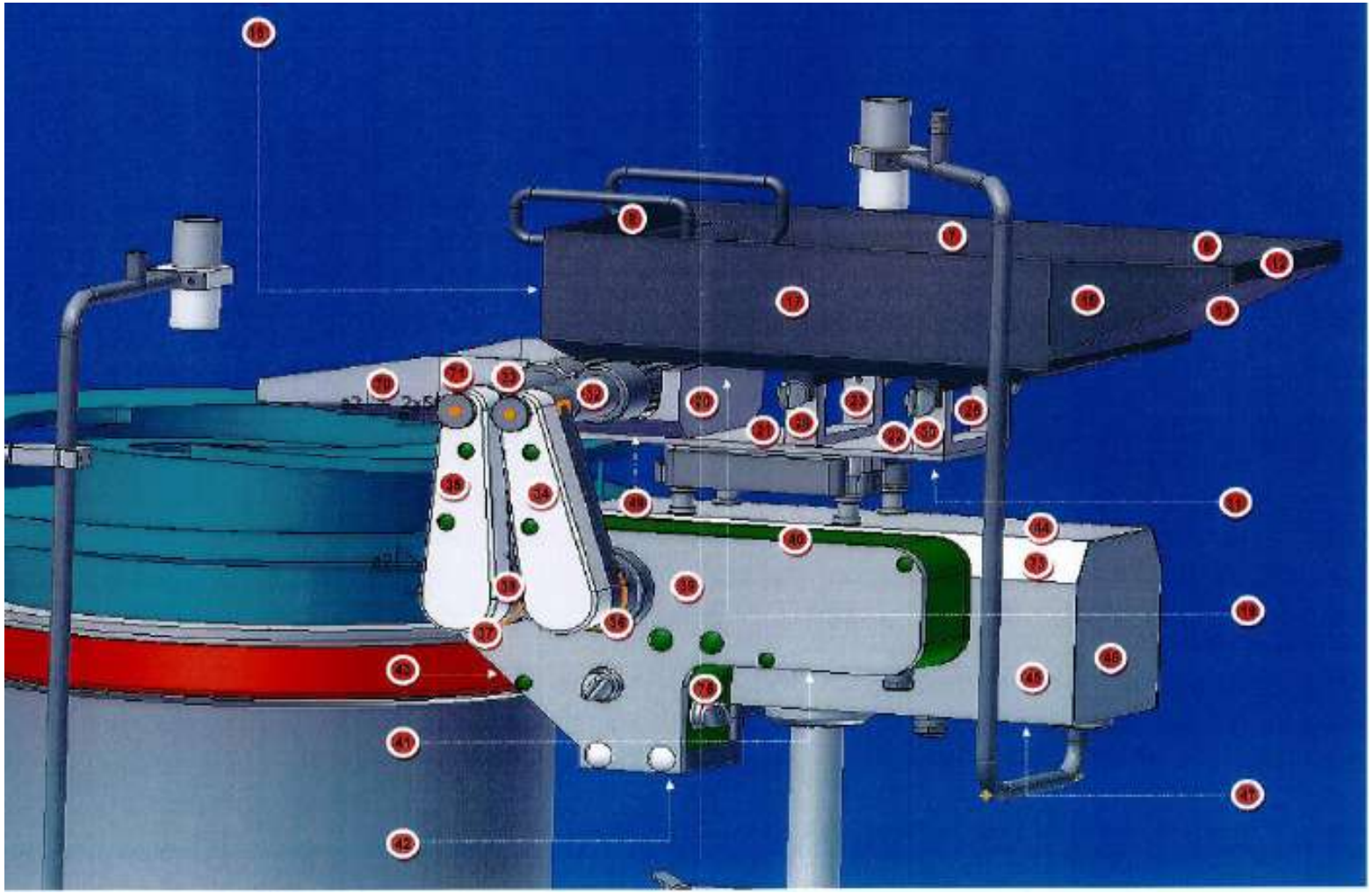
Enfin, la maîtrise de l'environnement demeure un paramètre nécessaire mais non suffisant à lui seul pour garantir la stérilité d'un médicament. En effet, de nombreux autres essais doivent être pratiqués sur le produit lui-même mais aussi sur l'équipement. Si l'on reprend les trois critères qui définissent un médicament stérile : absence de microorganismes vivants ou revivifiables, apyrogénicité et l'absence de particules, il conviendra de réaliser des essais de stérilité sur le produit, mais aussi des essais permettant de détecter la présence de pyrogènes (endotoxines) et de mettre en place tout un système de stérilisation du produit.

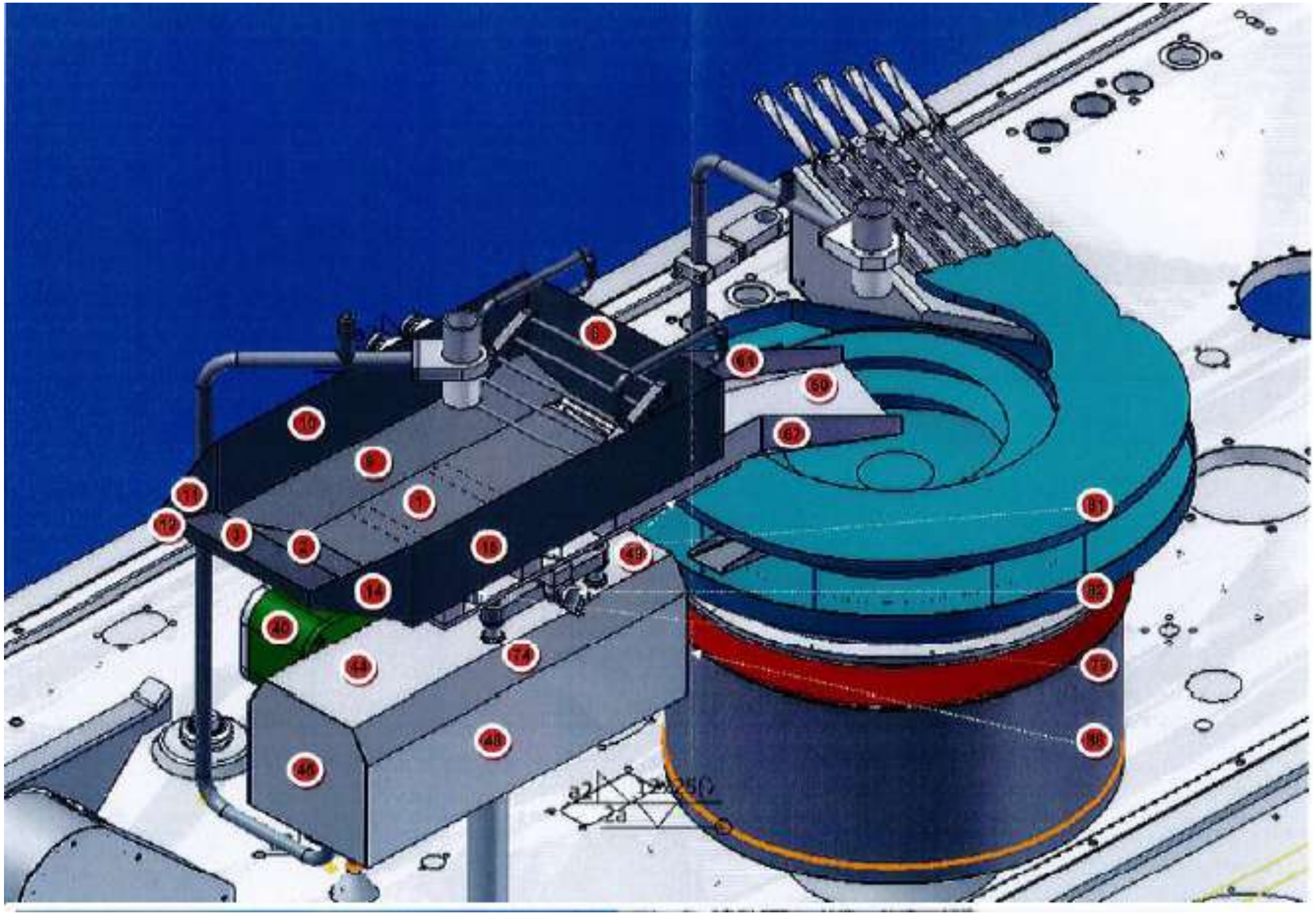
Ce n'est que lorsque tous ces éléments sont réunis que la notion de produire un médicament revendiqué stérile devient envisageable.
Pour un pharmacien industriel, qu'il soit au laboratoire de contrôle qualité, à l'assurance qualité ou bien encore en production, revient toujours à la définition même des qualités que doit posséder un médicament, c'est-à-dire : la Qualité du produit mis à disposition, la Sécurité et l'efficacité pour le patient l'utilisant.

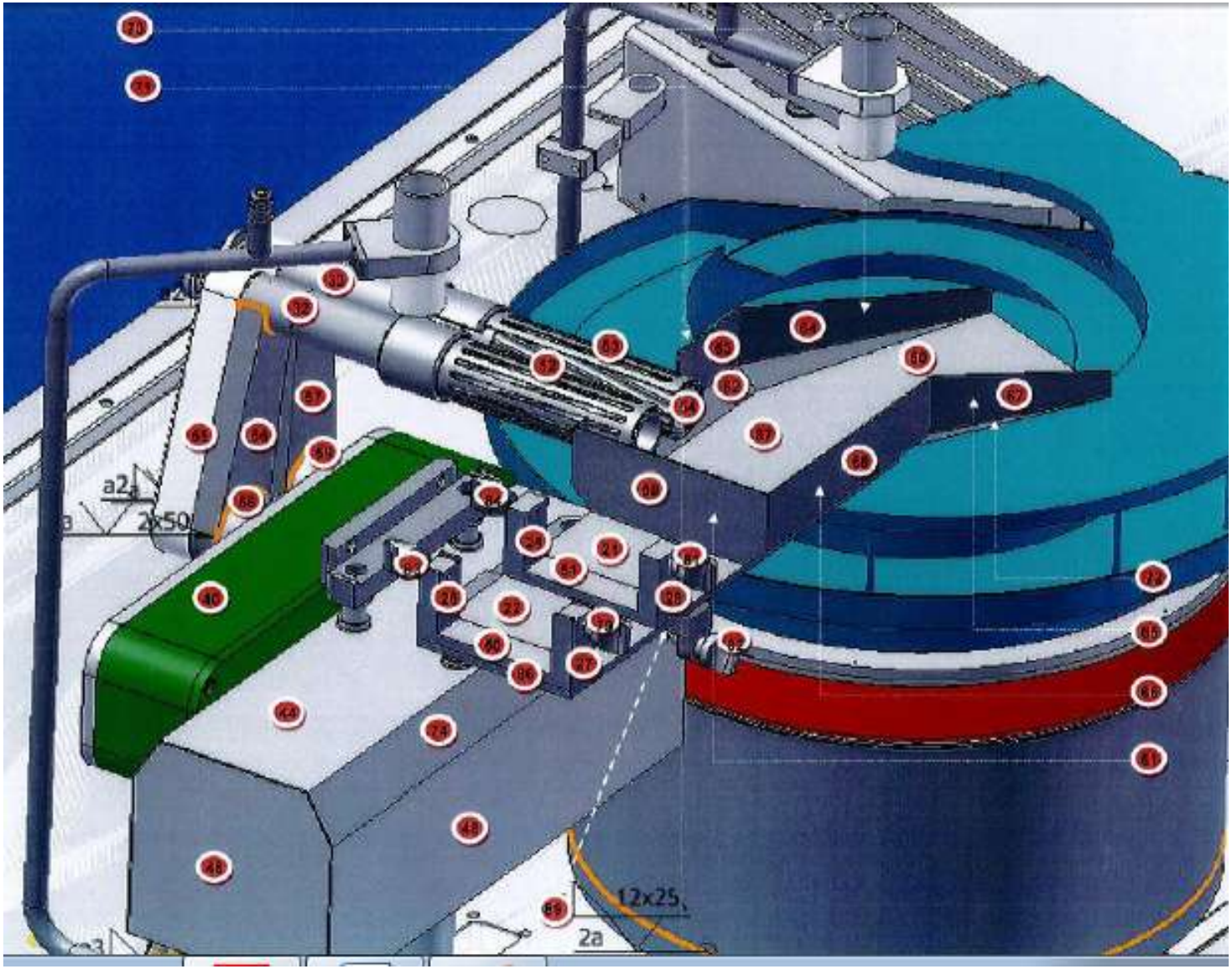
La mise en pratique de ces notions de qualité abordées dans ce manuscrit permet de se rendre compte, qu'il est complexe de s'assurer que le procédé considéré respecte bien les conditions qui lui sont imposées. Non seulement de nombreux paramètres imposés sont à prendre en compte, mais de plus, la conception même d'un tel équipement (isolateur), rend son utilisation et sa maîtrise unique. Cette dernière pouvant varier dès la moindre modification, il faut veiller à ce que la maîtrise du changement soit absolue.

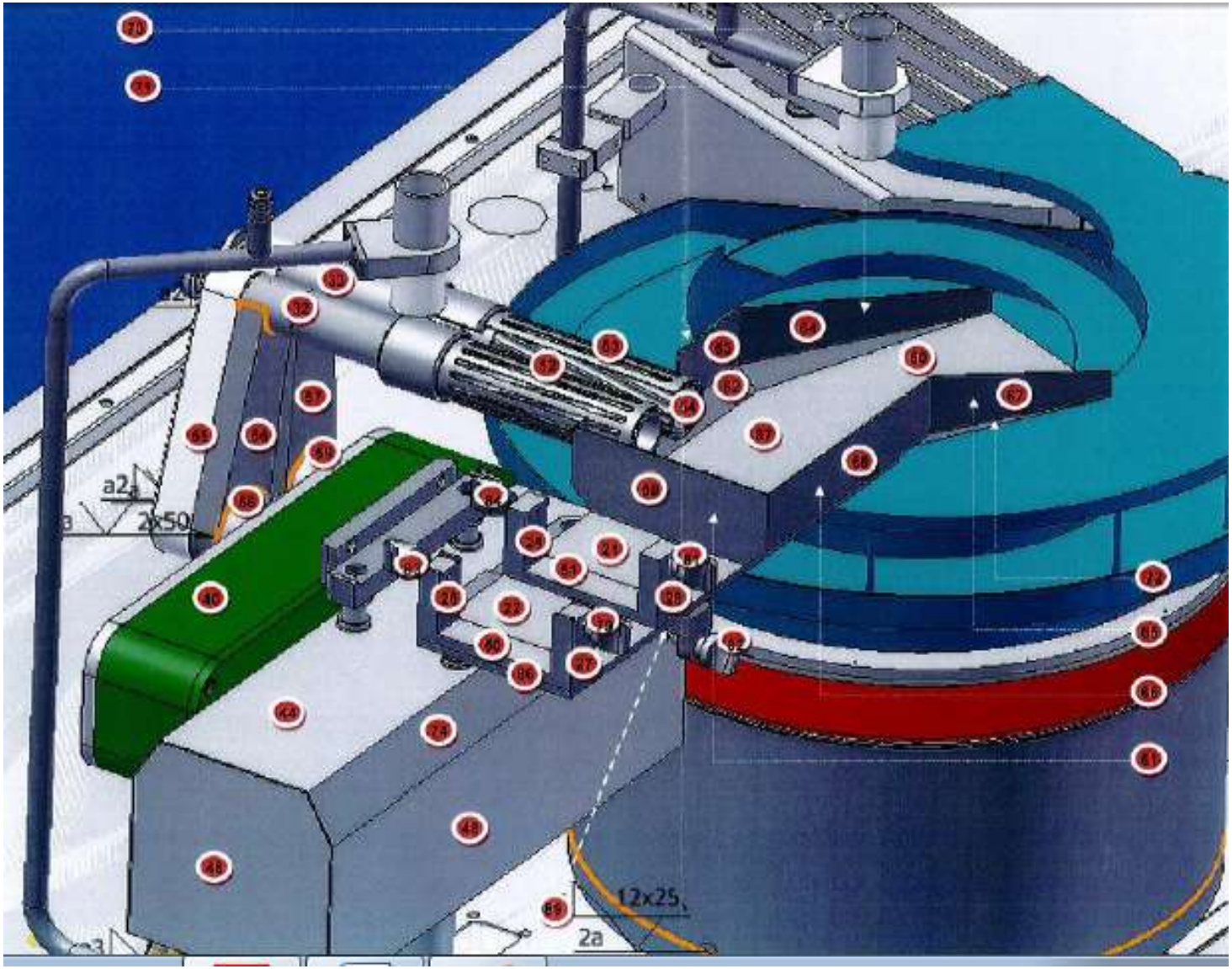
ANNEXE 1 : Détermination et dénomination des l'intégralité des surfaces du nouvel équipement



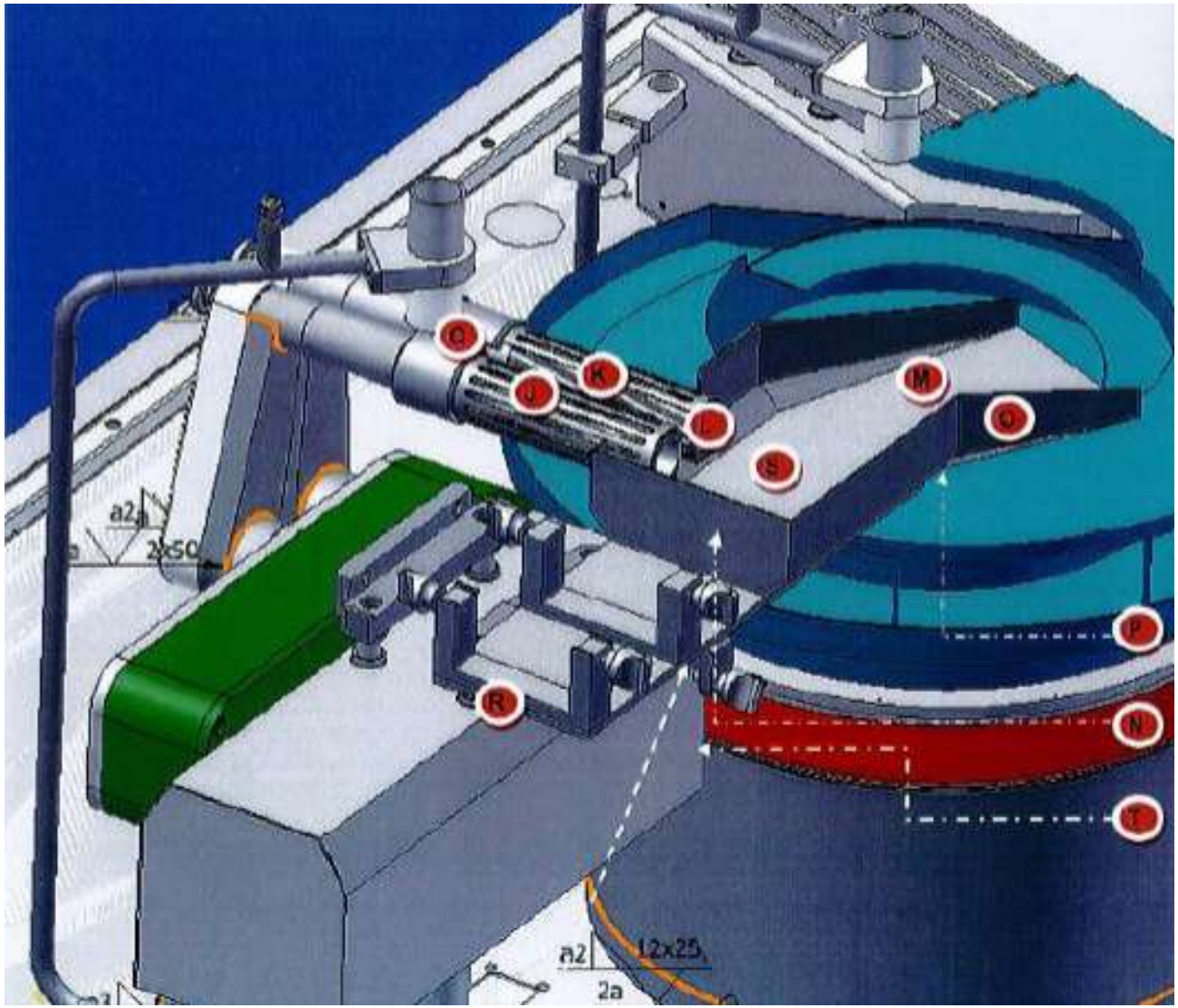


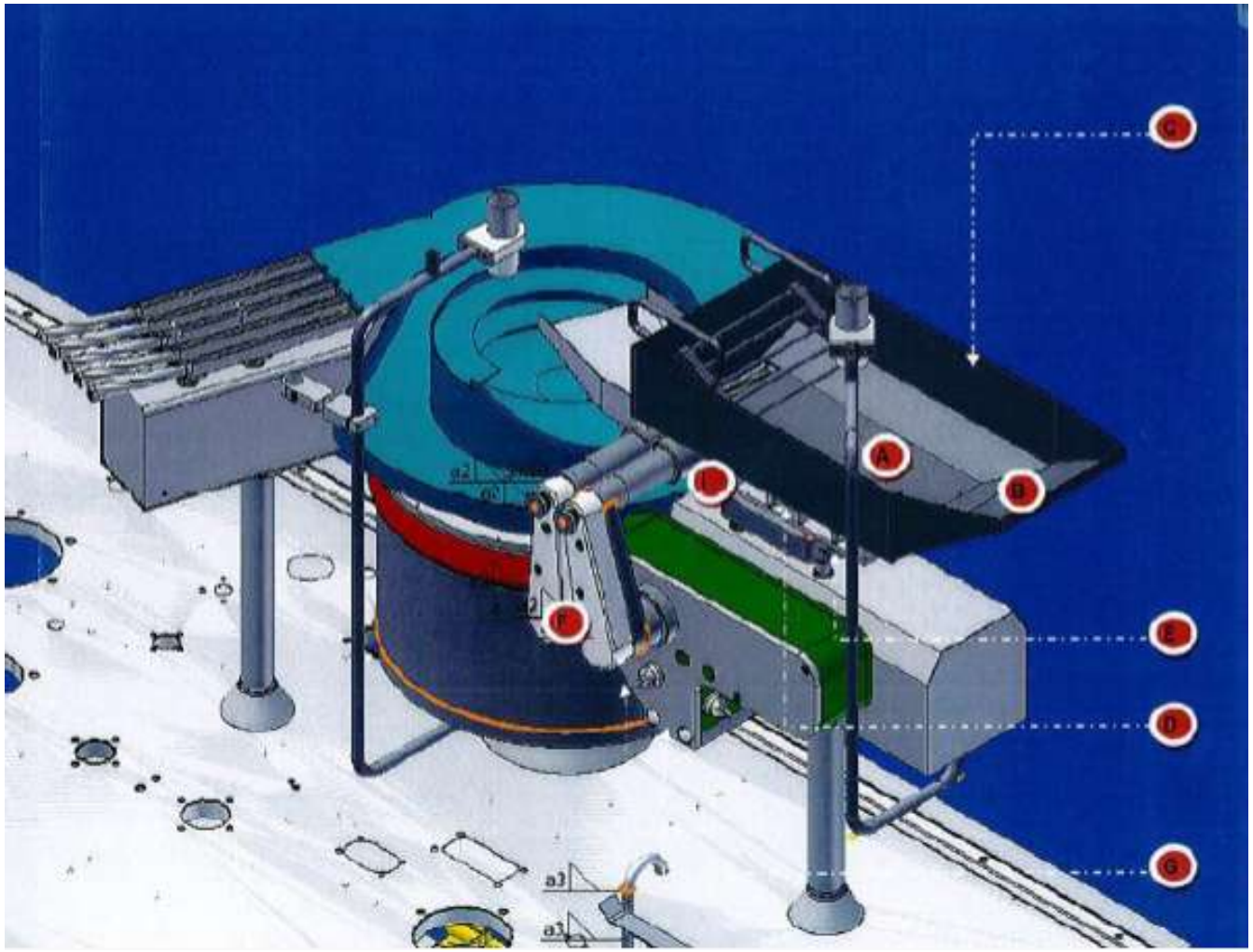

a2
2a


a2
2x50
12x25
2a

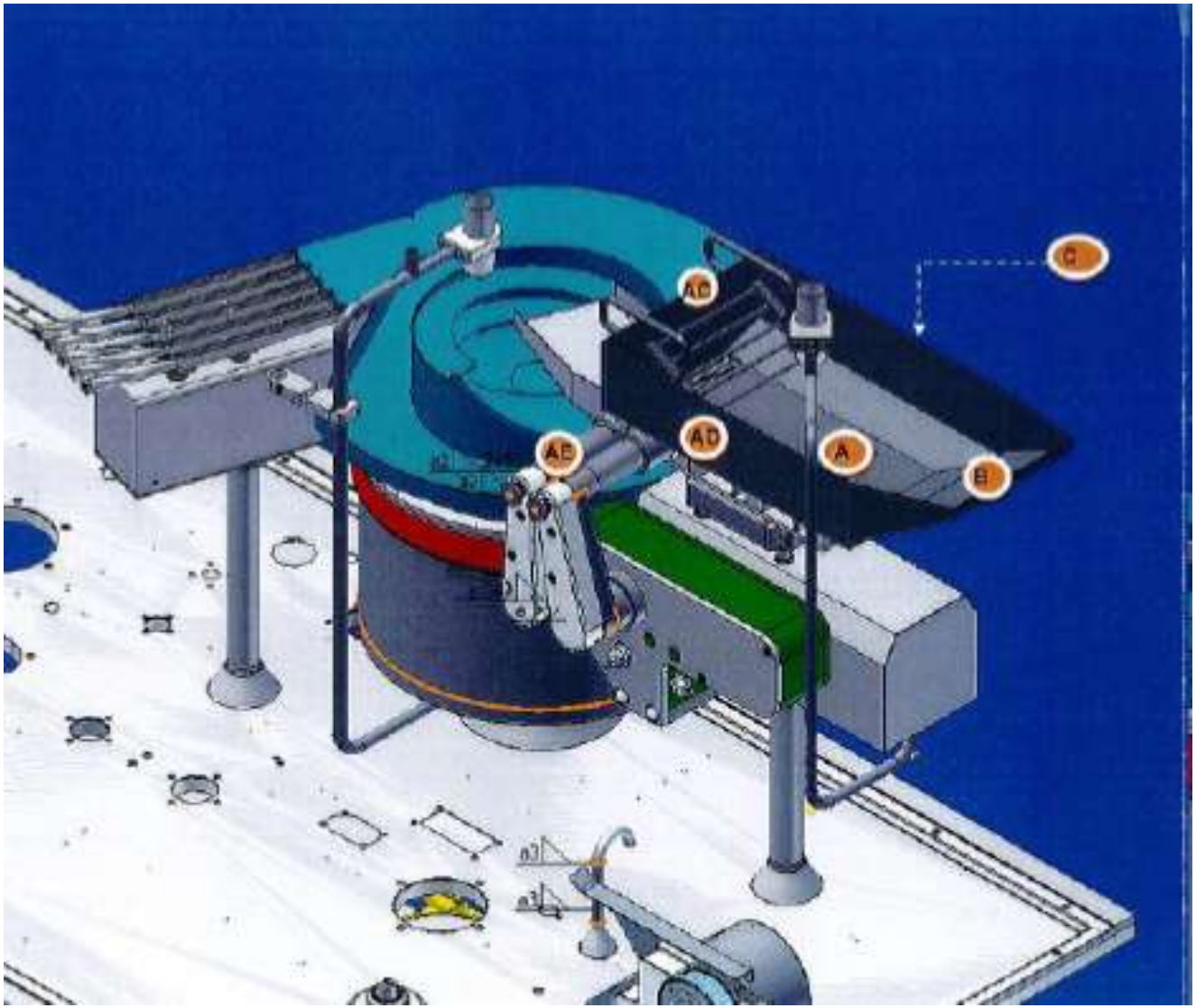

a2
2x50
12x25
2a

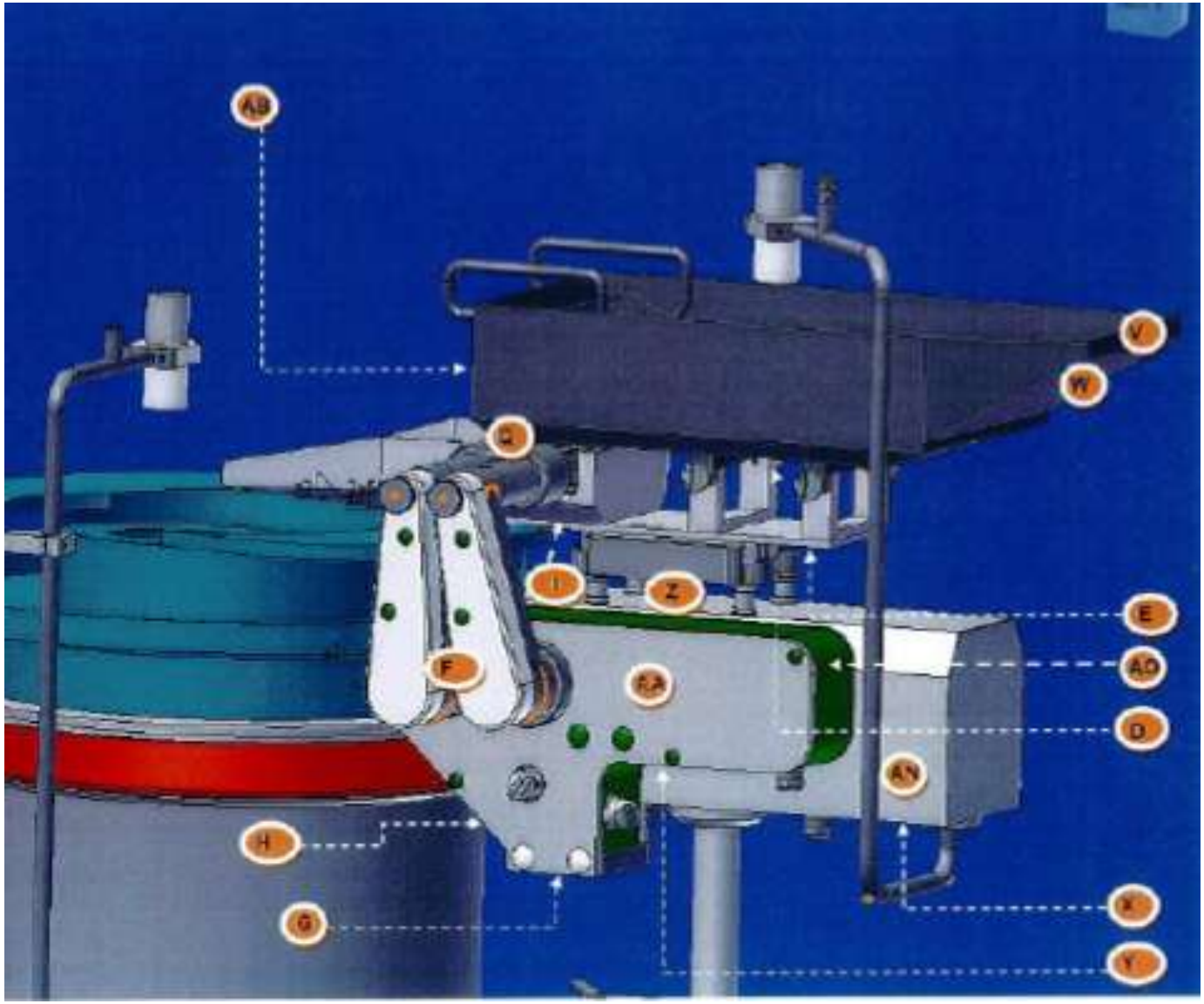
ANNEXE 2 : Position des Indicateurs Biologiques retenues

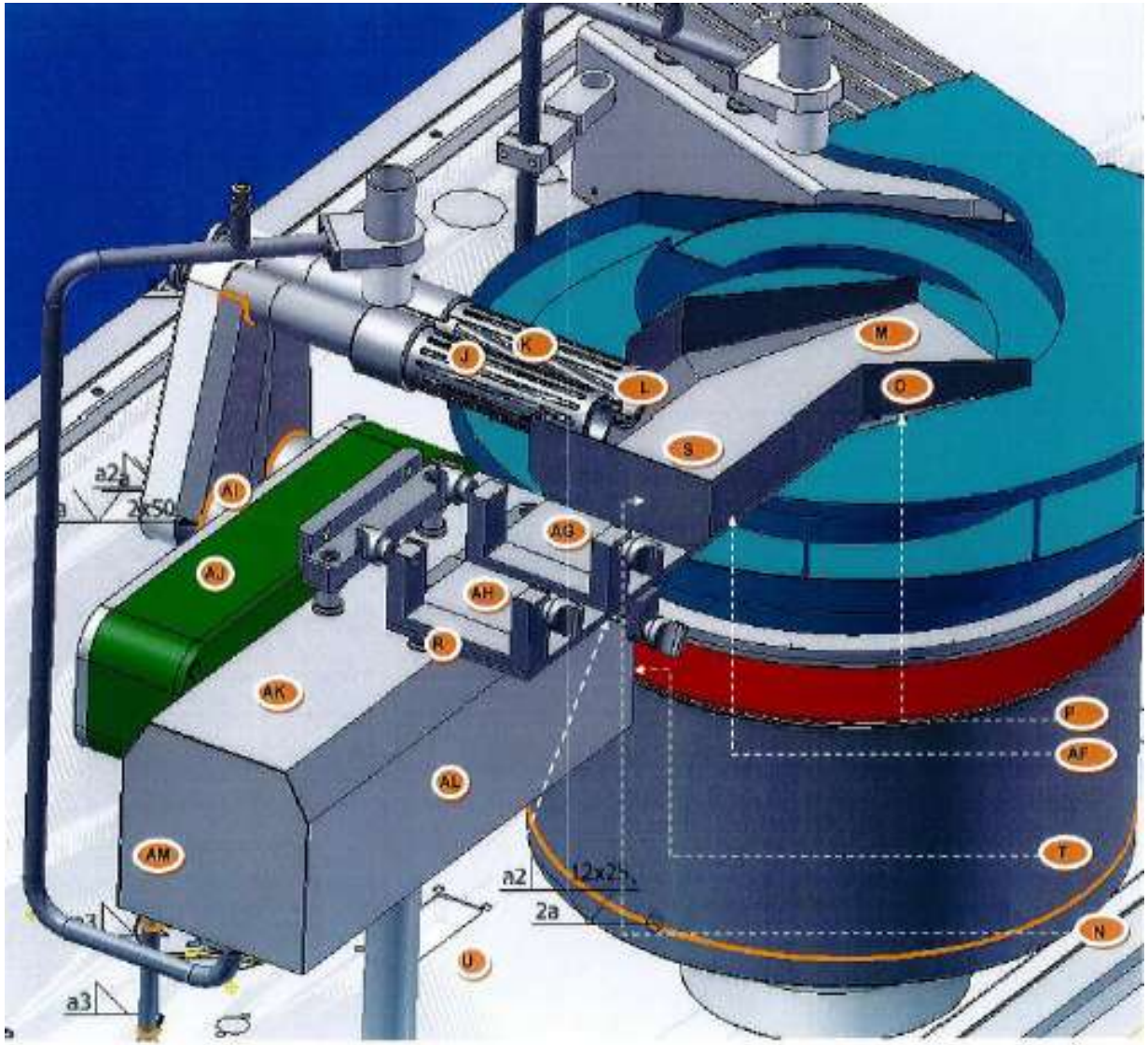



G
A
B
C
F
E
D
G

ANNEXE 3 : Positions des Indicateurs Chimiques retenues




AB
V
W
Q
I
Z
E
F
AA
AD
D
AN
H
G
X
Y


J
K
L
M
O
S
AI
AJ
AG
AH
R
AK
AL
AM
P
AF
T
N
U
a2
2a
a3

BIBLIOGRAPHIE INTERNET *(Par Ordre Alphabétique)*

- Cleanroom, 2013, http://www.cleanroom.fr/catalogue

- Cleanroom, 2013, http://cleanroom.elis.com/fr/habillement/tenues-et-accessoires/combinaison-protection-absolue-pa/

- Getinge.com, 2013,
http://www.getinge.com/files/lsbrochures/Isolation%20tech/Brochures_Isolation-tech_FR.pdf

-**Infectiologie.com, 2010**, http://www.infectiologie.com/site/medias/JNI/JNI10/IDE/JNI2010-IDE-Jean_Pierre.pdf

- Howorthgroup.com, 2013

- Ultrapropreté.com, 2013, http://www.ultraproprete.com/dossiers-techniques/technologies/salles-propres.html

BIBLIOGRAPHIE LITTÉRAIRE *(Par Ordre Alphabétique)*

- BCMI, 2005, Guide de l'ultra propreté, Maîtrise de la contamination-Environnements et process propres, ultra-propreté et stérile, 5ème édition.

- BPF, 2011 *Bonnes pratiques de fabrication, LD.1. Fabrication des médicaments stériles.* [ed.] Bulletin Officiel. 2011. Vol. 8 bis

- D. Bertin, 2012, Filtration de l'air en salle propre, Salles Propres, n°83, Décembre p28 à 33.

- **Ernst T. Rietschel,** 1994, Bacterial endotoxin : molecular relationship of structure to activity and function, Ernstt T., , Teruo Kirikae, F. Ulrich Schade, Uwe Mamat, Günter Schmidt, Harald Loppnow, Artur J. Ulmer, Ulrich Zähringer, Ulrich Seydel, Franco Di Padova, Max Shreier, Helmut Brade, The FASEB Journal, Vol.8, Février 1994.

- **Euroflux, 2013**, Brochure, 14 pages.

- F.Laban, 2012, Bonnes pratiques et maîtrise du comportement en zone aseptique, La Vague, Septembre 2012, n°35, p8 à 9.

- G.Dufort, 2010, INERIS,G.Dufort - H. Houeix - N. Manier – A. Troise, Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, version 4, Février 2010.

- ISO 14644-1, 1999, AFNOR, Salles propres et environnements maîtrisés, Partie 1 Classification de la propreté de l'air.

- ISO 14644-2, 2000, AFNOR, Salles propres et environnements maîtrisés, Partie 2 Spécifications pour les essais et la surveillance en vue de démontrer le maintien de la conformité avec l'ISO 14644-1.

- ISO 14644-3-2006, AFNOR, Salles propres et environnements maîtrisés, Partie 3 Méthodes d'essai.

- ISO 14644-6-2007, AFNOR, Cleanrooms and associated controlled environments, Part 6 Vocabulary.

- ISO 14644-7-2004, AFNOR, Salles propres et environnements maîtrisés, Partie 7 Dispositifs séparatifs (postes à air propre, boîte à gants, isolateur et mini-environnements).

- **J.E. Meszaros, 2005**,K. Antloga, C. Justi, C. Plesnicher, G. McDonnell, Applied Biosafety, Area fumigation with hydrogen peroxide vapor,10 (2), p91-100.

- M Azria, JL Kiger, 1971, Recherche médicale, animaux de laboratoire et pollution. Cahiers Sandoz, 19 : 5-23.

- **M. Nicholson, 2012**, STP Pharma Pratiques, vol.22, n°2, Mars-Avril 2012, p75 à 83.

- **N. Bonnard, M. Falcy, D. Jargot,2007**, INRS, Fiche toxicologique Peroxyde d'hydrogène et solution aqueuse, FT123, 2007.

- NF S 90-351, 2003-06, AFNOR, Salles propres et environnements maîtrisés apparentés, Exigences relatives pour la maîtrise de la contamination aéroportée.

- P.C. Trexler, 1962, Final report, September 1 1960 trough September 30 1962, *The design and development and study of germfree isolators use with patients and research*, LOBUND laboratories, University of Notre-Dame.]

- **Pharmacopée Européenne, 2002**, 4ème édition, chap5.1.2 Indicateurs biologiques de stérilisation

- **PIC/S, 2009**, Pharmaceutical Inspection Convention – Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, Recommendation on the validation of aseptic processes, 1 July 2009.

-- **PIC/S, 2013**, Pharmaceutical Inspection Convention – Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, Guide to good manufacturing practice for medicinal product annexes, 1 January 2013.

- GSK, 2011, RPV-SERG-0034.01, Revue périodique de validation- Contrôleurs de gants et de porte Isolateur-ligne 12/3, Procédure interne.

- US FDA, 2004, Guidance for Industry, sterile drug products produced by aseptic processing-current good manufacturing practices.

- WHO, 2011, Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products : main principles, Technical Report Series, No. 961, annex 6.

UNIVERSITÉ DE NANTES **Année de la soutenance**
FACULTÉ DE PHARMACIE **2013**

Nom - Prénoms : Frongia Mylène
Titre de la thèse :

Maîtrise de la contamination dans un isolateur de répartition aseptique. Expérience menée lors de la qualification initiale d'un nouvel équipement ajouté au sein d'un isolateur de répartition.

Résumé de la thèse :

La maîtrise des procédés de fabrication de médicaments stériles doit inclure la parfaite maîtrise de l'environnement de production. Ce dernier doit permettre de réduire au maximum la contamination particulaire et microbiologique que l'on retrouve aussi bien dans l'air extérieur mais aussi et surtout sur l'Homme.

Afin de maîtriser au mieux cet environnement, des isolateurs de répartition peuvent être employés. Ces enceintes closes et décontaminables permettent de répartir le produit considéré avec un niveau de sécurité très élevé. Mais ceci à condition de mettre en place des moyens de maîtrise de l'environnement adaptés et un monitoring efficace.

Ce sujet a fait l'objet d'un retour d'expérience menée lors d'un stage industriel dans le service chargé des validations. Il permet de mettre en avant l'importance que peut avoir l'environnement lors de la répartition aseptique d'un produit injectable. Ceci par le biais d'une modification apportée au sein d'un isolateur utilisé pour remplir et boucher de manière aseptique des seringues.

MOTS CLÉS : STÉRILITÉ, ISOLATEUR, ZONE À ATMOSPHÈRE CONTROLÉE, INDICATEURS BIOLOGIQUES, ANALYSE DE RISQUES

JURY

PRÉSIDENT : Mme Christine HERRENKNECHT, Professeur de Chimie Analytique

ASSESSEUR : Mme. Le Doyen Virginie FERRE, Professeur de Virologie, Faculté de Pharmacie de Nantes

---

Adresse de l'auteur :
Mlle FRONGIA Mylène
76530 GRAND COURONNE