



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année: 2022

Thèse N°: 54

LA MAITRISE DE LA CONTAMINATION DANS UNE ZONE DE FABRICATION DE FORMES INJECTABLES

Thèse :

Soutenue et présentée publiquement le : / /2022

PAR :

Monsieur EL BOUKHARI EL KHAMLICHI Reda

Né le 11 Février 1993 à Tétouan (Maroc)

Pour l'obtention du Diplôme de

Docteur en Pharmacie

Mots Clés : Parentérales ; Process aseptique ; ZAC ; isotechnie ; QbD.

Membres du Jury :

Monsieur Abdelkader LAATIRIS
Professeur de Pharmacie Galénique

Président

Monsieur Younes RAHALI
Professeur de Pharmacie Galénique

Rapporteur

Monsieur Jaouad EL HARTI
Professeur de Chimie Thérapeutique

Juge

Monsieur Sidi-Yassir ELALAOUI
Professeur de Pharmacie Galénique

Juge



DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969: Professeur Abdelmalek FARAJ

1969 – 1974: Professeur Abdellatif BERBICH

1974 – 1981: Professeur Bachir LAZRAK

1981 – 1989: Professeur Taieb CHKILI

1989 – 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI

1997 – 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI

2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ORGANISATION DÉCANALE :

Doyen

Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Taoufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Younes RAHALI

Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

SERVICES ADMINISTRATIFS :

Chef du Service des Affaires Administratives

Mr. Abdellah KHALED

Chef du Service des Affaires Étudiantes, Statistiques et Suivi des Lauréats

Mr. Azzeddine BOULAAJOU

Chef du Service de la Recherche, Coopération, Partenariat et des Stages

Mr. Najib MOUNIR

Chef du service des Finances

Mr. Rachid BENNIS

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

*Enseignant militaire

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine interne – Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine interne –Doyen de la FMPR

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. SOULAYMANI Rachida

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Mat. Orangers Rabat
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen FMPT
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques Doyen FMFA
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale– Dir. du CHIS Rabat
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. BENTAHILA Abdelali

Urologie Inspecteur du SSM
Pédiatrie

*Enseignant militaire

Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie [Dir. HMI Mohammed V Rabat](#)

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie [Dir. Hôp. Ar-razi Salé](#)
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie [Doyen de la FMP Abulcassis Rabat](#)
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale

*Enseignant militaire

Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AMEUR Ahmed*
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*

*Enseignant militaire

Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine interne

Ne Urologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - [Dir. Hôp. Cheikh Zaid Rabat](#)
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

Anesthésie-Réanimation
Ne Urologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique [Dir. Hôp. Des Enfants Rabat](#)
Chirurgie Générale
Pédiatrie -
Neuro-chirurgie
Chirurgie Générale [Dir. Hôpital Ibn Sina Rabat](#)
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique [V-D. Aff Acad. Est.](#)
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie [Dir. HMI Moulaya Ismail-Meknès](#)

Pr. BAMOU Youssef*
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. CHOHO Abdelkrim*
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif*
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HESSISEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed

*Enseignant militaire

Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Générale *Dir. de l' ERPLM*

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Ne Urologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie réparatrice et plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Rhumatologie *Dir. Hôp. Al Ayachi Salé*
Pédiatrie
Cardiologie
Biophysique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie

Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire. *Dir. Hôp. Ibn Sina Marr.*
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHERKAOUI Naoual*
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-Chimie
Pharmacie Clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie Générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie Médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale

*Enseignant militaire

Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGADR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna*
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani*

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*

*Enseignant militaire

Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Biochimie-Chimie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-Orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie *Dir. Hôp. Spécialités Rabat*
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-Chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
Microbiologie
Médecine Aéronautique

Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Biochimie- Chimie
Chirurgie Pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Plastique et Réparatrice
Urologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Anatomie Pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir Chirurgie
Pr. JAHID Ahmed

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Traumatologie-Orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophthisiologie
Pédiatrique
Anatomie Pathologique

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCI Laila
Pr. AMOR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI NIZARE
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JAOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria

Pharmacologie *Doyen FP de l'UM6SS*
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie-Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique et Bromatologie
Traumatologie orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie

*Enseignant militaire

Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alac
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryem
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM*

MAI 2013

Pr. BOUSLIMAN Yassir*

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
 Pr. BENCHAKROUN Mohammed*
 Pr. BOUCHIKH Mohammed
 Pr. EL KABBAJ Driss*
 Pr. FILALI Karim*
 Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira*
 Pr. HARDIZI Houyam
 Pr. HASSANI Amale*
 Pr. HERRAK Laila

*Enseignant militaire

Anatomie Pathologique
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine interne
 Pharmacologie *Directrice du Méd. Phar.*
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique *Vice-Doyen à la Pharmacie*
 Génétique
 Ne Urologie
 Ophtalmologie
 Ne Urologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Toxicologie

Chirurgie Thoracique
 Traumatologie- Orthopédie
 Chirurgie Thoracique
 Néphrologie
 Anesthésie-Réanimation *Dir. ERSSM*
 Biochimie-Chimie
 Histologie- Embryologie-Cytogénétique
 Pédiatrie
 Pneumologie

Pr. JEAIDI Anass*
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. MAKRAM Sanaa*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

Hématologie Biologique
Gynécologie-Obstétrique
Pharmacologie
CCV
Médecine interne
Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham*
Pr. BENAZZOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie réparatrice et plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Nouredine*

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAITI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. MAJBAR Mohammed Anas
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. SOUADKA Amine
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
Chirurgie Générale
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Chirurgie Générale
Immunologie

PROFESSEURS AGREGES :

*Enseignant militaire

JANVIER 2005

Pr. HAJJI Leila

MAI 2018

Pr. AMMOURI Wafa
Pr. BENTALHA Aziza
Pr. EL AHMADI Brahim
Pr. EL HARRECH Youness*
Pr. EL KACEMI Hanan
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa
Pr. FATIHI Jamal*
Pr. GHANNAM Abdel-Ilah
Pr. JROUNDI Imane
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil
Pr. TADILI Sidi Jawad
Pr. TANZ Rachid*

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajac

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq*
Pr. ACHBOUK Abdelhafid*
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah*
Pr. BASSIR Rida Allah
Pr. BOUATTAR Tarik
Pr. BOUFETTAL Monsef
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed*
Pr. BOUZELMAT Hicham*
Pr. BOUKHRIS Jalal*
Pr. CHAFRY Bouchaib*
Pr. CHAHDI Hafsa*
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD*
Pr. DAMIRI Amal*
Pr. DOGHMI Nawfal*
Pr. EL LALAOUI Sidi-Yassir
Pr. EL ANNAZ Hicham*
Pr. EL HASSANI Moulay El Mehdi*
Pr. EL HJOUJI Abderrahman*
Pr. EL KAOUI Hakim*
Pr. EL WALI Abderrahman*
Pr. EN-NAFAA Issam*
Pr. HAMAMA Jalal*
Pr. HEMMAOUI Bouchaib*
Pr. HJIRA Naouafal*
Pr. JIRA Mohamed*
Pr. JNIENE Asmaa

*Enseignant militaire

Cardiologie (*mise en disponibilité*)

Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Radiothérapie
Radiothérapie
Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Oncologie Médicale

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie--Cytogénétique

Néphrologie
Chirurgie réparatrice et plastique
Radiothérapie
Génycologie-Obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie-Générale
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Traumatologie-Orthopédie
Anatomie pathologique
Neuro-chirurgie
Anatomie Pathologique
Anesthésie-Réanimation
Pharmacie-Galénique
Virologie
Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Radiologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
O.R.L
Dermatologie
Médecine interne
Physiologie

Pr. LARAQUI Hicham*
Pr. MAHFOUD Tarik*
Pr. MEZIANE Mohammed*
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes*
Pr. MOUZARI Yassine*
Pr. NAOUI Hafida*
Pr. OBTEL MAJDOULINE
Pr. OURRAI ABDELHAKIM*
Pr. SAOUAB RACHIDA*
Pr. SBITTI YASSIR*
Pr. ZADDOUG OMAR*
Pr. ZIDOUH SAAD*

SEPTEMBRE 2021

Pr. ABABOU Karim*
Pr. ALAOUI SLIMANI Khaoula*
Pr. ATOUF OUFAA
Pr. BAKALI Youness
Pr. BAMOUS Mehdi*
Pr. BELBACHIR Siham
Pr. BELKOUCH Ahmed*
Pr. BENNIS Azzelarab*
Pr. CHAFAI ELALAOUI Siham
Pr. DOUMIRI Mouhssine
Pr. EDDERAI Meryem*
Pr. EL KTAIBI Abderrahim*
Pr. EL MAAROUFI Hicham*
Pr. EL OMRI Noual*
Pr. ELQATNI Mohamed*
Pr. FAHRY Aicha*
Pr. IBRAHIM RAGAB MOUNTASSER Dina*
Pr. IKEN Maryem
Pr. JAAFARI Abdelhamid*
Pr. KHALFI Lahcen*
Pr. KHEYYI Jamal*
Pr. KHIBRI Hajar
Pr. LAAMRANI Fatima Zahrae
Pr. LABOUDI Fouad
Pr. LAHKIM Mohamed*
Pr. MEKAOUI Nour
Pr. MOJEMMI Brahim
Pr. OUDRHIRI Mohammed Yassaad
Pr. SATTE AMAL*
Pr. SOUHI Hicham*
Pr. TADLAOUI Yasmina*
Pr. TAGAJDID Mohamed Rida*
Pr. ZAHID Hafid*
Pr. ZAJJARI Yassir*
Pr. ZAKARYA Imane*

Chirurgie-Générale
Oncologie Médicale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Parasitologie-Mycologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pédiatrie
Radiologie
Oncologie Médicale
Traumatologie-Orthopédie
Anesthésie-Réanimation

Chirurgie réparatrice et plastique
Oncologie Médicale
Immunologie
Chirurgie Générale
CCV
Psychiatrie
Médecine des Urgences et des Catastrophes
Traumatologie-Orthopédie
Génétique
Anesthésie-Réanimation
Radiologie
Anatomie Pathologique
Hématologie Clinique
Médecine interne
Médecine interne
Pharmacie Galénique
Néphrologie
Parasitologie
Anesthésie-Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Cardiologie
Médecine interne
Radiologie
Psychiatrie
Radiologie
Pédiatrie
Chimie Analytique
Neurochirurgie
Neurologie
Pneumo-phtisiologie
Pharmacie Clinique
Virologie
Hématologie
Néphrologie
Pharmacognosie

*Enseignant militaire

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BARKIYOU Malika
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. FAOUZI Moulay El Abbas
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. RIDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed

Physiologie
Biochimie-Chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Histologie-Embryologie
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Physiologie *Vice-Doyen chargé de la Rech. et de la Coop.*
Pharmacologie
Biologie moléculaire/Biotechnologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie

PROFESSEURS HABILITES :

Pr. AANNIZ Tarik
Pr. BENZEID Hanane
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
Pr. CHERGUI Abdelhak
Pr. DOUKKALI Anass
Pr. EL BAKKALI Mustapha
Pr. EL JASTIMI Jamila
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. LAZRAK Fatima
Pr. LYAHYAI Jaber
Pr. OUADGHIRI Mouna
Pr. RAMLI Youssef
Pr. SERRAGUI Samira
Pr. TAZI Ahnini
Pr. YAGOUBI Maamar

Microbiologie et Biologie moléculaire
Chimie
Biochimie-Chimie
Botanique, Biologie et physiologie végétales
Chimie Analytique
Physiologie
Chimie
Histologie-Embryologie
Chimie
Génétique
Microbiologie et Biologie
Chimie Organique Pharmaco-Chimie
Pharmacologie
Génétique
Eau, Environnement

Mise à jour le 21/02/2022

KHALED Abdellah

Chef du Service des Affaires Administratives

FMPR

*Enseignant militaire

Remerciements

**A notre maître et président de thèse
Monsieur Abdelkader LAATIRIS
Professeur de pharmacie galénique**

**C'est un grand honneur que vous nous avez accordé, en acceptant
de présider le jury de notre thèse**

**Votre professionnalisme stellaire et rigueur pédagogique, seront
toujours des qualités auxquelles nous aspirerons**

Veillez trouver ici, l'expression de notre immense respect

**A notre maître et rapporteur de thèse
Monsieur Younes RAHALI
Professeur de pharmacie galénique**

**Ce fut un privilège, monsieur, de pouvoir travailler sous votre
direction durant l'élaboration de cette thèse
Votre clarté d'instruction, ainsi que vos conseils précieux, ont été
essentiels pour son achèvement
Je vous serai toujours reconnaissant**

**A notre maître et juge de thèse
Monsieur Jaouad EL HARTI
Professeur de chimie thérapeutique**

**Vous nous faites honneur, monsieur, en acceptant de juger ce
travail**

**Votre attitude sympathique et esprit professionnelle, sont d'un rare
calibre**

Vous avez notre éternelle admiration

**A notre maître et juge de thèse
Monsieur Sidi-Yassir ELALAOUI
Professeur de pharmacie galénique**

**Vous nous honorez, monsieur, avec votre présence en tant que juge
de notre thèse**

**L'amabilité et le professionnalisme dont vous faites preuve, sont une
combinaison exceptionnelle**

Veillez accepter l'expression de notre haute considération

Liste des abréviations :

AMDE : Analyse des modes de défaillance et de leurs effets

AQ : Assurance Qualité Produit

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CAPA : Corrective Action Preventive Action

CVC: Chauffage, ventilation et climatisation

EPPI: Eau pour préparation d'injectables

ER: Evaluation du risque.

FDA: Food and Drug Administration

FM: Filtration sur membrane.

FTM: Fluid Thioglycollate Medium

GMP: Good Manufacturing Practice

HEPA: High efficiency particulate air

ID: Intradermique

IM: Intramusculaire

IV: Intraveineuse

LAL: Lysat d'amœbocyte de limule

LCR: Liquide céphalo-rachidien

LPS: Lipopolysaccharide

MFT: Media Fill Test

NAS: Niveau d'assurance de stérilité

NEP: Nettoyage en place

OE: Oxyde d'éthylène

PA : Principe Actif

PVC: Chlorure de polyvinyle

QC: Qualification de conception

QI: Qualification d'installation

QO: Qualification opérationnelle

QP: Qualification de performance

RABS: Restricted Access Barrier System

RPN: Risk priority number

RPR: Risk priority ranking

RTP: Rapid transfer port

SC : Sous-cutané

SCD: Soybean-casein Digest

SEP: Stérilisation en place

SNC: Système nerveux central

SOP: Standard Operating Procedures

TD: Transfert direct

TRA : Test de Remplissage Aseptique

TS : Trypticase Soja

UFC : Unité Formant Colonie

USP: United States Pharmacopeia

ZAC: Zone à atmosphère contrôlée

Liste des figures :

Figure 1: Représentation d'une injection intraveineuse utilisant une vessie animale et un rachis de plume.....	4
Figure 2: Illustration d'une seringue hypodermique (n°1 : en argent, et n°3 : en verre) en 1869 provenant du « Manual of Hypodermic Medication » de Roberts Bartholow.	4
Figure 3: Premier autoclave expérimental inventé par Charles Chamberland.....	5
Figure 4: W. J. Whitfield quittant une salle blanche qu'il a inventé (1962).....	6
Figure 5: Les voies d'administration parentérale les plus communément utilisées.	9
Figure 6: Schéma montrant la voie (A) épidurale, et (B) intrathécale.	10
Figure 7: Schéma montrant la disposition du LPS sur la paroi d'une bactérie Gram-négative, ainsi que ses parties constitutives.	16
Figure 8: Schéma de l'interaction entre les différentes sources de la contamination.....	18
Figure 9: Schéma des mécanismes de contamination.....	19
Figure 10: Process de détermination des attributs critiques de la qualité à partir des QTPP.....	24
Figure 11: Représentation schématique de la différence entre un process aseptique et celui à stérilisation terminale.	26
Figure 12: Arbre décisionnel pour la distinction des CPP et KPP.....	27
Figure 13: Exemple des valeurs d'un Design Space d'une stérilisation terminale.....	28
Figure 14: Schématisation des différents niveaux de la stratégie de contrôle.....	30
Figure 15: Schéma du cycle d'un programme de gestion du risque qualité.....	33
Figure 16: Schématisation des différents états d'occupation de la ZAC.....	44
Figure 17: Schématisation de la séparation par des sas, des différentes classes des ZAC.	46
Figure 18: Exemple de finition dans une salle de pesée des matières premières.....	47
Figure 19: Point de transition concave entre mur et sol d'une zone classée BPF.	47
Figure 20: Exemple de la conception et fonctionnement d'une CTA.	48
Figure 21: La construction d'un filtre HEPA et les différents mécanismes de filtration.....	50
Figure 22: Un technicien en train d'effectuer un test d'intégrité sur un système de filtration HEPA, à l'aide d'un photomètre.....	51
Figure 23: Schéma montrant l'utilité des différents types des SAS.....	52
Figure 24 : Schéma du flux d'air turbulent dans une ZAC conventionnelle.....	53
Figure 25: Schéma d'une ZAC à flux d'air laminaire.....	54

Figure 26: Exemple de la visualisation du flux d'air dans une ZAC, générée par un logiciel de modélisation à partir des images captées.	55
Figure 27: Diagrammes de progression de l'adoption de l'isotechnie par industrie pharmaceutique.	62
Figure 28: Schémas d'un RABS passif (à gauche), et d'un RABS actif (à droite).	64
Figure 29: Schéma d'un RABS fermé.....	65
Figure 30: Comparaison d'une ZAC conventionnelle à l'isolateur, pour un process aseptique.	66
Figure 31: Des tubs emballés de seringues prérépandues introduits par convoyeur vers une ligne de production aseptique avec isolateurs ouverts.	67
Figure 32: Schéma d'un isolateur de confinement.	68
Figure 33: Exemple d'un isolateur fermé à paroi souple.....	69
Figure 34: Schéma représentant la portée du mouvement possible avec les différentes méthodes de manipulation dans l'isolateur.	69
Figure 35: Un opérateur en train d'introduire des bouchons stériles dans une trémie grâce aux manchettes-gants.	70
Figure 36: Schéma de la conception d'un demi-scaphandre.....	70
Figure 37: Schéma du système d'assemblage étanche manchette-gant.....	71
Figure 38: Un isolateur fermé à manipulation robotique.....	71
Figure 39: Schéma résumant les différents systèmes de transfert dans un isolateur.....	72
Figure 40: Schéma de fonctionnement d'un tunnel de dépyrogénéation.....	73
Figure 41: Schéma de fonctionnement du tunnel E-beam.....	74
Figure 42: Schéma montrant le fonctionnement d'un système DPTE.....	75
Figure 43: Exemples des types de conteneurs de transfert DPTE.	75
Figure 44: Schéma du SEP du système cuve/conteneur DPTE et du transfert aseptique du liquide.	76
Figure 45: Système de test de l'intégrité des gants et du système DPTE par chute de pression.	77
Figure 46: Schéma des composants d'un générateur de vapeur H ₂ O ₂ à boucle fermée.	80
Figure 47: Courbe de concentration H ₂ O ₂ vaporisé dans l'isolateur selon la phase du cycle de biodécontamination.	81
Figure 48: Schéma de fonctionnement de la biodécontamination par micro-nébulisation de H ₂ O ₂	82
Figure 49: Schéma montrant le fonctionnement d'un compteur de particules à diffusion de lumière.....	83
Figure 50: Emplacement de la sonde d'un compteur de particules en temps réel, dans un système barrière.....	84
Figure 51: Schéma d'un biocollecteur d'impaction STA.	85

Figure 52: Schéma d'un biocollecteur à cascade de cribles.	86
Figure 53: Applicateur de gélose de contact.	88
Figure 54: Réalisation du test d'empreintes des gants par le personnel.....	89
Figure 55: Application de gélose de contact sur la cagoule du personnel à la fin des opérations en ZAC classe A/B.	90
Figure 56: Schéma de fonctionnement d'un compteur de particules viables en temps réel.....	92
Figure 57: Un histogramme des fréquences.....	93
Figure 58: Une carte de contrôle de l'échantillonnage actif d'air pour une ZAC de classe C.	94
Figure 59: Diagramme circulaire du microbiote du personnel ayant accès à la production aseptique. ...	95
Figure 60: Représentation schématique du système de production d'EPPI dans l'établissement pharmaceutique.	97
Figure 61: Schéma du principe de l'osmose inverse.....	98
Figure 62: Schéma d'un système typique de stockage et distribution d'EPPI.....	100
Figure 63: Utilisation de spectroscopie RAMAN pour l'identification en temps réel des matières premières.....	101
Figure 64: Schéma des étapes de validation d'un procédé à l'échelle commerciale.	104
Figure 65: La philosophie de la validation selon l'approche QbD.....	105
Figure 66: Courbe d'inactivation d'une population de microorganismes en fonction du temps/dose....	106
Figure 67: Courbe montrant l'estimation de la population microbienne survivante en dessous des valeurs mesurables, en fonction du temps ou de la dose ; le NAS de la stérilisation terminale.	107
Figure 68: Courbe de la variation de la température en fonction du temps d'un cycle de stérilisation à vapeur d'eau.....	108
Figure 69: Comparaison de la courbe temps/température du cycle et celle du taux de létalité du cycle en fonction du temps.	111
Figure 70: Schéma montrant l'emplacement des différents filtres durant la filtration stérilisante.....	113
Figure 71: Schéma d'un appareil de test de la rétention bactérienne d'un filtre stérilisant.....	115
Figure 72: Tenue pour environnements contrôlés grades A et B.	126
Figure 73: Le taux d'émission des particules est fortement corrélé à l'intensité d'activité de la personne.	128
Figure 74: Schéma d'équipement utilisé pour l'inspection visuelle manuelle.	130
Figure 75: Point d'inspection à caméras dans une machine d'inspection visuelle automatique.	131

Figure 76: Principe de fonctionnement d'un microscope à spectroscopie RAMAN pour l'identification des particules.	132
Figure 77: Schéma du principe du fonctionnement du compteur de particules par blocage de lumière.	134
Figure 78: Schéma de la graticule du champ de vision (GCV) pour le comptage microscopique des particules.	135
Figure 79: Des images de fragments de verre, agrégats protéiques, gouttelettes de silicone, et autres particules prises par imagerie en flux.....	138
Figure 80: Cascade de coagulation LAL en présence du LPS.....	140
Figure 81: Cascade de la réaction produite lors de l'essai chromogénique.	142
Figure 82: La cascade courte au FCr pour la quantification d'endotoxines.....	143
Figure 83: Dispositif de test de stérilité par filtration sur membrane.	148
Figure 84: Principe de la méthode alternative à croissance par détection de CO2.	152
Figure 85: Image du filtre à l'œil nu à droite, avec celle à gauche du même filtre, modéliser par le système et montrant les ufc qu'émettent la bioluminescence.....	153
Figure 86: Schéma de détection des cellules viables par cytométrie en phase solide.	154
Figure 87: Le diagramme d'Ishikawa, organisant les causes selon leur domaine de pertinence.	157
Figure 88: Schéma représentant la chaîne logique de la méthode des « 5 pourquoi ».	157
Figure 89: Schéma d'étapes d'un plan d'action CAPA.	159

Liste des tableaux :

Tableau 1: Une liste des contaminants particuliers potentiels, leur source et nature.....	12
Tableau 2: Les dommages potentiels que peuvent produire les particules injectées, selon la voie d'administration.	13
Tableau 3: Système de classement des facteurs de risque.	38
Tableau 4: Etapes d'application du modèle AMDE.....	38
Tableau 5: Exemple du système de détermination RPR pour les risques de contamination dans un process aseptique.....	40
Tableau 6: Les opérations autorisées dans chaque classe de ZAC, selon le type du process de fabrication des parentérales.....	44
Tableau 7: La concentration maximale autorisée pour les particules en suspension dans l'air conformément à la norme EN/ISO 14644-1.....	45
Tableau 8: Les recommandations BPF quant aux limites pour les contaminants microbiologiques selon la classe de la ZAC.	45
Tableau 9: La plage du taux de renouvellement d'air recommandé dans les normes ISO 14644, selon la classe de la ZAC.	53
Tableau 10: Classification des différents désinfectants.....	58
Tableau 11: Hiérarchie de la résistance microbienne aux désinfectants.	59
Tableau 12: Le nombre d'unités contaminées autorisées selon la taille du TRA.	120
Tableau 13: Comparaison des deux méthodes de la détermination de la contamination particulaire non visible dans les produits parentéraux.....	136
Tableau 14: La limite des particules non visibles autorisées selon la méthode employée et le volume du produit.	137
Tableau 15: La dose seuil pyrogène « K » selon le type du produit et sa voie d'administration.	139
Tableau 16: Les exigences d'échantillonnage telles que spécifiées dans la section des essais de stérilité de la Pharmacopée européenne (Ph. Eur.)	145
Tableau 17: Tests de validation des milieux de culture.....	146
Tableau 18: Les méthodes d'essai de stérilité et les résultats attendus.	149
Tableau 19 : Tests de l'applicabilité de la méthode pour le produit, et les résultats attendus.	150

Sommaire :

Introduction	1
Première partie : Le médicament injectable, la contamination, et la qualité pharmaceutique	2
1 Généralités sur les formes injectables :	3
1.1 Histoire : ^{(1) (2) (3)}	3
1.2 Classification selon la pharmacopée : ⁽⁴⁾	7
1.3 Les avantages et inconvénients de la voie parentérale : ^{(5) (6)}	8
2 La contamination :	11
2.1 Définitions : ^{(7) (8)}	11
2.2 Les différents types de contaminants et leurs effets :	11
2.2.1 Contamination particulaire : ^{(9) (10)}	11
2.2.2 Contamination microbiologique : ^{(11) (12)}	14
2.2.3 Les pyrogènes : ^{(13) (14)}	16
2.2.4 Contamination chimique : ^{(15) (16)}	17
2.3 Les modèles de la contamination :	18
2.3.1 Le dépôt aérien : ⁽¹⁷⁾	19
2.3.2 Le contact de surface : ⁽¹⁷⁾	20
3 La fabrication du médicament injectable et la qualité pharmaceutique :	21
3.1 Définitions : ^{(18) (19) (20)}	21
3.2 L'approche Quality by Design :	22
3.2.1 Définition : ^{(20) (21)}	22
3.2.2 Les éléments de la QbD :	22
3.2.2.1 L'élaboration du profil qualité cible du produit, ou « Quality Target product profile (TPP) » : ^{(20) (22)}	22
3.2.2.2 La sélection des attributs critiques de la qualité, ou Critical Quality Attributes (CQAs) : ^{(20) (23)}	23
3.2.2.3 La conception du produit et l'identification des attributs critiques des matières, ou Critical Material Attributes (CMA) : ⁽²⁴⁾	24
3.2.2.4 La conception du process et l'identification des paramètres critiques du process, ou Critical Process Parameters (CPP) : ^{(20) (25)}	25
3.2.2.5 L'optimisation et l'espace de conception, ou « Design Space » : ^{(20) (26)}	27
3.2.2.6 Stratégie de contrôle : ^{(20) (24)}	29
3.2.2.7 L'amélioration continue : ⁽²⁷⁾	30
3.3 La maîtrise de la contamination dans l'approche QbD : ⁽²⁸⁾	31

3.3.1	L'application de la gestion des risques dans l'élaboration d'une stratégie de maîtrise de contamination :	32
3.3.1.1	La nature du risque : ⁽²⁹⁾	32
3.3.1.2	Le programme de gestion du risque qualité : ⁽³⁰⁾	32
3.3.1.2.1	L'initiation du programme de gestion du risque : ⁽³⁰⁾	33
3.3.1.2.2	L'appréciation du risque : ⁽³⁰⁾	34
3.3.1.2.3	La maîtrise du risque : ⁽³⁰⁾	34
3.3.1.2.4	La communication du risque : ⁽³⁰⁾	36
3.3.1.2.5	La revue du risque : ⁽³⁰⁾	36
3.3.1.3	Les modèles de gestion des risques qualité :	36
3.3.1.3.1	Le modèle AMDE : ⁽³¹⁾	37

Deuxième Partie : Les éléments de la stratégie de maîtrise de la contamination pour la fabrication des injectables 42

4	L'environnement de fabrication :	43
4.1	Les Zones à Atmosphère Contrôlée :	43
4.1.1	Définition : ⁽³²⁾	43
4.1.2	Les différentes classes de propreté : ^{(33) (34)}	43
4.1.3	Les exigences architecturales et la finition des ZAC : ^{(35) (36)}	46
4.1.4	Le traitement d'air :	48
4.1.4.1	Centrale de traitement d'air : ^{(37) (38)}	48
4.1.4.2	Les filtres HEPA :	49
4.1.4.2.1	Le mécanisme de filtration : ^{(39) (40)}	49
4.1.4.2.2	Le test d'intégrité du filtre HEPA : ⁽⁴¹⁾	50
4.1.5	Gestion de la circulation d'air:	51
4.1.6	Nettoyage et désinfection :	56
4.1.6.1	La vérification du nettoyage : ^{(45) (46)}	56
4.1.6.2	Les agents de désinfection : ⁽⁴⁷⁾	57
4.1.6.3	Etude de l'efficacité du désinfectant :	59
4.1.6.3.1	Le choix du défi microbiologique : ⁽⁴⁸⁾	60
4.1.6.3.2	Sélection de la surface d'épreuve : ⁽⁴⁸⁾	60
4.2	Isotechnie :	61
4.2.1	Introduction : ^{(12) (49)}	61
4.2.2	RABS :	63
4.2.2.1	Définition : ⁽⁵⁰⁾	63
4.2.2.2	RABS actif ou passif : ⁽⁵¹⁾	63

4.2.2.3	RABS fermé : ⁽⁵¹⁾	64
4.2.3	L'isolateur :	65
4.2.3.1	Définition : ⁽⁵⁰⁾	65
4.2.3.2	Isolateur « ouvert » ou « fermé » : ⁽⁵⁰⁾	66
4.2.3.3	Isolateur pour confinement : ⁽⁵¹⁾	67
4.2.3.4	Matériaux de construction : ⁽⁵²⁾	68
4.2.3.5	Méthodes de manipulation : ⁽⁵³⁾ ⁽⁵⁴⁾ ⁽⁵⁵⁾	69
4.2.3.6	Les systèmes de transfert aseptique : ⁽⁵³⁾ ⁽⁵⁶⁾ ⁽⁵⁷⁾	72
4.2.3.7	Essais d'étanchéité :	76
4.2.3.7.1	Les essais quantitatifs : ⁽⁵⁸⁾ ⁽⁵⁹⁾	76
4.2.3.7.2	Les essais qualitatifs : ⁽⁵⁸⁾	78
4.2.3.8	La biodécontamination de l'enceinte d'isolateur :	79
4.2.3.8.1	Les agents de biodécontamination : ⁽⁵³⁾	79
4.2.3.8.2	Cycle de biodécontamination par H2O2 vaporisé : ⁽⁶⁰⁾	79
4.3	Le programme du Monitoring environnemental :	82
4.3.1	Introduction :	82
4.3.2	Monitoring continue des particules non viables : ⁽⁶¹⁾ ⁽⁶²⁾	83
4.3.3	Monitoring des particules viables :	84
4.3.3.1	Le monitoring microbiologique de l'air :	85
4.3.3.1.1	L'échantillonnage actif de l'air ou volumétrique : ⁽⁶³⁾	85
4.3.3.1.2	L'échantillonnage passif de l'air ou statique : ⁽¹⁷⁾ ⁽⁶⁴⁾	87
4.3.3.2	Echantillonnage des surfaces : ⁽⁶⁵⁾	87
4.3.3.3	Le monitoring du personnel: ⁽⁶⁶⁾	89
4.3.3.4	Les milieux de culture : ⁽⁶⁶⁾	90
4.3.3.5	La caractérisation des isolats environnementaux : ⁽⁶⁶⁾	91
4.3.3.6	Le monitoring des particules viables en temps réel : ⁽⁶⁷⁾	92
4.3.4	La représentation et l'analyse des tendances : ⁽⁶⁸⁾	93
5	Les matières premières :	96
5.1	L'eau pour préparation d'injectables « EPPI » :	96
5.1.1	Définition : ⁽⁶⁹⁾	96
5.1.2	Le traitement d'eau : ⁽⁷⁰⁾	97
5.1.3	Stockage et distribution : ⁽⁷¹⁾	99
5.2	Principes actifs et excipients : ⁽⁷²⁾	100
6	Le procédé de fabrication :	103
6.1	Notions de validation : ⁽⁷³⁾ ⁽⁷⁴⁾	103

6.2	La stérilisation terminale :.....	105
6.2.1	Définitions : ⁽⁷⁵⁾	105
6.2.2	La validation d'un procédé de stérilisation terminale à la vapeur d'eau :	107
6.2.2.1	La séquence de fonctionnement d'un autoclave : ⁽⁷⁶⁾	107
6.2.2.2	La validation du cycle de stérilisation :	109
6.2.2.2.1	Evaluation de la valeur stérilisatrice du cycle : ⁽⁷⁷⁾	110
6.2.2.2.2	L'épreuve microbiologique du cycle : ⁽⁷⁸⁾	112
6.3	Le process aseptique :.....	113
6.3.1	La validation de la filtration stérilisante :.....	113
6.3.1.1	La rétention microbienne : ⁽⁷⁹⁾	114
6.3.1.2	La compatibilité produit-filtre: ⁽⁸⁰⁾	115
6.3.2	La validation du procédé de remplissage aseptique :.....	116
6.3.2.1	Définition et objectifs du test de remplissage aseptique (TRA) : ⁽⁸¹⁾	116
6.3.2.2	Le Protocole du test de remplissage aseptique :	118
6.3.2.2.1	Les variables du protocole : ^{(82) (83)}	118
6.3.2.2.2	Les étapes du protocole : ⁽⁸¹⁾	120
6.4	Les contrôles en cours de production : ⁽⁸⁴⁾	122
7	Le personnel :.....	124
7.1	Introduction : ⁽¹²⁾	124
7.2	L'habillage : ^{(33) (85)}	124
7.3	Hygiène et comportement du personnel : ^{(30) (85) (86)}	127
7.4	Formation : ⁽⁸⁷⁾	128
8	Contrôle du produit fini :	130
8.1	Les particules visibles :.....	130
8.1.1	L'inspection visuelle manuelle : ⁽⁸⁸⁾	130
8.1.2	L'inspection visuelle automatique : ⁽⁸⁹⁾	131
8.1.3	La caractérisation des particules détectées : ⁽⁹⁰⁾	132
8.2	Les particules non visibles :.....	133
8.2.1	Compteur de particules par blocage de lumière : ⁽⁹¹⁾	133
8.2.2	La méthode microscopique : ⁽⁹²⁾	134
8.2.3	Les critères d'acceptation des particules non visibles : ⁽⁹²⁾	136
8.2.4	Autres méthodes : ⁽⁹³⁾	137
8.3	Essai d'endotoxines bactériennes :.....	138
8.3.1	La limite autorisée d'endotoxines : ⁽⁹⁴⁾	138
8.3.2	Le test du lysat des améboocytes de limule (LAL) :	140

8.3.2.1	Principe biologique : ⁽⁹⁵⁾	140
8.3.2.2	Les méthodes du test : ⁽⁹⁴⁾	141
8.3.2.3	Interférences et dilution maximale valide : ⁽⁹⁴⁾	142
8.4	La méthode au facteur C recombinant : ^{(95) (96)}	143
8.5	Essai de stérilité :	143
8.5.1	Echantillonnage pour l'essai de stérilité : ^{(97) (98)}	144
8.5.2	Les méthodes de référence d'essai de stérilité :	145
8.5.2.1	Les Milieux de culture : ⁽⁹⁷⁾	145
8.5.2.2	Le transfert direct (TD) : ⁽⁹⁷⁾	147
8.5.2.3	La filtration sur membrane (FM) : ⁽⁹⁷⁾	148
8.5.2.4	Validation de la méthode d'essai : ⁽⁹⁹⁾	150
8.5.3	Les méthodes microbiologiques rapides et alternatives :	151
8.5.3.1	Méthodes alternatives basées sur la croissance microbienne :	152
8.5.3.1.1	La détection du CO ₂ : ⁽¹⁰⁰⁾	152
8.5.3.1.2	Bioluminescence ATP : ⁽¹⁰¹⁾	153
8.5.3.1.3	Coloration de viabilité et fluorescence : ⁽¹⁰²⁾	153
8.5.3.2	Les méthodes alternatives de détection directe : ^{(103) (104)}	154
9	La gestion des événements de contamination :	155
9.1	Le processus de gestion des déviations : ⁽¹⁰⁵⁾	155
9.1.1	Détection et caractérisation de la déviation : ⁽¹⁰⁶⁾	155
9.1.2	Identification et analyse des causes racines : ⁽¹⁰⁷⁾	156
9.1.3	Le système (CAPA) : ⁽¹⁰⁸⁾	158
9.2	Investigation de l'échec d'essai de stérilité :	159
9.2.1	Actions immédiates :	160
9.2.2	Enquête de laboratoire : ⁽¹⁰⁹⁾	160
9.2.3	Enquête en production : ⁽¹¹⁰⁾	162
9.2.4	Conclusion de l'investigation : ⁽⁹⁷⁾	165
	Conclusion générale :	166
	Résumé	168
	Références bibliographiques:	171

Introduction

Le médicament injectable, ou parentéral, était considéré comme une technologie révolutionnaire dans le domaine médical au moment de son adoption, et particulièrement en médecine d'urgence. Car il a permis d'ouvrir les portes, littéralement, à la circulation systémique du patient. C'est devenu depuis, une forme galénique indispensable à l'arsenal médical thérapeutique et de diagnostic. Et plus récemment, avec la croissance exponentielle que connaît le domaine de la biotechnologie, la nécessité de la voie parentérale ne devient que plus apparente pour l'administration des molécules résultantes de ce domaine, autrement instables ou à biodisponibilité douteuse.

La fabrication des injectables, du fait qu'ils contournent donc les premières lignes défensives du corps (muqueuses et peau) contre les attaques exogènes, doit être particulièrement concernée par la contamination, que si elle se présentait dans le médicament, aurait des conséquences plus sévères sur la santé du patient, en comparaison avec tout autre voie d'administration. C'est dans cette veine, qu'on se rend compte du rôle essentiel que doit jouer la maîtrise de la contamination quant à la fabrication des médicaments parentéraux.

Dans le cadre de cette thèse, et dans une première partie, on va essayer de comprendre les particularités de la voie d'administration parentérale, et d'explorer exhaustivement les préoccupations relatives à la contamination des injectables, quant à sa nature et impact potentiel sur le patient. Pour nous concerner ensuite, de la relation entre cette contamination et le concept de qualité pour un médicament injectable, sous une approche globale de conception d'un produit et procédé de fabrication, pour déterminer ainsi, la place que pourrait prendre la maîtrise de la contamination dans ladite approche.

Cela va nous permettre, dans une deuxième partie, de mettre le focus sur les éléments de la stratégie de maîtrise de contamination qui, dans une zone de fabrication de formes injectables, seraient les plus pertinents à la qualité du médicament. Des éléments qu'on va également essayer d'explorer avec une exhaustivité adéquate, avant de conclure.

Première partie :

**Le médicament injectable, la
contamination, et la qualité
pharmaceutique**

1 Généralités sur les formes injectables :

1.1 Histoire : ⁽¹⁾ ⁽²⁾ ⁽³⁾

On appelle les formes injectables ou parentérales, tout médicament administré en utilisant un dispositif d'injection, classiquement une seringue et aiguille hypodermique, par voie parentérale. Cette voie dont son appellation a son origine dans les mots grecs « para », signifiant « à côté », et « enteron » qui signifie « intestin ». Elle est ainsi opposée à celle entérale ou orale, au sens qu'elle la contourne, où l'introduction du médicament se fait nécessairement par effraction du tissu cutané ou d'une muqueuse de revêtement externe, ces barrières mécaniques qui sont considérées parmi les principales lignes de défense de l'organisme contre les attaques exogènes.

L'acte d'aspirer et/ou d'expulser une substance dans le corps humain date de l'antiquité, les anciens Egyptiens, les Grecs, les Romains, et bien d'autres civilisations ont eu leur propres dispositifs pour le réaliser. Un en particulier, « le clystère », un dispositif métallique qu'était utilisé pour les lavements, est estimé être l'ancêtre de la seringue moderne. Cependant, il a fallu attendre la description de la circulation sanguine par William HARVEY en **1628**, pour ouvrir pleinement la porte de l'expérimentation avec la voie parentérale.

Les historiens sont en accord concernant l'individu qu'a réalisé la première injection intraveineuse. Il s'agit de Christopher WREN, l'architecte de la cathédrale Saint Paul à Londres, En **1656**. Il a employé une vessie d'animal (d'oie) et un rachis de plume pour injecter un chien, par voie IV, avec de l'opium et de l'alcool. L'exploit de Christopher a inspiré plusieurs de ces contemporains, notamment Johannes ELSHOLTZ, qu'a osé répliquer la même opération sur un homme en **1662**, la drogue injectée était de l'opium. Alors que le patient qui a reçu cette injection a été sûrement soulagé de sa douleur, il n'a probablement pas survécu longtemps après. D'autres drogues injectées durant cette époque incluent la résine de Jalap, l'eau d'escargot, l'arsenic, et des agents de purge. Il est évident que les premiers pionniers de la thérapie injectable ignoraient l'importance des besoins de propreté et de pureté lors de l'injection de ces médicaments, un fait attesté par les nombreuses victimes de leur expérimentation. Les autorités ayant constatées cela, ont banni ces pratiques barbares jusqu'à la fin du **XVIIIème** siècle.

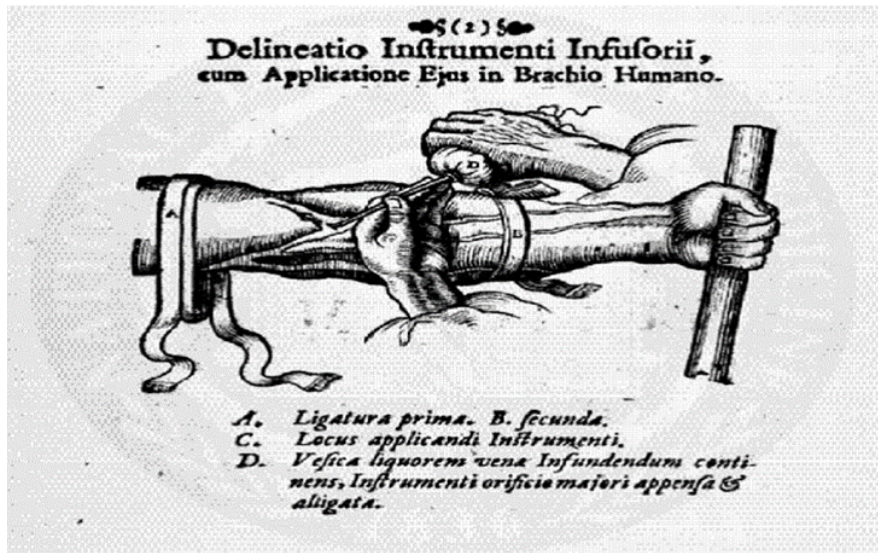


Figure 1: Représentation d'une injection intraveineuse utilisant une vessie animale et un rachis de plume.

Le **XIX^{ème}** siècle a connu une certaine relancée de la thérapie parentérale, où notamment plusieurs précurseurs de la seringue moderne ont vu le jour. En **1807**, le dictionnaire médical et chirurgical d'Edimbourg définissait une seringue comme: «Un instrument bien connu, servant à imbiber ou aspirer une quantité de fluide et ensuite à l'expulser avec la même violence dans des cavités ou des canaux. ». Il serait spéculatif d'annoncer avec certitude qui a été la première personne à inventer et utiliser la seringue hypodermique, un chirurgien français, Charles Gabriel PRAVAZ, et un médecin écossais Alexander WOOD, ont indépendamment inventés la seringue hypodermique au milieu des années **1850**.

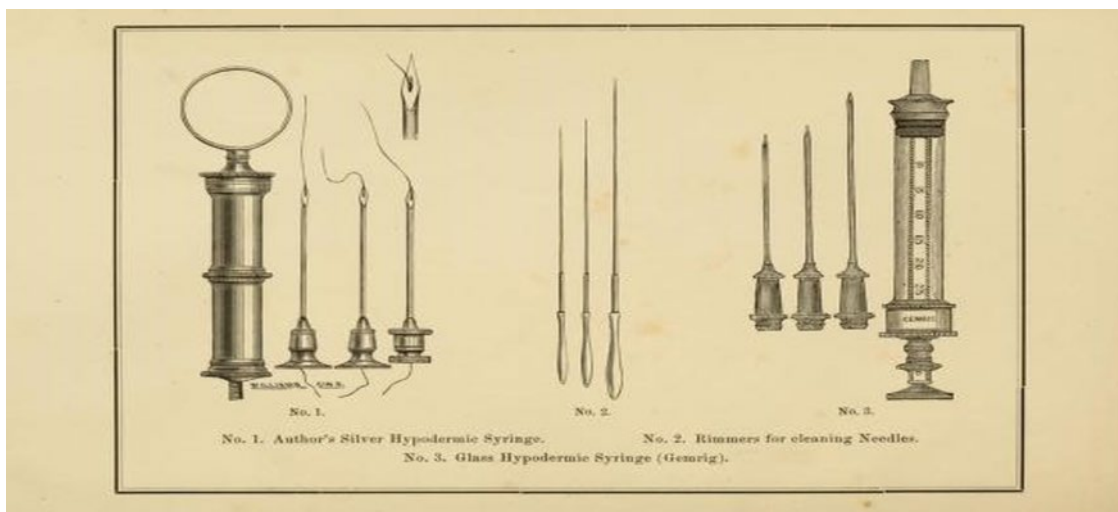


Figure 2: Illustration d'une seringue hypodermique (n°1 : en argent, et n°3 : en verre) en 1869 provenant du « Manual of Hypodermic Medication » de Roberts Bartholow.

La pratique précoce d'administration de drogues par injection s'est produite sans que l'on reconnaisse la nécessité de la stérilité de la solution, en plus, personne ne savait ce qu'était la cause de la douleur et de l'irritation locale lors de l'injection des solutions par voie sous-cutanée. Ce n'est que vers **1880** qu'un pharmacien nommé L. WOLFF a d'abord reconnu le rôle de l'isotonicité dans la réduction de la douleur et de l'irritation lors de l'injection des solutions médicamenteuses au corps. Les premières injections intramusculaires (IM) ont été effectuées par Alfred LUTON, qui croyait que cette voie serait moins douloureuse et irritante pour les médicaments acides, irritant, ou ceux absorbés lentement. PASTEUR, LISTER et KOCH ont tous contribué à la découverte de la théorie des germes, les problèmes de stérilité, d'utilisation de techniques aseptiques et de développement de méthodes de stérilisation à partir des années **1860**. Cependant, leurs préoccupations quant à la nécessité de stériliser et de maintenir la stérilité des injections n'ont pas été acceptées ou mis en œuvre pendant des décennies, Ce n'est qu'en **1884** que l'autoclave a été introduit par Charles CHAMBERLAND pour des fins de stérilisation.

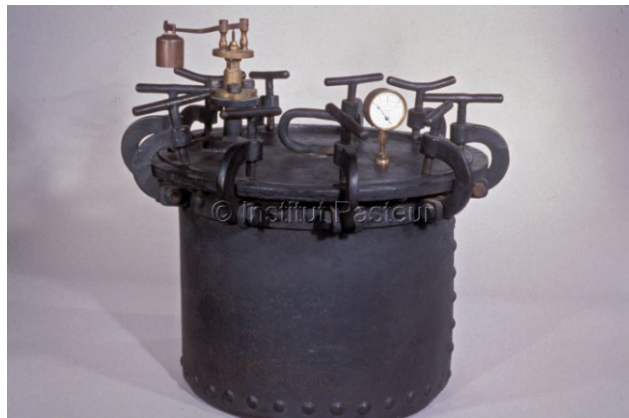


Figure 3: Premier autoclave expérimental inventé par Charles Chamberland.

En **1888**, Robert KOCH a développé la première seringue pouvant être stérilisée, et Karl SCHNEIDER a construit la première seringue en verre en **1896**. La seringue d'Émile Roux était également populaire. Charles CHAMBERLAND a également inventé le «filtre Chamberland» (porcelaine) pour réduire la charge microbienne des solutions avant la prise de la dose. Le terme «filtre à membrane» n'a été introduit qu'en **1918** par ZSIGMONDY et BACHMANN.

A la fin du 19^{ème} siècle, l'administration des substances médicamenteuses par voie IV était une pratique largement acceptée. Les réactions pyrogènes étaient encore extrêmement courantes jusqu'à ce que Florence SIEBERT en **1923** découvre la cause. Elle a été la première personne à suggérer que les réactions de fièvre après les injections étaient d'origine microbienne.

En outre, elle a mis au point un test de pyrogènes du produit en l'injectant à des lapins, un test utilisé depuis, pour la détection de la contamination pyrogénique, bien que la plupart des produits actuellement sont examinés par le test du lysat d'amoeboocyte du limule (LAL) découvert par les chercheurs de Johns Hopkins, LEVIN et BANG en 1964.

Comme avec beaucoup de domaines technologiques, la seconde guerre mondiale a accélérée ; avec le besoin d'une thérapie urgente et immédiate sur les champs de bataille, le développement des technologies parentérales et leur fabrication industrielle. La seringue pré-remplie et jetable a été mise au point au cours de cette période (Syrrette, Ampin), avec le système Tubex développé par Wyeth étant un précurseur des cartouches actuelles. Autrement, parce que tant de drogues injectables étaient instables en solution, et en raison de la nécessité de fournir du plasma sous forme stable sur le terrain, la lyophilisation a été introduite en 1942. Becton Dickinson et compagnie ont créés la première seringue jetable en verre, en 1955, et ils l'ont produit en masse pour l'administration d'un million d'enfants américains avec le vaccin contre la poliomyélite, conçue par Dr Jonas SALK.

Le filtre HEPA a été utilisé en industrie pour la première fois au début des années 1940, et employé dans les salles blanches originales par les laboratoires biologiques à Fort Detrick, aux Etats-Unis. Cependant, il n'a été appliqué à la technologie de flux d'air laminaire que lorsque W. J. WHITFIELD les ait combinés en 1961 dans la conception de ses salles blanches. Conséquemment, le gouvernement des États-Unis a proposé pour la première fois la classification des salles propres en 1962 avec la publication du FS209, un document supplanté depuis, par celui publié par l'organisme international de normalisation (ISO) en 1999.

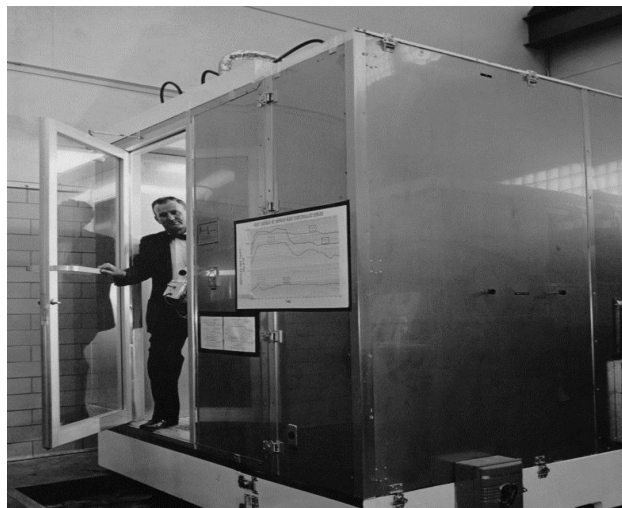


Figure 4: W. J. Whitfield quittant une salle blanche qu'il a inventé (1962).

Le besoin en médicaments parentéraux n'a cessé de s'accroître, et notamment avec les développements importants en biotechnologie à partir des années 1970. C'est aussi dans cette décennie que la FDA (Food and Drug Administration) a commencé la pratique de validation des procédés industriels de fabrication des médicaments. Les années 1980 ont vu l'adoption de la technologie des isolateurs pour les process aseptiques de production, des process qui se sont avérés une tendance inévitable dans l'industrie des injectables. Cela a poussé la FDA à publier la directive de l'industrie sur les médicaments stériles produits par procédés aseptiques, en 1987.

Le XX^{ème} siècle a connu donc des avancées technologiques importantes qui ont définies l'industrie des médicaments injectables, et en même temps, forcées les organismes et autorités réglementaires du domaine à s'adapter au fur et à mesure, en imposant de nouvelles normes et standards.

1.2 Classification selon la pharmacopée : ⁽⁴⁾

Le médicament injectable est défini par la pharmacopée européenne comme suit : « une préparation médicamenteuse stérile, destinée à être administré par voie parentérale, donc par injection, perfusion, ou implantation dans le corps humain ou animal ». On note de cette définition, que les formes parentérales se distinguent par la manière dont elles sont administrées. Elles sont soit injectées ; avec l'injection dans le contexte de cette définition indiquant un acte quasi-instantané, soit perfusées, et par opposition à l'injection, la perfusion est l'administration du médicament à un débit déterminée (ml/h), soit implantées pour avoir un effet sur une très longue période de temps. Cette distinction ne fait que la moitié de l'histoire quand on veut classifier les médicaments parentéraux, car ils peuvent se présenter sous diverses formes galéniques, on parle notamment des solutions, émulsions, suspensions, gels, poudres, et implants.

En tenant compte de ces éléments, la pharmacopée européenne classe les préparations parentérales dans les catégories suivantes :

- **Les préparations injectables** : Il s'agit de solutions, émulsions, ou suspensions. Le véhicule peut être de l'eau, un liquide non aqueux, ou un mélange des deux.

- **Les préparations pour perfusion** : Des solutions aqueuses ou émulsions à phase continue aqueuse. Elles sont principalement destinées à être administrées en grand volume par voie intraveineuse.

- **Les préparations à diluer pour injection ou perfusion** : Ce sont des solutions qui doivent subir une dilution avec un volume spécifique d'un liquide approprié, avant administration. Après dilution, ces solutions doivent se conformer aux mêmes exigences que les préparations injectables ou celles pour perfusion.

- **Les gels injectables** : Ces formes galéniques permettent, une libération modifiée du principe actif au niveau du site de l'injection.

- **Les poudres pour injection ou pour perfusion** : Ce sont des substances solides, généralement des poudres, ou lyophilisats, qui forment, une fois mélangés avec le volume spécifié du liquide approprié, une solution limpide ou une suspension uniforme, qui doivent répondre aux exigences des préparations injectables ou pour perfusion.

-**les implants** : préparations solides, de taille et de forme appropriées pour l'implantation parentérale, généralement en sous-cutanée, et une libération du PA sur une période de temps très étendue.

1.3 Les avantages et inconvénients de la voie parentérale : ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾

Les médicaments peuvent être délivrés au corps à travers une variété de voies, mais la réalité pharmacocinétique du médicament change selon la voie d'administration choisie. Les préparations parentérales contournent le tractus intestinal et ne sont pas, ainsi, sujettes au même sort pharmacocinétique associé aux préparations orales (absorption intestinale, effet du premier passage hépatique...). Alors qu'il existe plusieurs voies d'administration parentérale, avec leur totalité contournant le tractus intestinal, les voies, intraveineuse, intramusculaire et sous-cutanée, restent les plus largement exploitées, d'autres le sont moins : intraartérielle, intrarachidienne, intracardiaque, intra-articulaire, épidurale, intra-osseuse, intrapéritonéale, intra-tympanique, et intra-lymphatique.

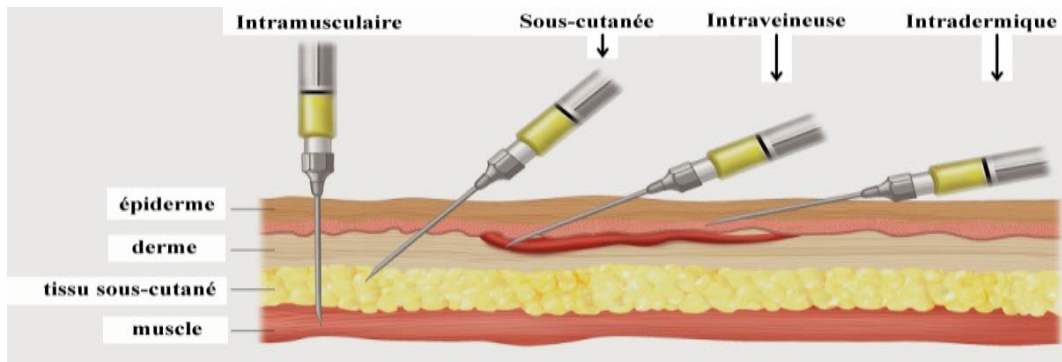


Figure 5: Les voies d'administration parentérale les plus communément utilisées.

L'administration parentérale des médicaments offre un certain nombre d'avantages au patient. C'est généralement le seul moyen efficace pour traiter les patients inconscients ou ceux qui ne peuvent ou ne voudraient pas prendre de médicaments par voie orale. En plus de ça, un médicament administré par voie parentérale produit, en cas d'injection IV en particulier, un effet immédiat absolument souhaitable dans les situations d'urgence.

Cette voie permet également de délivrer au corps, des molécules autrement non biodisponibles par d'autres voies d'administration, et particulièrement celles à base de protéines et de peptides. L'insuline étant un exemple pertinent, peut même être auto-administré par voie SC. Une nutrition parentérale totale peut également être fournie aux patients gravement malades où l'alimentation par sonde n'est pas envisageable. En outre, de grandes quantités de fluide et d'électrolytes peuvent être administrées relativement rapidement par voie IV aux patients souffrants de déshydratation ou d'infections gastro-intestinales.

En plus de la circulation systémique, la diversité d'accès que permet la voie parentérale assurent la délivrance d'une concentration thérapeutique du médicament à son site d'action souhaité (tissus ou zones cibles du corps). Un tel exemple est l'injection intra-articulaire d'un médicament (anti-inflammatoires tels que les corticostéroïdes) présentant de mauvaises caractéristiques de transport dans les espaces synoviaux (capillarité faible) des articulations. Un autre est l'injection intrarachidienne, permettant le contournement de la barrière hémato-encéphalique, elle est ainsi utilisée dans plusieurs indications telles que le diagnostic en imagerie médicale, l'anesthésie, ou en thérapeutique, principalement dans le traitement des douleurs, des spasticités, et certains types de cancers.

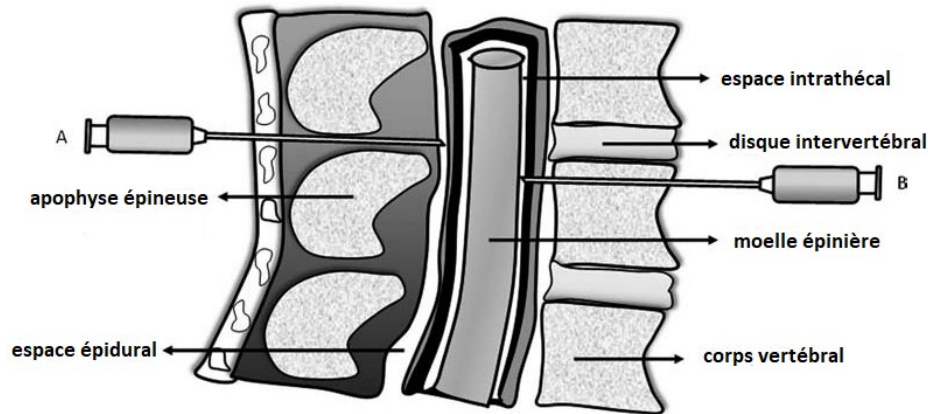


Figure 6: Schéma montrant la voie (A) épidurale, et (B) intrathécale.

De plus, la voie parentérale permet au chercheur d'exercer un contrôle sans égal sur la concentration sérique du médicament, facilitant ainsi l'exploration de son profil pharmacocinétique (distribution tissulaire, métabolisme, et taux de clairance).

La voie parentérale, toutefois, n'est pas sans inconvénients. Car en plus des complications usuelles qui peuvent se produire au site d'injection (douleur, hématome, thrombose, extravasation d'injection, lésion nerveuse), son acte même, peut être psychologiquement non toléré par certaines personnes souffrantes de trypanophobie. Il est à noter que le point qui fait l'avantage de cette voie ; l'accès direct à la circulation systémique ou au tissu cible, est également la source des risques majeurs qu'elle présente :

- Une fois le médicament administré, il est difficile d'inverser ses effets. Par exemple, en cas d'erreur de dose (surdosage) avec un comprimé oral, un lavage gastrique peut être envisagé, par contre, les options pour annuler un surdosage IV sont généralement très limitées, et plus sensibles au facteur du temps.
- En cas de présence de micro-organismes, de toxines, ou de contaminants particuliers dans le médicament injecté, les conséquences peuvent être sévères, et même conduire à la mort dans certains cas.
- Enfin, le coût par dose des médicaments administrés par voie parentérale est généralement supérieur à celui des médicaments administrés par autres voies, car ils nécessitent, en principe, des standards de maîtrise de contamination plus élevés lors de la fabrication.

2 La contamination :

2.1 Définitions : ⁽⁷⁾ ⁽⁸⁾

La contamination est définie dans le Dictionnaire Larousse, dans un sens général, comme « la propagation d'un mal, d'un vice, ou d'un défaut ». Dans le domaine pharmaceutique, le bien et le mal, sont ultimement mesurés par les conséquences subies par le patient exposé aux produits de ce domaine, et comme le but principal de l'industrie pharmaceutique, vis-à-vis le patient, est de l'impacter positivement, le mal, s'il se réalise, doit naturellement être non intentionnel.

Tenant compte de ce contexte, on peut définir une contamination comme étant, la présence, ou la propagation non intentionnelle, d'éléments qui pourraient potentiellement causer un mal au patient, dans le produit, l'environnement, ou le procédé de fabrication,

La nature de ces éléments est indiquée dans la définition des contaminants, selon les normes ISO 14644-4, qui cite des entités particulières, moléculaires ou chimiques, ou microbiologiques.

2.2 Les différents types de contaminants et leurs effets :

2.2.1 Contamination particulière : ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾

La pharmacopée européenne ainsi que celle des États-Unis (USP), définissent les contaminants particuliers comme «des particules mobiles non dissoutes, autres que des bulles de gaz, non intentionnellement présentes dans les préparations liquides». La pharmacopée fait également la différenciation entre les particules visibles et non visibles selon leur taille, avec une taille de 50 µm étant le seuil pour les particules visibles selon l'USP.

La matière particulaire contaminante peut être caractérisée comme étant « intrinsèque » au procédé de fabrication du médicament, naissante du matériel, équipement et des différentes opérations de production, ou par opposition, « extrinsèque » à ce dernier, envahissant le processus de fabrication et le produit à partir d'une source externe. Le tableau suivant liste quelques exemples de contaminants particuliers avec leurs sources potentielles.

Tableau 1: Une liste des contaminants particulaires potentiels, leur source et nature.

Source	Matière particulaire	Caractérisation
L'environnement	Poussière et débris de construction et d'activité humaine Débris biologique (insectes, pollen, matières végétales...) Particules anthropique (Cheveux, Peau) Écailles de peinture / revêtement Particules métalliques, rouille, minéraux Polymères, plastique	Extrinsèque
Le système de conditionnement et fermeture du produit	Lamelles en verre Silice, Caoutchouc, Plastique	Intrinsèque
Composants de la formulation	Sédiments, oligomères, dégradants, agglomérats, substance non dissoute	Intrinsèque
Matière particulaire générée par le processus de fabrication	Métal (acier inoxydable du matériel de traitement), fibres des filtres et consommables Verre (des événements de bris)	Intrinsèque

Le risque que peuvent présenter ces particules à la santé du patient, si injectées, dépend de leur taille et morphologie, de la voie d'administration du médicament, et de la quantité injectée :

Tableau 2: Les dommages potentiels que peuvent produire les particules injectées, selon la voie d'administration.

Voie d'administration	Dommages potentiels et effets cliniques
Intraveineuse (IV)	<p>Particules entre 5 et 10 μm : obstruction des capillaires pulmonaires. Risque d'embolie pulmonaire.</p> <p>Particules plus petites, en grand nombre, se diffusent dans les différents organes et peuvent causer une immunodéficience par surcharge phagocytaire.</p>
Intraartérielle (IA)	Occlusion des artérioles, et selon la taille de la particule, il y a possibilité de nécrose des tissus concernés.
Intramusculaire (IM) et Sous-cutanée (SC)	les volumes administrés (et la charge globale de particules) sont relativement faibles, le risque de réaction systémique est faible et la capacité de ces particules à migrer loin du site d'injection est négligeable.
intrathécale, épidurale, intraoculaires et autres voies d'administration	Présentent un risque de dépôt et accumulation dans les organes et tissus concernés et une réaction proportionnelle à la charge en particules : réaction inflammatoire, granulome...

Pour résumer, un nombre élevé de particules posent un problème sérieux avec les solutions médicamenteuses administrées par voie IV ou, certainement, par voie IA, à cause de la

possibilité d'obstruction des vaisseaux sanguins les plus petits. Ces particules peuvent également, facilement provoquer des réactions inflammatoires à corps étrangers. Ces préoccupations ont abouti à des normes pour le nombre limite des particules tolérées dans les produits parentéraux.

2.2.2 Contamination microbiologique : ⁽¹¹⁾ ⁽¹²⁾

Les agents de la contamination microbiologique, sont bien évidemment les micro-organismes. Ces agents qui ont la capacité de se diviser et d'augmenter en nombre dans les milieux qui le permettent, sont si ubiquitaires qu'une personne porte sur elle-même, à tout moment, des milliards de microorganismes, formant le microbiote cutané ainsi qu'intestinal.

Les micro-organismes contaminant le produit ou le système d'administration, une fois injectés peuvent entraîner une infection localisée (abcès), et/ou généralisée. La septicémie, sans surprise, est la plus grave de tous les dangers potentiels lors de l'administration de produits médicamenteux par voie parentérale. Une méta-analyse réalisée par Michael Bauer et al, a trouvé que la mortalité moyenne par sepsis après 30 jours était de 24.4% (95% IC 21.5–27.2%), et de 32.2% (95% IC 27.0–37.5%) après 90 jours. Pour le choc septique les nombres étaient de 34.7% (95% IC 32.6–36.9%), et de 38.5% (95% IC 35.4–41.5%) respectivement, et ceci en Europe, Amérique du nord, et en Australie.

Les types prédominants de micro-organismes présents comme contaminants dans les produits pharmaceutiques sont les bactéries, et à un degré moindre les champignons. Bien que des virus puissent être présents, ils ne se répliquent pas à l'extérieur des cellules d'hôte. Dans la nature, les sources potentielles de contaminants microbiologiques sont littéralement illimitées. Cependant, pour un environnement contrôlé de fabrication de produits injectables, on parle notamment de l'air, de l'eau, des matières premières, des surfaces et équipement de fabrication, et du personnel.

- **L'air** : Dans un environnement contrôlé, l'air est probablement plus souvent considéré comme un vecteur de contamination microbiologique plutôt qu'une source primaire. Car il ne s'agit pas d'un environnement nutritif; les micro-organismes ne se développent pas et ne se multiplient pas dans l'air. De nombreux micro-organismes meurent dans l'air. Les anaérobies meurent en raison de la toxicité de l'oxygène mais, et plus généralement, les aérobies meurent à la suite de la dessiccation. La photosensibilité peut également jouer un rôle dans l'inactivation de certaines bactéries dans l'air. La plupart des contaminants microbiologiques sont associés à des

particules non viables dans l'air telles que la poussière, les squames cutanées, etc. Les particules non viables sont à la fois une source de micro-organismes et également un moyen de protéger ces derniers de la dessiccation. Les types les plus probables de micro-organismes traçables à l'air sont ceux qui possèdent des mécanismes pour résister à la dessiccation tels que *Bacillus spp.* , *Micrococcus spp.*, et les spores fongiques, qui ont évoluées pour être dispersées dans l'air.

- **L'établissement et l'équipement de fabrication** : Les micro-organismes peuvent survivre et prolifèrent en effet sur les surfaces d'objets apparemment inertes comme les murs, les sols et les plateaux de machines. La présence même de petites quantités de matières organiques, d'huiles ou de graisses peut augmenter leur résistance aux forces naturellement hostiles présentes dans l'environnement. Dans de nombreux climats, il y a des augmentations saisonnières de moisissures sur les surfaces, à cause d'une humidité élevée.

- **Les matières premières** : Toutes les matières introduites dans un environnement contrôlé sont des sources potentielles de contamination. Avec notamment les matières d'origine végétale, animale ou silicatée, étant des sources plus probables de contamination microbiologique, en comparaison avec les matières produites par synthèse chimique.

- **L'eau** : C'est une source très sérieuse de contamination microbiologique, en particulier des bactéries Gram négatif, qui peuvent se développer et se multiplier dans l'eau même lorsque les nutriments ne sont présents qu'à de très faibles concentrations. Certains de ces micro-organismes évoluent pour former des biofilms, qui adsorbent les nutriments de l'eau courante, et qui sont périodiquement, ces biofilms, entraînés dans le courant.

L'eau est donc à la fois vecteur et source de contamination microbiologique. Les types les plus probables de micro-organismes traçables à l'eau sont les entérobactéries, comme *Escherichia coli* et *Salmonella spp.* , facilement retrouvables dans les eaux contaminées par les matières fécales, ainsi que les *Pseudomonas*, qui préfèrent les endroits humides (évier, toilettes...)

- **Les personnes** : une source importante et le vecteur le plus imprévisible de contamination microbiologique. Les micro-organismes sont toujours présents sur les cheveux et la peau, qui sont incessamment rejetés dans l'environnement. Avec plus de mouvement, plus de particules sont émises, et par conséquent, de micro-organismes dispersés. Les concentrations de micro-organismes se trouvant dans le nez, la gorge, la bouche, les régions anale et génitale,

peuvent être dispersées par la respiration, la toux, les éternuements, la parole, les flatulences et le contact avec les mains.

Les types les plus probables de micro-organismes pouvant être attribués à une source humaine sont *Staphylococcus* spp. et *Micrococcus* spp. *Propionibacterium* spp. , *Candida albicans* et d'autres *Corynebacterium* sont incontestablement d'origine humaine.

Une étude menée par KAWAI M. et al. sur le microbiome existant dans un environnement contrôlé de production pharmaceutique, en analysant des échantillons d'air et de contact de surfaces plus précisément, a conclu sur une prédominance des espèces du microbiote cutané humain dans ces échantillons, notamment, les streptocoques, staphylocoques, *Acinetobacter* et *Pseudomonas*, ainsi que la *Malassezia*, une levure sur les surfaces de l'établissement.

2.2.3 Les pyrogènes : ⁽¹³⁾ ⁽¹⁴⁾

On nomme un pyrogène, toute substance capable d'induire une fièvre chez les mammifères, qu'est une réponse physiologique et défensive de l'hôte contre les agents pathogènes l'envahissant. La source la plus importante de pyrogènes est microbiologique, Il s'agit plus précisément des lipopolysaccharides de la membrane externe de la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives. La LPS est une molécule amphipathique, constituée de polysaccharides, et d'une fraction lipidique nommée « lipide A » qui lui confère la majorité de sa pyrogénicité. En pratique, et dans le sens d'un agent contaminant d'injectables, une endotoxine bactérienne, LPS, et pyrogène, sont des termes interchangeables.

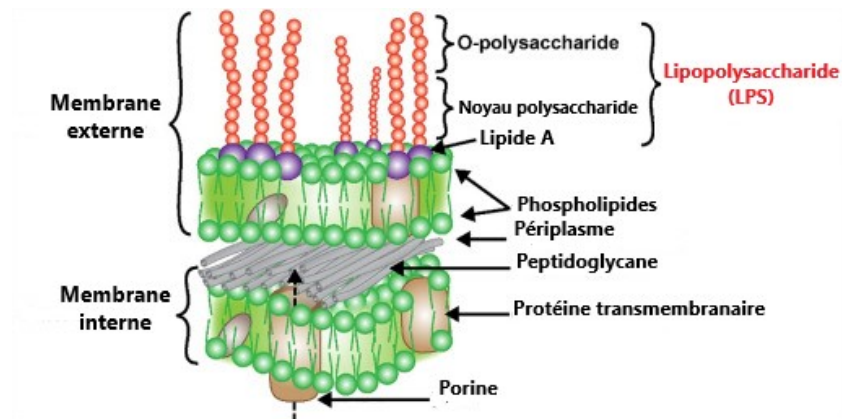


Figure 7: Schéma montrant la disposition du LPS sur la paroi d'une bactérie Gram-négative, ainsi que ses parties constitutives.

Les endotoxines ont des dimensions moléculaires suffisamment petites pour passer librement à travers des filtres de rétention bactérienne. Ils sont également assez stables aux températures de stérilisation à la vapeur d'eau. En règle générale, l'endotoxigénicité n'est pas perdue avec la perte de la viabilité bactérienne. En d'autres termes, Les procédés destinés à assurer la stérilité peuvent ne pas garantir l'apyrogénicité ou même un niveau de pyrogènes acceptable.

Les pyrogènes, s'ils sont présents dans les médicaments parentéraux en quantité suffisante et injectés aux patients, peuvent provoquer en plus de la fièvre, un état inflammatoire systémique qui se caractérise entre autres par des frissons, une réduction de l'activité locomotrice, une hyperalgésie avec allodynie, des troubles de concentration et de mémoire, une léthargie et somnolence, perte de libido, hypophagie et hypodipsie, une faiblesse et des malaises. Bien que les réactions aux pyrogènes soient rarement mortelles, elles peuvent causer à une certaine dose, chez les patients susceptibles, un choc cytokinique (Cytokine Storm), ou une violente réponse inflammatoire du système immunitaire qui peut conduire à la mort. L'intensité de la réponse au pyrogène et son degré de danger seront affectés par l'état médical du patient, la puissance du pyrogène, la quantité de pyrogènes et la voie d'administration (intrathécale est la plus dangereuse suivie par la voie intraveineuse, intramusculaire, et sous-cutanée).

2.2.4 Contamination chimique : ⁽¹⁵⁾ ⁽¹⁶⁾

Toute espèce chimique indésirable, et susceptible d'entrer le circuit de fabrication du produit, peut être considéré comme un agent de contamination chimique. Cependant, la majeure partie des contaminations chimiques correspond à des contaminations croisées, dues entre autres à des opérations inadéquates de nettoyage. Une contamination croisée est définie dans les directives GMP comme « la contamination d'une matière ou produit, par une autre matière ou produit », il s'agit donc du transfert involontaire de traces d'une substance active d'un lot de production, vers les matières premières ou produit d'un autre lot.

Pour estimer la gravité d'une contamination croisée et ses conséquences potentielles sur le produit et le patient exposé au produit contaminé, plusieurs variables doivent être considérées :

- L'état du patient : Les conséquences qu'un individu recevant le médicament contaminé, peut subir, dépendent largement de son état de santé, âge, sexe, poids, et d'autres facteurs qui le prédisposent à une réaction ou une autre.

- Données sur le contaminant et les conditions de la formulation : chaque agent contaminant a son propre profil physico-chimique, qui va déterminer son sort dans des conditions de formulation différentes. Un PA avec une solubilité importante dans le véhicule du produit qu'il contamine, ne posera pas le même risque qu'un autre PA insoluble ou faiblement soluble dans ce même véhicule. Le même peut être dit sur deux PA avec la même solubilité, mais des profils toxicologiques différents.

- Equipement et matériel de fabrication : Ces éléments vont ultimement définir la surface de contact que le contaminant potentiel et le produit vont partager. Et plus cette surface est importante, plus le risque, ainsi que l'impact de la contamination croisée seront importants.

2.3 Les modèles de la contamination :

Les sources de la contamination dans un environnement contrôlé sont connectées, dans le sens où les contaminants qu'elles génèrent peuvent être transférés entre eux avant d'arriver au produit.

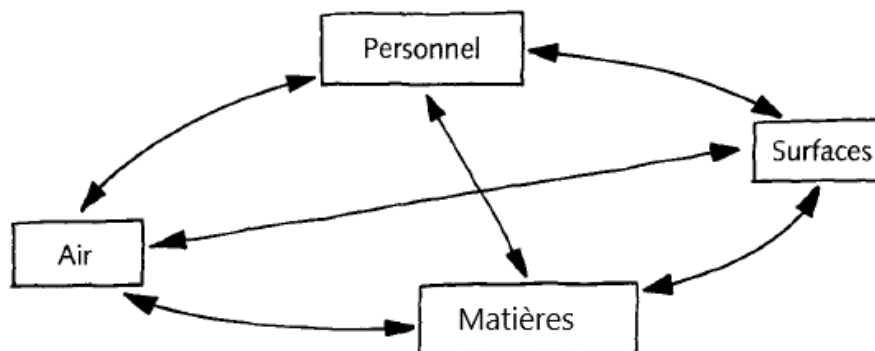


Figure 8: Schéma de l'interaction entre les différentes sources de la contamination.

Comme on peut le voir sur la figure, le personnel peut contaminer le produit ou le processus de production par l'air, par contact direct ou indirect avec différentes surfaces, et également par contact direct avec les matières du process. La route que prend un contaminant est rarement simple, ce qui la rend difficile à prédire ou à modéliser. Cependant, les mécanismes par lesquels ce contaminant est transféré ultimement vers le produit, sont limités. On parle soit de dépôt ou sédimentation aérienne, soit de contact de surface.

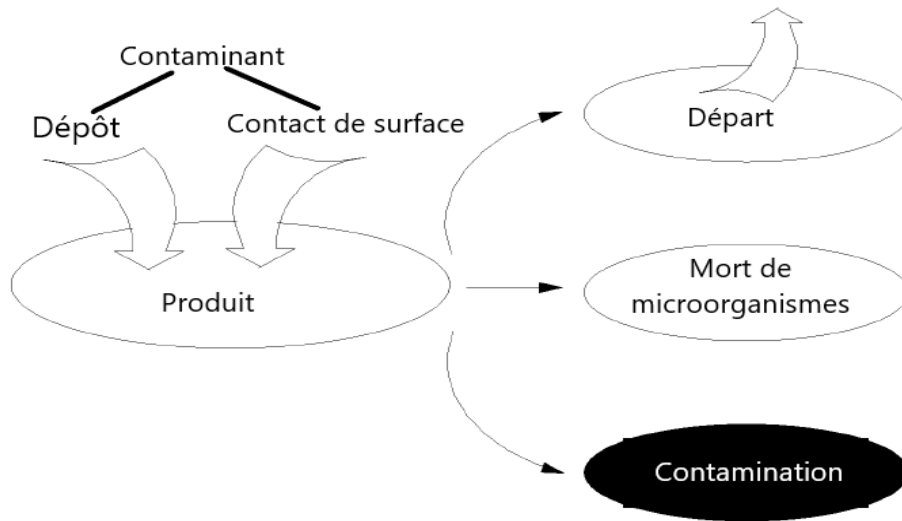


Figure 9: Schéma des mécanismes de contamination.

2.3.1 Le dépôt aérien : ⁽¹⁷⁾

La plupart des particules porteuses de microbes, dans l'air de la salle blanche, proviennent de la peau du personnel. La taille moyenne de ces particules variera entre environ 8 et 20 μm , et elles se déposent principalement par gravité dans ou sur le produit, selon une vitesse qui se trouve généralement entre 0.2cm/s et 3cm/s.

Le nombre de particules qui se déposeront sur une zone donnée de produit, peut être calculé en utilisant le débit de sédimentation obtenue à partir de plaques de dépôt microbiologiques. Cette approche, également postulée pour la première fois par Whyte, peut être utilisée pour la plupart des processus de fabrication pharmaceutique où la contamination aéroportée se dépose passivement de l'air, principalement par la force de gravité, dans ou sur le produit.

Le mécanisme de dépôt aérien est exprimé mathématiquement dans l'équation suivante :

$$N = D \times S \times T$$

Avec « N » le nombre de micro-organismes en suspension dans l'air déposés sur le produit en un temps donné, « D » le débit de dépôt (nombre / (cm².s)), « S » la surface du produit exposée (cm²), et « T » le temps de son exposition (s).

2.3.2 Le contact de surface : ⁽¹⁷⁾

Comme son nom l'indique, le contact de surface est le mécanisme où le contaminant est transmis directement vers le produit par contact d'une surface contaminée. Cette surface peut être un gant d'opérateur, un matériel de manipulation, un équipement, ou toute autre surface qui peut entrer en contact avec le produit.

L'équation suivante calcul le nombre contaminants transmis sur une surface donnée du produit, pendant un certain temps d'exposition ou selon une fréquence de contact connue :

$$N = C \times tc \times S \times f$$

Avec « N » le nombre de contaminants transférés, « C » la concentration des contaminants sur la surface (nombre/cm²), « tc » le coefficient de transfert, représente la proportion de contaminants sur la surface source qui sont transférés sur le produit à chaque contact, « S » la surface contactée du produit, « f » la fréquence du contact sur un temps donné.

Un exemple pratique serait le contact d'un doigt de gant avec la surface d'un produit. Le nombre de contaminants transférés pourrait être calculé à partir de :

- (a) la concentration de micro-organismes à la surface du doigt.
- (b) la proportion de contaminants à la surface du doigt qui sont transférés au produit (c.-à-d. Le coefficient de transfert).
- (c) la zone du produit contactée par le doigt.
- (d) la fréquence, ou le nombre de fois où le produit est touché.

Une approche qui prend en compte les mécanismes de contamination les plus probables dans différents points critiques du procédé de fabrication, et quantifie son risque comme par le biais des deux dernières équations, ne serait que utile pour les efforts de la maîtrise de contamination.

3 La fabrication du médicament injectable et la qualité pharmaceutique :

3.1 Définitions : (18) (19) (20)

Pour commencer on devrait définir la qualité, une notion dont tout le monde, dans cette ère où le consommateur est incessamment confronté à des choix innombrables de produits, développe naturellement et intuitivement un sens pour la percevoir, et la juger. Néanmoins, le dictionnaire Larousse cite plusieurs définitions de la qualité, dont trois d'entre elles sont les suivantes :

- a) « Ensemble des caractères, des propriétés qui font que quelque chose correspond bien ou mal à sa nature, à ce qu'on en attend ».
- b) « Ce qui rend quelque chose supérieur à la moyenne ».
- c) « Chacun des aspects positifs de quelque chose qui font qu'il correspond au mieux à ce qu'on en attend ».

Pour condenser ces définitions, on peut dire que la qualité est la capacité de l'ensemble des propriétés possédées par un objet, à répondre aux attentes d'une entité , et même être jugé supérieur aux autres, par cette entité. Une définition qui n'est pas trop éloignée de celle présentée par la norme ISO 9000 qui définit la qualité comme « l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques d'un objet à satisfaire des exigences ».

Dans le contexte de l'industrie pharmaceutique, L'ICH Q8 définit la qualité comme étant l'aptitude d'une substance ou d'un produit médicamenteux à servir comme destiné. Le médicament doit donc satisfaire aux exigences externes des clients/patients, des organismes et autorités réglementaires du territoire où le médicament est fabriqué et/ou commercialisé, ainsi qu'aux exigences internes de l'entreprise de fabrication elle-même. Pour y parvenir, l'entreprise de fabrication pharmaceutique doit adopter un système de management de la qualité. Une approche globale à un tel système est nommée : Quality by Design.

3.2 L'approche Quality by Design :

3.2.1 Définition : ⁽²⁰⁾ ⁽²¹⁾

Le terme « Quality by Design » ou qualité par conception, a été initialement employé par Dr. Joseph M. Juran, l'un des originaires de la démarche qualité globale, en 1985. Dans son livre publié en 1992, Il a décrit le management de la qualité comme étant une combinaison de trois efforts principaux : La planification, le contrôle, et l'amélioration.

La QbD est défini dans la ligne directrice ICH Q8 (R2) comme suit :

« Une approche systématique au développement et production, qui commence par des objectifs prédéfinis, et souligne une compréhension du produit, process, et contrôle du process, basée sur une connaissance scientifique, ainsi que sur la gestion des risques qualité. »

La QbD est une approche globale et structurale à la qualité, qui dure sur la totalité du cycle de vie du produit, depuis son développement, à sa production et commercialisation, jusqu'à son retrait du marché. Elle relie fondamentalement la performance clinique du produit médicamenteux à ses spécifications de qualité, afin de mieux développer et comprendre le process de production, de prioriser ses éléments importants, et de mieux gérer tout changement futur de ce process, ce qui à son tour donne une efficacité meilleure, et mène à une réduction des coûts au long terme.

3.2.2 Les éléments de la QbD :

3.2.2.1 L'élaboration du profil qualité cible du produit, ou « Quality Target product profile (TPP) »: ⁽²⁰⁾ ⁽²²⁾

Toute conception commence par l'identification du résultat désiré. Le process de développement selon la QbD n'est pas une exception, car ça commence avec l'élaboration du QTPP, défini par l'ICH Q8 (R2) comme « un résumé prospectif et dynamique des caractéristiques de qualité d'un produit médicamenteux, que si réalisées dans ceci, assureront idéalement le niveau de qualité souhaité, et donc la sécurité et l'efficacité du produit médicamenteux ».

C'est un travail essentiel d'identification des cibles de la performance clinique du produit, ainsi que des exigences de conception du produit qui reflètent les besoins du client, toute en

considérant la dimension économique et celle manufacturière. Ce travail est principalement basé sur des connaissances scientifiques préétablies, une gestion des risques et des études de pré-formulation.

Un QTPP pour un médicament injectable, par exemple, inclut: forme galénique, voie d'administration, concentration du PA dans le produit, posologie, indications, étiquetage et description du produit, pH, tonicité, viscosité, dispositif d'administration, volume, matière particulaire, contenu conservateur, impuretés, stérilité, endotoxines bactériennes, process de fabrication, durée de conservation, et le système récipient-fermeture.

3.2.2.2 La sélection des attributs critiques de la qualité, ou Critical Quality

Attributs (CQAs) : ⁽²⁰⁾ ⁽²³⁾

L'étape qui suit dans le process de développement, est celle de l'identification d'attributs de qualité parmi ceux déterminés dans le QTPP, qui peuvent être potentiellement jugés comme critiques. Ces attributs critiques de la qualité (CQAs) sont définis dans l'ICH Q8 comme « une propriété ou caractéristique physique, chimique, biologique, ou microbiologique, qui doit se situer dans une limite, une plage ou une distribution appropriée pour garantir la qualité souhaitée du produit ».

Les attributs critiques de qualité (stérilité, matière particulaire...), potentiels, sont déterminés selon des connaissances scientifiques préalables et des études de développement, en considérant la sévérité de l'impact potentiel sur le patient, au cas où l'attribut en question se trouve hors spécification (non stérilité, présence de particules visibles...). Néanmoins, un outil de gestion des risques qualité, est indispensable pour faire cette détermination et classer les différentes CQAs par ordre de criticité.

Au fur et à mesure qu'une meilleure compréhension du process et produit au cours du développement est acquise (essais et tests non cliniques et cliniques), l'appréciation du risque des différents CQAs peut être reconsidérée, et leurs plages de spécification finalisées.

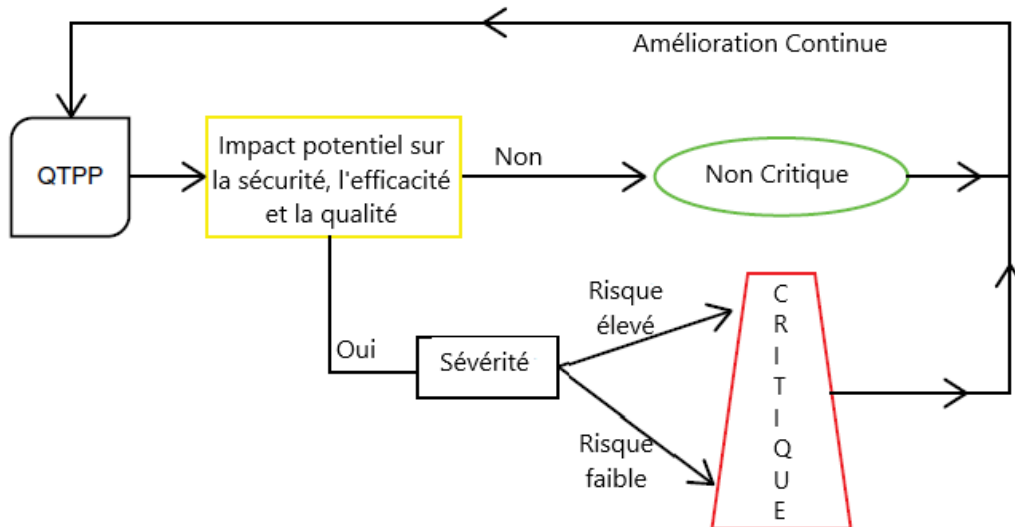


Figure 10: Process de détermination des attributs critiques de la qualité à partir des QTPP.

3.2.2.3 La conception du produit et l'identification des attributs critiques des matières, ou Critical Material Attributes (CMA) : ⁽²⁴⁾

Les matières dans le contexte de développement d'un produit pharmaceutique, font référence essentiellement aux matières premières ; PA et Excipients (l'article de conditionnement primaire peut également être inclus) choisis lors de la formulation de ce dernier ; et les matières en cours du process (In-Process materials). Une bonne conception et formulation du produit compte sur une compréhension approfondie, par le biais d'études, des matières. Ces études peuvent inclure :

- Une caractérisation physique, chimique, et biologique du PA.
- Identification et sélection d'excipients, et acquisition de connaissances sur leur variabilité intrinsèque.
- Etudes de compatibilité et d'interaction des excipients et PA.
- Identification des CMA des excipients et PA.

La CMA étant une caractéristique ou propriété physique, chimique, biologique, ou microbiologique de la matière entrante (une seule matière peut avoir plusieurs CMA), qui doit se situer dans une limite, ou une plage appropriée pour garantir la qualité de la matière sortante. Une CMA hors spécification, aura un impact important sur les CQA, et donc sur la qualité du produit

pharmaceutique. L'identification initiale des CMA potentielles, basée sur une connaissance scientifique et une expertise de formulation, doit être suivie d'une appréciation des risques afin de prioriser les CMA à haut risque dans les études et investigations approfondies, visant à établir des spécifications et une stratégie de contrôle.

Il est à noter qu'une CQA d'un produit intermédiaire peut devenir une CMA de ce même produit pour une étape de fabrication en aval.

3.2.2.4 La conception du process et l'identification des paramètres critiques du process, ou Critical Process Parameters (CPP) : ⁽²⁰⁾ ⁽²⁵⁾

C'est la phase du développement où l'on élabore, en exploitant les connaissances acquises jusqu'à ce point et en appliquant une méthodologie de gestion des risques, la structure et les grandes lignes pour le procédé de fabrication commerciale éventuelle. La plus grande considération lors de cette conception est réservée aux QTPP et CQA, et la question qui se pose est la suivante : Quelle est la technologie de fabrication et son procédé, qui délivrera au mieux les éléments cités dans le QTPP et assurera les CQAs du produit ?

Pour les injectables, c'est essentiellement la phase où l'on décide si le produit sera fabriqué aseptiquement, ou subira une stérilisation terminale. La production de médicaments stériles est divisée en deux catégories principales: celle où les produits sont stérilisés dans leur récipient final, et la catégorie où le produit est préparé aseptiquement, c'est-à-dire que les différents composants (produit, récipients et fermetures) stérilisés individuellement sont assemblés dans un environnement aseptique, donnant un produit stérile dans son récipient scellé. Les processus de stérilisation créent des conditions qui sont mortelles pour les micro-organismes mais également potentiellement délétères aux propriétés importantes du produit, du récipient ou du système de fermeture. La production aseptique permet l'utilisation de méthodes spécifiquement adaptées au composant individuel, minimisant ainsi l'impact négatif sur ce dernier, mais la difficulté réside dans le maintien de la stérilité des équipements et des composants depuis le point de stérilisation jusqu'au remplissage et scellage du produit.

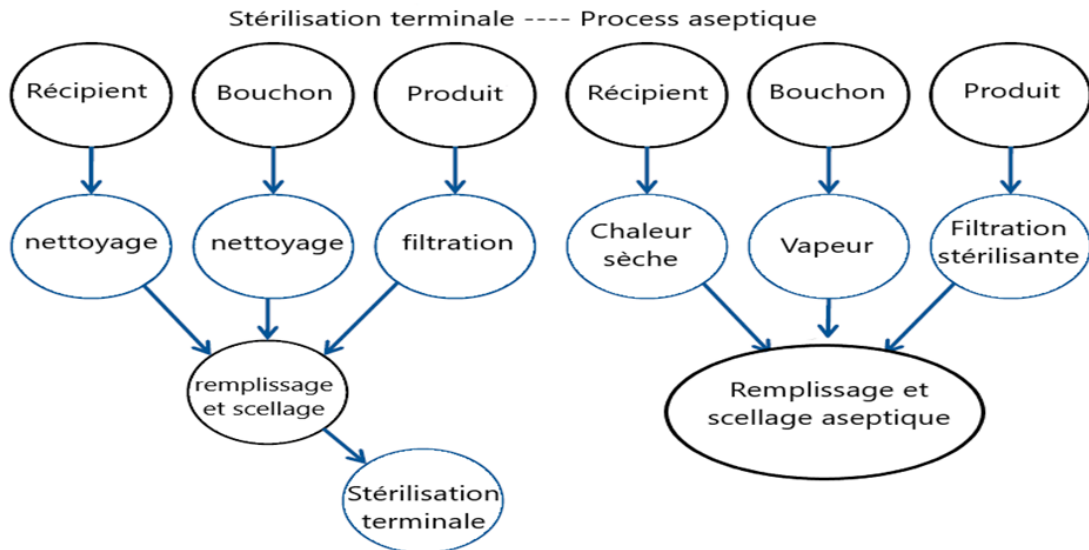


Figure 11: Représentation schématique de la différence entre un process aseptique et celui à stérilisation terminale.

Le process sélectionné se composera de plusieurs opérations unitaires ; des activités discrètes qu’impliquent un changement physique ou chimique (mélange, stérilisation...). Chacune de ces opérations unitaires est caractérisée par des paramètres de process, ce qu’on appelle « input operating parameters » (vitesse de mélange, débit d’écoulement...) ou « process state variables » (température, pression...) qui sont contrôlables, par opposition au « process output parameters » ou les paramètres du process sortants qui sont des attributs. Si les paramètres sortants du process assurent la qualité, ils sont considérés des CQA.

Un paramètre de process est jugé comme critique, si sa variabilité impacte une CQA. Un paramètre critique du process CPP doit donc être contrôlé ou surveillé pour assurer que le process donnera le produit de la qualité souhaitée.

Des efforts doivent être investis pour comprendre extensivement le process, son flux et ses éléments critiques, afin d’identifier tous les CPP potentiels du process.

Les paramètres de process peuvent également être distingués selon leur impact sur la performance du process, dans ce cas-là ils sont considérés comme « Key Process Parameters » KPP. L’arbre décisionnel suivant indique un algorithme pour faire cette distinction :

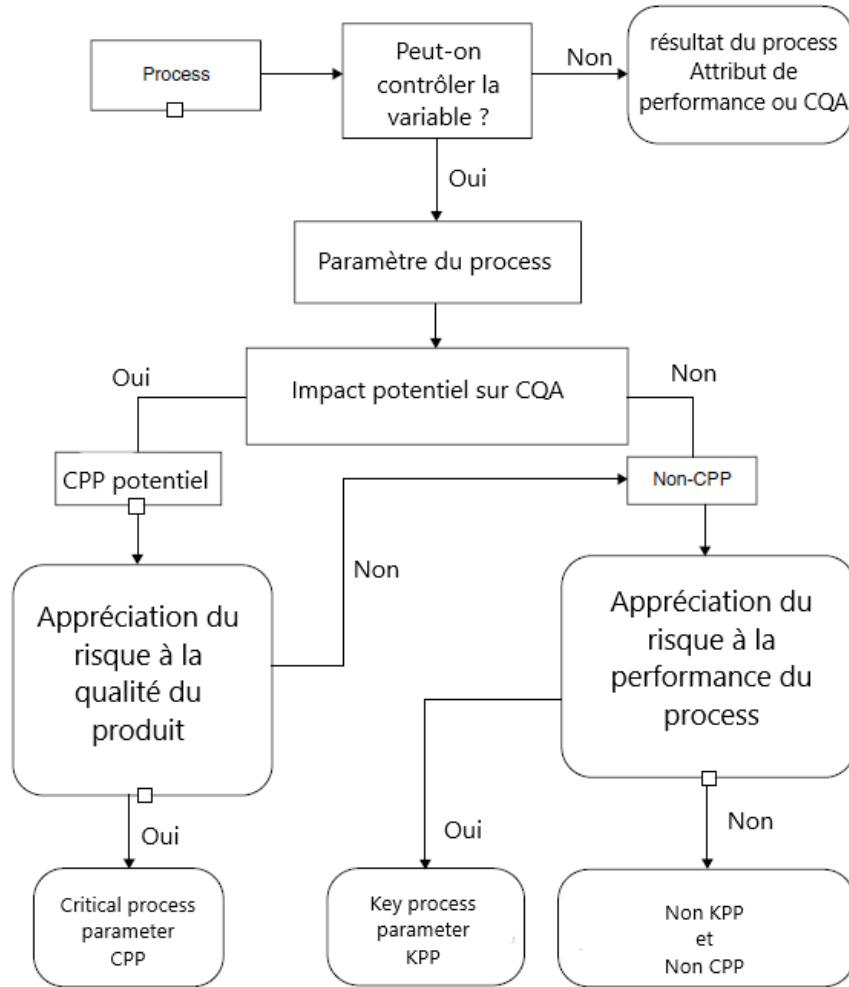


Figure 12: Arbre décisionnel pour la distinction des CPP et KPP.

Durant le cycle de vie du produit, les connaissances concernant le process s'accroissent pour augmenter le niveau de compréhension de ce dernier, et une reconsidération et modification du niveau du risque de certains CPP peut s'avérer inévitable.

3.2.2.5 La robustesse et l'espace de conception, ou « Design Space » : ⁽²⁰⁾ ⁽²⁶⁾

La robustesse du process est achevée à travers l'exploration expérimentale des différents CPP et CMA et de leur interaction, dans chaque opération unitaire du process, et l'exploitation des données obtenues pour élaborer des modèles qui décrivent les principes fondamentaux, et les relations cause à effet qui relient ces paramètres et variables aux CQA du produit. Ces modèles nous permettent d'établir des champs acceptables pour les éléments entrants du process (PP, MA), dans lesquels la qualité du produit, ou des éléments sortants du process, reste assurée. L'espace

qu'abrite les champs établis de ces différentes variables et paramètres est nommé le Design Space. Il est défini par l'ICH Q8 comme étant « La combinaison et l'interaction multidimensionnelle des variables entrantes (MA) et des paramètres du process qui fournissent démontrablement une assurance de qualité ».

Si on prend l'exemple de la stérilisation terminale par chaleur humide (si applicable) des parentéraux ; un process intense qui doit conférer au produit sa stérilité, sans affecter négativement ses autres caractéristiques qui figurent sur le QTPP (stabilité, impuretés, viscosité...); en augmentant la température et le temps (CPPs), la stérilité (CQA) est plus assurée, mais la stabilité chimique du produit (CQA) devient un problème. Le Design Space pour cette opération doit donc comprendre la plage normale de fonctionnement de la température et du temps, où la stérilité et la stabilité du produit sont simultanément garanties.

Le Design Space permet une certaine flexibilité à l'entreprise de fabrication, au niveau, certainement, du changement des MA et PP, car tant que ce changement reste dans le cadre du Design Space, ils y a pas raison de notifier l'autorité régulatrice pour chercher son approbation. Cependant, le Design Space lui-même doit être approuvé.

Des études doivent également être menées pour décider de la faisabilité optimale du process à plus grande échelle (l'échelle commerciale), ainsi que pour établir une stratégie de contrôle.

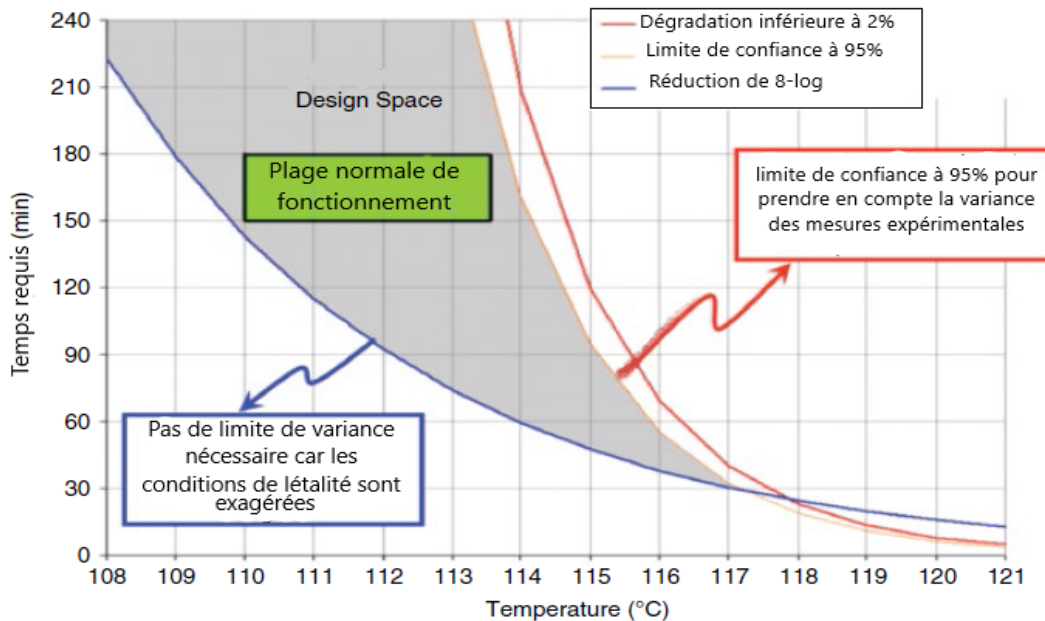


Figure 13: Exemple des valeurs d'un Design Space d'une stérilisation terminale.

3.2.2.6 Stratégie de contrôle : ⁽²⁰⁾ ⁽²⁴⁾

Les divers efforts de développement et d'optimisation du process culminent dans l'établissement d'une stratégie de contrôle. Une stratégie, qui selon QbD, comporte un nombre de contrôles planifiées, élaborées suivant une approche de gestion des risques, afin d'assurer la performance du process et la qualité du produit. Elle peut comprendre, selon l'ICH Q8 :

- Contrôle des attributs des matières premières (MA) (PA, excipients, articles de conditionnement primaire), et des matières in-process ayant un impact sur le process et la qualité du produit.
- Contrôle des PP des Opérations unitaires ayant un impact sur la qualité du produit.
- Contrôle du produit en cours de fabrication.
- Méthodes et fréquence de contrôle.
- Conditions et fonctionnement de divers équipements et installations.
- Spécifications du produit fini.

La stratégie de contrôle peut être classifiée en trois niveaux selon Yu. Et al. Cette classification est basée sur la distinction entre la planification traditionnelle de contrôle, et celle dérivée des principes de la QbD. Cela dit, le niveau trois désigne l'approche classique, basée entièrement sur le contrôle du produit fini, avec une compréhension limitée des CPP et CMA et leur impact sur les CQA du produit, et nécessitant ainsi une contrainte étroite sur les PP et MA. Le niveau deux intègre les principes de développement QbD, avec une compréhension avancée du process et produit, avec l'établissement des plages de fonctionnement normal des CPP et CMA dans le Design Space, réduisant ainsi la dépendance sur les contrôles du produit fini. Le niveau 1, introduit le monitoring en temps réel des CMA, et CQA du produit, et l'ajustement, également en temps réel, des CPP, à l'aide d'outils automatiques avancés, conduisant à une assurance de qualité drastiquement supérieure, en comparaison à la stratégie de contrôle classique. Le niveau 1 permet en plus une libération de lot en temps réel.

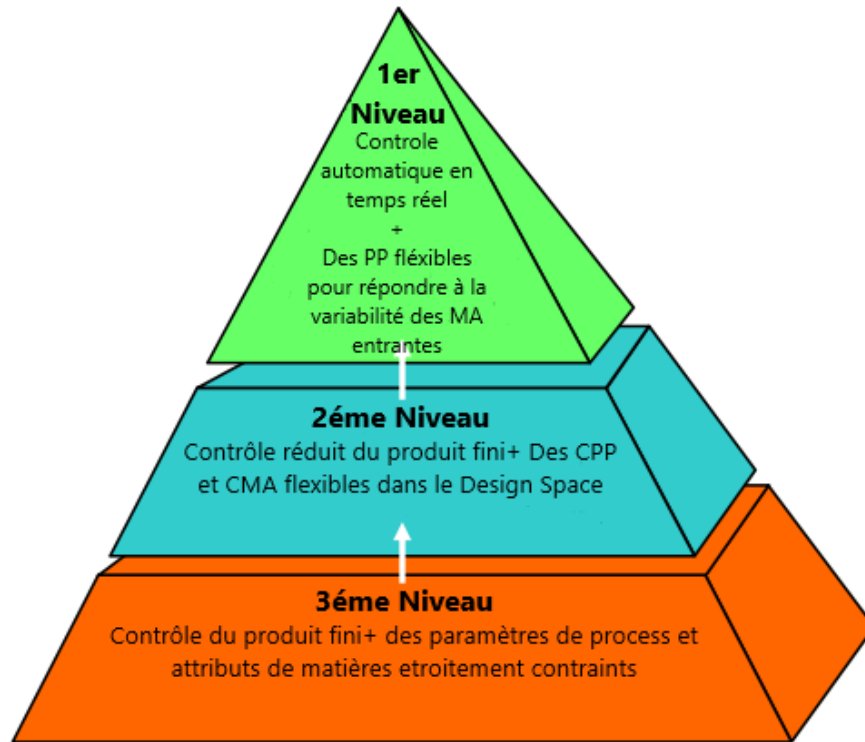


Figure 14: Schématisation des différents niveaux de la stratégie de contrôle.

3.2.2.7 L'amélioration continue : (27)

Après l'implémentation et la validation du process de fabrication sur l'échelle commerciale, faisant preuve d'applicabilité du Design Space sur cette échelle pour l'assurance de la qualité du produit, l'approche QbD demande l'amélioration de ce process tout au long du cycle de vie du produit.

Cette amélioration dépend largement sur la collecte et l'analyse continue de données statistiques pertinentes aux spécifications du produit fabriqué, afin de déterminer la variabilité inhérente du process au fil du temps. Si importante, des efforts, doivent être menés, pour identifier les causes racines de cette variabilité, et des mesures implémentées, afin de la contrôler ou de la réduire au maximum.

L'indice de capacité du procédé est calculé selon la formule suivante :

$$C_p = \frac{ULS - LLS}{6\sigma}$$

Avec : « ULS » étant la limite supérieure de la spécification, et « LSL » sa limite inférieure. σ est l'écart type. Plus cet indice est élevé, plus il est estimé que le process est capable de délivrer un produit conforme, avec une variabilité moindre.

L'indice de capacité minimal du process C_{pk} , intègre la moyenne « μ » dans la formule de calcul, pour révéler un certain décentrage des résultats du process de cette dernière, malgré un indice de capacité C_p élevé :

$$C_{pk} = \min \left[\frac{USL - \mu}{3\sigma}, \frac{\mu - LSL}{3\sigma} \right]$$

Ces indices ne sont applicables qu'avec un procédé dans un état de maîtrise statistique, en d'autres termes, qu'une fois les causes spéciales de variabilité entraînant une dérive de la moyenne du procédé dans le temps, ou des pics importants des valeurs enregistrées, soient éliminées.

3.3 La maîtrise de la contamination dans l'approche QbD : ⁽²⁸⁾

La contamination, quelle que soit sa nature ou source, pourrait potentiellement impacter les CQA du produit, comme la stérilité, les spécifications de la matière particulaire, et des endotoxines bactériennes. Il est donc, évident, et selon les principes de la QbD, que le processus de fabrication doit comprendre comme partie intégrante, une stratégie de maîtrise de la contamination, élaborée afin de satisfaire les exigences de qualité du produit.

La stratégie de maîtrise de la contamination est définie dans la dernière révision de l'annexe 1 des GMP européennes comme « Un ensemble de contrôles planifiés pour les microorganismes, pyrogènes, et particules, dérivés de la compréhension du produit et process, et qu'assurent la performance du process et la qualité du produit. Ces contrôles peuvent inclure, le PA, les excipients, et les différents composants du médicament, Les conditions opérationnelles de l'établissement et équipement de fabrication, les contrôles en cours de production, les spécifications du produit fini, et les méthodes associées du monitoring et contrôle, ainsi que leur fréquence. ». Cette stratégie cherche donc à minimiser le risque de la contamination par différents moyen, et doit exploiter un programme de gestion des risques, comme indiqué dans l'ICH Q9, pour son élaboration optimale.

3.3.1 L'application de la gestion des risques dans l'élaboration d'une stratégie de maîtrise de contamination :

3.3.1.1 La nature du risque : ⁽²⁹⁾

La norme ISO 31 000:2009 intitulée « Management du risque » définit le risque comme « l'effet de l'incertitude sur l'atteinte des objectifs ». Un effet étant un écart, positif et/ou négatif (généralement négatif, un dommage), par rapport à une attente donnée, et l'incertitude faisant référence à un défaut d'informations concernant la compréhension ou la connaissance d'un événement, de ses conséquences ou de sa vraisemblance. Un risque peut donc être exprimé comme une combinaison des conséquences d'un événement et de sa vraisemblance, en d'autres termes, la combinaison de la probabilité d'occurrence d'un dommage et de la gravité de ce dommage, avec la source potentielle de ce dommage étant nommée un danger.

Dans le contexte de la stratégie de maîtrise de la contamination, les dommages touchent la santé du patient, y compris ceux qui peuvent résulter en une pénurie du produit sur le marché, car ils peuvent priver un patient d'un médicament dont il a grand besoin.

Le risque reste un concept difficile à concrétiser en isolation (objectivement), dans la mesure où il ne peut être considéré que dans le cadre d'une échelle élaborée selon des variables prédéterminés, où il peut être placé comme supérieur ou inférieur à un autre risque, dans sa criticité :

$$\textit{Criticité (C)} = \textit{Probabilité (P)} \times \textit{Gravité (G)}$$

3.3.1.2 Le programme de gestion du risque qualité : ⁽³⁰⁾

Un programme de gestion des risques qualité fournit la structure nécessaire pour engager pertinemment, les conditions ou points critiques dans un processus, qu'on suspecte pourraient potentiellement nuire à la qualité du produit, avec comme objectif l'amélioration du processus et de la satisfaction du patient, et plus précisément dans le cas de la stratégie de maîtrise de la contamination, la sécurité de ce dernier.

Ça nécessite dans son application, des décideurs ni trop conservateurs ni trop libéraux en ce qui concerne l'acceptation du risque, capables d'une réflexion et d'un jugement équilibrés. Un programme de gestion de risque n'est ultimement efficace que par son organisme décisionnel.

Comme il est décrit dans ICH Q9, un programme de gestion des risques qualité est un processus itératif qui implique plusieurs étapes. L'accent mis sur chaque étape peut varier d'un cas à un autre, mais un processus robuste prendra en compte l'ensemble des étapes avec un niveau d'engagement et détail adapté au risque considéré.

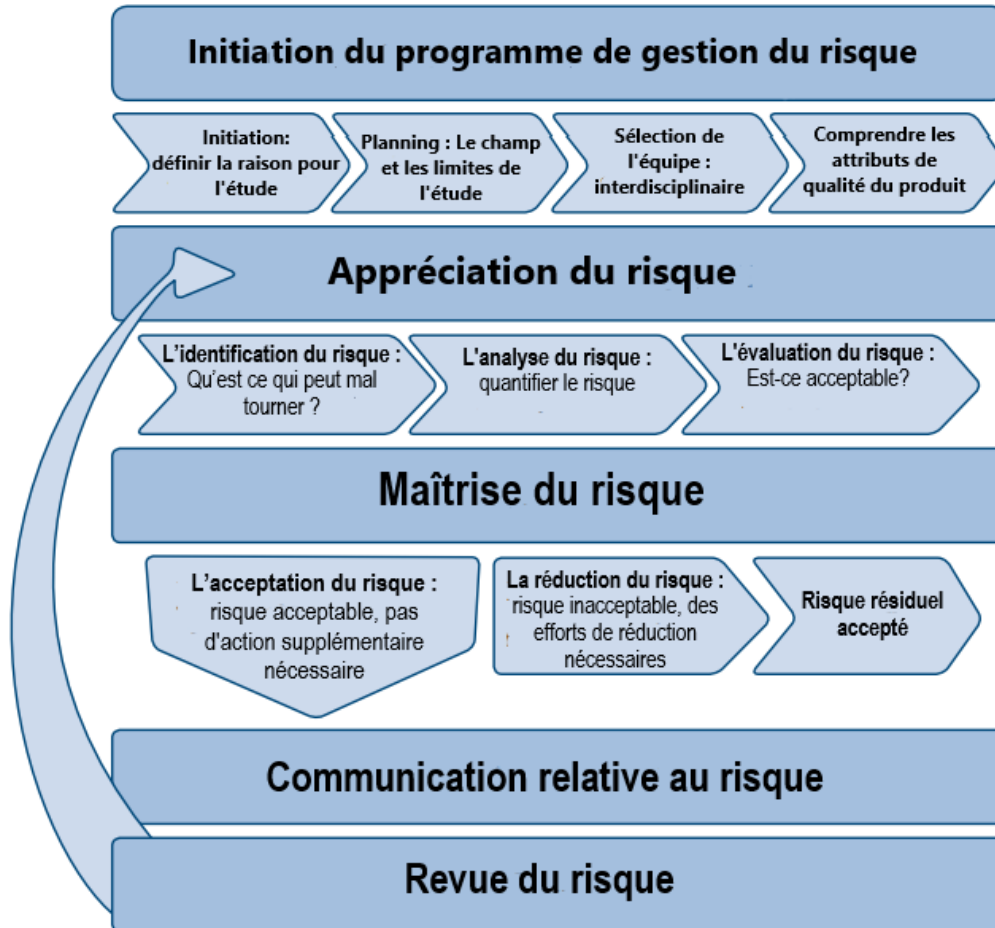


Figure 15: Schéma du cycle d'un programme de gestion du risque qualité.

3.3.1.2.1 L'initiation du programme de gestion du risque : ⁽³⁰⁾

Le programme de gestion du risque doit être adéquatement planifié pour permettre et faciliter la prise de décisions factuelles concernant le risque, pendant son exécution. Une telle planification peut être initiée par les points suivants :

- Il est important que les CQA (stérilité, matière particulaire...) du produit soient identifiées clairement afin que le risque qui leur ait pertinent, puisse être géré et / ou réduit.
- Définir la question invoquant le risque, et les hypothèses relatives à son impact potentiel.

- Exploiter des connaissances préétablies pertinentes, pour définir son impact potentiel sur le patient.

- Identifier le responsable du programme et les ressources nécessaires, adaptées au délai choisi et au modèle de prise de décisions.

3.3.1.2.2 L'appréciation du risque : ⁽³⁰⁾

L'appréciation du risque implique l'identification, l'analyse et l'évaluation des défaillances potentielles dans le processus. Dans le cadre de l'élaboration d'une stratégie de maîtrise de la contamination, les défaillances à considérer sont celles qui ont le potentiel d'engendrer une perte de stérilité ou un niveau élevé d'endotoxines ou de matière particulaire. Ces dommages étant toujours d'une gravité sévère au patient.

- **L'identification du risque** : Cette étape répond à la question de «Qu'est-ce qui pourrait mal tourner?» en exploitant systématiquement le corpus d'information collectée, pour identifier les dangers et les défaillances du processus qui pourraient imposer potentiellement un certain risque de contamination sur le produit. Cette identification doit se baser sur des connaissances historiques, ainsi que sur l'analyse des théories et opinions éclairées de l'équipe.

- **L'analyse du risque** : C'est une analyse qualitative ou quantitative qui relie la probabilité d'occurrence de la défaillance identifiée, et sa détectabilité si possible, à la gravité de son dommage potentiel, afin d'estimer la criticité du risque résultant de cette défaillance. Un système de classement est utilisé comme échelle relative pour déterminer les valeurs des variables de l'analyse. L'incertitude due à une connaissance incomplète d'une étape du processus, sa variabilité, et ces modes de défaillances, doit être reflétée dans l'estimation du risque.

- **L'évaluation du risque** : C'est l'étape où l'on compare les risques analysés aux critères prédéterminés du risque. le risque est considéré soit qualitativement (faible / moyen / élevé) en lui attribuant un classement dans l'ordre de priorité des risques, soit semi-quantitativement en lui attribuant un numéro de hiérarchisation (RPN).

3.3.1.2.3 La maîtrise du risque : ⁽³⁰⁾

Une fois les risques appréciés, une décision sur la manière dont ils vont être traités doit être prise. Un risque peut être, soit réduit à l'aide d'efforts proportionnels à sa criticité, soit il est

accepté. Les décideurs peuvent avoir recours à différents outils, y compris l'analyse coûts-bénéfices, pour faire le choix optimal. Il est à noter que la maîtrise des risques se poursuit tout au long du cycle de vie du processus, en cherchant l'équilibre approprié entre la prise d'action, les risques acceptables et les ressources disponibles.

- **La réduction du risque** : se concentre sur l'atténuation ou l'élimination, si possible, des risques appréciés à une criticité supérieure au niveau spécifiée par l'organisme décisionnel. Ceci est réalisé, en proportion à la criticité du risque en question, essentiellement à travers l'incorporation dans le processus, de modifications, d'instructions, et mesures de sécurité qui visent à diminuer la gravité et la probabilité d'occurrence du dommage, ainsi que d'améliorer la détectabilité des défaillances identifiées. Pour un processus de fabrication d'injectables, et plus pertinemment pour un process aseptique, on peut envisager par exemple :

- Réduire le nombre de fois que le personnel doit intervenir dans une étape critique, réduisant ainsi la probabilité de contamination (systèmes barrières).

- Eliminer l'intervention humaine totalement de l'étape, grâce à des solutions d'ingénierie (augmentation du degré d'automatisation du processus).

- Augmenter la détectabilité des défaillances identifiées (systèmes d'alerte en temps réel, formation du personnel à la détection de la défaillance).

La mise en œuvre de mesures de réduction des risques peut introduire de nouveaux risques dans le système ou accroître l'importance d'autres déjà existants. Par conséquent, il pourrait être approprié de réapprécier les risques pour identifier et évaluer tout changement éventuel après la mise en œuvre des mesures de réduction.

- **L'acceptation du risque** : Il n'est pas toujours possible, ou optimal, d'essayer d'adresser par des mesures, tous les risques appréciés. Une fois le processus analysé, une décision peut être prise pour accepter le niveau de risque actuel. Les risques qui subsistent après les changements de processus, y compris les risques introduits à la suite de ces changements, sont considérés comme des risques résiduels, et peuvent être formellement acceptés, ou passivement, sans même être spécifiés.

3.3.1.2.4 La communication du risque : ⁽³⁰⁾

Les informations appropriées sur les risques et la gestion de ces risques, peuvent être partagées par l'organisme décisionnel avec toute autre partie intéressée (parties prenantes ; autorité réglementaire ; patient), tout au long du programme, en veillant soigneusement à documenter et à communiquer les résultats de ce dernier.

3.3.1.2.5 La revue du risque : ⁽³⁰⁾

Les résultats du programme de gestion des risques doivent être revus pour tenir compte des connaissances nouvellement acquises concernant le processus, et des changements incorporés dans ce dernier. Cela implique une continuité du programme tout au long du cycle de vie du produit, pour couvrir tous les événements qui pourraient potentiellement avoir un impact sur la logique et la justification des décisions initiales (revue du produit, inspections, audits, rappel, contrôle des changements, résultats d'enquêtes sur les déviations.), ou simplement comme revue périodique, qui peut remettre en question des décisions précédentes d'acceptation du risque, et dont sa fréquence dépendra du niveau de risque présenté par le processus.

3.3.1.3 Les modèles de gestion des risques qualité :

Il existe plusieurs modèles et méthodologies de gestion des risques qualité, avec leurs propres avantages et inconvénients, et avec les uns étant plus adaptés pour certains processus que les autres, mais tous doivent fournir un moyen documenté, transparent et reproductible, basé sur l'évaluation de la probabilité et de la gravité du dommage, et parfois, de la détectabilité des défaillances, pour satisfaire les étapes du programme de gestion des risques qualité.

Le document ICH Q9 cite un nombre de ces méthodologies et outils de gestion, qui sont les plus couramment employés par l'industrie pharmaceutique et ses organismes de réglementation :

- Méthodes de base pour faciliter la gestion du risque (diagrammes, formulaires de vérification, etc.).
- Analyse des modes de défaillance et de leurs effets - AMDE (Failure Mode Effects Analysis FMEA).

- Analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité - AMDEC (Failure Mode, Effects and Criticality Analysis – FMECA).
- Arbre des défaillances (Fault Tree Analysis – FTA).
- Analyse des risques et maîtrise des points critiques (Hazard Analysis and Critical Control Points - HACCP).
- Analyse de risques et d'opérabilité (Hazard Operability Analysis - HAZOP).
- Analyse préliminaire des risques (Preliminary Hazard Analysis - PHA).
- Classement et filtration des risques (« risk ranking and filtering »).

Le document « PDA technical report n.44 » a pris l’outil AMDE comme base pour créer un modèle de gestion des risques de contamination plus adapté au injectables, ce modèle sera notre point de focalisation.

3.3.1.3.1 Le modèle AMDE : ⁽³¹⁾

Pour les injectables, les attributs de qualité critiques abordés dans ce modèle - qui sont uniques aux produits stériles - incluent la stérilité et l’absence de pyrogènes. Les événements indésirables sont donc un manque d’assurance de stérilité et des niveaux d’endotoxines inacceptables. D'autres dommages potentiels, tels que la contamination particulaire, les impuretés, la super- ou sous-puissance du médicament ou les défauts d'étiquetage ne sont pas propres au injectables. Le modèle peut être appliqué à un processus entier et fournir une évaluation globale de ce dernier, comme il peut être limité à une seule étape/opération qui nécessite de l’attention. Il est important que les limites de l'évaluation soient clairement identifiées lors de la phase de planification.

Une implémentation réussie du modèle commence par la collecte d’information pertinente et sa bonne gestion. Des schémas de flux et des descriptions simples du processus sont utiles pour stimuler les discussions sur l'identification des défaillances potentielles et leur contrôle.

L’établissement d’un système de classement des risques devrait inclure la gravité, l'occurrence et la détectabilité. Le système peut être quantitatif ou qualitatif; numérique ou descriptif. Le tableau suivant montre un exemple de système de classement qualitatif des risques avec une description de chaque niveau :

Tableau 3: Système de classement des facteurs de risque.

Classement qualitatif	Les facteurs de risque		
	La gravité	L'occurrence	La détectabilité
Elevé	L'impact de l'événement indésirable est sévère	Fréquente	La défaillance va presque certainement échapper à la détection
Moyen	L'impact de l'événement indésirable est modéré	Périodique	Les contrôles peuvent détecter l'existence de la défaillance
Faible	L'impact de l'événement indésirable est faible	Rare	La défaillance est évidente et facilement détectable

Un établissement d'un système de classement des risques est essentiel pour appliquer le modèle, une application qu'on peut résumer dans le tableau suivant :

Tableau 4: Etapes d'application du modèle AMDE.

R E F #	Etape/ opération du process	Evénement indésirable	G R V	Les Causes	O C C	Contrôle en place	D E T	R P R	Risque accepté ?	Actions recommandées	Classement après ses actions			
											G R V	O C C	D E T	R P R
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	L	L	L

(A) REF # : Il s'agit d'un numéro séquentiel ou d'un autre identifiant logique pour faciliter le référencement de l'élément analysé à une date ultérieure.

(B) Etape/opération du process : C'est l'étape du processus en cours d'évaluation. L'organigramme du processus, les procédures opérationnelles standards (SOP) et les dossiers de lots peuvent informer sur celle-ci. L'équipe doit déterminer dans quelle mesure ces informations doivent être détaillées pour les besoins de l'évaluation.

(C) Evénement indésirable : Un manque de stérilité et/ou un niveau inacceptable d'endotoxines.

(D) La gravité : Il s'agit de la gravité de l'impact de l'événement indésirable sur le patient. Pour la perte de la stérilité et les niveaux inacceptables d'endotoxines, la gravité est élevée.

(E) Causes : La liste des causes potentielles des défaillances du process. Il peut y avoir plusieurs causes pour chaque type de défaillance; par conséquent, ils doivent être répertoriés et évalués individuellement.

(F) L'occurrence : La probabilité que la cause de la défaillance se produise, et s'elle entraînera une perte de stérilité et /ou des niveaux d'endotoxines inacceptables. Des données historiques et empiriques doivent être utilisées dans la mesure du possible pour définir sa valeur.

(G) Contrôle en place : Il s'agit de l'énumération des contrôles déjà existants qui détectent, réduisent ou éliminent la cause de la défaillance. Ces contrôles doivent être pris en compte lors de la détermination du classement du risque.

(H) La détectabilité : Il s'agit de la probabilité de détection de la cause de l'événement indésirable. Plus elle est importante, plus ça facilite l'identification et la correction des défaillances avant qu'elles ne nuisent au patient.

(I) RPR, classement de la priorité du risque : Le classement par ordre de priorité des risques est une méthode qualitative d'évaluation du risque de l'étape ou de l'élément du processus en combinant des valeurs individuelles de risque. Si un système quantitatif est utilisé, cette combinaison peut être une multiplication de valeurs numériques, et le RPR devient un RPN, le nombre de priorité du risque.

Pour un processus de fabrication d'injectables, la gravité sera, naturellement, toujours élevée. Par conséquent le RPR devient une combinaison d'occurrence et de détectabilité. L'exemple du système de détermination du RPR fourni dans le tableau suivant, utilise trois valeurs, élevé, moyen et faible :

Tableau 5: Exemple du système de détermination RPR pour les risques de contamination dans un process aseptique.

		Défectabilité		
		Faible	Moyen	Elevé
o c c u r r e n c e	Elevé	Cette cause est largement susceptible de se produire, mais lorsqu'elle se produit, elle sera détectée. Si sa détection est certaine, il s'agit d'un risque faible, sinon, il devrait s'agir d'un risque moyen	Cette cause est largement susceptible de se produire, et sa détection n'est pas certaine. Le risque est donc élevé.	Cette cause est largement susceptible de se produire et ne sera probablement pas détectée. Il s'agit d'un risque élevé.
	Moyen	Cette cause pourrait se produire, mais si c'était le cas, elle serait détectée. Selon la fréquence d'occurrence et la confiance dans la détection, il s'agit d'un risque faible ou moyen.	Cette cause pourrait se produire et elle pourrait être détectée. Selon notre confiance dans la détection, son risque serait moyen ou élevé.	La cause peut se produire et elle ne sera pas détectée. Le risque est élevé.
	Faible	Cette cause n'est pas susceptible de se produire, et si elle le fait, elle sera détectée. C'est un risque faible.	Il est peu probable que la cause se produise, et si c'est le cas, elle peut être détectée. Selon la fréquence d'occurrence et la confiance dans les méthodes de détection, il s'agirait d'un risque faible ou moyen.	Il est peu probable que la cause se produise, mais si elle se produisait, elle ne serait probablement pas détectée. Le risque est moyen.

(J) Risque accepté ? : L'acceptation des risques est basée sur plusieurs critères. Si le niveau de risque est accepté, l'évaluation sera close, sinon, des mesures doivent être prises pour le réduire.

(K) Les actions de réduction du risque : Cette étape cherche à déterminer les actions nécessaires pour réduire le risque à un niveau acceptable. Ce modèle et son application sur le process de fabrication des injectables, ne permettent pas d'atténuer la gravité comme moyen de réduire le risque. Par conséquent, les actions de réduction impliquent l'occurrence et/ou la détectabilité. La priorité devrait être donnée à la réduction de l'occurrence plutôt qu'à l'augmentation de la détectabilité.

(L) Le risque après les actions de réduction : Une fois que les actions ou changements du processus ont été effectués, une autre appréciation des risques devrait être réalisée, et si le niveau de risque est accepté, l'évaluation sera clôturée.

Deuxième Partie :

**Les éléments de la stratégie de
maîtrise de la contamination
pour la fabrication des
injectables**

4 L'environnement de fabrication :

4.1 Les Zones à Atmosphère Contrôlée :

4.1.1 Définition : ⁽³²⁾

En raison des normes extrêmement élevées auxquelles doivent répondre les produits parentéraux, il s'avère inévitable que les environnements dans lesquels ils sont fabriqués, doivent être contrôlés. Ces environnements qu'on appelle des zones à atmosphère contrôlée (ZAC), sont conçus et exploités pour limiter l'introduction, la production et la rétention des contaminants, ainsi que pour maîtriser des paramètres atmosphériques, tels que la température, l'humidité relative et la pression. Les ZAC sont classifiées selon leur niveau de propreté.

4.1.2 Les différentes classes de propreté : ⁽³³⁾ ⁽³⁴⁾

Chaque opération ou étape de fabrication, impose un risque de contamination différent sur le produit, et nécessite ainsi un niveau distinct de contrôle environnemental pour minimiser ce risque. Cette distinction se traduit en différentes classes pour les ZAC.

Pour la fabrication de médicaments parentéraux, et stériles en général, les BPF distinguent quatre classes de ZAC selon les opérations qui s'y déroulent :

- **Classe A** : Les points où sont réalisées des opérations à haut risque, tels que le point de remplissage, les bols de bouchons, les points de raccordements aseptiques. Les postes de travail sous flux d'air laminaire doivent normalement garantir les conditions requises pour ce type d'opérations.

- **Classe B** : cette classe constitue l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A en zone conventionnelle.

- **Classes C et D** : ZAC destinées aux étapes moins critiques de la fabrication des médicaments injectables.

Le tableau qui suit fait la distinction entre un process aseptique et celui à stérilisation terminale, en termes des opérations autorisées dans les différentes classes des ZAC.

Tableau 6: Les opérations autorisées dans chaque classe de ZAC, selon le type du process de fabrication des parentérales.

Classe	Opérations sur des préparations aseptiques	Opérations sur des produits stérilisés dans leur récipient final
A	Préparation et remplissage aseptiques.	Remplissage de produits, si l'opération présente des risques inhabituels.
C	Préparation de solutions destinées à être filtrées.	Préparation de solutions, si l'opération présente des risques inhabituels. Remplissage de produits.
D	Manipulation d'accessoires après nettoyage.	Préparation de solutions et d'accessoires aux fins de remplissage.

Les tableaux suivants quant à eux, décrivent les limites et recommandations en termes du niveau de particules, et des microorganismes autorisés dans une ZAC selon sa classe. Le terme «En activité » désigne selon les normes ISO 14644, la condition de la salle propre ou ZAC, où elle fonctionne comme prescrit, avec l'équipement en opération nominale et l'effectif spécifié présent. Tandis que le terme « au repos » indique l'absence de personnes dans la ZAC. Les états « en activité » et « au repos » doivent être définis pour chaque ZAC.

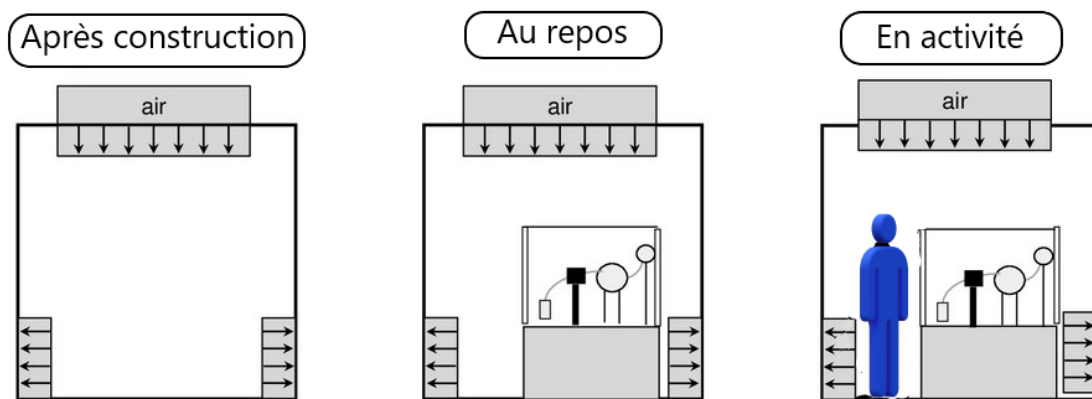


Figure 16: Schématisation des différents états d'occupation de la ZAC.

Tableau 7: La concentration maximale autorisée pour les particules en suspension dans l'air conformément à la norme EN/ISO 14644-1.

Classe	Au repos		En activité	
	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 (ISO 5)	3520	20	3520	20
B (ISO 5)	3520	29	352000	2900
C (ISO 7)	352000	2900	3520000	29000
D (ISO 8)	3520000	29000	Non défini	Non défini

Tableau 8: Les recommandations BPF quant aux limites pour les contaminants microbiologiques selon la classe de la ZAC.

Limites recommandées de contamination microbiologique				
Classe	Echantillon d'air ufc/m ³	Boîtes de Pétri (D: 90 mm), ufc/4heures	Géloses de contact (D: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	-

4.1.3 Les exigences architecturales et la finition des ZAC : ⁽³⁵⁾ ⁽³⁶⁾

Il existe des aspects architecturaux attribuables à la conception et l'implémentation réussies des ZAC dans une installation de fabrication de produits parentéraux. Toute ZAC distincte doit être séparée et délimitée de tout autre environnement, suivant une construction à caractère étanche. Dans la conception du bâtiment, des mesures doivent être prises pour faciliter l'entretien des services et utilitaires comme l'eau, l'électricité, la vapeur et d'autres gaz, nécessaires pour le fonctionnement des différents espaces de l'installation, sans perturber cette séparation. Une pratique courante consiste à ce qu'un utilitaire soit dans un espace technique adjacent, et séparé de l'espace de fabrication, de telle manière, des opérations de maintenance peuvent être effectuées sans affecter l'environnement de fabrication contrôlé

La hiérarchie de la classification des ZAC abritant le processus de fabrication, doit être maintenu, non seulement avec une séparation structurelle, mais également avec des zones de transition, ou sas, entre celles-ci. Le nombre de sas dans une séquence dépend du nombre des ZAC de grades différents entre le point de départ et la destination finale. Des sas d'entrée et de sortie séparés pour le personnel et les matières/matériel sont généralement requis pour réguler et organiser le flux de ces derniers, afin de mieux maîtriser la contamination.

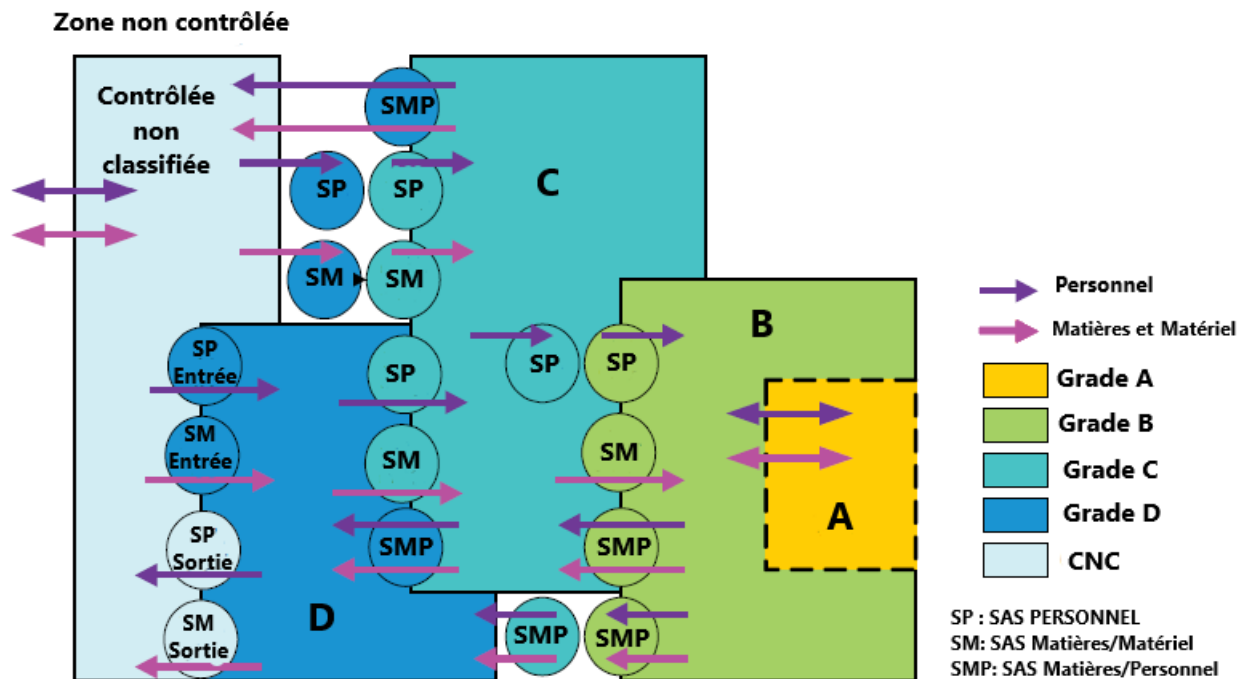


Figure 17: Schématisation de la séparation par des sas, des différentes classes des ZAC.

Les portes du sas, se fermant étanchement, doivent être équipées de verrouillages physiques pour empêcher l'ouverture de plus d'une porte à la fois, ou d'avertissements visibles et / ou sonores de sorte que plusieurs portes ne soient pas ouvertes simultanément.

Les finitions intérieures et les matériaux de construction doivent être adaptés au type d'activité se déroulant dans la zone et à son grade de classification BPF. Toutes les surfaces exposées et les matériaux de finition dans les zones classifiées doivent être lisses non poreuses, résistantes aux dommages dus aux abrasions mécaniques, exemptes de fissures ou de joints ouverts pour limiter les points de prolifération microbienne. Elles ne doivent pas libérer de particules, et doivent permettre un nettoyage aisé et efficace et, si nécessaire, la désinfection, par des agents dont ils résistent leur application répétée.



Figure 18: Exemple de finition dans une salle de pesée des matières premières.

La configuration des surfaces et leur méthode d'interface sont également importantes. Les rebords horizontaux doivent être évités car ce sont des zones où les particules et les micro-organismes pourraient s'accumuler. Les matériaux doivent s'aligner dans le plan vertical, et les joints entre des matériaux différents doivent être calfeutrés avec une mastic silicone sanitaire. Des transitions concaves doivent être prévues entre les murs, sols, et plafonds.



Figure 19: Point de transition concave entre mur et sol d'une zone classée BPF.

Quant aux matériaux les plus utilisés dans le revêtement, on note le terrazzo époxy, l'uréthane ou le vinyle solide pour les sols, et l'acrylique-polychlorure de vinyle pour les murs. En général, les matériaux revêtus d'époxy et l'acier inoxydable dominent les types de finition dans les installations de fabrication stériles.

4.1.4 Le traitement d'air :

4.1.4.1 Centrale de traitement d'air : (37) (38)

Étant l'une des plus grandes sources potentielles de contaminants dans les ZAC, une attention particulière doit être accordée à l'air alimenté à ces zones. Cela peut se faire par une série de traitements dans une centrale de traitement d'air (CTA), qui varie quelque peu d'une installation à l'autre. Dans une telle série, l'air de l'extérieur passe d'abord à travers un préfiltre, généralement en laine de verre, en tissu ou en plastique déchiqueté, pour éliminer les grosses particules. Ensuite, sa température peut être réglée par passage à travers un échangeur de chaleur rotatif, qui prend avantage de l'énergie préalablement dépensée, offerte par l'air de retour qui passe par cet échangeur avant son échappement. La plupart des CTA emploient une séquence d'unités de filtration de nature différente, Une telle unité induit une charge électrique sur les particules dans l'air et les élimine par attraction vers des plaques de charges opposées. L'air passe ensuite à travers des unités de chauffage/refroidissement, et subit une humidification si nécessaire, avant une filtration HEPA (High Efficiency Particulate Air). L'air ainsi traité, est circulé aux conduits de d'alimentation des différentes ZAC, et subit une filtration terminale HEPA avant sa ventilation dans ces espaces contrôlés.

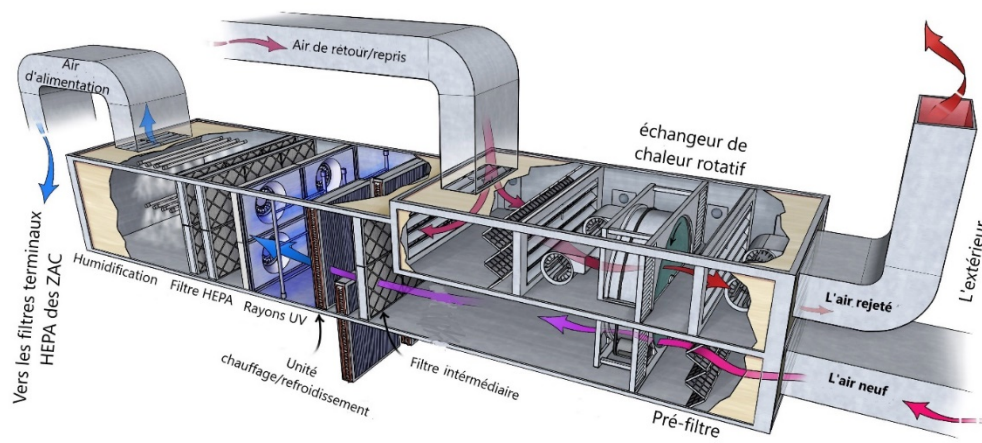


Figure 20: Exemple de la conception et fonctionnement d'une CTA.

4.1.4.2 Les filtres HEPA :

4.1.4.2.1 Le mécanisme de filtration : ⁽³⁹⁾ ⁽⁴⁰⁾

Les filtres HEPA (High Efficiency Particulate Air) sont traditionnellement fabriqués à partir d'un matériau en microfibres de verre ininflammable et hydrofuge avec des diamètres de fibres individuels d'environ 0,1 μm . Un système de construction plissé offre une grande surface sur laquelle la filtration des particules peut avoir lieu. Afin de soutenir chaque pli, un séparateur ondulé (généralement une feuille d'aluminium) est utilisé pour maintenir une structure uniforme sur toute la surface du média, ce qui permet un flux d'air optimal et cohérent. Le matériau du filtre et les séparateurs sont normalement liés à un cadre rigide à l'aide d'un adhésif à faible teneur en solvant pour minimiser le retrait.

Le mécanisme global de filtration est l'effet combiné de plusieurs processus de filtration différents, dont les contributions relatives varient considérablement avec la taille des particules et la vitesse de l'air traversant le milieu filtrant. Pour les grosses particules, un «effet de tamisage» par des préfiltres grossiers éliminerait normalement la totalité ou la plupart de ces particules; trois autres mécanismes sont responsables de la rétention de particules plus petites sur les microfibres de verre qui composent le média filtrant HEPA :

- **Impaction inertielle** : Au fur et à mesure que l'air circule autour des fibres orientées de façon aléatoire, l'inertie des particules en suspension empêche les changements rapides de direction et elles s'encastrent sur les fibres. Ce mécanisme est d'une importance majeure pour les particules $> 1 \mu\text{m}$ et devient plus efficace lorsque la vitesse de l'air augmente à travers le milieu filtrant.
- **Interception**: les particules de 0,5 à 1,0 μm , qui ont une masse très faible, frappent les fibres filtrantes ou les particules précédemment piégées lors de leur passage (c'est-à-dire tangentiellement) et sont donc retenues contre la surface.
- **Diffusion** : les particules $< 0,5 \mu\text{m}$ sont principalement retenues par impaction résultant du mouvement aléatoire des particules (mouvement Brownien), et ce mécanisme fonctionne plus efficacement à des vitesses d'écoulement plus faibles, sur les particules de très petites tailles.

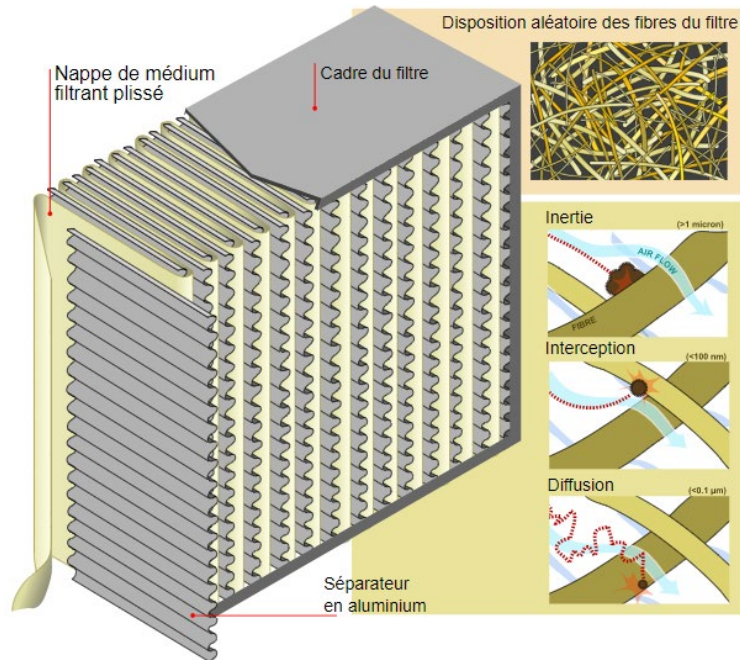


Figure 21: La construction d'un filtre HEPA et les différents mécanismes de filtration.

Le filtre HEPA terminal typique pour les zones aseptiques pharmaceutiques aurait une efficacité de 99,97 % contre les particules de taille supérieure à 0,3 μm . Cependant, comme tout médium filtrant soumis à une charge de particules sur une période de temps, il finira par se colmater, et pourra potentiellement devenir un réservoir de particules dangereuses, notamment des spores bactériennes et fongiques, même avec l'utilisation des préfiltres. Pour cette raison, des méthodes de biodécontamination sont souvent considérées pour les filtres. Comme l'application d'agents désinfectants sur le média du filtre, ou son exposition aux rayons UVC. Une étude menée par Worrawit Nakpan et al, a trouvé la présence d'un effet synergétique sur l'inactivation de spores fongiques et bactériennes, plus précisément le *Bacillus thuringiensis ssp. Kurstaki* (Btk) et *Aspergillus fumigatus*, avec l'application combinée sur le média du filtre, de l'iode gazeux et des rayons UV.

4.1.4.2.2 Le test d'intégrité du filtre HEPA : ⁽⁴¹⁾

Durant la qualification de la ZAC, l'intégrité des filtres HEPA doit être testée. Cette intégrité est caractérisée par l'absence de toute fuite dans l'installation complète de filtration, qui comprend le médium filtrant, le cadre, le système de support et tout joint. Le test est effectué en exposant le système de filtration, en amont de ce dernier, à un aérosol (poly-alpha-oléfine, PAO) contenant des particules ou des gouttelettes d'une taille moyenne inférieure à 1 μm , pour ensuite

scanner la surface du système de filtration, en aval de ce dernier, à l'aide d'un photomètre, et à un taux d'échantillonnage d'au moins 3m³/min, afin de mesurer la concentration de particules pénétrantes. Le pourcentage de pénétration doit ensuite être calculé en fonction de cette concentration mesurée, et la concentration en particules de l'aérosol utilisé.



Figure 22: Un technicien en train d'effectuer un test d'intégrité sur un système de filtration HEPA, à l'aide d'un photomètre.

Une seule lecture de concentration, indiquant un pourcentage de pénétration supérieur à 0,01%, est raison suffisante pour suspecter une fuite importante, qui nécessiterait une réparation de la surface en question, et parfois même le remplacement du système de filtration en entier. Pour les ZAC abritant un process aseptique, une réalisation périodique de ce test est recommandée.

4.1.5 Gestion de la circulation d'air:

4.1.5.1.1 Le gradient de pression : ⁽⁴²⁾

Le maintien d'un local en surpression par rapport aux zones adjacentes, est l'un des mécanismes fondamentaux de la maîtrise de la contamination, ça permet d'éviter le mouvement d'air vers ce local, et donc l'entrée des contaminants aéroportés. Une alimentation en air filtré doit maintenir en toutes circonstances une pression positive par rapport aux zones voisines de classe inférieure et doit ventiler efficacement la zone, ceci est accompli en gardant un débit d'air soufflé supérieur au débit d'air extrait de la zone. Une cascade de pression positive est maintenu de la

zone la plus propre, la plus critique (A/B), vers les zone moins propre (C et D) avec des écarts de pression entre pièces adjacentes relevant de classes différentes de 10 à 15 pascals (valeurs guides). Dans certains cas, et pour protéger le personnel d'un produit pathogène, toxique, ou radioactif, le local est mis en dépression, il est dit confiné. Les sas jouent un rôle important dans cette cascade, comme ils facilitent l'implémentation et le maintien du gradient de pression, et que sans lesquels on aura une perturbation violente de pression lors de l'ouverture de la porte entre deux ZAC de classes différentes.

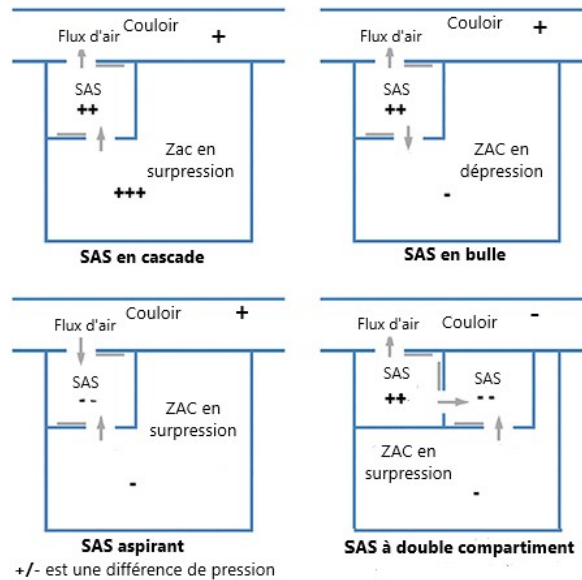


Figure 23: Schéma montrant l'utilité des différents types des SAS.

4.1.5.1.1.2 Le flux d'air conventionnel ou turbulent : ⁽⁴³⁾

Dans une zone à flux d'air conventionnel, le mécanisme par lequel les particules sont éliminées est, principalement, l'extraction et la dilution de l'air contaminé, et le soufflage continu d'air propre. En fournissant un débit suffisant d'air filtré, on diminue la concentration de contaminants particulaires dans l'air de la salle. Le niveau de propreté d'une salle blanche conventionnelle peut être déterminé approximativement par l'équation suivante :

$$C = N / V$$

C : la concentration particulaire aérienne (nombre/m³), N : le nombre de particules générées par minute (nombre/minute), et V : le volume d'air fourni par minute (m³/min).

L'activité émet forcément des particules, dégradant ainsi la qualité de l'air, un renouvellement d'air permet l'élimination d'une partie des particules et microorganismes créés par l'activité. On quantifie ce paramètre par le taux de brassage ou taux de renouvellement d'air, qui correspond au rapport entre le débit total d'air soufflé et le volume de la salle :

$$TBH = Q/V$$

TBH : taux de brassage horaire, Q : débit de l'air total soufflé (m³/heure) et V : volume de la salle (m³). Le débit d'air soufflé peut être mesuré par un débitmètre.

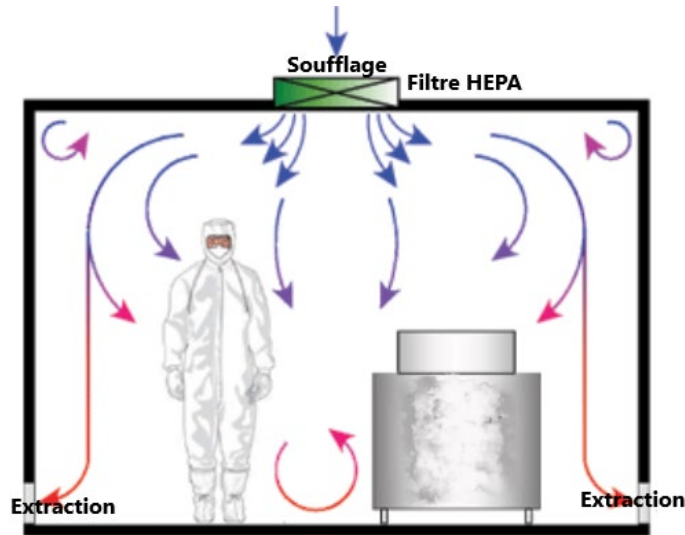


Figure 24 : Schéma du flux d'air turbulent dans une ZAC conventionnelle.

Tableau 9: La plage du taux de renouvellement d'air recommandé dans les normes ISO 14644, selon la classe de la ZAC.

Classe de la ZAC	Taux de renouvellement d'air recommandé
A/B (ISO 5)	240 à 600
C (ISO 7)	60 à 150
D (ISO 8)	5 à 60

Même si un flux conventionnelle peut réduire la charge de particules dans la salle blanche, afin d'atteindre des niveaux de propreté appropriés dans la zone d'opération, des postes de travail

à flux d'air unidirectionnel (ou flux d'air laminaire) ont été traditionnellement utilisés pour une protection plus sûre, bien que de plus en plus d'installations de fabrication utilisent la technologie des isolateurs.

4.1.5.1.1.3 Le flux d'air laminaire : ⁽⁴³⁾

Le flux d'air laminaire est utilisé comme un mécanisme d'élimination de la contamination particulaire, où des niveaux appropriés d'air propre se déplaçant d'une manière laminaire à une vitesse comprise entre 0,3 et 0,45 m/s dans une direction horizontale ou verticale, éliminent les grosses particules en les empêchant de se déposer sur les surfaces et en les chassant loin de la zone de travail aseptique. Il est défini par la norme ISO 14644 comme « un flux d'air maîtrisé traversant l'ensemble d'un plan de coupe d'une zone propre possédant une vitesse régulière et des filets à peu près parallèles ».

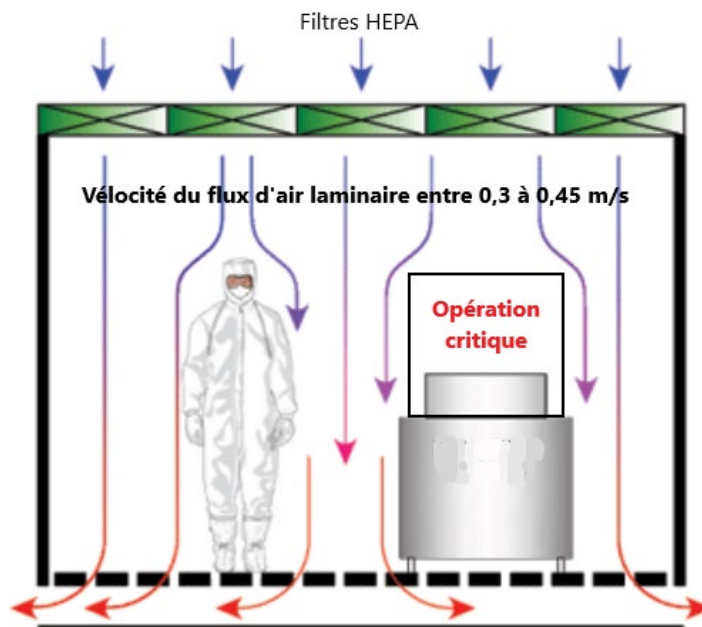


Figure 25: Schéma d'une ZAC à flux d'air laminaire.

Le contrôle environnemental requis des zones aseptiques a été rendu possible par l'utilisation du flux d'air laminaire, provenant d'un filtre HEPA. L'orientation de la direction du flux d'air peut être horizontale ou verticale et peut impliquer une zone limitée, ou une pièce entière. Les contaminants introduits en amont du flux par l'équipement, les mains de l'opérateur, ou des fuites dans le filtre seront soufflés en aval du flux. Les zones de travail à flux laminaire doivent être davantage protégées en étant situées dans des ZAC généralement de classe B.

4.1.5.1.1.4 Vérification de la direction et de l'uniformité du flux d'air : ⁽⁴⁴⁾

La direction de mouvement de l'air et son uniformité dans une ZAC, doivent être vérifiées avec une étude de visualisation du flux d'air, afin de détecter et d'éviter d'éventuelles points d'accumulation de contamination, où l'air n'atteint pas, atteint avec une vitesse insuffisante par rapport aux spécifications, ou forme un tourbillon de turbulence. Ces problèmes surviennent généralement à cause d'un placement d'équipement ou matériel de fabrication, obstruant le flux normal d'air. Ces études peuvent également souligner les points critiques de l'environnement où le monitoring peut être priorisé.

Cette visualisation peut être réalisée en employant des particules « traceurs », éclairées par des sources lumineuses de haute intensité, et enregistrée avec des appareils d'imagerie. Ces particules peuvent être générées à partir d'eau dé-ionisée par un générateur de brouillard, ou à partir d'alcool/glycol avec un nébuliseur à ultrasons.

Les images ainsi obtenues sont analysées par des logiciels spécialisés, qui modélisent la direction du flux d'air et son uniformité afin d'indiquer les points critiques de ce dernier.

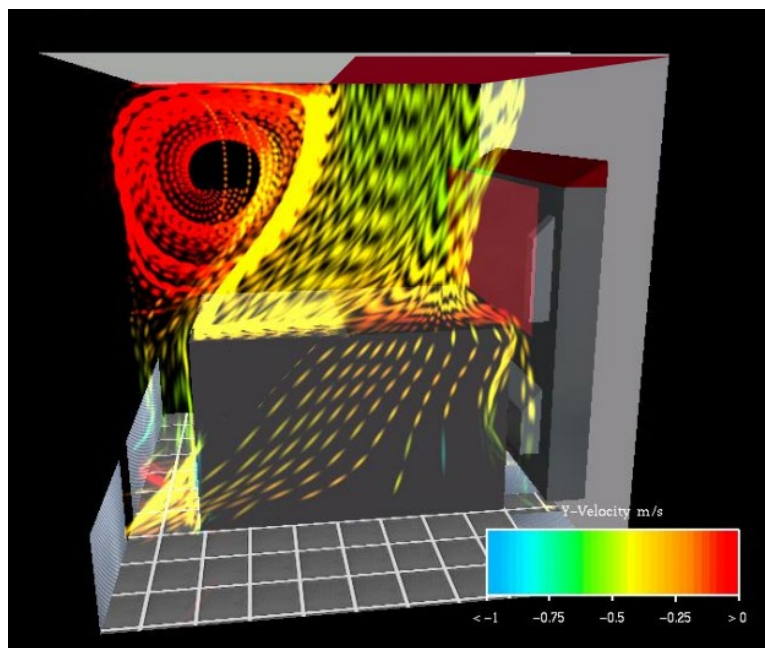


Figure 26: Exemple de la visualisation du flux d'air dans une ZAC, générée par un logiciel de modélisation à partir des images captées.

4.1.6 Nettoyage et désinfection :

Le maintien des conditions de propreté adéquates des ZAC, en particulier pour un processus aseptiques, exige l'application diligente par des personnes rigoureuses, d'un programme de nettoyage et désinfection. Un programme élaboré suivant un raisonnement robuste à la suite d'études approfondies, et une approche de gestion des risques exploitant les données du monitoring environnemental, qui justifient le choix des agents détergents et désinfectants, les méthodes utilisées et leur fréquence, et plus pertinemment, l'efficacité du désinfectant pour la maîtrise de la contamination microbiologique, spécifique à l'installation de fabrication.

4.1.6.1 La vérification du nettoyage : ⁽⁴⁵⁾ ⁽⁴⁶⁾

Le nettoyage fait référence à l'étape indispensable avant la désinfection, où les saletés (matière organique, résidu d'opérations, contaminants...) sont éliminées de la surface, à l'aide généralement d'eau stérile et d'agents détergents. C'est une étape importante, car en plus de la réduction du risque de contamination croisée, elle permet une désinfection plus efficace ; plus une surface est sale, plus on rencontre de problèmes lors de la désinfection (dilution ou inactivation de l'agent de désinfection, protection des microorganismes). Cependant, c'est l'efficacité d'agent désinfectant utilisé, qui détermine, ultimement, le succès du programme.

Pour la prévention de contamination croisée, des approches de vérification de l'efficacité du nettoyage quant à l'élimination des résidus de substances actives, sont impératives, et particulièrement lorsqu'il s'agit d'une installation de fabrication multi-produits. Traditionnellement, une concentration de 10 ppm de substance active contaminante dans le lot fabriqué était la base de la détermination des limites tolérées sur les surfaces de contact produit après nettoyage. Cependant, cette approche ne prenait pas en compte la spécificité toxicologique du contaminant, et résultait en des limites inadéquates ; trop généreuses ou trop restreintes. Une autre méthode, et dans la veine de la gestion des risques de contamination, s'est révélée plus adaptée, car elle considère le potentiel toxique de la substance en question par le biais du paramètre PDE « Permitted Daily Exposure » ; l'exposition quotidienne autorisée :

$$MSSR_a(mg/m^2) = \frac{PDE_a \times Taille\ du\ lot_b}{Dose\ journalière\ maximale_b} / Surface_b$$

Avec : $MSSR_a$ (mg/m^2) étant le résidu maximal de la substance contaminante (a) toléré sur la surface, PDE_a (μg) concerne son exposition quotidienne autorisée, tandis que la taille du lot_b (Kg) et la dose journalière maximale_b (mg) se rapporte au produit contaminé (b). La surface_b de contact produit (b) est en m^2 .

La surface est donc échantillonnée par écouvillonnage, et l'extrait de l'écouvillon est ensuite analysé (HPLC/GC/MC) pour s'assurer que la concentration de la substance contaminante en question ne dépasse pas la limite préétablie, pour juger par conséquent, l'efficacité du protocole de nettoyage vis-à-vis la maîtrise de la contamination croisée.

En outre, une méthode alternative a été investiguée dans le cadre d'une étude publiée dans le journal Analyst en 2018, qui permet la détection et la quantification du résidu en temps réel, à l'aide d'une technique analytique employée directement sur la surface en question ; il s'agit de la spectroscopie IR à réflexion spéculaire. L'étude montre que la technique est capable de détecter un résidu d'une molécule spécifique aussi minuscule que $19\mu m/cm^2$.

4.1.6.2 Les agents de désinfection : ⁽⁴⁷⁾

Un désinfectant est défini, dans un sens général, comme un agent physique ou chimique, que lorsqu'appliqué à une surface, détruit ou élimine les formes végétatives de microorganismes sur celle-ci, et pas nécessairement leurs spores. Un agent qui détruit les spores bactériennes et fongiques, lorsqu'on l'applique à une concentration suffisante pour une durée de contact spécifiée, est un sporicide. Alors qu'un agent stérilisant est supposé détruire toute forme de vie microbiologique, cela inclut, les champignons, virus, et toutes les bactéries et leurs spores.

Le mécanisme d'action des désinfectants chimiques, varie pleinement d'une entité chimique à l'autre, il peut s'agir d'une dénaturation de protéines critiques à la survie des microorganismes (alcools), Une hydrolyse, Une destruction de la membrane cellulaire lipidique, ou l'exposition du microorganisme à une quantité destructive de radicaux libres.


Le tableau suivant cite les désinfectants chimiques les plus employés, avec leur classe d'activité :

Tableau 10: Classification des différents désinfectants.

Entité chimique	Activité	Exemple
Alcools	Désinfectant général, antiseptique, agent antiviral	alcool isopropylique à 70%
Aldéhydes	Agent sporicide	Glutaraldéhyde à 2%
Chlore et hypochlorite de sodium	Agent sporicide	hypochlorite de sodium à 0,5%
Phénoliques	Désinfectant général	Chlorocrésol à 500µg/g, chloroxylénol à 500µg/g
Ozone	Agent sporicide	Gaz à 8%
Peroxyde d'hydrogène	Vapeur stérilisante, liquide sporicide, antiseptique	vapeur H ₂ O ₂ à 4µg/g, solution à 10%-25%, solution à 3%
Composants d'ammonium quaternaire (CAQ)	Désinfectant général, antiseptique	Concentration dépendante de l'application, chlorure de benzalkonium
Acide peracétique	Liquide stérilisant, vapeur stérilisante	Acide peracétique à 0,2%, acide peracétique à 1µg/g

Les désinfectants varient dans leur efficacité, une variation liée principalement à la résistance intrinsèque que possèdent certains micro-organismes aux mécanismes d'action de ces agents. Le tableau suivant donne une idée relative sur la résistance d'un nombre de microorganismes cliniquement pertinents :

Tableau 11: Hiérarchie de la résistance microbienne aux désinfectants.

	Type de microorganisme	Exemple
<p>Plus résistant</p>  <p>Moins résistant</p>	Spores bactériennes	<i>Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Clostridium spp</i>
	Spores des moisissures	<i>Aspergillus, Penicillium</i>
	Bactéries Gram négatif	<i>Pseudomonas, Providencia, Escherichia</i>
	Champignons végétatifs	<i>Aspergillus, Trichophyton, Candida</i>
	Bactéries Gram positif	<i>Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus</i>

4.1.6.3 Etude de l'efficacité du désinfectant :

L'importance de la sélection des désinfectants appropriés ne peut être surestimée, elle nécessite donc une évaluation minutieuse de tous les candidats. Le processus de sélection nécessite de nombreuses considérations telles que les suivantes:

- L'identification du nombre et du type de micro-organismes à contrôler.
- La détermination de la spécificité de l'action des désinfectants.
- l'évaluation des problèmes de compatibilité surfaces/désinfectants.
- La détermination des précautions et dispositions à prendre pour la sécurité du personnel impliqué dans la manipulation des désinfectants.
- Comprendre quels facteurs physiques et environnementaux influencent la stabilité et l'efficacité du désinfectant.
- l'évaluation de la compatibilité des désinfectants entre eux et avec les agents de nettoyage.
- La considération du coût.

Selon le type de programme de nettoyage et de désinfection qu'une installation développe, les fréquences et les procédures de nettoyage doivent être consciemment évaluées dans le cadre du programme de surveillance environnementale. Ce type d'évaluation in situ fournira des informations pour savoir si l'intégrité des environnements contrôlés est maintenue ou si des modifications des fréquences de nettoyage et / ou des désinfectants sont nécessaires.

4.1.6.3.1 Le choix du défi microbiologique : ⁽⁴⁸⁾

Le monitoring environnemental fournit des données précieuses, qui permettent avec leurs tendances, de viser les efforts de l'étude de l'efficacité du désinfectant, vers la réalisation de défis microbiologiques plus pertinent à l'installation de fabrication. Les isolats les plus fréquemment récupérés, sont considérés comme « worst case », et peuvent idéalement servir pour ce défi. Les isolats identifiés dans les zones critiques, peuvent également être considérés « worst case ».

Une panoplie de microbes, incluant les isolats (pas plus de 5 passages depuis la culture originale) de l'installation et ceux obtenues par un fournisseur (ATCC) représentant chaque catégorie de micro-organismes (Gram positif, Gram négatif, moisissure...) doit être choisie en fonction de l'utilisation prévue du ou des désinfectants testés (sporicide ou désinfectant général).

4.1.6.3.2 Sélection de la surface d'épreuve : ⁽⁴⁸⁾

L'étude de l'efficacité du désinfectant doit inclure l'utilisation des types de surfaces (inox, verre, vinyle, époxy, fibres de verre, acrylique, Tyvek, terrazzo, Lexan) qui correspondent à ceux dans l'installation de fabrication, dont leur désinfection adéquate, tient un impact sur les efforts de maîtrise de la contamination, et donc d'assurance de la qualité du produit. On doit identifier pour chaque groupe de matériaux de surfaces (Métaux, plastiques, caoutchouc...) ceux potentiellement « worst case » et leur assigner un score de risque, prenant en compte leurs caractéristiques, prévalence dans les environnements d'opérations critiques, et le degré d'interaction du personnel qu'elles subissent. Celles avec le score du risque le plus élevé pour chaque groupe, seront employées dans le test du défi microbiologique. Ce qui suit est une description des différents facteurs qui déterminent ce risque :

- **Caractéristiques de la surface** : la texture et la résistance de la surface aux dommages sont à considérer. Une surface rugueuse et facilement susceptible aux dommages d'usage et l'absorption d'eau, aura un score relativement élevé.

- **Prévalence** : il s'agit de la proportion de l'installation de fabrication recouverte par cette surface, et plus pertinemment les ZAC qu'abritent les opérations critiques.

- **Le degré d'interaction avec le personnel** : la fréquence de contact que le personnel a avec la surface durant le procédé, incluant la criticité de ce contact.

Des échantillons de 5cm x 5cm, des surfaces sélectionnées à la base de leur score de risque, sont inoculés (0.05 ml) avec les suspensions de chaque type des microorganismes du défi, préalablement préparées. Une fois les surfaces séchées, le désinfectant est appliqué pendant un temps de contact prédéterminé, qu'après lequel les microorganismes survivants sont récupérés dans un milieu de culture neutralisant l'activité désinfectante, soit par contact de plaque ou écouvillonnage de la surface en question, pour être incubés. Des échantillons témoins (non exposé à un désinfectant) doivent également être préparés et comparés à ceux de l'essai, pour démontrer au moins 2 réductions logarithmiques pour les spores bactériennes, et 3 pour les bactéries végétatives.

4.2 Isotechnie :

4.2.1 Introduction : ⁽¹²⁾ ⁽⁴⁹⁾

Si on considère le fait que l'homme est la source la plus importante de contamination microbiologique dans une ZAC, et les ressources énormes nécessaires pour maintenir une salle entière en classification A/B, indispensable pour un process aseptique en particulier, une technologie qui permettrait de diminuer drastiquement le volume de l'espace qui doit être maintenu dans ces conditions de haut contrôle environnementale, et en même temps éliminer l'homme de cet espace, serait incontournable d'un point de vue de gestion des risques. L'isotechnie est cette technologie. Elle est définie comme étant un moyen physique de séparation du produit/procédé de l'environnement/personnel, et ceci pour l'une des deux raisons suivantes : soit pour éliminer le risque de contamination du produit/procédé par le personnel et l'environnement, soit pour protéger le personnel et l'environnement, d'un produit considéré comme dangereux. L'isotechnie est en réalité un terme incluant plusieurs technologies barrières, deux types sont plus pertinents dans le cadre de la fabrication aseptique des injectables, notamment : RABS (Restricted access barrier system), et les isolateurs.

L'origine de l'isotechnie dans l'industrie pharmaceutique, date des années 1980s, où une implémentation rudimentaire de celle-ci (rideaux, barrières entre le process critique et le personnel, premiers isolateurs...), qui comptait toujours sur des interventions opérationnelles dans le process aseptique, a vu le jour après une prise de conscience de plus en plus importante du risque réel que présente le personnel. Même si l'isolateur comme technologie, était utilisé depuis les années 1940s dans l'industrie nucléaire. Des efforts depuis, ont été investis dans le développement et l'adaptation de ces technologies pour les besoins de l'industrie pharmaceutique, justifiés par plusieurs facteurs :

- Le niveau élevé de préoccupation des fabricants et des organismes de réglementation concernant le niveau d'assurance de la stérilité dans la fabrication aseptique.
- Un niveau relativement élevé de rappels de produits en raison de préoccupations - avérées ou soupçonnées - concernant le potentiel de contamination.
- La montée brusque du nombre des produits thermolabiles potentiels issus de la biotechnologie, et l'impossibilité de stérilisation terminale.
- De nombreux nouveaux composés médicamenteux sont cytotoxiques ou hautement puissants, les considérations de sécurité exigent la séparation de ces médicaments des opérateurs.
- Parce que tant de médicaments biologiques sont si chers, il y a une tendance à la production de lots plus petits, ce qui rend inutile, et économiquement insensé, la construction de grandes ZAC classe A. L'isotechnie est donc le choix raisonnable.

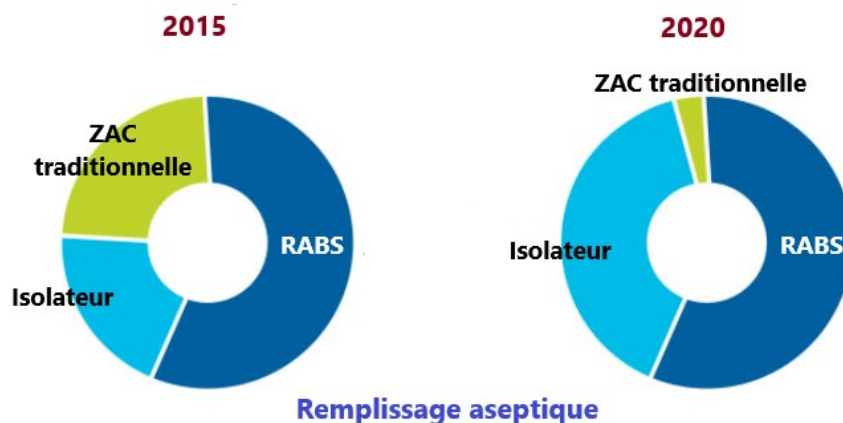


Figure 27: Diagrammes de progression de l'adoption de l'isotechnie par industrie pharmaceutique.

4.2.2 RABS :

4.2.2.1 Définition : ⁽⁵⁰⁾

Traditionnellement, la protection du produit contre la contamination par l'opérateur est obtenue en plaçant l'équipement de remplissage sous des unités de flux d'air laminaire filtré HEPA. Cependant, les interventions manuelles, Le personnel opérant directement sur le produit exposé, les schémas de flux d'air incontrôlés et perturbés, conduisaient fréquemment aux échecs des tests de stérilité et des Media Fill. Les RABS (Restricted access barrier system) ont été alors développés pour améliorer la maîtrise de contamination des processus aseptiques dans les ZAC conventionnelles, en limitant l'accès de l'homme, et parfois en l'interdisant, aux points critiques du process.

Le concept d'isolateurs pour le remplissage aseptique était presque immédiatement compréhensible, comme il s'agissait d'une séparation absolue, tandis que les principes de conception et les modes de fonctionnement du RABS étaient plus ambigus. Cette ambiguïté se dissipe avec la définition du système, dans la dernière révision de l'annexe 1 des GMP européennes, qui décrit un RABS comme « Un système fournissant un environnement contrôlé (grade A pour un process aseptique) délimité par une paroi rigide avec des portes, et employant un flux d'air débordant, afin de séparer son intérieur de son environnement immédiat. Les surfaces internes du RABS sont désinfectées et décontaminées en utilisant un agent sporicide. Les opérateurs utilisent des gants/manchettes, demi-scaphandres, RTP (Rapid Transfer System), et d'autres ports pour réaliser des manipulations, ou introduire des matières/matériel à l'intérieur du RABS. Dépendant sur sa conception, les portes sont rarement ou jamais ouvertes. ». Le RABS peut fonctionner à «portes fermées» pour un traitement avec un très faible risque de contamination similaire aux isolateurs, ou permettre de rares «interventions à porte ouverte» à condition que des mesures appropriées soient prises. Cependant, la classification de l'environnement immédiat doit être au minimum de grade C.

4.2.2.2 RABS actif ou passif : ⁽⁵¹⁾

Les termes RABS «passif» et «actif» font référence à la manière dont l'alimentation en air au système est conçue. En règle générale, un RABS passif est alimenté en air via des filtres HEPA qui font partie de la salle blanche où il se trouve. La distance entre la partie supérieure de

sa paroi et le plafond de la salle ne doit donc pas dépasser 15cm, pour assurer que la RABS reçoit de l'air propre nouveau, mais cette distance ne doit pas non plus être aussi courte que la paroi elle-même perturbe le flux d'air.

Tandis qu'un RABS actif est alimenté en air via son propre système ventilation/filtration HEPA qui lui est intégré. Ces deux types sont caractérisés par des fentes se trouvant sous le plan du process critique, qui laissent ce flux d'air s'échapper à l'extérieur de l'enceinte, où il se répand et circule avec l'air de la salle blanche. Ils sont dits « ouverts ».

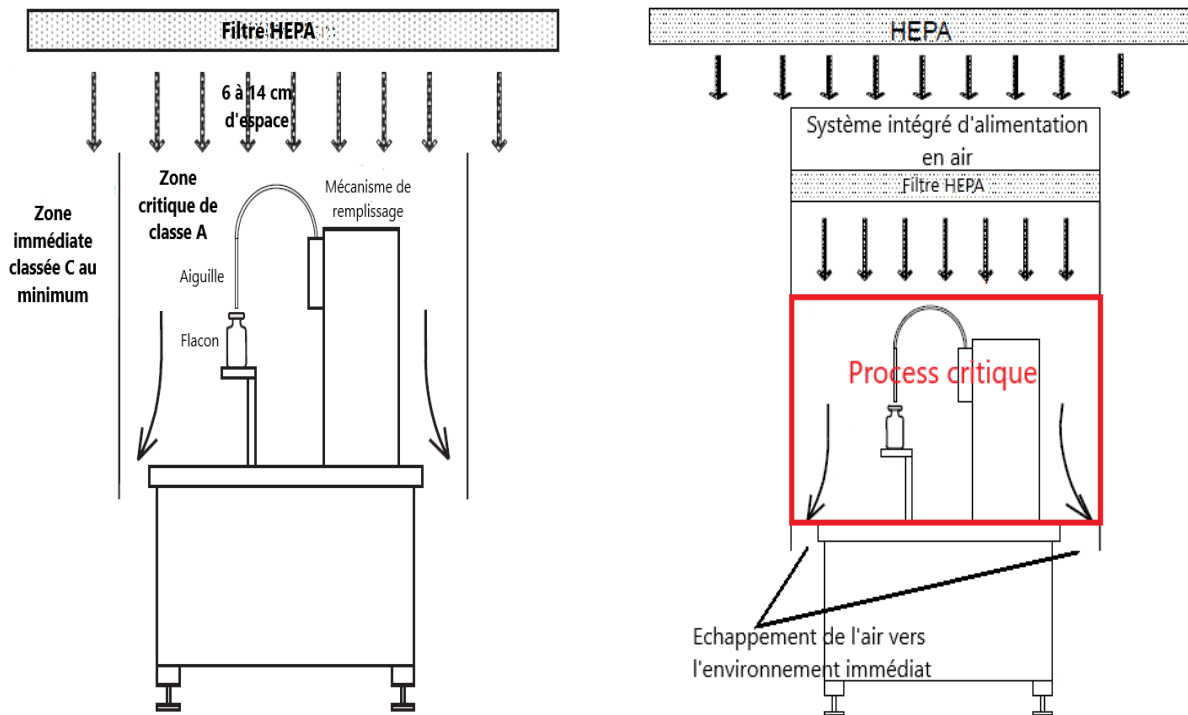


Figure 28: Schémas d'un RABS passif (à gauche), et d'un RABS actif (à droite).

4.2.2.3 RABS fermé : (51)

Un RABS «fermé», comme son nom l'indique est une enceinte hermétiquement scellée, possédant son propre système d'alimentation en air et sa recirculation, évitant ainsi les débordements d'air dans son environnement immédiat. Il est ainsi possible de l'utiliser pour des fins de confinement avec l'ajout de systèmes NEP (nettoyage en place). Un RABS fermé est proche du niveau d'un isolateur en termes de sa performance aseptique.

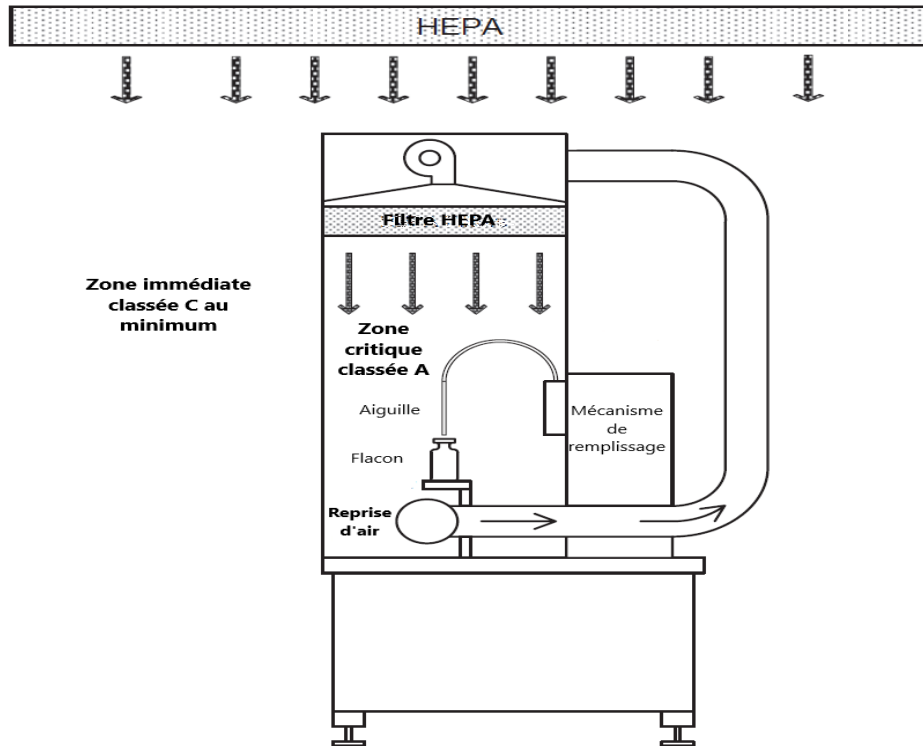


Figure 29: Schéma d'un RABS fermé.

4.2.3 L'isolateur :

4.2.3.1 Définition : ⁽⁵⁰⁾

L'isolateur est considéré comme la solution ultime pour la maîtrise de la contamination qu'on pourrait intégrer à un process aseptique, car il assure une séparation absolue de l'environnement du process critique, de celui où se trouve le personnel. Il est défini dans la révision récente de l'annexe 1 des GMP européennes comme « Une unité décontaminée, avec un environnement de travail interne de grade A, qui est isolé continuellement et sans compromis de l'environnement externe (ex. air et personnel de la ZAC environnante) ». Un isolateur n'échange pas directement l'air avec l'environnement externe, et tout l'air qui y entre doit passer par un système intégré de filtration HEPA ou ULPA, c'est une structure étanche, maintenue en surpression par rapport à son environnement immédiat. De plus, tout transfert de matière ou matériel vers l'isolateur, ou opération du personnel dans son enceinte, doit être effectuée tout en maintenant cette séparation environnementale absolue. Ce fait permet l'exploitation d'un isolateur même dans une ZAC de classe D.









		ZAC conventionnelle	Isolateur
Personnel		Le personnel est-il exigé de porter un habillage aseptique ? <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Décontamination		La décontamination est-elle manuelle ou automatisée ?	Manuelle / Automatique
Transfert du matériel			Manuel / Système de transfert aseptique
Environnement immédiat		Classification de l'environnement où le personnel est présent	Grade B / Grade C ou D
Différentiel de pression		Existe t-il un différentiel de pression entre la zone critique et l'environnement immédiat ?	<input type="checkbox"/> / <input checked="" type="checkbox"/>
Intervention à portes ouvertes		L'intervention aseptique à portes ouvertes post-décontamination est elle requise ?	<input checked="" type="checkbox"/> / <input type="checkbox"/>
Test d'étanchéité		L'étanchéité, peut-elle être testée pour confirmer l'intégrité du système ?	<input type="checkbox"/> / <input checked="" type="checkbox"/>
Stérilisation des gants		Comment sont les gants du système stérilisés ?	N/A / Intégrée au système

Figure 30: Comparaison d'une ZAC conventionnelle à l'isolateur, pour un process aseptique.

Les isolateurs peuvent employer un flux d'air unidirectionnel pour le balayage des particules dans la zone critique, ou même un flux d'air turbulent pour le maintien des conditions de propreté initiales. Cela dépend du process où ils sont intégrés (remplissage aseptique, isolateur de transfert, test de stérilité...).

4.2.3.2 Isolateur « ouvert » ou « fermé » : ⁽⁵⁰⁾

Cette distinction, faite également dans l'annexe 1 des GMP européennes, indique la manière par laquelle les matières/matériel et composants nécessaires à l'opération que l'isolateur abrite, sont transférés vers celui-ci, ainsi que le transfert des produits de cette opération à partir du système.

L'isolateur est dit « ouvert » lorsqu'il permet l'entrée et/ou la sortie continue ou semi-continue des matières/matériel durant l'opération, et ceci à travers une ou plusieurs ouvertures (type « mouse hole », ou trous de souris), conçues (par surpression continue) pour exclure l'introduction des

contaminants externes vers l'isolateur. Une cascade de pression entre les différents isolateurs d'une ligne de fabrication continue peut également être établie pour cette fin.



Figure 31: Des tubs emballés de seringues préstérilisées introduits par convoyeur vers une ligne de production aseptique avec isolateurs ouverts.

Par contre, un isolateur « fermé » achève ce transfert via une connexion aseptique à un équipement auxiliaire (RTP, DPTE...), restant donc scellé tout au long des opérations. Par ce point, La conception d'un isolateur est étroitement liée au processus auquel il est destiné et c'est l'une des principales différences entre les isolateurs et les ZAC conventionnelles.

4.2.3.3 Isolateur pour confinement : ⁽⁵¹⁾

Le but primordial d'un isolateur de confinement, est la protection du personnel et de l'environnement externe, des effets néfastes du produit, sujet du process. Cela nécessite sa mise en dépression par rapport à son environnement immédiat pour éviter toute fuite potentielle (même légère) des particules, vapeur ou molécules volatiles du produit toxique. L'isolateur de confinement doit inclure nécessairement un système de nettoyage en place « NEP » (CIP) pour éliminer tout résidu du produit après le traitement de ce dernier.

Dans le cas d'un produit toxique qui nécessite un process aseptique, un choix doit être fait entre une enceinte en surpression dans un environnement de classe D, ou une enceinte en dépression dans un environnement de classe B au moins. Cette décision doit être prise suivant une méthodologie de gestion des risques, qui considère plusieurs facteurs, comme la toxicité réelle du

produit, sa quantité, s'il est exposé pendant l'opération et la durée de celle-ci, la classe de propreté de l'environnement immédiat, et la fréquence d'opérations de transferts durant le process.

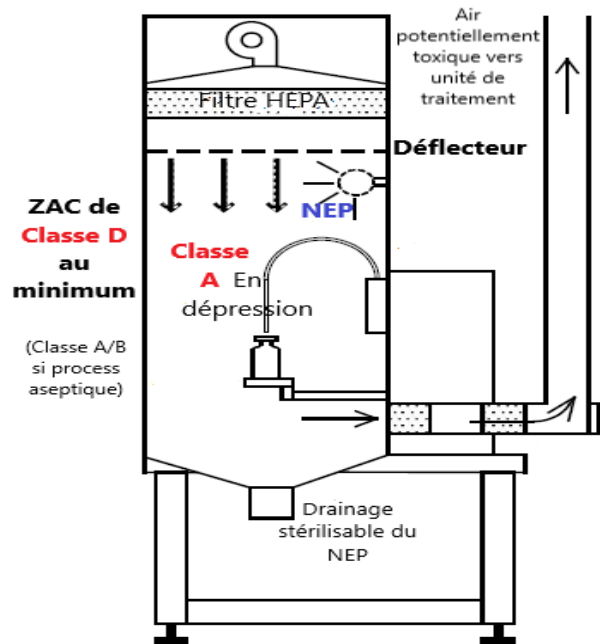


Figure 32: Schéma d'un isolateur de confinement.

4.2.3.4 Matériaux de construction : ⁽⁵²⁾

Les isolateurs sont soit conçus à paroi rigide, avec de l'acier inoxydable, du plastique et du verre. Soit ils emploient le PVC pour la paroi, octroyant à celle-ci un caractère souple. Ce choix de conception est fait selon l'application prévue de l'enceinte.

Un isolateur destiné à être mis en dépression, par exemple, doit nécessairement avoir une paroi rigide afin d'éviter sa déformation avec les forces de pression externes, Tandis qu'un isolateur prévue pour les tests de stérilité est assez souvent doté d'une paroi flexible en PVC pour offrir à l'opérateur un meilleur confort lors de la manipulation, et un éclairage supérieur qui prend avantage de la lumière de la salle qu'abrite le système isolateur. L'agent de décontamination est également un facteur dans ce choix, comme différents matériaux ont des résistances et compatibilités différentes pour ces agents.

Généralement, l'isolateur de remplissage aseptique possède une paroi en acier inoxydable permettant une continuité structurale avec la machine de remplissage.



Figure 33: Exemple d'un isolateur fermé à paroi souple.

4.2.3.5 Méthodes de manipulation : (53) (54) (55)

Les besoins de manipulation à l'intérieur des isolateurs varient avec les opérations qu'ils abritent, cette variation est traduite par l'existence de plusieurs systèmes d'interface opérateur/isolateur, que tous permettent la présence physique de l'opérateur dans cet espace, tout en étant « biologiquement » séparé de celui-ci. Il s'agit des ports gant-manchette, du demi-scaphandre, et du scaphandre. Chacun de ces systèmes d'interface offre un degré de liberté de mouvement différent pour l'opérateur, et donc une facilité et portée de manipulation différente. Le scaphandre étant bien évidemment la solution de manipulation offrant le plus de liberté, suivi du demi-scaphandre, et du gant-manchette.

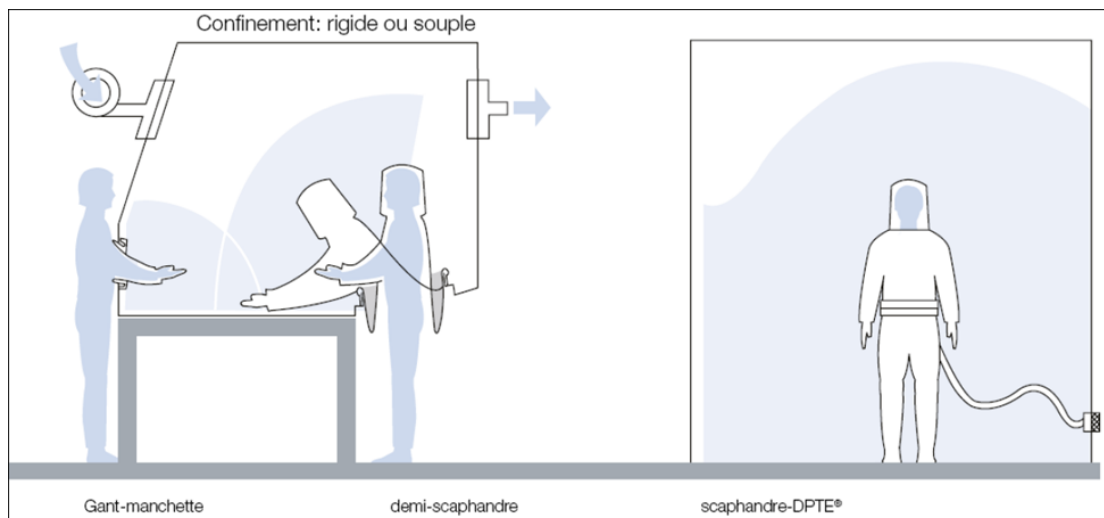


Figure 34: Schéma représentant la portée du mouvement possible avec les différentes méthodes de manipulation dans l'isolateur.

Pour les besoins d'un process de production aseptique, l'emploi des gants-manchettes est généralement suffisant dans les isolateurs de la ligne de remplissage aseptique, fermeture et capsulage des récipients. Tandis que les demi-scaphandres peuvent être utilisés lorsqu'il y a intégration de cette ligne d'isolateurs avec les machines de lyophilisation ou de stérilisation, permettent une manipulation plus confortable lors du chargement/déchargement des plateaux du produit dans celles-ci.



Figure 35: Un opérateur en train d'introduire des bouchons stériles dans une trémie grâce aux manchettes-gants.

Les demi-scaphandres peuvent également être utilisés pour les isolateurs du test de stérilité. Ils sont menés de leur propre système de ventilation/filtration qui fait circuler l'air filtré HEPA dans l'espace entre les 2 couches du système et vers l'opérateur, afin d'augmenter son confort lors du travail.

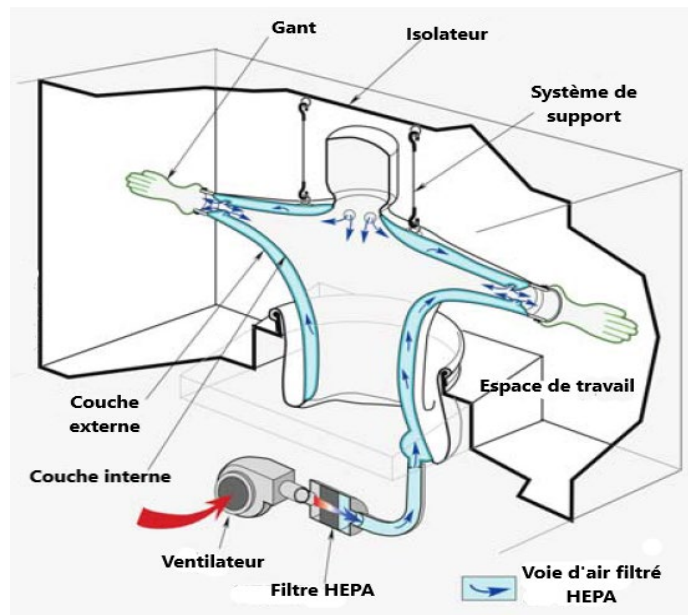


Figure 36: Schéma de la conception d'un demi-scaphandre.

Le système gant-manchette quant à lui, est assemblé au poignet grâce à un mécanisme employant des anneaux d'étanchéité nommés « O ring ». Ce mécanisme garantit le maintien de la séparation biologique, ainsi que le remplacement aisé des gants in situ, une fois nécessaire, sans briser l'intégrité du système isolateur. Il est essentiel que les gants soient correctement dimensionnés pour les mains de l'opérateur, suffisamment solides pour résister à l'usage fréquent, et compatibles avec l'agent décontaminant. En même temps, ils doivent également être suffisamment légers pour permettre une dextérité raisonnable à l'opérateur. Les matériaux synthétiques les plus utilisés pour les gants sont le néoprène et l'hypalon.

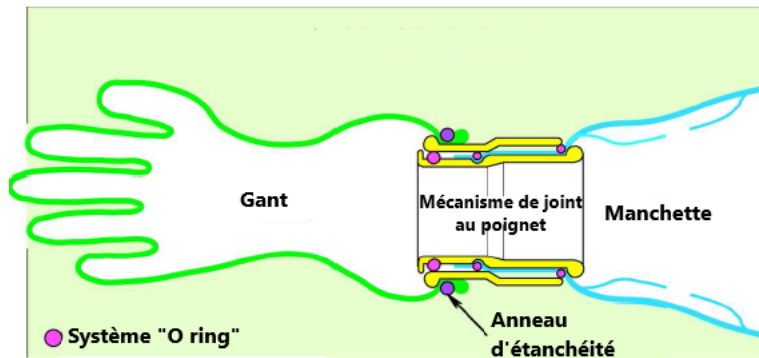


Figure 37: Schéma du système d'assemblage étanche manchette-gant.

Autrement, des systèmes isolateurs qui dépendent totalement des mécanismes de manipulation robotiques pendant les opérations critiques, sont de plus en plus populaires avec les procédés aseptiques figurant de petits lots de production. Ces systèmes n'intègrent donc, aucune interface de manipulation manuelle pour le personnel.

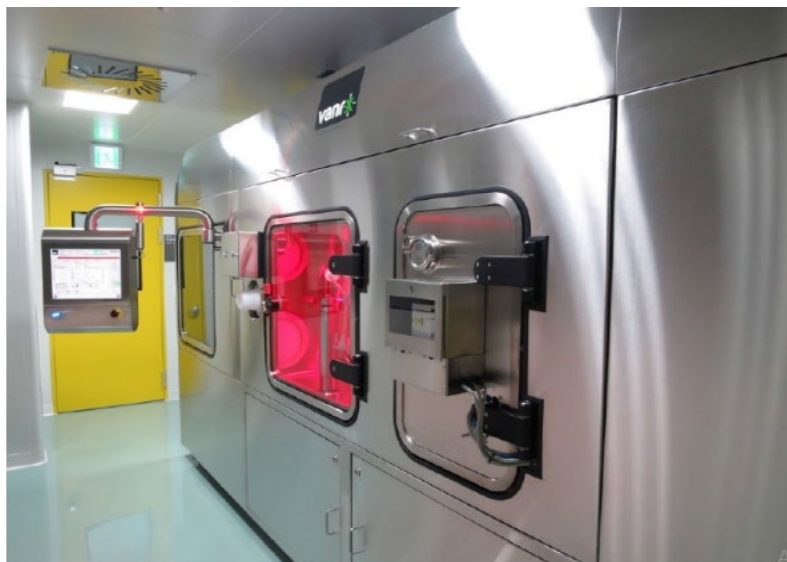


Figure 38: Un isolateur fermé à manipulation robotique.

4.2.3.6 Les systèmes de transfert aseptique : (53) (56) (57)

Le transfert du matériel et composants de fabrication et du produit, vers et hors d'un isolateur, représente la raison la plus probable de la perte de l'intégrité de la séparation environnementale de l'enceinte. Plus le système de transfert est sécurisé, moins l'environnement externe devient menaçant et, par conséquent, ça se traduit par une maîtrise de contamination plus efficace.

Selon le type d'isolateur ; ouvert ou fermé, et le mode de production ; continue ou discontinue, on a recours à des systèmes de transfert différents :

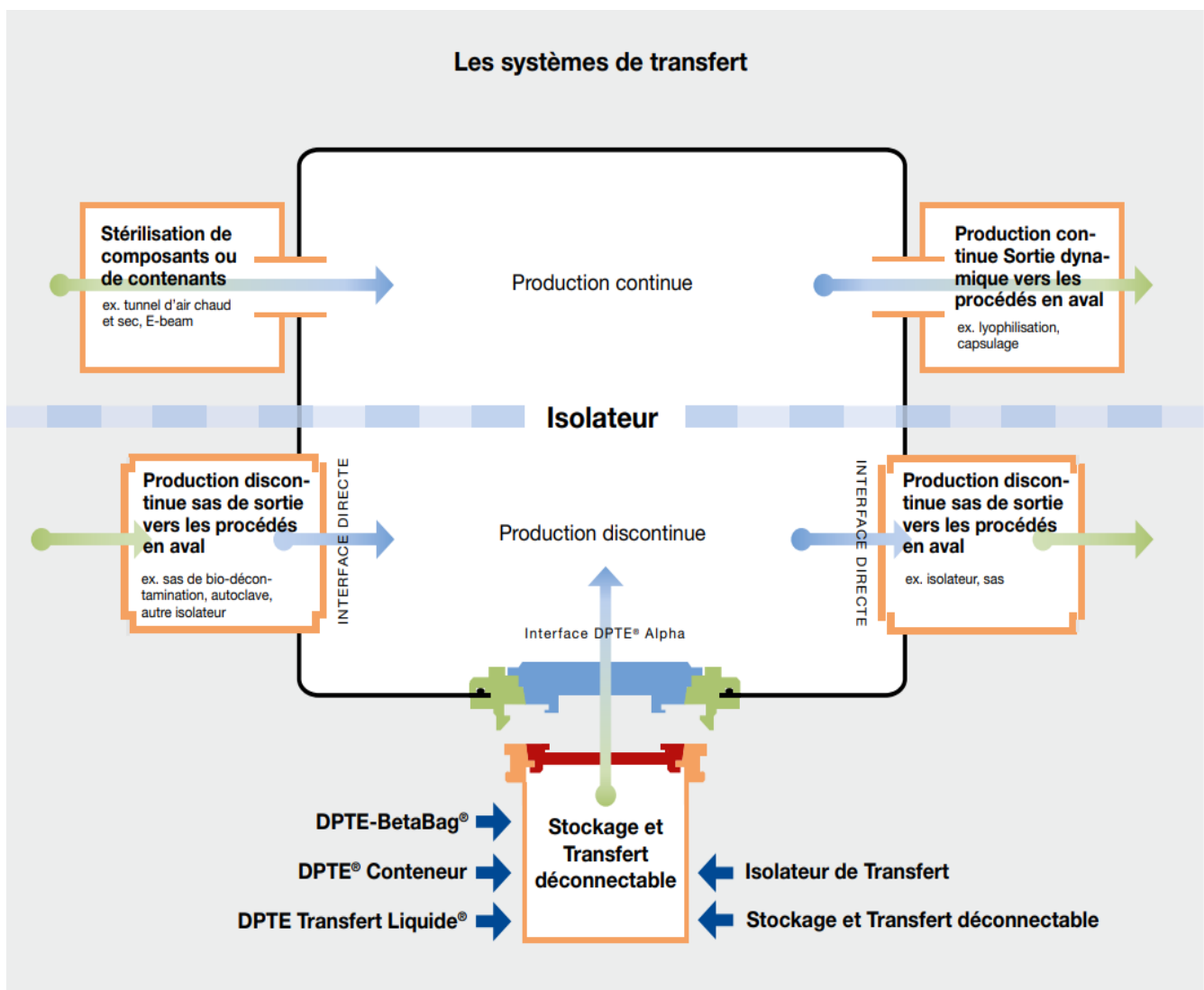


Figure 39: Schéma résumant les différents systèmes de transfert dans un isolateur.

- SAS de biodécontamination :

Un isolateur peut avoir, interfacée avec sa structure, un sas de biodécontamination. C'est un espace de taille qui varie selon les besoins de l'isolateur et les demandes du process pour lequel il a été conçu (matériel, outils de monitoring...), pouvant intégrer un port manchette-gant, et équipé avec son propre système ventilateur/filtre HEPA. Il est équipé d'une double porte avec un système de verrouillage qui ne laisse qu'une porte s'ouvrir à la fois, pour éviter le mouvement indésirable des contaminants, et assurer la séparation environnementale. Généralement, la biodécontamination est effectuée automatiquement par H₂O₂ en phase vapeur, dans un temps relativement court (15 min), ce qui rend ce système de transfert attractif, comme il confère une certaine flexibilité au flux du process.

- Tunnel de dépyrogénéation :

On peut opter vers une interface directe pour une production continue, avec un tunnel de dépyrogénéation, qui permet la stérilisation et dépyrogénéation grâce à la chaleur sèche, des récipients en verre avant leur transfert par convoyeur vers l'isolateur de remplissage aseptique. L'air sec à une température pouvant atteindre 350°C, permet non seulement de tuer les microorganismes, mais conduit en plus à la destruction des endotoxines présentes sur les récipients en verre.

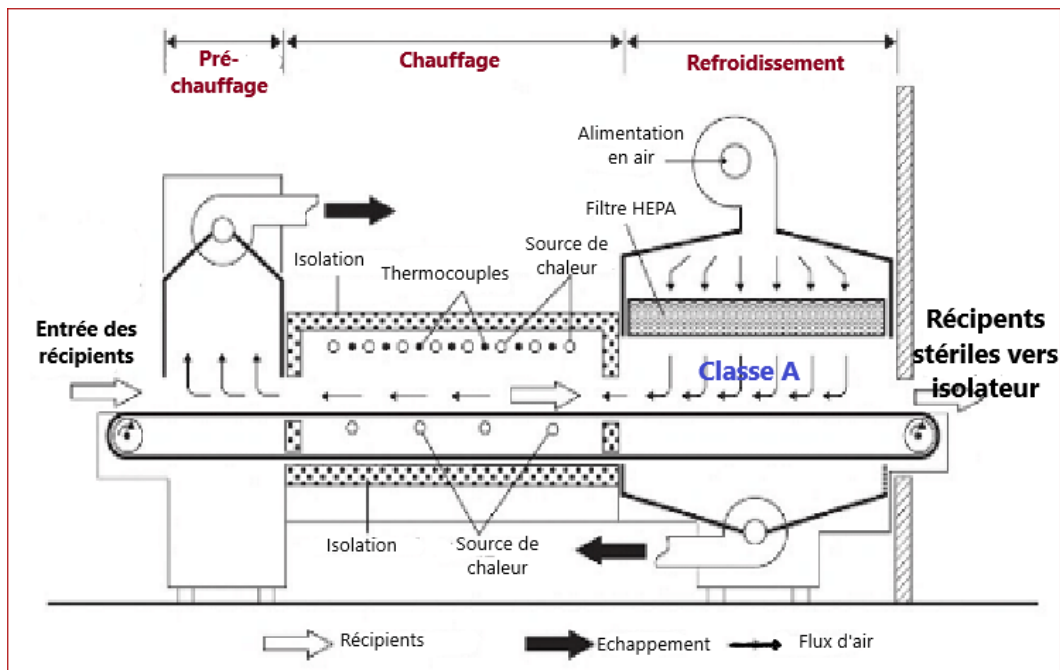


Figure 40: Schéma de fonctionnement d'un tunnel de dépyrogénéation.

- Système E-beam :

Un tunnel de décontamination par faisceau d'électrons, est employé pour le transfert aseptique des tubs de seringues préréstérilisées vers l'isolateur pour remplissage aseptique. L'emballage, ou la surface extérieur du tub, est ainsi bombardée par des rayons de particules d'électrons (rayons β) ou de positrons (rayons β^+) générés par 3 émetteurs à des angles différents du tub. Ces rayons ionisants, appliqués à une dose absorbée de 25 KGray, détruisent le matériel génétique des microorganismes, causant leur mort, et achevant ainsi la décontamination. C'est une méthode fiable, rapide et tolérable par les matériaux les plus couramment utilisés.

Le tunnel emploie un gradient de pression type « sink », aspirant ainsi les contaminants potentiels vers la chambre de la décontamination pour qu'ils soient éliminés avec le flux d'air de retour. En plus de ça un système de portes à ouverture/fermeture parallèle entre les différentes chambres du tunnel, permet le maintien de l'intégrité environnementale de l'isolateur au moment du transfert.

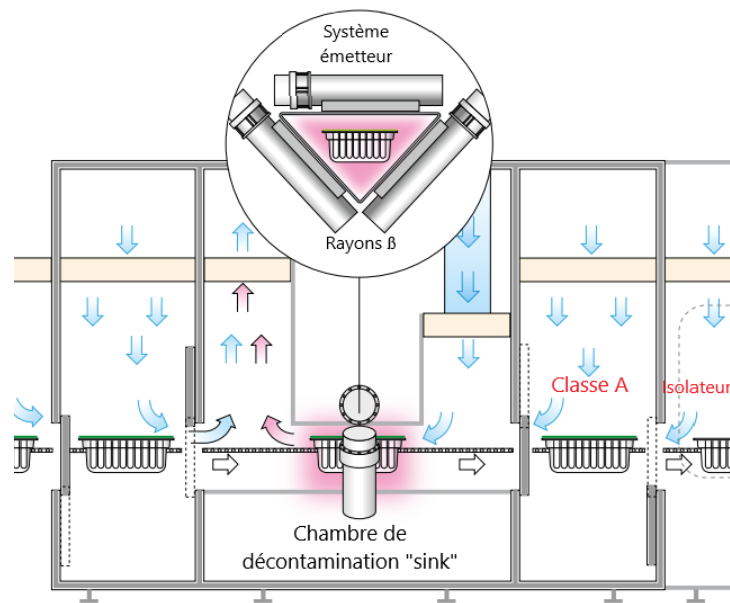


Figure 41: Schéma de fonctionnement du tunnel E-beam.

- RTP (Rapid Transfer Port) et DPTE® (Double porte de transfert étanche) :

Les RTP fournissent un moyen pour le transfert des composants et matériel vers et depuis un isolateur, sans briser son intégrité. Il existe un nombre de technologies RTP, mais le système DPTE® développé par La Calhène dans les années 1960 pour le transfert des substances

radioactives, est devenu le moyen de transfert aseptique, ou le RTP de référence pour les isolateurs de l'industrie pharmaceutique. La technologie DPTE est basée sur l'interaction mécanique de deux unités séparées – Alpha et Beta, faisant guise de portes et d'éléments de verrouillage étanche, avec Alpha montée sur la paroi de l'isolateur, et Beta se terminant en un conteneur, sac ou isolateur de transfert. Une fois ces deux unités connectées et tournées manuellement de 60°, La porte de la partie Beta devient attachée à celle de l'unité Alpha, et le conteneur, par ce même acte, se verrouille en place de manière étanche, permettant ainsi l'ouverture du complexe des portes Alpha-Beta, et le transfert des composants/matériel vers ou depuis l'isolateur.

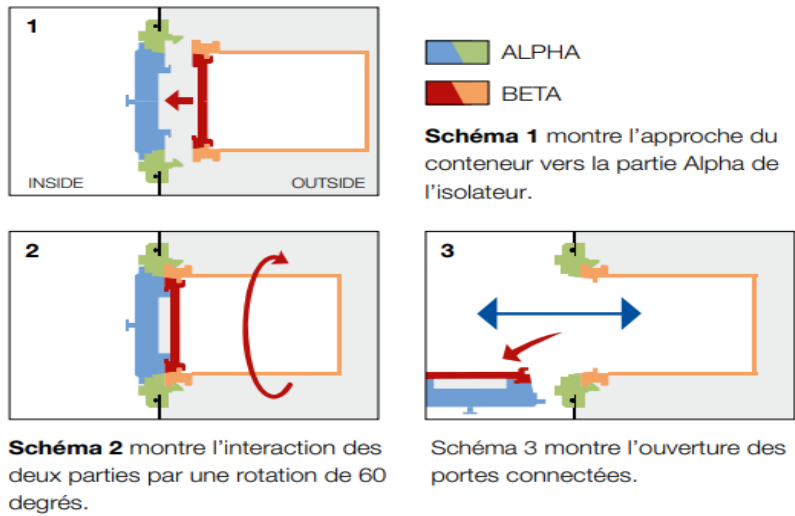


Figure 42: Schéma montrant le fonctionnement d'un système DPTE.

Les conteneurs DPTE sont disponibles en acier inoxydable, aluminium et plastique. Ceux en acier inoxydable et en aluminium peuvent être autoclavés. Les Unités Beta en plastique, associées à des sacs jetables stérilisés (beta-bags) sont souvent utilisées pour fournir des bouchons de conditionnement primaire à des isolateurs de remplissage aseptique.



Figure 43: Exemples des types de conteneurs de transfert DPTE.

La technologie DPTE peut également être employée pour le transfert aseptique des liquides vers la machine de remplissage aseptique dans l'enceinte de l'isolateur. Il existe des systèmes réutilisables autoclavables, ainsi que des systèmes pré-stérilisés à usage unique. Un conteneur Beta réutilisable pour le transfert aseptique de liquide doit être stérilisé en étant connecté à la cuve de stockage, par SEP.

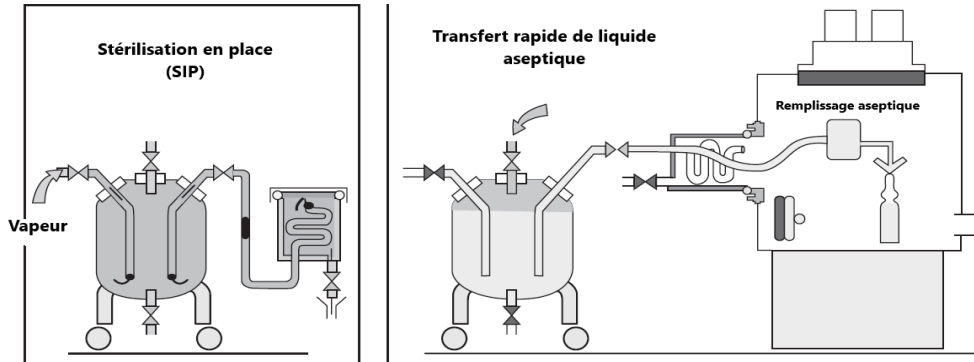


Figure 44: Schéma du SEP du système cuve/conteneur DPTE et du transfert aseptique du liquide.

4.2.3.7 Essais d'étanchéité :

Tout système isolateur utilisé pour la fabrication aseptique, ainsi qu'en confinement, présentera en réalité un certain taux de fuite d'air. Si dans ses limites d'acceptation, ne sera associé qu'avec un mouvement insignifiant entre les deux environnements séparés, de particules, de vapeur de l'agent décontaminant lors du cycle de biodécontamination, et des substances toxiques dans le cas du confinement. Les essais d'étanchéité de l'isolateur sont donc une exigence critique, pour s'assurer de l'absence de fuites importantes qui pourraient impacter la qualité du produit, ou menacer la sécurité du personnel. Ces essais sont divisés en deux catégories, ceux quantitatifs permettant de mesurer le taux de fuite, et ceux qualitatifs pour localiser le point de cette fuite. Dans le cadre d'un programme de contrôle d'intégrité d'un isolateur, le taux de fuite doit être mesuré en premier, et être alarmant, avant de dépenser des efforts et ressources sur un test qualitatif.

4.2.3.7.1 Les essais quantitatifs : ⁽⁵⁸⁾ ⁽⁵⁹⁾

Deux méthodes quantitatives couramment utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour contrôler l'étanchéité de l'enceinte de l'isolateur sont le test de chute de pression et le test de maintien de pression.

- **Test de chute de pression** : Ce test implique l'injection, par une source externe, d'air comprimé dans l'enceinte de l'isolateur, jusqu'à une pression déterminée, qu'une fois atteinte,

l'alimentation en air est coupée. Mis sous pression positive ou négative par rapport à son environnement immédiat, l'isolateur doit être maintenu dans des conditions statiques de température (comprenant idéalement la température de l'isolateur et la salle), afin de ne pas influencer la détermination de la diminution / augmentation de sa pression interne sur une période de temps, en dehors de son état d'étanchéité. Une détermination qui peut être employé pour calculer le taux de fuite horaire de l'isolateur par rapport à son volume « R_h », son équation de calcul dérivée de la loi des gaz parfaits est la suivante :

$$R_h = \frac{100}{t} \left[\frac{T_f P_i}{T_i P_f} - 1 \right]$$

Où : R_h (%/h) est le taux de fuite par heure de l'isolateur par rapport à son volume, t est le temps en heures entre la mesure des pressions, P_i et P_f sont respectivement, la pression initiale interne de l'isolateur, et celle finale, et T_i et T_f sont les température initiales et finales de l'isolateur, respectivement.

American Glovebox Society recommande un taux de fuite ne dépassant pas 0,5% du volume de l'isolateur par heure. Tandis que les normes ISO 14644-6 indiquent un taux de fuite acceptable qui varie selon la classification de l'isolateur, entre 0,05% pour un classe 1, jusqu'à 10% pour un classe 4. L'intégrité des manchettes-gants doit également être vérifiée, et de même pour les systèmes de transfert DPTE. Les appareils de test les plus populaires, et les plus faciles à utiliser emploient le principe du test de chute de pression. Ces appareils peuvent être utilisés en situ et de façon routinière, comme le test ne prend pas plus de 15min, augmentant ainsi l'assurance de la stérilité du process de production aseptique.



Figure 45: Système de test de l'intégrité des gants et du système DPTE par chute de pression.

- Test de maintien de la pression :

Ce test est effectué en alimentant l'enceinte de l'isolateur en air jusqu'à une pression déterminée, et en agissant pour la maintenir, soit manuellement ou automatiquement, pendant une durée de temps. L'appareil d'injection d'air mené d'un débitmètre, nous indiquera le débit d'air dépensé pour réguler la pression pendant le temps du test, et ce débit égalera, (en dehors d'un changement de température interne de l'isolateur), le taux de fuite de l'enceinte.

4.2.3.7.2 Les essais qualitatifs : ⁽⁵⁸⁾

Une fois un taux de fuite alarmant détecté, un test doit être entrepris pour déterminer le point/s où l'intégrité de l'enceinte de l'isolateur est compromise. Il existe plusieurs essais qualitatifs pour le faire :

- Test à l'ammoniaque :

L'isolateur saturé par des vapeurs d'ammoniaque et mis en surpression, est couvert, sur ces joints et points les plus susceptibles à une brise d'intégrité, par un tissu révélateur (au bleu de bromophénol). Ce tissu qui tournera du jaune au bleu en présence de NH_3 , indiquera les localisations des fuites une fois les vapeurs d'ammoniaque seront forcées à travers de celles-ci.

- Test à l'Hélium :

C'est un test de référence, qui présente une sensibilité élevée pour les moindres fuites. En principe, l'isolateur est rempli de gaz d'hélium et mis en surpression, et un spectromètre de masse est employé pour balayer manuellement les zones susceptibles, afin de détecter l'échappement d'hélium qui indiquerait la présence d'une fuite.

- Particules Traceurs DOP :

Un générateur d'aérosol à particules traceur de DOP est utilisé, à l'intérieur de l'isolateur pour une pression de confinement, et des spectrophotomètres ou des compteurs de particules sont ensuite employés pour balayer les points d'intérêts de l'enceinte de l'isolateur. En cas de surpression de l'enceinte, les détecteurs seront à l'intérieur de l'isolateur, et le balayage est fait avec l'application de l'aérosol sur les points susceptibles de brise d'intégrité.

4.2.3.8 La biodécontamination de l'enceinte d'isolateur :

L'une des caractéristiques des isolateurs qui fait d'eux une isotechnie supérieure au RABS, est leur capacité d'être décontaminé sans intervention de personnel, avec un cycle de biodécontamination automatique avant le commencement des opérations de production aseptique.

Cependant, un nettoyage manuel des surfaces internes est toujours nécessaire de façon régulière, pour réduire la biocharge microbienne, et prévenir l'accumulation des salissures et la formation de biofilm.

4.2.3.8.1 Les agents de biodécontamination : ⁽⁵³⁾

Il existe plusieurs types d'agents stérilisants qui sont utilisés pour la biodécontamination d'isolateurs, on parle notamment, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), d'acide peracétique (APA), du dioxyde de nitrogène (NO₂), et d'oxyde d'éthylène. Ces agents sont efficaces contre toutes les formes possibles de microbes, y compris les formes hautement résistantes comme les mycobactéries et les spores bactériennes. Une réduction minimale de 6-log de la biocharge présente, peut être obtenue lors du traitement d'un isolateur avec l'un de ces agents, si appliqué dans un cycle de biodécontamination adéquat.

Néanmoins, Le H₂O₂ vaporisé reste la solution de biodécontamination la plus populaire. Redevant principalement à son efficacité reconnue par sa longue histoire d'application dans la biodécontamination d'isolateurs, sa compatibilité avec une grande variété de matériaux (présente un effet corrosif quasi inexistant), et la possibilité d'être mesuré en continu par sonde électrochimique. En outre, Parce qu'il se décompose en vapeur d'eau et en oxygène, il ne laisse aucun résidu sur les surfaces traitées. Un isolateur peut avoir un système de biodécontamination intégré, ou connecté à un pour la durée du cycle.

4.2.3.8.2 Cycle de biodécontamination par H₂O₂ vaporisé : ⁽⁶⁰⁾

Un générateur de vapeur H₂O₂ est utilisé pour circuler l'air ou le mélange air/vapeur H₂O₂ à l'aide du système de ventilation de l'enceinte à décontaminer, avant de le retourner pour être traité et re-circulé. Cela présente l'avantage que la vapeur est contenue dans une boucle fermée, et le peroxyde d'hydrogène peut être décomposé à l'intérieur de celle-ci, évitant ainsi la libération de toute vapeur toxique dans l'environnement. Le mélange air ou air / vapeur de l'enceinte de l'isolateur passe d'abord à travers un catalyseur à l'intérieur du générateur de vapeur. Le catalyseur

décompose tout peroxyde d'hydrogène présent en eau et en oxygène. La vapeur passe ensuite à travers un dessiccateur avant que de nouvelles quantités de solution de peroxyde d'hydrogène ne soient rapidement vaporisées dans le courant de gaz. Après avoir quitté le générateur de vapeur, l'air ou le mélange air / vapeur est acheminé vers l'enceinte à biodécontaminer. Un ventilateur à l'intérieur du générateur fait circuler l'air ou le mélange air / vapeur dans cette boucle fermée.

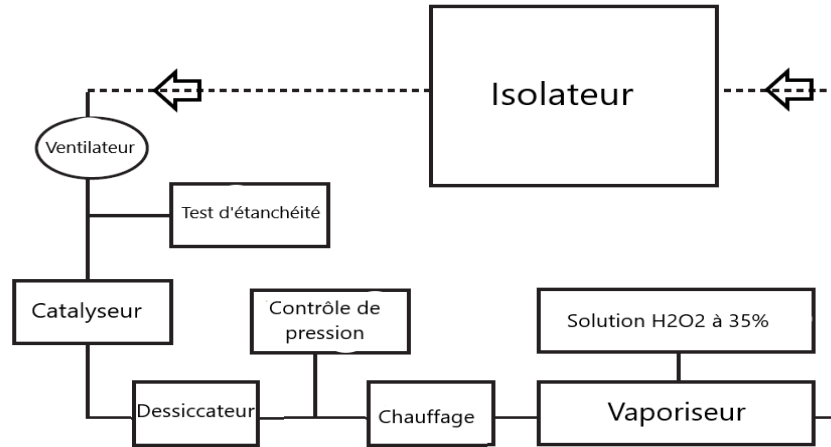


Figure 46: Schéma des composants d'un générateur de vapeur H₂O₂ à boucle fermée.

Le cycle de décontamination est en trois étapes, la première est la déshumidification, pendant la deuxième le peroxyde d'hydrogène est vaporisé, et l'étape finale est l'aération; l'étape de vaporisation est souvent en deux parties, la première avec une vitesse de vaporisation élevée pour augmenter rapidement la concentration de vapeur, appelée généralement « l'injection », et la deuxième avec une vitesse de vaporisation plus faible pour maintenir la concentration requise.

- **Phase de conditionnement/ déshumidification** : Pendant la première phase, l'air circule dans la boucle fermée avec le dessiccateur réduisant sa teneur en humidité. Aucun peroxyde d'hydrogène n'est vaporisé pendant cette phase du cycle. L'objectif de cette phase est de diminuer le taux d'humidité du volume de l'enceinte afin d'assurer une maîtrise et une reproductibilité des conditions environnementales initiales.

- **Phase d'injection** : Une fois que le niveau d'humidité requis a été atteint, le système de vaporisation rapide est mis en marche et la solution de peroxyde d'hydrogène est vaporisée dans le flux d'air en circulation. Cette étape d'injection est courte afin d'éviter une sursaturation du volume.

- **Phase de stabilisation/décontamination** : Troisième étape du cycle de biodécontamination, la stabilisation est une étape de maintien de la concentration dans le volume.

Une fois que la concentration souhaitée a été atteinte, la vitesse de vaporisation est réduite pour maintenir la concentration de H₂O₂ pendant une période de temps suffisante pour tuer les micro-organismes cibles.

- **Phase d'aération** : Pendant cette phase, le système de vaporisation rapide est arrêté et le mélange air / vapeur est mis en circulation, passant à travers le catalyseur et le dessiccateur, ce qui élimine le peroxyde d'hydrogène et l'eau. Cette dernière étape consiste à réduire la concentration de H₂O₂ présente dans l'isolateur jusqu'à des niveaux de 5 ppm ou 1 ppm et moins si nécessaire, par dilutions successives.

L'aération est souvent la phase la plus longue d'un cycle de décontamination. Elle peut être considérée comme étant en trois étapes, la première consiste à évaporer toute condensation qui s'est formée lors de la phase de vaporisation du cycle de décontamination; la seconde consiste à éliminer les vapeurs de l'enceinte par dilutions successives. La troisième et dernière étape consiste à continuer la circulation d'air propre permettant à tout peroxyde d'hydrogène qui a été absorbé dans les surfaces de l'enceinte de se désorber et d'être éliminé. C'est l'élimination du peroxyde d'hydrogène absorbé qui fait souvent de la phase d'aération la partie la plus longue d'un cycle de biodécontamination.

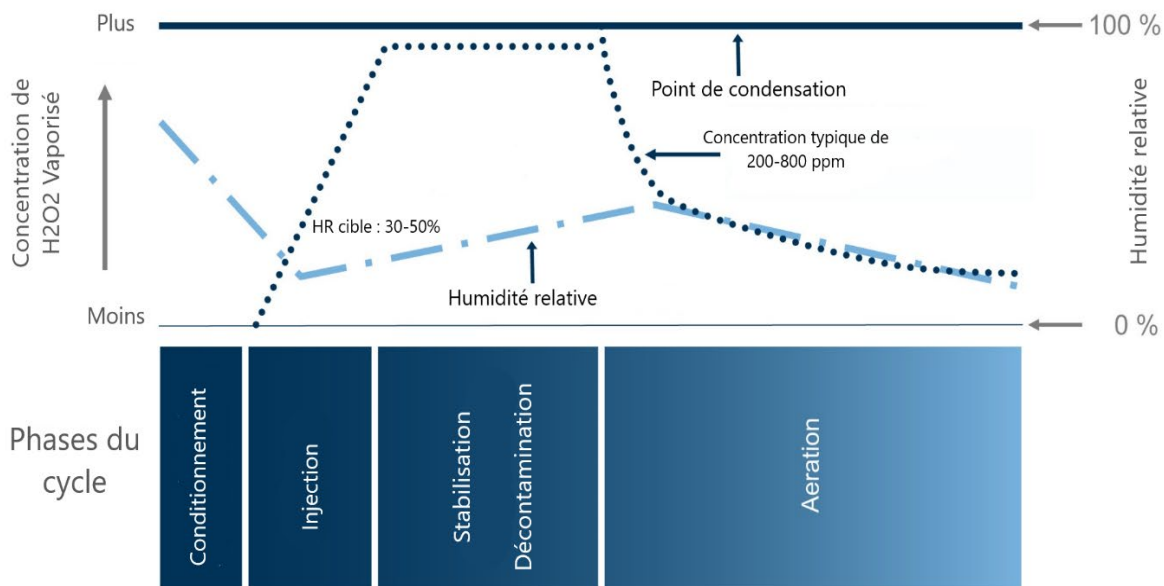


Figure 47: Courbe de concentration H₂O₂ vaporisé dans l'isolateur selon la phase du cycle de biodécontamination.

Une autre technologie plus récente, élimine le besoin de vaporiser le H₂O₂, et dépend plutôt sur la micro-nébulisation de ce dernier dans l'enceinte de l'isolateur, donnant ainsi un cycle de plus courte durée.

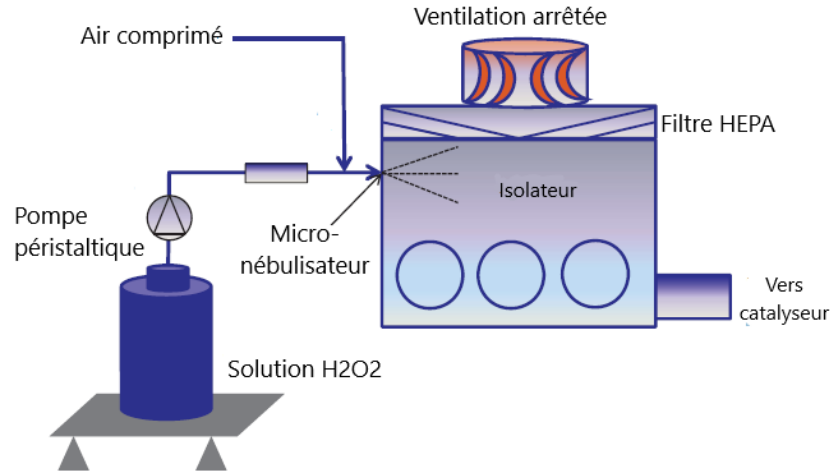


Figure 48: Schéma de fonctionnement de la biodécontamination par micro-nébulisation de H₂O₂.

4.3 Le programme du Monitoring environnemental :

4.3.1 Introduction :

Un programme de monitoring environnemental est crucial pour la stratégie de maîtrise de la contamination, comme il permet la vérification de l'efficacité des mesures prises dans le cadre de cette stratégie, et particulièrement ceux qui visent à garder un niveau de propreté environnemental suffisamment élevé pour assurer la qualité du produit. Cela inclut les installations et les systèmes de traitement et circulation d'air, systèmes barrières, filtres HEPA, habillement approprié, l'adhésion rigide aux disciplines aseptiques, et l'efficacité du programme de nettoyage et désinfection. Et ceci à l'aide de méthodes, appareils et techniques, qui mesurent l'étendue de la contamination viable et non viable, et surveillent d'autres paramètres (pression absolue, pression différentielle, température, hygrométrie) dans ces environnements, de façon routinière. Le programme définit également les seuils d'alerte et d'action, et les procédures en cas de leur dépassement. Une surveillance soigneusement ciblée doit être menée et les données examinées, et interprétées pour en tirer les tendances.

Selon les principes de la QbD, ce programme doit être élaboré suivant une approche de gestion des risques, pour décider notamment des points critiques dans l'environnement, où l'on doit prioriser le monitoring, et sa fréquence.

4.3.2 Monitoring continue des particules non viables : ⁽⁶¹⁾ ⁽⁶²⁾

Dans un programme de monitoring environnemental, Le comptage en continue de particules non viables s'avère une nécessité, spécialement avec les process aseptique, car ça permet de s'assurer en temps réel, à l'aide d'un système d'alarme, que les conditions environnementales sont appropriées pour le process en question.

Ce feedback en temps réel, et en cas de dépassement des limites, conduit à l'arrêt des opérations, afin de protéger le produit d'une exposition éventuelle aux contaminants, jusqu'à ce que l'on détermine la cause, et les mesures correctives immédiates applicables à la défaillance.

Il existe plusieurs types de compteur de particules sur le marché, avec la plupart fonctionnant suivant le principe de diffusion de lumière. Ils sont conçus pour mesurer l'intensité de la lumière diffusée par la particule, à des angles fixes par rapport à la direction du faisceau lumineux impactant celle-ci.

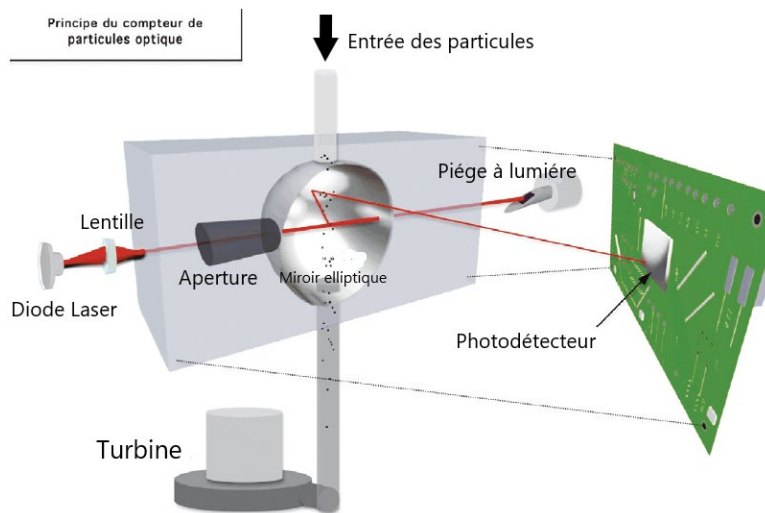


Figure 49: Schéma montrant le fonctionnement d'un compteur de particules à diffusion de lumière.

Les particules sont comptabilisées et classées par catégories d'amplitude de tension et donc de tailles. Tandis que Le piège à lumière absorbe la plupart des photons du faisceau lumineux principal. Ces compteurs de particules peuvent être fixes ou mobiles.

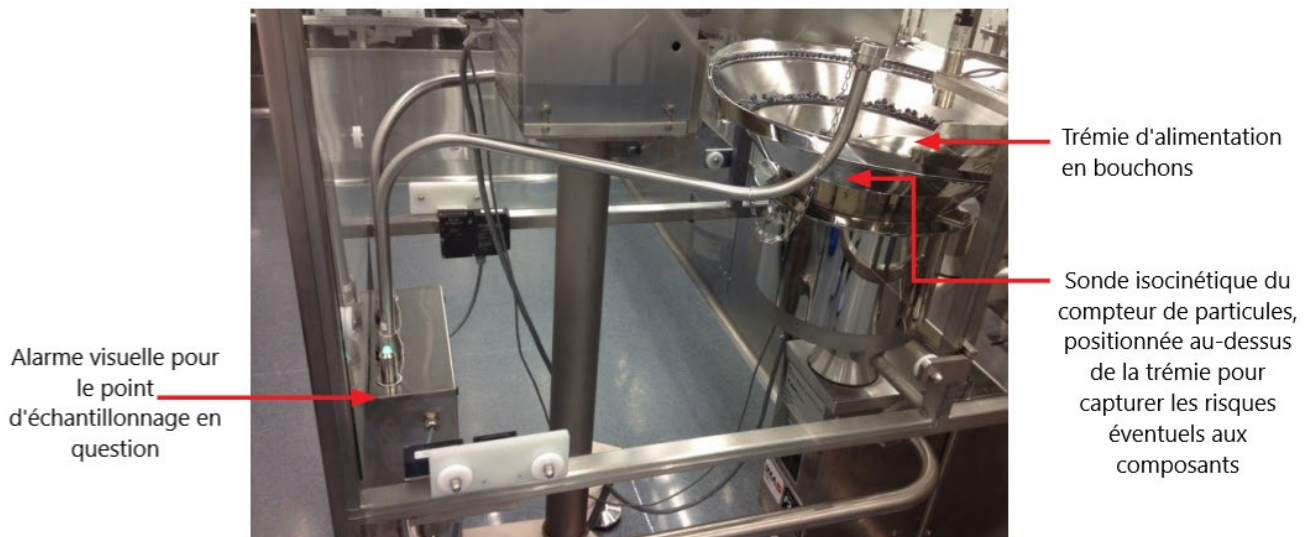


Figure 50: Emplacement de la sonde d'un compteur de particules en temps réel, dans un système barrière.

Une étude publiée par le National Institute of Health (NIH), a trouvé une corrélation importante entre le nombre de particules non viables en temps réel, dans un point d'échantillonnage, et le nombre de contaminants microbiologiques en suspension dans ce même point, avec une chance de 95,6%, selon cette étude, de détecter cette contamination. Cela ne fait que renforcer la valeur de ces appareils dans la stratégie de la maîtrise de la contamination, et particulièrement avec l'élément de feedback en temps réel.

4.3.3 Monitoring des particules viables :

Une maîtrise de contamination qui vaut son nom, doit être capable de contrôler la présence, la distribution et la survie des micro-organismes dans les ZAC et autres environnements contrôlés. L'optimisation de cette maîtrise nécessite l'élaboration d'un plan de surveillance des particules viables suivant une approche de gestion des risques, et qui comprend:

- Sites d'échantillonnage.
- Procédures et méthodes d'échantillonnage.
- Fréquence d'échantillonnage.
- Manipulation et incubation des échantillons.
- Création d'une base de données pour stocker toutes les informations relatives au monitoring.

- Etablissement des niveaux d'alerte / d'action.
- Interprétation des données statistiques pour en tirer les tendances, qui informent les décisions prises lors de toute évaluation future des risques.

La surveillance microbiologique concerne la recherche de microorganismes sur les surfaces (biocontamination de surface), dans l'air (aérobiocontamination) et sur le personnel. Elle est normalement effectuée selon une routine «en activité», car cela représente une évaluation plus réaliste du défi du processus de fabrication, mais également qu'« au repos » après chaque période d'inactivité prolongée pour une ligne de production ou de l'établissement en entier. Par contre, elle ne doit pas interférer, dans sa réalisation, avec la protection et la propreté des zones surveillées.

4.3.3.1 Le monitoring microbiologique de l'air :

4.3.3.1.1 L'échantillonnage actif de l'air ou volumétrique : ⁽⁶³⁾

L'échantillonnage actif de l'air est destiné à fournir une évaluation quantitative des microorganismes présents, par volume d'air prélevé dans la ZAC, c'est une méthode volumétrique.

Cet échantillonnage est effectué à l'aide de biocollecteurs ou d'impacteurs d'air, dont une variété existe. Le volume d'air prélevé est normalement d'un mètre cube d'air, cela permet de quantifier les données en ufc/m³. En plus, le débit d'air aspiré doit être suffisant pour piéger des particules viables sans toutefois altérer leur viabilité, pour cela, la convention semble être sur un débit de 100L/min, pour un volume total de 1000 L.

Les biocollecteurs appartiennent généralement à l'un des différents modèles suivants:

- **Biocollecteur d'impaction STA (Slit To Agar) :** Ils sont considérés comme la norme contre laquelle les autres types de biocollecteurs sont comparés. L'air aspiré passe par une fente et impact directement la gélose se trouvant dans une boîte de Pétri.

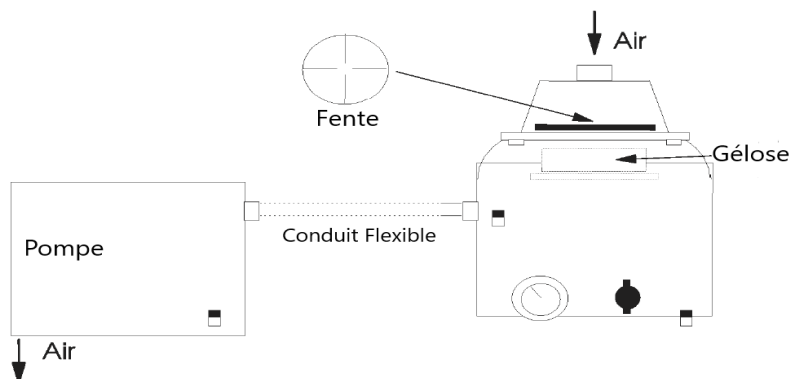


Figure 51: Schéma d'un biocollecteur d'impaction STA.

- **Impacteur centrifuge à hélice** : l'air prélevé, est forcé à l'aide d'une hélice vers la paroi interne du boîtier, où une bande de plastique flexible contenant de la gélose est située autour de la circonférence de celle-ci.

- **Les biocollecteurs à cascade de cribles (Andersen)** : utilise le même principe d'impaction sur gélose avec plusieurs étages de cribles. La rétention de particules viables dépendra donc de leur taille et de la vitesse de l'air impactant la gélose. Cette vitesse augmente avec la diminution progressive du diamètre des pores du crible avec chaque étage, du haut vers le bas du biocollecteur. Comme le montre le schéma ci-dessous, chaque étage contient une boîte de Pétri de gélose nutritive.

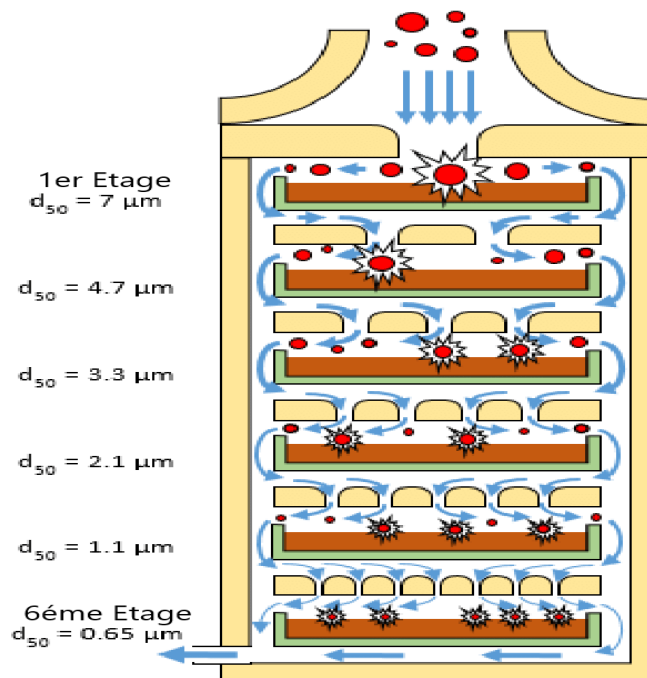


Figure 52: Schéma d'un biocollecteur à cascade de cribles.

- **Echantillonneurs à filtre** : Il s'agit d'une unité qui consiste d'une pompe à vide et un conduit extensible se terminant avec une tête à filtre placée dans la zone critique. Le filtre est généralement fait de fibres de gélatine ou autre matière capable de retenir les microorganismes, et d'être dissoute dans un solvant approprié pour ajout sur une gélose de culture.

Tous les échantillonneurs d'air actifs perturberont le flux d'air à une certaine mesure. Ils doivent donc être placés avec soin, de façon à minimiser cette perturbation dans les points critiques de la ZAC, après préférentiellement une étude de visualisation du flux d'air avec ces appareils en opération.

4.3.3.1.2 L'échantillonnage passif de l'air ou statique : ⁽¹⁷⁾ ⁽⁶⁴⁾

L'échantillonnage passif de l'air est effectué au moyen de boîtes de Petri (90 à 140mm) remplies par un volume déterminé de gélose nutritive, qui sont laissées ouvertes et exposées dans des endroits définis par l'analyse de risque, dans les ZAC, pendant des périodes de temps préétablies afin de comptabiliser les microorganismes qui s'y déposent, et qui sont généralement attachés aux particules non viables (peau, cheveux...), comme ils sont plus susceptibles par leur taille (entre 8 et 12 μm) aux forces gravitationnelles, et donc au dépôt aérien.

Après incubation de ces boîtes, et comptage des ufc, les résultats peuvent être présentés en ufc/4h (4 heures étant la période de temps d'exposition recommandée par les BPF) pour avoir une idée sur l'étendue de la contamination microbienne dans l'espace en question. Pour des temps d'exposition inférieurs à 4 heures, on peut faire une extrapolation.

C'est la position de la boîte Pétri qui détermine, ultimement, l'efficacité de la collecte. En général, les points les plus proches des zones critiques sont priorités. Cependant, il faudra être conscient, que les zones à vitesse d'air unidirectionnel excessive, et en cas d'une longue durée d'exposition, peuvent provoquer une dessiccation accélérée de la gélose, la rendant moins capable de supporter la croissance des microorganismes potentiellement présents. C'est un élément à considérer en plus lors des études de promotion de la croissance du milieu ; l'emplacement de routine pour ce milieu.

Cette méthode de monitoring n'est pas quantitative en ce qu'elle ne peut pas capturer et détecter les particules plus petites en suspension dans l'air, et ne permet pas l'échantillonnage de volumes spécifiques d'air. Par contre, sa valeur qualitative est évidente. En général, les contrôles statiques sont populaires car peu coûteux, ne perturbent pas, dans la plupart des cas, les modèles de flux d'air protecteur et ne nécessitent aucune grande expertise technique pour générer des données.

4.3.3.2 Echantillonnage des surfaces : ⁽⁶⁵⁾

Deux méthodes d'échantillonnage sont principalement adoptées pour la surveillance microbiologique des surfaces : la gélose de contact RODAC et l'écouvillonnage. Même si, seule la gélose de contact est référencée dans les limites recommandées par les BPF.

- **La gélose de contact** : contenue dans une boîte de Pétri spécialement conçue (généralement de 55 mm de diamètre), qu'on appelle «boîte RODAC», la gélose est pressée contre la surface à échantillonner. Les micro-organismes présents sur celle-ci sont ainsi transférés à la gélose, et développent des colonies lors de l'incubation. Des dispositifs sont disponibles pour garantir que la gélose soit appliquée avec une pression constante et uniforme sur la surface à contrôler, et pendant une durée de temps adéquate. Les boîtes de contact ne conviennent que pour les surfaces planes. C'est une méthode quantitative, car le contact entre la gélose et la surface fournit une «image miroir», une empreinte de celle-ci. Le résultat peut être exprimé en ufc/plaque.



Figure 53: Applicateur de gélose de contact.

Étant donné que les géloses laissent des traces de nutriments sur les surfaces échantillonnées, la surface testée doit être soigneusement essuyée avec une lingette désinfectante stérile appropriée (Sinon, le nutriment résiduel pourrait créer un foyer de croissance microbienne). Les boîtes contact ne doivent pas être utilisées dans des zones critiques telles que les surfaces de la machine autour du point de remplissage, sur les trémies, etc., pendant la fabrication. Les risques de contamination du produit par la procédure de test sont supérieurs au bénéfice procuré par les données. Ils sont généralement testés régulièrement à la fin de fabrication d'un lot.

- **L'écouvillonnage** : en utilisant des écouvillons à pointe de coton ou de viscose, stériles et humidifiés, l'écouvillonnage est effectué en frottant une surface, tout en faisant tourner l'écouvillon (de sorte que toutes les parties de l'embout contactent la surface), avec un certain nombre de mouvements croisés de balayage (généralement entre 10 et 25). Cet écouvillon sert à ensemercer des milieux de culture, qui sont ensuite incubés de manière appropriée.

Une variante du test consiste à utiliser des écouvillons à têtes d'alginate solubles. Une fois que le prélèvement a été fait, ceux-ci sont dissous dans un milieu approprié tel qu'une solution saline stérile, qui est ensuite filtrée sur membrane et la membrane transférée sur une gélose nutritive appropriée et incubée.

Les résultats peuvent être rapportés par zone définie écouvillonnée (il faut limiter par un pochoir la surface à contrôler), ou par écouvillon (par exemple, là où de petits articles, des fissures ou des crevasses sont écouvillonnés). Les techniques de prélèvement par écouvillonnage ne sont, au mieux, que semi-quantitatives, mais leur valeur ne peut être sous-estimée, car, à l'inverse des boîtes de contact, ils ne se limitent pas aux surfaces planes, mais sont idéaux pour examiner les crevasses, les niches et les surfaces dissimulées et rugueuses - les plus difficiles à nettoyer et à désinfecter.

4.3.3.3 Le monitoring du personnel: ⁽⁶⁶⁾

- **Contrôle des empreintes des gants :** Le moyen principal de surveillance microbiologique du personnel est le contrôle des empreintes des gants. Ce contrôle doit être effectué à des moments définis dans le programme du monitoring de la ZAC en question, généralement; c'est à la fin d'une période de travail, à la sortie de la ZAC, ou après la réalisation d'interventions critiques. Et parfois comme partie de l'investigation d'un événement de contamination.

Ce contrôle est réalisé sur une boîte de Pétri pour chaque main gantée, et consiste à faire rouler le bout de chaque doigt de la main sur la gélose, d'une manière à laisser sur celle-ci une empreinte visible pour chaque doigt. La BP une fois incubée révèle l'étendue de la contamination microbienne du gant contrôlé, et le résultat est rapporté en UFC/gant. Le personnel ne doit pas être autorisé à «désinfecter» ses gants immédiatement avant la réalisation du test (le personnel testé doit jeter ses gants sans toucher aucune surface).



Figure 54: Réalisation du test d'empreintes des gants par le personnel.

- **Contrôle des tenues des ZAC** : D'autres approches moins courantes de surveillance microbiologique du personnel comprennent l'écouvillonnage des tenues, ou l'utilisation de boîtes de contact sur la surface de celles-ci. En règle générale, les prélèvements se font au niveau des deux avant-bras, la poitrine et la cagoule. Par contre, ces prélèvements ne devraient être autorisés qu'à la sortie définitive de la ZAC, car les propriétés barrières des tissus des tenues sont altérées lorsqu'ils sont mouillés, comme ils le sont par frottement.



Figure 55: Application de gélose de contact sur la cagoule du personnel à la fin des opérations en ZAC classe A/B.

4.3.3.4 Les milieux de culture : ⁽⁶⁶⁾

Le type du milieu de culture (sa composition, bouillon ou gélose) utilisé pour la recherche ou la quantification de micro-organismes dans le cadre du monitoring microbiologique des environnements contrôlés, dépend de la procédure, de l'équipement utilisé, et des microorganismes recherchés.

La gélose Trypticase Soja (TS) est le milieu de culture standard utilisé dans les programmes de surveillance environnementale microbiologique, pour la recherche des bactéries aéro-anaérobies facultatives. L'incubation est à 30–35 ° C. Les levures et moisissures peuvent également être spécifiquement recherchées, en utilisant un milieu Sabouraud, incubé entre 20 et 25 ° C. La durée d'incubation généralement recommandée est de 48 à 72 heures.

Les milieux de culture doivent être préincubés pour prouver leur stérilité avant d'être introduits dans des zones aseptiques de grades A et B. Il y a deux raisons à cela. Premièrement, il est assez absurde, face aux limites microbiologiques très strictes habituellement appliquées à ces zones, de risquer de réagir à une contamination accidentelle résultant de la préparation des milieux

de culture. Deuxièmement, les zones aseptiques ne doivent pas être compromises en y introduisant des géloses contaminées.

4.3.3.5 La caractérisation des isolats environnementaux : ⁽⁶⁶⁾

Lorsque les limites définies par le programme de surveillance microbiologique sont dépassées, il est typique d'identifier aux niveaux de l'espèce tous les contaminants des zones de grades A et B et d'avoir une compréhension de la microflore d'autres zones. Initialement, cette caractérisation est basée sur la morphologie, et des techniques microbiologiques classiques telles que la coloration de Gram. Après la caractérisation initiale, une identification par des techniques plus avancées (galerie API, systèmes VITEK et MIDI) peut être entamée.

Une identification plus poussée examine la croissance et le métabolisme de la bactérie. Des milieux de culture sélectifs peuvent être utilisés ici, cependant, en raison du nombre de facteurs qui contribuent à la variabilité de croissance, ces techniques de culture ne peuvent pas toujours être considérées comme définitives. Il est plutôt judicieux d'utiliser un kit de test d'identification biochimique préfabriqué. La base de nombreux tests biochimiques est le fait que les bactéries sont capables d'utiliser différentes sources de carbone pour obtenir l'énergie nécessaire à la vie. En déterminant les sources de carbone exploitées par l'organisme, et celles qui ne le sont pas, une sorte de profil métabolique de l'organisme est élaboré, qui permet de faire une évaluation probabiliste sur son identité. Un exemple de test de profilage biochimique est le système d'identification API.

L'étude de la variété des types et profils de micro-organismes trouvés dans les salles blanches, ainsi que la fréquence d'incidence des différentes espèces, peut fournir des informations essentielles pour comprendre les environnements en question, et aider à la maîtrise de la contamination.

En autres termes, la caractérisation microbienne des isolats environnementaux renseigne sur les sources possibles de contamination. Lorsque les échantillons sont contaminés par des micro-organismes tels que *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus hominis*, cela indique la possibilité d'une contamination d'origine humaine lors de la fabrication ou lors du contrôle lui-même, tandis que des espèces bactériennes telles que *Burkholderia cepacia*, *P. aeruginosa* et *Pseudomonas spp* indiquent un manque de contrôle des processus dans les systèmes de distribution d'eau.

4.3.3.6 Le monitoring des particules viables en temps réel : ⁽⁶⁷⁾

De nouvelles technologies ont été développées pour accélérer la détection, le comptage et l'identification des microorganismes dans les ZAC. Ces méthodes, bien que coûteuses par rapport à celles traditionnelles, améliorent la maîtrise de la contamination, dans le sens qu'elles permettent au fabricant de réagir face à un événement contaminant dans un temps drastiquement diminué, et parfois, immédiatement après son occurrence.

Les compteurs des particules viables en temps réel qui existent actuellement sur le marché, exploitent et combinent deux principes spectroscopiques en parallèle, dans leur fonctionnement. Le premier étant le comptage des particules (viables et non-viables) et la mesure de leur taille par principe de diffusion de lumière. Et le deuxième, qui agit par la détection de la fluorescence émise par certaines composantes métaboliques de la cellule microbienne, comme le coenzyme NADH, l'acide dipicolinique, et la riboflavine, quand celles-ci sont excitées par rayonnement UV (405 nm), permet de différencier entre particules viables et non viables.

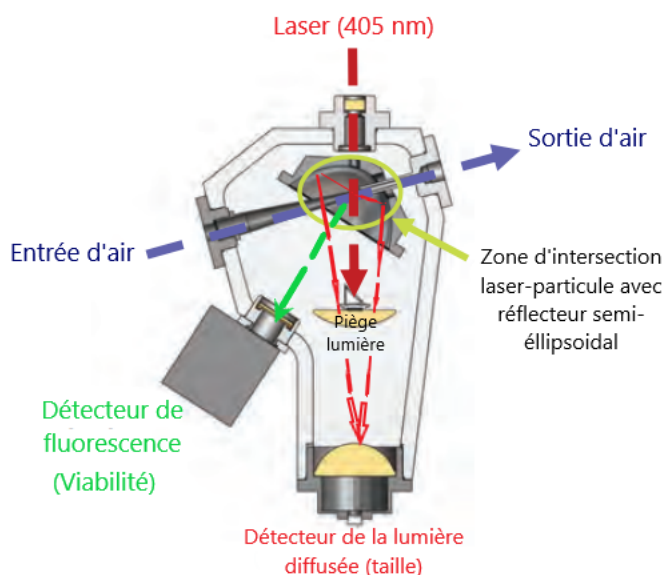


Figure 56: Schéma de fonctionnement d'un compteur de particules viables en temps réel.

Ils sont conçus pour échantillonner l'air par une sonde isocinétique, grâce à une pompe sous vide, et dans une configuration continue ou épisodique, pour exprimer les résultats en ufc/m³ en temps réel.

4.3.4 La représentation et l'analyse des tendances : ⁽⁶⁸⁾

La quantité énorme des données générées par le programme du monitoring environnemental, doit être organisée à l'aide d'outils de représentation statistique, pour qu'on puisse en déduire les tendances environnementales de notre système sur une certaine période de temps, ainsi que de les analyser afin de décider de l'efficacité des mesures de maîtrise de contamination implémentées, et de toute correction ou amélioration envisageable. Une augmentation ou une diminution progressive des ufc détectées dans un point d'échantillonnage au fil du temps, ou un changement de la flore microbienne d'une zone particulière sur plusieurs échantillons, constitueraient une tendance. Il est à noter que tout système de surveillance environnementale présente une certaine fluctuation aléatoire de ces résultats, due à sa variabilité intrinsèque, chose qui doit être distinguée des tendances.

La manière dont laquelle les données sont représentées est fondamentale à la détection et l'analyse des tendances. Un listage simple des instances d'infractions aux seuils d'action ou d'alerte, ou de longues pages d'énumérations obtenues par ordre chronologique, ne permettront pas une réflexion utile sur l'état du système, car ils manquent un élément de contextualisation. Une contextualisation des données est mieux achevée par une représentation graphique, car elle offre au personnel, même avec des connaissances statistiques limitées, une vue globale et éclairée du système.

- l'histogramme :

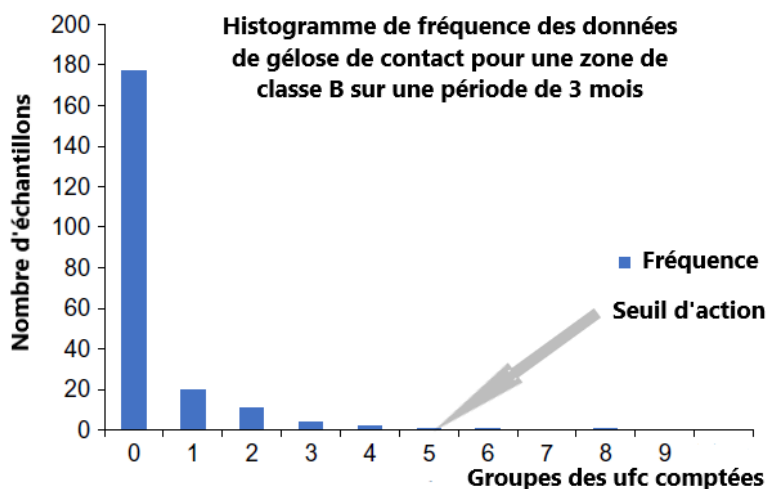


Figure 57: Un histogramme des fréquences.

L’histogramme est principalement employé pour observer la fréquence des différents résultats dans un point d’échantillonnage, sur une période de temps déterminée. Un histogramme peut être élaboré par exemple pour visualiser la fréquence des différents comptes d’ufc dans une zone de classe A, sur une période de 3 mois, ou pour une certaine campagne de production. Ce dernier peut être comparé à un autre histogramme avec les mêmes paramètres, mais d’une période ou campagne de production antécédente pour remarquer tout changement des fréquences qui constituerait une tendance.

- Les cartes de contrôle :

Les cartes de contrôle permettent une visualisation de la qualité environnementale d’une zone spécifique, en traçant la variation de l’un des paramètres environnementaux critiques à cette qualité, dans le temps. Ces cartes comprennent également des lignes qui représentent la limite de contrôle supérieure LCS, la limite d’alerte supérieure LAS, ainsi que la moyenne des valeurs collectées, afin de comparer la variation du système à ceux-ci, et plus facilement remarquer les événements pertinents. La LCS est généralement éloignée de 3 écarts type de la moyenne.

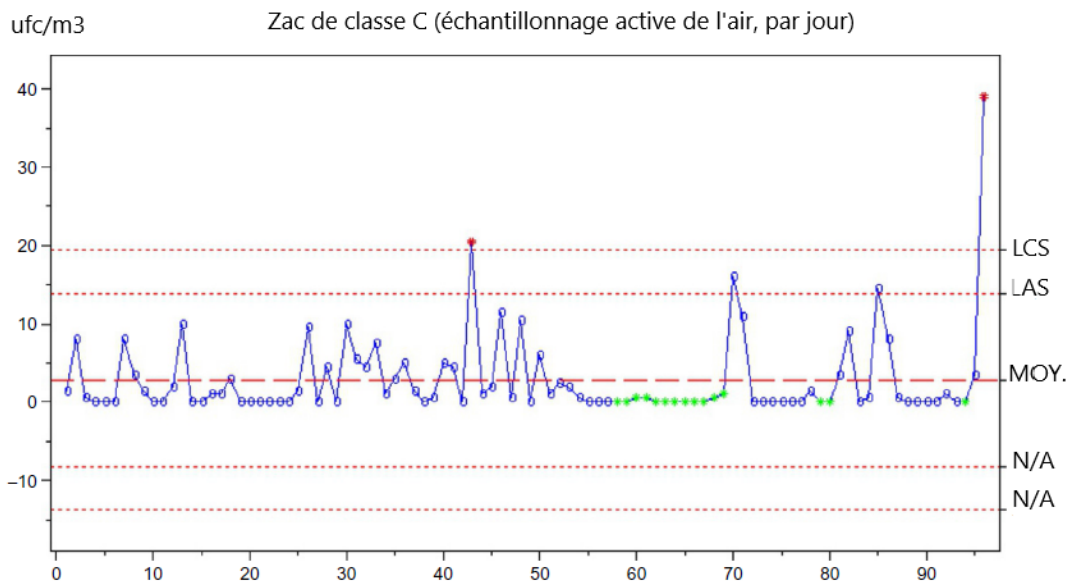


Figure 58: Une carte de contrôle de l'échantillonnage actif d'air pour une ZAC de classe C.

Un pic du paramètre en question, se répétant d’une manière régulière dans le temps, comme par exemple tous les sept jours, constituerait une tendance et peut être indicatif d’une brèche procédurale du système de maîtrise de la contamination, qui doit être identifiée et remédiée.

- Les diagrammes circulaires du microbiote :

Le microbiote usuel des différentes zones, et du personnel, peut être déterminé, au fur et à mesure qu'on identifie les isolats environnementaux collectés par le programme du monitoring environnemental. Sa représentation sur des diagrammes circulaires suivant la proportion des différents types de microorganismes, et même suivant le détail de l'espèce, peut être effectuée pour une exploitation éventuelle dans les efforts de la maîtrise de la contamination.

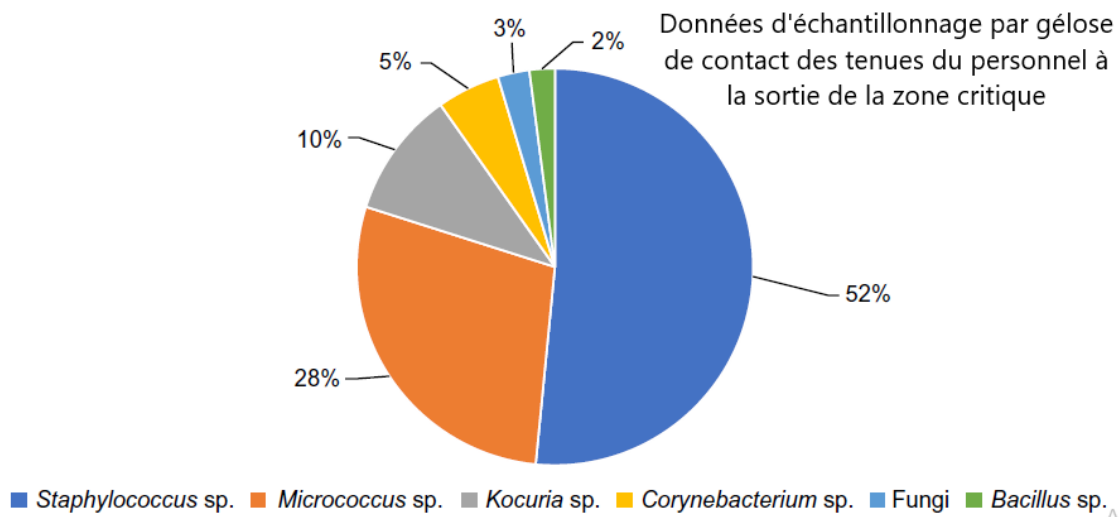


Figure 59: Diagramme circulaire du microbiote du personnel ayant accès à la production aseptique.

L'analyse de ces diagrammes nous permet dans l'événement d'une contamination, d'avoir une idée sur la source la plus probable de celle-ci. En plus de ça, une prédiction peut parfois être faite sur la source d'une éventuelle contamination, grâce à la découverte d'une déviation pertinente du microbiote usuel d'une zone ou du personnel, permettant ainsi une action proactive contre la réalisation de celle-ci.

Des analyses périodiques des données environnementales et leurs tendances devraient être formellement effectuées par l'AQ microbiologique (mensuellement ou chaque trimestre), et toute tendance pertinente doit être investiguée et des mesures correctives implémentées si nécessaire, selon une approche de gestion des risques.

5 Les matières premières :

5.1 L'eau pour préparation d'injectables « EPPI » :

5.1.1 Définition : ⁽⁶⁹⁾

L'eau est sans doute une ressource dont l'industrie pharmaceutique dépend lourdement, non seulement on l'emploie dans les différents stades et opérations de fabrication (lavage des récipients, nettoyage surfaces et équipement, production de la vapeur de stérilisation...), mais dans le cas des injectables, elle est pratiquement considérée comme ubiquitaire à toute formulation. En effet, l'utilisation réduite d'eau, et les économies qui en résultent, est l'un des facteurs promouvant l'adoption de technologies stériles à usage unique.

L'eau potable qu'arrive à l'établissement de fabrication, doit donc être traitée davantage pour convenir à un usage pharmaceutique, et selon cet usage, les pharmacopées distinguent l'eau purifiée « EP » et l'eau pour préparation d'injectables « EPPI ».

L'EP, et selon la Ph. Eur., est employée pour la production des médicaments non stériles, et ne demandant pas d'apyrogénicité. Elle est produite à partir de l'eau potable, par distillation, échange d'ions, ou osmose inverse. Tandis que l'EPPI est définie dans celle-ci comme « eau utilisée pour la préparation des médicaments parentéraux, que ça soit comme véhicule au niveau de la formulation, ou pour la dissolution ou la dilution des substances et préparations lors d'une administration parentérale ». Elle peut être produite à partir de l'EP, ou l'eau potable, par distillation ou process équivalent (RO couplée à une électrodéionisation, ultrafiltration ou nanofiltration). Parmi les spécifications cités dans la pharmacopée pour cette eau, sont un seuil d'action de 10 ufc/100 ml pour la contamination microbiologique, et moins de 0,25 UI/ml pour les endotoxines.

L'EPPI doit également être utilisée, dans le contexte de la production des injectables, pour le rinçage final, lors du nettoyage des récipients et des surfaces d'équipement et outils en contact avec le produit, ainsi que pour la dilution des désinfectants.

5.1.2 Le traitement d'eau : (70)

L'eau potable en provenance du réseau local d'alimentation, doit passer par une séquence de traitement dans l'établissement pharmaceutique, pour devenir de grade EPPI. Une telle séquence cherche à accomplir, essentiellement, une réduction du niveau des contaminants chimiques dans l'eau pour éviter les interactions avec la substance médicamenteuse et prévenir la toxicité, ainsi qu'une réduction de la biocharge microbienne et des endotoxines à leurs niveaux spécifiés.

La figure suivante présente une séquence typique pour la production d'EPPI à partir de l'eau potable :

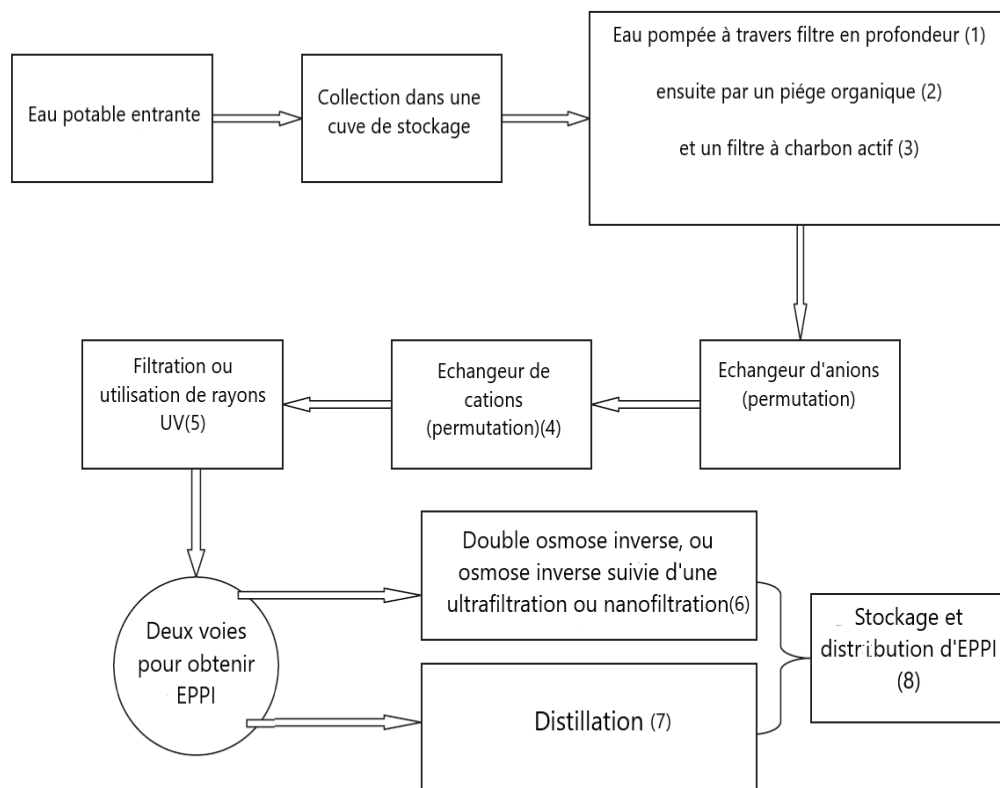


Figure 60: Représentation schématique du système de production d'EPPI dans l'établissement pharmaceutique.

Par rapport à la figure :

(1). Le filtre en profondeur (anthracite, sable lavé, gravier) permet une préfiltration adéquate, et nécessite une régénération régulière par contre-lavage.

(2). Le piège organique en résine, capte la matière organique qui le traverse.

(3). Le filtre à charbon absorbe les matières organiques résiduelles.

(4.) Les anions, par exemple Cl^- et SO_3^{2-} , et les cations dans l'eau, tels que Na^+ , Mg^{2+} et Ca^{2+} , sont retenues par les échangeurs d'ions.

(5). La filtration est effectuée à l'aide d'un filtre de $0,22 \mu\text{m}$; la lumière ultraviolette a généralement une longueur d'onde de 254 nm .

(6). L'osmose inverse emploie une membrane semi-perméable (l'acétate de cellulose ou les polyamides) pour forcer en théorie l'eau seul à travers celle-ci (sans contaminants microbiens ou endotoxines), en appliquant une pression suffisante. Dans certains procédés, une double osmose inverse est employée pour la production d'EPPI, si une distillation n'est pas envisagée.

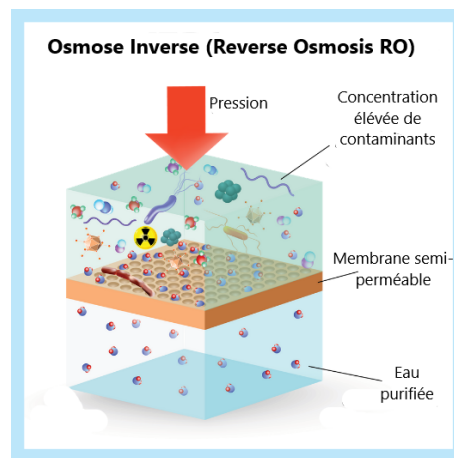


Figure 61: Schéma du principe de l'osmose inverse.

(7). Avec la distillation, l'eau est chauffée jusqu'à évaporation, pour ensuite condenser cette vapeur en distillat. La vapeur étant de l'eau en phase gazeuse pure, tous les contaminants potentiels de l'eau sont en théorie éliminés, cela comprend les bactéries, les endotoxines bactériennes, les particules, les électrolytes, les matières organiques, les colloïdes et les désinfectants tels que le chlore.

Quel que soit le système utilisé pour la préparation d'EPPI, une validation est nécessaire pour garantir que le système produira, de manière fiable, la qualité chimique, physique et microbiologique de l'eau requise. Une telle validation doit commencer par les caractéristiques déterminées de l'eau source, et inclure les systèmes de prétraitement, de production, de stockage et de distribution.

5.1.3 Stockage et distribution : ⁽⁷¹⁾

La plupart des événements de contamination touchant l'eau, ont leur cause dans le système du stockage et distribution de celle-ci, plutôt que de sa production. On parle notamment, du développement de biofilms sur les surfaces des conduits du système, qu'une fois établis, peuvent être extrêmement difficiles à éliminer. Cependant, Des composants de production mal entretenus, tels que des lits de carbone, des adoucisseurs, des membranes d'osmose inverse, peuvent également contribuer à une contamination en aval du système de distribution.

Le système de stockage et distribution d'EPPI doit donc être conçu de façon à minimiser le risque de formation de biofilm, cette conception doit inclure notamment :

(a) Le choix des surfaces internes des réservoirs et des conduits, qui doivent être aussi lisses que possible pour minimiser l'adhérence des microorganismes sur celles-ci.

(b) Le maintien d'un mouvement continu de l'eau dans les réservoirs et d'un écoulement rapide dans la tuyauterie, augmenterait les forces de cisaillement appliquées aux surfaces, réduisant ainsi l'adhérence des microorganismes.

(c) Maintenir au minimum dans la conception du système le nombre des zones où l'eau peut rester stagnante. Celles-ci incluent les «bras morts», où la turbulence du flux du conduit principal n'atteint pas suffisamment pour maintenir le mouvement d'eau dans ces points. Ici, le principe est de toujours minimiser la longueur des bras morts, là où ils doivent exister. L'eau peut également rester stagnante dans les vannes, en particulier aux points qui ne sont pas fréquemment utilisés.

(d) Prévention et contrôle régulier pour les fuites, afin de minimiser les opportunités d'infiltration microbiologique du système. Les réservoirs de stockage devraient être équipés de filtres d'évents.

(e) Le système de stockage et distribution d'EPPI, doit être constamment maintenue à une température de plus de 75 ° C, pour réduire la probabilité de survie de microorganismes. Il faudra, cependant, employer des mécanismes de refroidissement aux points d'utilisation.

Même une bonne conception peut mal tourner. En cas de contamination du système, une désinfection soit à la chaleur, soit à l'aide de produits chimiques tels que le dioxyde de chlore, doit

être envisagée. L'eau doit également être régulièrement échantillonnée aux points d'utilisation, dans le cadre du programme de monitoring environnemental, pour contrôler sa qualité.

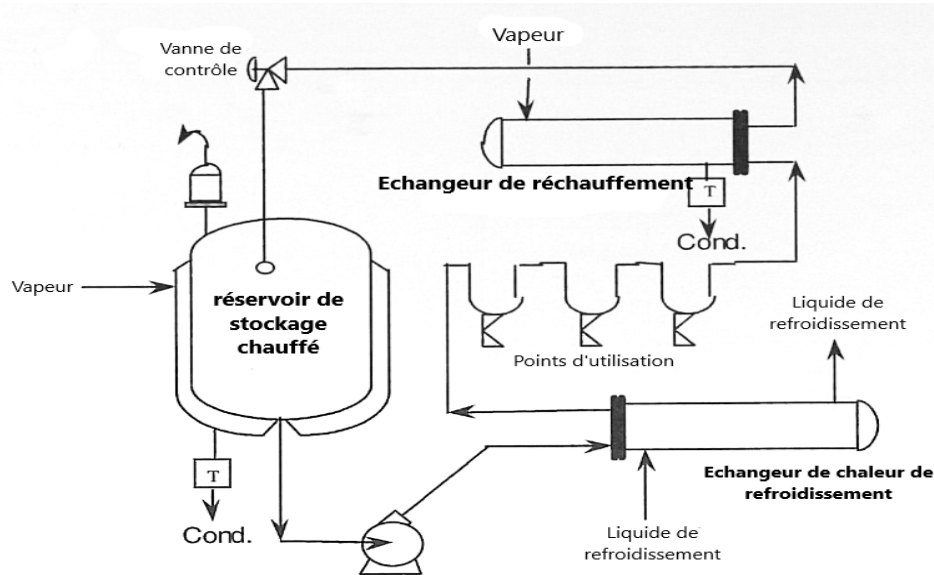


Figure 62: Schéma d'un système typique de stockage et distribution d'EPPI.

Un appareil capable de mesurer en continu et en temps réel la biocharge de l'EPPI, peut être intégré à la boucle du système, pour permettre une réaction extrêmement rapide à tout risque détecté de contamination. L'appareil fonctionne sur le principe de détection de la fluorescence des molécules contenues dans les entités microbiologiques, après leur intersection avec un faisceau lumineux.

5.2 Principes actifs et excipients : ⁽⁷²⁾

Il est extrêmement difficile, voire même impossible, de fabriquer un produit médicamenteux sûr et efficace si nos matières premières sont de qualité inférieure. Le contrôle donc, des CMA des PA et excipients entrants, est indispensable pour la fabrication d'un produit médicamenteux qui répond à ses CQA.

Il est important d'avoir de faibles niveaux d'endotoxines et biocharge, des CMA des matières premières, même si un processus ou une étape du processus de fabrication a la capacité de les éliminer. Un niveau accru inattendu qui est introduit pourrait remettre en cause le processus validé et exercer une pression excessive sur la qualité du produit. Il est donc plus facile de contrôler la contamination des matières premières entrantes que d'éliminer les contaminants pendant les étapes finales de la production.

Lorsque les matières premières sont reçues, elles doivent être placées directement en quarantaine jusqu'à ce qu'elles aient été testées et approuvées pour la fabrication. Le service de réception doit vérifier s'il y a des dommages évidents aux conteneurs d'expédition, et faire correspondre le type et la quantité de la matière au bon de commande, et vérifier le certificat d'analyses effectuées par le fournisseur. Si ces informations sont correctes, la matière est déplacée vers la zone de quarantaine désignée. Les conditions de stockage (température ambiante, 4 ° C, -20 ° C, -80 ° C, armoire des produits chimiques dangereux) doivent être adaptées au type de la matière. À ce moment, les inspecteurs des matières premières entrantes, sont informés de leur réception et de leur statut de quarantaine. La matière doit être inspectée visuellement pour l'étiquetage, l'identité, les dommages non détectés lors de la réception, les joints de scellage brisés, les preuves d'altération ou de contamination. Il existe actuellement des appareils qui permettent l'identification de la matière dans son conditionnement de réception, sans échantillonnage, et en temps réel. Ceux les plus populaires exploitent le principe spectrométrique RAMAN, où un faisceau lumineux monochromatique dirigé vers la matière en question (à travers le matériau de conditionnement), met les molécules constitutives de celle-ci dans un état vibrationnel supérieur qui précède la diffusion RAMAN (stokes). Cette diffusion est ensuite détectée par l'appareil, qui génère le spectre RAMAN signature de celle-ci, et le compare à ceux dans son spectrothèque afin d'identifier la composition moléculaire de la substance.



Figure 63: Utilisation de spectroscopie RAMAN pour l'identification en temps réel des matières premières.

Il doit y avoir des zones désignées appropriées pour collecter et préparer le ou les échantillons pour chaque type de matière (hotte à flux laminaire, zone propre et séparée, etc.) afin de ne pas introduire de contaminants dans l'échantillon. Tous les conteneurs échantillonnés doivent indiquer la date à laquelle l'échantillonnage a été effectué, la quantité ou le nombre prélevés et qui a effectué l'échantillonnage. L'échantillon lui-même doit être placé dans un récipient correctement identifié qui est non réactif, non absorbant ou non additif - un récipient qui ne pourrait affecter les résultats des tests effectués. En cas de test d'endotoxines, cela inclurait de ne pas utiliser d'acier inoxydable ou certains types de plastique. L'échantillon est conservé dans les conditions appropriées jusqu'à ce qu'il soit livré au laboratoire de test interne ou au laboratoire de référence externe.

La limite autorisée d'endotoxines doit être calculée pour chaque matière première séparément, suivant sa proportion dans la formulation et en prenant en compte la limite d'endotoxines pour le produit fini.

Une fois que tous les critères d'acceptation ont été satisfaits pour une matière première, elle est mise en statut comme approuvée pour une utilisation en fabrication. L'ensemble du lot est physiquement déplacé de la zone de quarantaine vers la zone «approuvée». Pour les systèmes de codes-barres, l'état du système informatisé est modifié électroniquement et peut ne pas nécessiter de changement physique d'emplacement de la matière. Si approprié, des échantillons des lots acceptés doivent être prélevés et retenus pour un besoin futur de vérification.

Si l'un des critères d'acceptation n'est pas satisfait pour une matière première, elle est mise à part pour que les délégués représentant divers départements évaluent les résultats des tests et décident de sa disposition. Toute disposition est correctement étiquetée et séparée dans l'emplacement correspondant à son statut. Tous les rejets doivent faire l'objet d'une enquête approfondie et être documentés. Un système et une procédure doivent être en place pour les actions correctives et préventives.

6 Le procédé de fabrication :

6.1 Notions de validation : ⁽⁷³⁾ ⁽⁷⁴⁾

Introduite par l'organisme réglementaire FDA des Etats-Unis en 1979, la validation est considérée depuis, comme un outil indispensable de l'assurance qualité, pour l'implémentation et la maîtrise des procédés de fabrication pharmaceutique sur l'échelle commerciale. Car, ce n'est qu'en ayant des processus correctement conçus et mis en œuvre, chose qu'on vérifie avec la validation prospective, qu'il est possible d'obtenir un produit satisfaisant ses attributs de qualité, d'une unité à l'autre, et d'un lot à l'autre.

La FDA définit la validation comme « un process qu'établi la preuve documentée qui fournit un haut degré d'assurance que les procédés de fabrication, incluant l'établissement, systèmes et équipement, vont constamment donner un produit qu'atteint les résultats souhaités, suivant des spécifications et des attributs de qualité prédéterminées. ». Traditionnellement, et selon les BPF, un process de validation doit être précédé par les activités suivantes :

- **Elaboration d'un cahier des charges de l'utilisateur (CCU)** : les attentes de l'utilisateur envers un équipement, installation, matériel ou système, doivent être documentées dans un CCU, pour servir de référence pour les spécifications de ceux-ci tout au long du process de validation.

- **Qualification de conception (QC)** : cette étape de la qualification compare la convenance de la spécification ou conception proposée, aux besoins exprimés par l'utilisateur, aux standards de référence, et à la réglementation applicable. Et identifie là où des compromis entre ces éléments doivent exister.

- **Test d'acceptation en usine (TAU)** : Le fournisseur doit évaluer, sur le site de l'usine, la conformité des spécifications réelles à celles dans la QC, avant tout installation chez l'utilisateur.

- **Qualification d'installation (QI)** : c'est l'étape où l'on vérifie que l'équipement ou système délivré et installé par le fournisseur correspond vraiment aux spécifications de conception approuvées. Comme la conformité de l'installation aux schémas préétablis, les matériaux de construction utilisés, instructions de maintenance fournies, étalonnage d'instruments, etc.

- **Qualification opérationnelle (QO)** : la QO détermine, à l'aide d'une série de tests, si le système est capable de fonctionner de la manière prévue en respectant les critères d'acceptation établis au préalable, y compris dans les conditions les plus défavorables « worst case ». La QO peut, dans certains cas, être facilement fusionnée avec la QI.

- **Qualification de performance (QP)** : Vérification que le système fonctionne conformément aux exigences préétablies, de façon constante (stabilité dans le temps), et dans le cadre du procédé et conditions visées pour l'exploitation commerciale de routine (en tenant compte des conditions les plus défavorables « worst case »). Un test utilisant des substituts ou un produit de simulation, est répété plusieurs fois (le nombre devrait être fonction du risque, mais il est rarement inférieur à trois) et les résultats doivent être conformes aux spécifications préétablies à chaque fois.

Toute déviation identifiée doit être traitée avant de passer à l'étape de qualification suivante. Il est toutefois reconnu, dans certains cas, qu'il peut être approprié d'effectuer en même temps la QI, la QO et la QP. Il peut également être acceptable de valider le procédé en même temps que la QP.

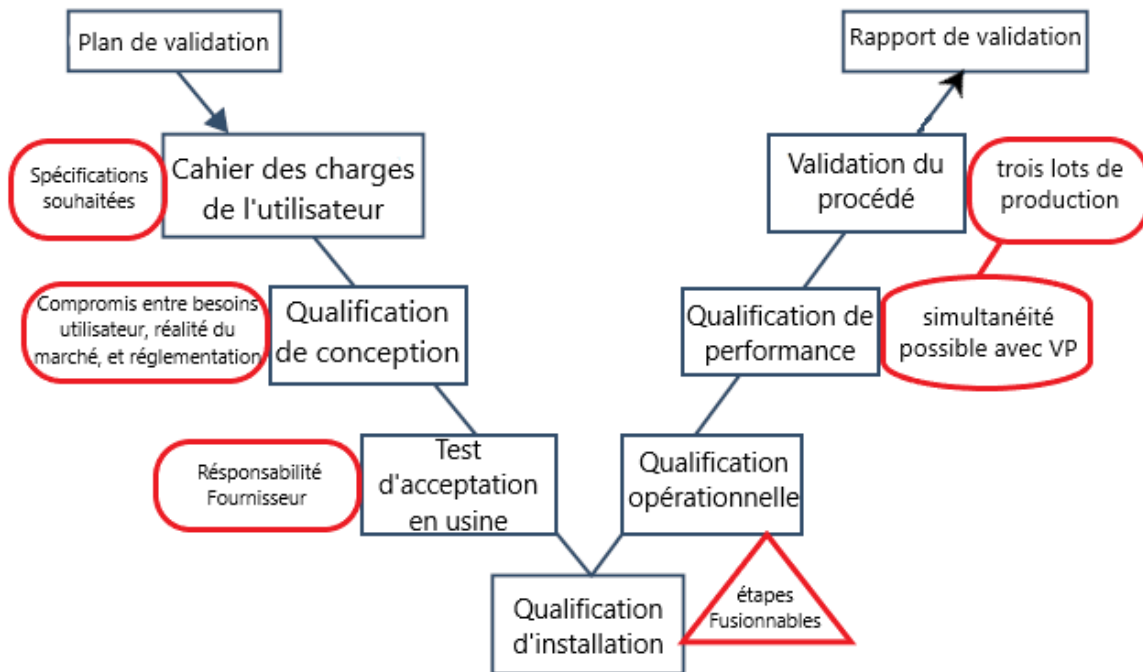


Figure 64: Schéma des étapes de validation d'un procédé à l'échelle commerciale.

Autrement, et selon les principes de QbD, la validation signifie plutôt un état dont lequel se trouve le procédé, qui se vérifie et s'améliore continuellement durant le cycle de vie du médicament, en prenant avantage de l'accumulation des connaissances qui mènent vers une meilleure compréhension du process, et en employant des outils de gestion des risques.

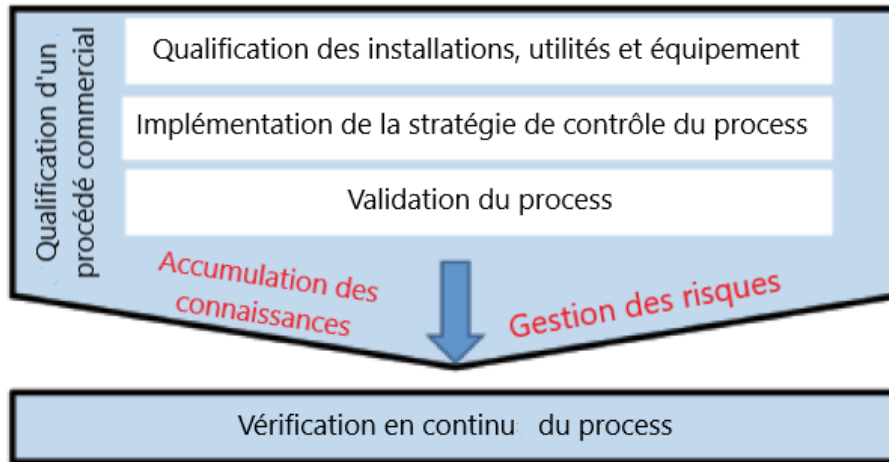


Figure 65: La philosophie de la validation selon l'approche QbD.

6.2 La stérilisation terminale :

6.2.1 Définitions : ⁽⁷⁵⁾

Dans la mesure du possible, le produit parentéral doit être stérilisé après avoir été scellé dans son récipient final, c'est ce qu'on appelle la stérilisation terminale. La stérilisation est définie dans les normes ISO 11139 relatives à la stérilisation des produits de santé, comme « un procédé validé utilisé pour obtenir un produit exempt de microorganismes viables ». Donc, par un moyen physique ou chimique, on cherche détruire ou éliminer les contaminants microbiologiques de notre produit, sans affecter son efficacité, stabilité et autres attributs critiques de qualité.

La stérilisation terminale peut être effectuée par vapeur, chaleur sèche, gaz, ou rayonnements ionisants, ces méthodes ont différents mécanismes d'action, mais toutes partagent le principe de la valeur D. Ce principe stipule que le taux d'inactivation d'une population microbiologique est dépendant du temps de contact, d'exposition, ou de dose absorbée par cette population. Et D est la valeur (temps ou dose, selon la méthode) où on obtient une réduction logarithmique du nombre des microorganismes, en d'autres termes, une destruction de 90% de la

population microbienne homogène qui subit le procédé de stérilisation. Il est à noter que la valeur D est spécifique au type du microorganisme en question.

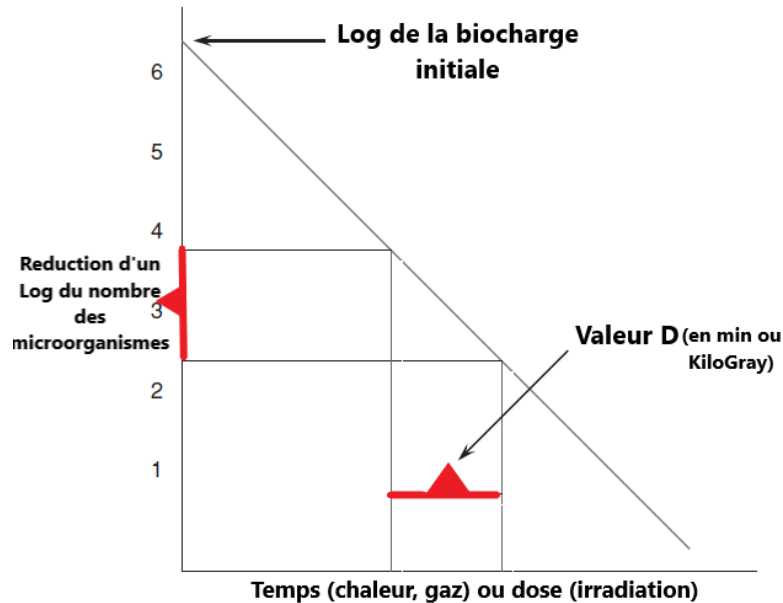


Figure 66: Courbe d'inactivation d'une population de microorganismes en fonction du temps/dose.

Du fait que cette inactivation microbienne est logarithmique, la population tend vers, mais n'atteint jamais zéro. Par conséquent, en deçà des niveaux théoriquement mesurables des microorganismes viables, le terme «probabilité de la non-stérilité» ou «niveau d'assurance de stérilité (NAS)» est introduit. On peut facilement voir que plus la population microbienne initiale (biocharge) est élevée, plus il faudra de temps, ou de dose, pour atteindre un certain NAS, par exemple 10^{-6} , une probabilité de survie d'un microorganisme sur million.

Le NAS peut donc être considéré comme une évaluation quantitative et probabiliste de l'assurance de stérilité fournie par le procédé de stérilisation terminale. Il n'est donc pas applicable au process aseptique. La raison pour laquelle la stérilisation est discutée en termes de probabilité, et non en termes absolues, est due en pratique, à l'impossibilité de prouver, après un processus de stérilisation, que tous les micro-organismes de la biocharge ont été détruits, et que toutes les unités du lot sont stériles, même si on effectue le test de stérilité de référence sur chaque unité (ce qui est irraisonnable car ce test est destructif). Ceci est dû au fait que les micro-organismes peuvent être présents mais indétectables par les méthodes microbiologiques en vigueur.

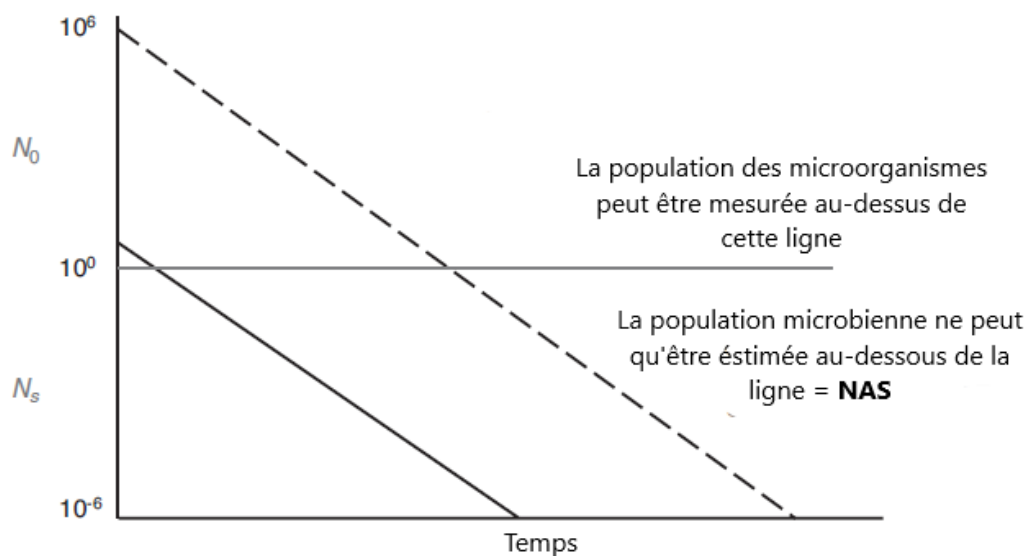


Figure 67: Courbe montrant l'estimation de la population microbienne survivante en dessous des valeurs mesurables, en fonction du temps ou de la dose ; le NAS de la stérilisation terminale.

6.2.2 La validation d'un procédé de stérilisation terminale à la vapeur d'eau :

Les différentes méthodes de stérilisation ont chacune leurs avantages et inconvénients, cependant, celle la plus pratiquée pour la stérilisation terminale des injectables est la stérilisation à la vapeur d'eau en autoclave.

6.2.2.1 La séquence de fonctionnement d'un autoclave : ⁽⁷⁶⁾

Pour le fonctionnement d'un autoclave, il existe quatre paramètres clés, la vapeur, la pression, la température et le temps. La vapeur idéale pour la stérilisation est la vapeur saturée sèche et l'eau entraînée (par exemple, vapeur avec une fraction de siccité $\geq 97\%$). La sécheresse est importante, car l'excès d'humidité transporté (en suspension ou entraîné) dans la vapeur peut donner des charges humides. Si un article est retiré d'un autoclave, et il est encore humide, il n'a probablement pas été correctement stérilisé. De plus, pour les articles emballés, l'humidité affectera l'intégrité de l'emballage. La teneur en humidité de la vapeur (fraction de siccité) est mesurée comme le poids de vapeur sèche présente dans un mélange de vapeur saturée sèche et d'eau entraînée.

Le fonctionnement d'un autoclave suit généralement la séquence suivante:

- Phase de prétraitement :

Cette phase a pour but de pré-conditionner la charge à stériliser en se débarrassant de l'air qui existe dans la chambre de stérilisation, comme il est l'obstacle principale à la dispersion de la vapeur d'eau dans les points critiques de l'enceinte de stérilisation, et donc s'oppose à l'établissement de l'homogénéité de la température dans celle-ci. Ceci est réalisé selon une séquence bien définie de vides et de réinjections de vapeur d'eau, jusqu'à ce que l'air contenu dans la chambre soit totalement remplacé par la vapeur d'eau.

- Phase du plateau de stérilisation :

La vapeur d'eau saturée est injectée dans la chambre jusqu'à ce que les capteurs de contrôle mesurant la température et la pression atteignent leur point de consigne. Le capteur envoie également un signal pour démarrer une minuterie. Cette minuterie est réglée pour expirer à la fin du temps de stérilisation, proprement dit, prescrit dans la spécification. Pendant ce temps, et pour éviter que la température de la charge ne baisse en dessous de l'extrémité inférieure de la spécification de stérilisation, la température peut être modulée par une injection de vapeur dans la chambre, suivant le signal de commande provenant d'un capteur de température ou de pression.

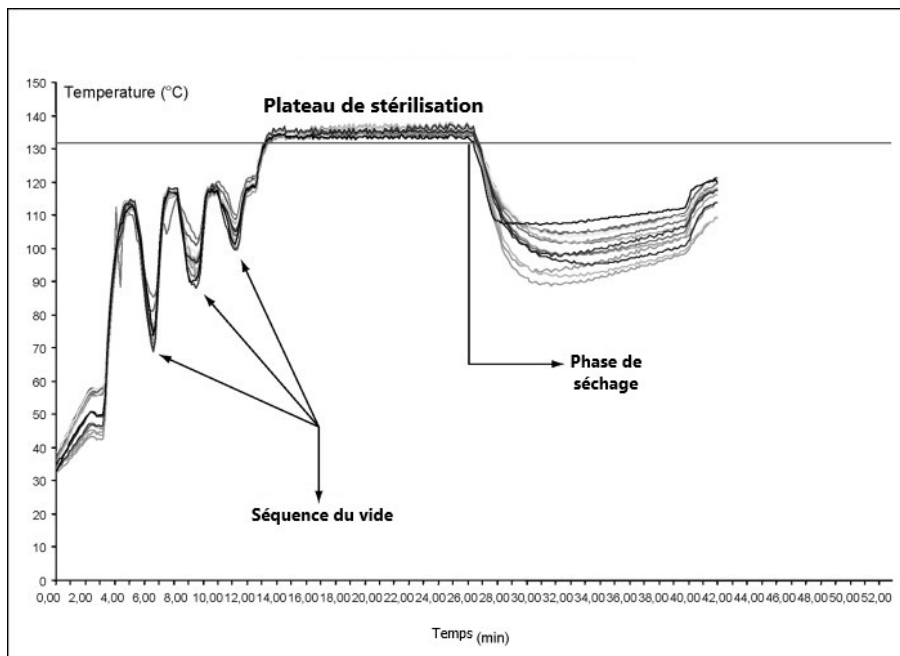


Figure 68: Courbe de la variation de la température en fonction du temps d'un cycle de stérilisation à vapeur d'eau.

- Phase de séchage :

À la fin de la période du plateau de stérilisation, toute alimentation en vapeur est coupée et la pompe à vide est à nouveau déclenchée pour purger la chambre de la vapeur et sécher la charge. Le vide est rompu par introduction progressive d'air ambiant dans la chambre via un filtre rétenteur de bactéries.

La température de stérilisation standard dans les autoclaves à vapeur est de 121 ° C, mais des températures plus basses (par exemple 116 ° C) et plus élevées (par exemple 134 ° C) sont également utilisées pour certains cycles. Des enregistrements permanents de température et de pression doivent être générés pour tous les cycles d'autoclave, et examinés par une personne compétente.

6.2.2.2 La validation du cycle de stérilisation :

Pour la validation d'un nouvel autoclave, d'un nouveau produit à stériliser, d'une configuration de charge modifiée ou d'une nouvelle spécification, le cycle est exécuté en utilisant les paramètres dérivés du développement du processus à trois reprises, et testé pour la conformité à une variété de critères d'acceptation prédéterminés.

Les phases initiales de validation (Qualification de l'installation (QI) et qualification opérationnelle (QO)) des autoclaves sont principalement axées sur les spécifications techniques. Les étapes initiales de la validation impliquent généralement le développement des aspects physiques du dispositif de stérilisation (sans charge) en premier, afin de vérifier que les températures mentionnés dans le cycle puissent réellement être atteintes dans son exécution, et uniformément. Les aspects pertinents pour le procédé de stérilisation du produit sont évalués pendant la qualification de performance (QP). Ceux-ci peuvent être divisés en 2 axes à évaluer : la combinaison température/temps en termes de valeur stérilisatrice délivré au produit, et la destruction biologique en termes du niveau d'assurance de stérilité du cycle en question. La siccité de la charge est également vérifiée à chaque sortie de l'autoclave, après avoir subi un cycle de stérilisation dans le cadre de la validation.

La qualification de performance nécessite la réalisation de 3 tests du cycle à charge maximale, où à chaque occasion les éléments à évaluer doivent satisfaire leurs critères d'acceptation.

6.2.2.2.1 Evaluation de la valeur stérilisatrice du cycle : ⁽⁷⁷⁾

- La notion de la valeur stérilisatrice :

La valeur stérilisatrice F est un concept qui évalue la combinaison temps/température utilisé dans un cycle de stérilisation, en termes du temps équivalent de stérilisation à une température de référence, et ceci en calculant la somme des taux de létalité L délivré au produit par unité de temps, accumulés pendant la durée du cycle. Le taux de létalité L étant une évaluation de l'effet léthal de la stérilisation à une certaine température par rapport à la température de référence :

$$L_T^z = \frac{\text{effet léthal à la température } T}{\text{effet léthal à la température de référence } T_{ref}}$$

En d'autres termes :

$$L_T^z = 10^{\frac{(T-T_{ref})}{z}}$$

On peut donc exprimer la valeur stérilisatrice F d'un cycle de stérilisation comme suit :

$$F_T^z = \Delta t \sum 10^{\frac{(T-T_{ref})}{z}}$$

Où T est la température mesurée sur une unité de la charge, T_{ref} est la température de référence (par exemple, 121 ° C), z est la constante de résistance thermique (10°C généralement) et Δt est l'intervalle de temps entre les déterminations de température.

- La valeur F₀ :

Quand la température de référence adopté est de 121°C et la valeur z est de 10°C, on

parle de : $F_0 = \Delta t \sum 10^{\frac{(T-121)}{10}}$

Un F₀ de 8 minutes signifie que la combinaison temps/température que le cycle de stérilisation suit est équivalente en termes de létalité à un cycle de stérilisation de 8 minutes à 121°C. Il peut s'agir d'une température supérieure à 121 ° C pendant une durée plus courte ou d'une température inférieure à 121 ° C pendant une durée plus longue. La létalité apportée pendant les

périodes d'échauffement et de refroidissement, avant et après le plateau de stérilisation, peut être intégrée dans le calcul du F_0 .

La courbe suivante illustre la relation entre le développement de la température du cycle et la variation des taux de létalité de ce dernier en fonction de temps. Il est à noter que la surface de l'aire sous la courbe des taux de létalité est représentative de la valeur stérilisatrice du cycle.

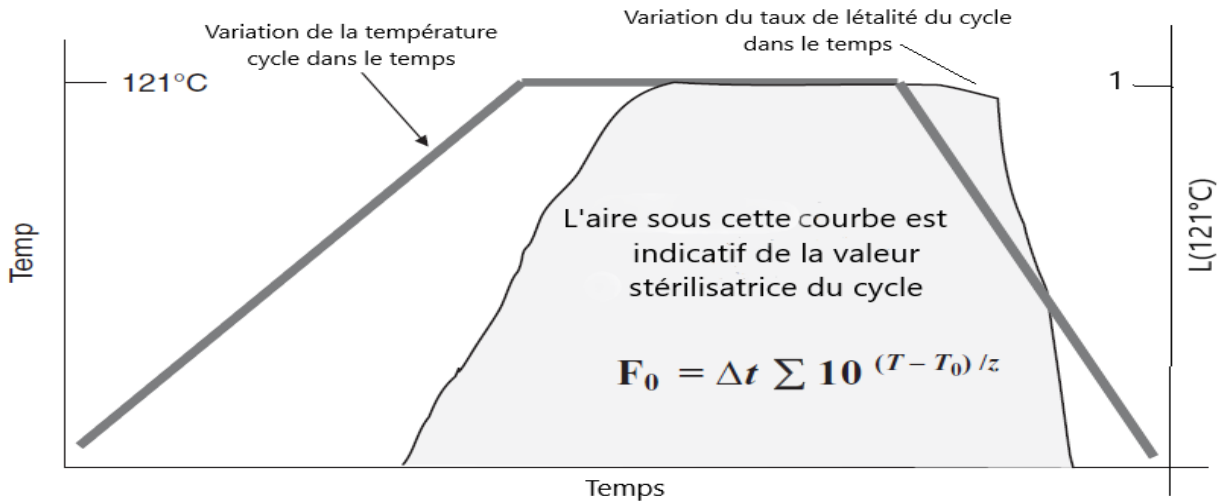


Figure 69: Comparaison de la courbe temps/température du cycle et celle du taux de létalité du cycle en fonction du temps.

- Vérification de la valeur stérilisatrice F_0 du cycle :

Pour vérifier que le cycle en question délivre la valeur stérilisatrice F_0 requise, il faudra explorer avec exactitude la répartition de la chaleur dans la chambre chargée dans la limite maximale du procédé à valider (en termes du nombre d'unités de produit à stériliser), ainsi que la pénétration de cette chaleur dans les unités les plus critiques de la charge. Pour cela, Des thermocouples, sont placés à chaque coin de la chambre, au centre de la chambre, ainsi qu'à l'intérieur de quelques conteneurs (de manière hermétique) qui représentent les produits les plus critiques de la charge. Ces thermocouples sont reliés à une centrale d'acquisition de données, qui génère des tableaux de température en temps réel, au fur et à mesure que le cycle progresse. C'est à partir de ces températures que la valeur F_0 du cycle est calculée. Il est à noter qu'il existe des logiciels, que lorsqu'ils sont couplés à la centrale d'acquisition des données de température, peuvent calculer la valeur F_0 du cycle en temps réelle.

Une valeur F_0 , qui satisfait son critère d'acceptation, doit être atteinte en trois essais consécutifs effectués avec une charge maximale.

6.2.2.2.2 L'épreuve microbiologique du cycle : ⁽⁷⁸⁾

- Les indicateurs biologiques :

Les indicateurs biologiques sont des préparations (bandelettes, disques, et ampoules) contenant une population définie de microorganismes (spores) spécialement sélectionnés pour leur niveau de résistance connu à un processus de stérilisation de référence, et utilisés pour évaluer l'efficacité d'un cycle de stérilisation et fournir une estimation du NAS de ce dernier. Les indicateurs biologiques sont placés aux points les plus critiques de la chambre de stérilisation et /ou de la charge (*worst case*). L'indicateur biologique est considéré comme l'instrument le plus sensible aux conditions d'environnement réelles, car les spores, répondent en intégrant la létalité qu'ils subissent à leur point d'emplacement. Ils sont donc un juge plus apte, plus qu'aucune mesure physique (température et pression) ne l'est, de l'ensemble des paramètres critiques d'un cycle de stérilisation.

Étant donné que les indicateurs biologiques sont jusqu'à un million de fois plus résistants que la charge microbienne typique, et le fait qu'ils défient également le système avec une population extrêmement plus importante que celle qui serait présente dans n'importe quel environnement normal. Il s'ensuit donc que la destruction réussie de la population microbienne sur l'indicateur biologique fournit un niveau élevé d'assurance de stérilité.

Geobacillus stearothermophilus, bactérie sporulante et très résistante à la chaleur, est le microorganisme le plus largement reconnu comme indicateur biologique pour la stérilisation par chaleur humide. Les valeurs $D_{121^{\circ}\text{C}}$ (temps de réduction décimale de la population bactérienne à 121°C) obtenues pour ses spores varient de 1,5 min à environ 3 min.

- Vérification du niveau d'assurance de stérilité du cycle :

Alors que le temps et la température peuvent être intégrés dans une équation pour calculer la valeur stérilisatrice fournie par le cycle, la létalité réelle ne peut être démontrée que par l'utilisation d'indicateurs biologiques. Le test d'évaluation du niveau d'assurance de stérilité est généralement effectué parallèlement au test de la valeur stérilisatrice. Un nombre n entre 10 et 100 d'indicateurs biologiques (ampoules contenant plus de 10^6 germes de *Geobacillus stearothermophilus*) seront placés avec la charge à des emplacements définis par leur criticité ; il est courant de placer un indicateur biologique à côté de chaque sonde thermique et à l'intérieur des

quelques conteneurs thermocouplés, afin de pouvoir relier les données thermiques aux données biologiques. Un témoin négatif est également introduit avec la charge. Le nombre d'indicateurs utilisés et leurs emplacements doivent être justifiés et documentés.

La charge sera ainsi exposée au cycle de stérilisation à 3 occasions consécutives, et ce dernier sera considéré comme satisfaisant, si aucune croissance bactérienne n'est observée après 7 à 14 jours d'incubation à 55–60 ° C pour chaque indicateur et pour le témoin négatif, en plus de l'apparition d'un trouble du milieu nutritif pour le témoin positif qui n'a pas subi le cycle de stérilisation. Ce test démontre donc la capacité du cycle de stérilisation à fournir un NAS minimum de 10^{-6} et constitue la preuve ultime de la bonne efficacité du procédé.

6.3 Le process aseptique :

Le process aseptique s'impose comme nécessité, quand le médicament injectable est incapable de résister aux méthodes de stérilisation terminale. Deux étapes critiques de ce process sont la filtration stérilisante du produit, et le remplissage aseptique.

6.3.1 La validation de la filtration stérilisante :

Le but de cette validation est de prouver qu'un processus de filtration stérilisante particulier, génère absolument le filtrat stérile nécessaire pour entamer le procédé de remplissage aseptique. La validation comprend des tests des propriétés de rétention bactérienne des filtres, ainsi que des tests des interactions physico-chimiques entre ceux-ci et le produit à stériliser. Ils existent un nombre de configurations du procédé de filtration stérilisante, qui diffèrent dans le nombre, les types, et l'emplacement des filtres employés, mais tous doivent donner un filtrat stérile.

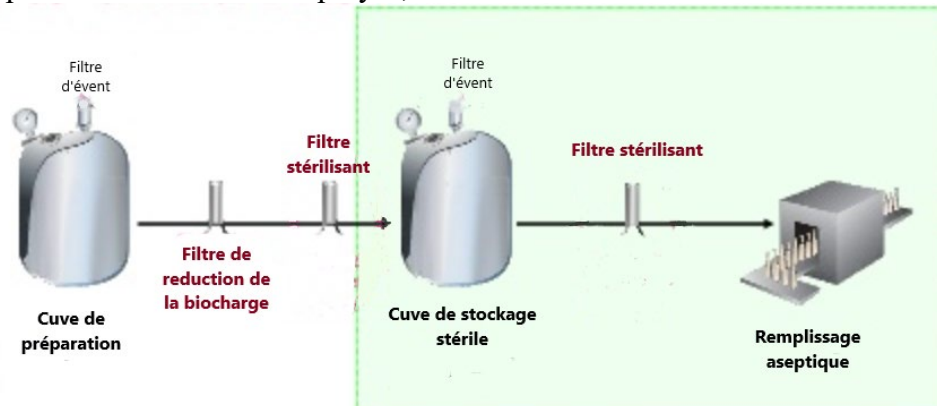


Figure 70: Schéma montrant l'emplacement des différents filtres durant la filtration stérilisante.

6.3.1.1 La rétention microbienne : ⁽⁷⁹⁾

Dans ce test, le filtre est confronté à une population connue de micro-organismes sous des conditions qui simulent le processus de production réel, et en utilisant une solution définie (produit intact, ou placebo) C'est la preuve, la réglementation exige de nos jours, que le filtre de qualité stérilisante produira réellement un filtrat stérile. La raison de cette exigence est triple :

- Tout d'abord, l'influence du produit et des paramètres du procédé sur le micro-organisme doit être testée. Il peut y avoir des cas de rétrécissement des micro-organismes en raison d'une osmolarité plus élevée du produit, d'une valeur nutritive extrêmement faible de celui-ci, ou d'un temps de traitement prolongé.

- Deuxièmement, la compatibilité du filtre avec le produit et les paramètres du processus doit être testée. Le filtre ne doit présenter aucun signe de dégradation ou perte de performance due à ceux-ci (par exemple, les impulsions de pression, si elles se produisent au cours du process).

- Troisièmement, et comme la rétention des microorganismes par adsorption est un mécanisme important de la filtration, la question de savoir si le fluide à filtrer possède des propriétés qui réduiront l'effet de cette adsorption, doit être explorée.

Avant d'effectuer un essai d'épreuve microbienne, il faut s'assurer que le produit à filtrer ne possède pas de propriétés bactéricide ou bactériostatique, sur les organismes d'épreuve. Ceci est fait en effectuant des tests de viabilité. Le produit est inoculé par l'organisme jusqu'à un certain niveau de biocharge. À des moments spécifiés, définis par le processus de filtration réel, la valeur logarithmique de cette biocharge est testée. Si la charge microbienne est réduite en raison des propriétés du fluide, différents modes de test deviennent applicables. Ces modes sont décrits dans le rapport technique n ° 26 du PDA, et impliquent soit une utilisation d'une charge élevée de microorganismes, soit un placebo est employé en place du produit, soit on a recours à une troisième modalité où le produit est passé à travers le filtre aux paramètres et temps total du processus normale, pour ensuite rincer ce filtre abondamment avec de l'eau, avant d'entamer l'essai de l'épreuve microbienne avec le produit.

Le micro-organisme de l'épreuve bactérienne est *Brevundimonas diminuta*, sélectionné parce qu'il a une taille d'environ 0,3 µm, à peine au-dessus de la taille des pores du filtre stérilisant de 0,22 µm. La concentration minimale de ces microorganismes qui doit être ajoutée au produit,

est de 10^7 ufc/cm² de surface filtrante. La biocharge originale du produit intacte, peut être préférée pour l'essai, s'elle a été déterminée plus éprouvante que l'organisme de référence employé. Les paramètres du process simulé sont la pression, température ainsi que le débit et durée de filtration

La figure suivante représente un schéma de l'appareil du test de rétention microbienne. Il est à noter que l'appareil utilise à la fois un filtre de 0,22 µm et un filtre de 0,45 µm, ce dernier étant le témoin positif.

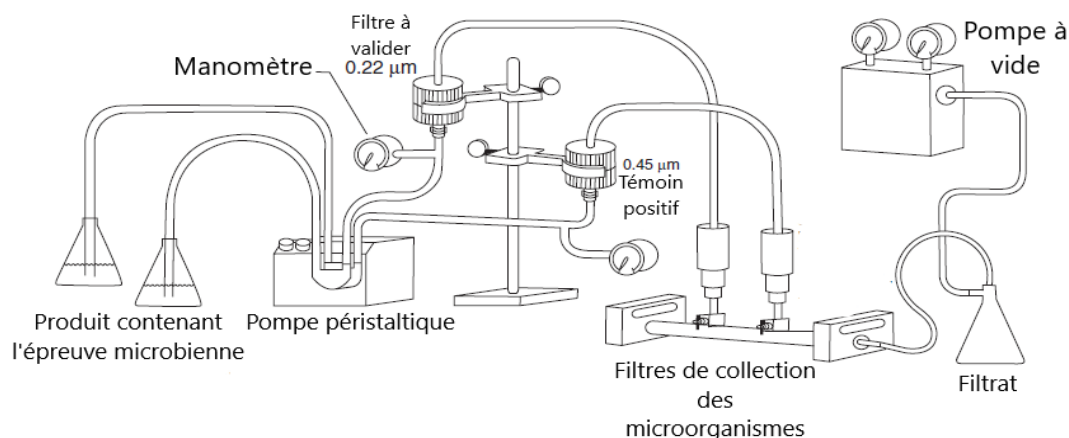


Figure 71: Schéma d'un appareil de test de la rétention bactérienne d'un filtre stérilisant.

Si le filtre ne parvient pas à retenir les micro-organismes, une enquête est nécessaire. L'enquête peut conduire à des modifications du processus, ou à la sélection d'un filtre alternatif.

6.3.1.2 La compatibilité produit-filtre: (80)

Des tests doivent être effectués pour démontrer l'aptitude du produit et des matériaux filtrants à pouvoir être utilisés ensemble, dans les conditions spécifiées du processus, sans effets néfastes sur le produit ou les matériaux filtrants.

Le test de compatibilité chimique : Le but des tests de compatibilité chimique est de trouver des incompatibilités subtiles, qui peuvent survenir en raison d'un mélange de composants et d'entités chimiques ou de conditions de processus spécifiques. Des températures élevées ou des temps de filtration prolongés peuvent entraîner une incompatibilité du filtre, qui doit être étudiée. Par conséquent, des tests de compatibilité appropriés doivent être effectués avec le produit réel, dans les conditions du procédé. Généralement, les tests d'intégrité avant et après l'immersion du filtre dans le produit, montreront s'il existe ou non une incompatibilité. Cependant, l'analyse des résidus non volatils, en parallèle avec le test d'intégrité, reste la procédure la plus fiable.

Le test de la libération des particules : L'évaluation du filtrat avec des compteurs de particules doit également être effectuée avec le produit réel dans les conditions du procédé, pour prouver que le produit, et en particulier les conditions du procédé, n'entraîne pas une augmentation du niveau de particules dans le filtrat.

Les caractéristiques d'adsorption du filtre : Ces caractéristiques sont mesurées pendant la phase de qualification à partir des tests pré et post-filtration du produit. Il est important que le filtre n'élimine pas les PA, les excipients, les véhicules, les diluants, les protéines, les conservateurs ou tout autre composant de la formulation, sinon les propriétés du produit seront affectées.

6.3.2 La validation du procédé de remplissage aseptique :

Avec les normes élevées de pratiques aseptiques qui sont atteintes dans l'industrie pharmaceutique, soutenues par un cadre réglementaire rigoureux, la probabilité de tomber sur une unité produite non stérile dans les tests de stérilité du lot est extrêmement faible. Cependant, on ne peut pas juger un procédé comme aseptique, en se basant uniquement sur les résultats négatifs des échantillons du lot testé, et nous ne pouvons pas permettre que l'effet sur le patient soit l'arbitre.

La validation donc, d'un nouveau procédé aseptique ou d'une installation de fabrication aseptique nouvellement construite, représente l'outil qui nous fournit une certaine assurance de leur fonctionnement adéquat, et que les risques de contamination microbiologique qu'ils présentent sont suffisamment faibles. On a recours, pour cela, au test de remplissage aseptique (TRA), ou « Media Fill Test » (MFT). Les TRA sont effectués uniquement après que toutes les procédures pertinentes ont été établies, que l'équipement a été qualifié, et que le personnel impliqué a été formé de manière appropriée.

6.3.2.1 Définition et objectifs du test de remplissage aseptique (TRA) : ⁽⁸¹⁾

Le TRA est un test qui simule le processus aseptique à valider, en utilisant un placebo en place du produit, par lequel (le placebo) chaque unité remplie peut être jugée comme contaminée ou stérile, et par conséquent, le processus de remplissage comme aseptique ou non.

Un milieu de culture microbiologique liquide aqueux remplace les produits liquides. Pour les produits solides et ceux visqueux, soit des liquides sont utilisés, soit des simulations plus

complexes sont effectuées à l'aide de produits de substitution qui doivent être reconstitués dans des milieux de culture. Les simulations aux supports liquides sont les plus courantes, avec le bouillon tryptone caséine soja (TSB) comme milieu de culture. Le TSB a un pH presque neutre et devrait récupérer un large spectre de différents types de micro-organismes.

Le support est traité d'une façon identique au produit qu'il substitue. A la fin du remplissage, les unités remplies sont incubées. Après l'incubation, le nombre d'unités contaminées est évalué par rapport au nombre d'unités non contaminées.

Le MFT est conçu pour évaluer les points suivants dans la fabrication aseptique des formes parentérales:

- La conception des installations et des salles.
- La conception de la machine de remplissage.
- Le flux du processus de fabrication.
- La conception et fonctionnement du système (CVC) et utilités.
- Le programme de gestion des déviations, et des tendances des données de surveillance environnementale.
- Le programme de nettoyage et décontamination
- La formation et la qualification du personnel.

Le but du TRA est de fournir donc, un indice de la probabilité de contamination microbiologique survenant dans un processus aseptique particulier, et non pas de déterminer, similairement au concept du niveau d'assurance de stérilité, la probabilité d'avoir une unité non stérile dans la population produite par le processus en question. Les résultats des MFT sont évalués en comparaison avec des critères d'acceptation prédéterminés, à des fins de validation.

Le MFT est effectué pour tous les nouveaux procédés aseptiques comme l'une des étapes finales d'une qualification de performance, avec 3 MFT consécutives conformes, et à chaque fois qu'un processus aseptique établie subi d'importantes modifications (système CVC, machine de remplissage, équipement pertinent,) qui pourraient affecter son asepsie. Un MFT est également effectué périodiquement pour vérifier l'asepsie d'un processus de remplissage aseptique établis (généralement tous les 6 mois).

6.3.2.2 Le Protocole du test de remplissage aseptique :

Le TRA doit simuler le processus à valider de manière à tenir compte de tous les risques de contamination microbiologique pouvant survenir en pratique. Ainsi, le protocole du TRA doit être conçu pour refléter les conditions les plus défavorables, « worst case », lors de l'exécution du processus aseptique. L'une des difficultés liées à l'élaboration d'un protocole est qu'il existe une tension entre le concept d'inclusion des conditions «worst case» dans un TRA et celui de ne pas tenter de valider des pratiques aseptiques inacceptables. Pour cela, un examen des incidents pendant le remplissage du produit au cours de l'année écoulée doit être envisagé, et ceux qui pourraient raisonnablement se produire doivent être inclus dans la simulation.

6.3.2.2.1 Les variables du protocole : ⁽⁸²⁾ ⁽⁸³⁾

- **La taille du lot et la durée du TRA :** Soit la taille maximale du lot de produit est remplie, soit un nombre représentatif d'unités est rempli. Le nombre d'unités remplies, selon la réglementation, ne doit jamais être inférieur à 3000. Il s'agit d'une expression du nombre minimum d'unités pour lesquelles un taux de contamination d'au plus une unité contaminée par 1000 unités (0,1%) peut être démontré avec 95% de confiance.

Le remplissage doit durer pour suffisamment de temps pour pouvoir simuler tous les événements potentiellement contaminants qui pourraient survenir, et faire face également au potentiel de contamination qui s'accumule au fil du temps. Ceci est réalisé soit en remplissant le nombre maximum de récipients autorisé pour le procédé, soit en effectuant un remplissage par intermittence, avec des périodes de remplissage ponctuées par des périodes d'inactivité. Parmi ces choix, le premier constitue un défi plus strict, car il teste également la fatigue du personnel. Cette approche garantit également que tous les changements de quart de travail soient capturés, et fera subir au TRA, en théorie, l'augmentation de la concentration de contaminants en ZAC, occupée et opérationnelle, au fil du temps.

- **Récipients et fermetures :** Il y a un choix à faire sur le nombre de combinaisons de récipients à inclure dans les différents essais. Il se peut que le diamètre de col le plus large présente le «worst case», car il offre plus de possibilités d'entrée de contaminants, mais cela peut ne pas être le cas (par exemple, les petits flacons peuvent être moins stables au point de remplissage). À long terme, la décision sur les tailles et le nombre de tailles à inclure dans un protocole de

validation TRA est décisionnelle et, à des fins réglementaires, les raisons de la prise de décisions particulières doivent être justifiées et documentées.

- **Volume de remplissage** : En termes de volume de remplissage, il doit toujours y avoir suffisamment de liquide dans chaque récipient pour «mouiller» toutes les surfaces pendant l'incubation. Cependant, par rapport au volume de milieu de culture rempli dans chaque récipient, celui-ci est généralement réduit, par rapport au volume de produit typiquement rempli, sinon, les volumes exacts sont répliqués.

- **Vitesse et configuration de la ligne de remplissage** : La ligne de remplissage doit fonctionner à la même vitesse que pour le remplissage du produit, à moins que le volume de remplissage ne soit réduit, sa vitesse est alors diminuée pour garder les récipients sous le point de remplissage pour suffisamment de temps.

- **Le personnel** : L'effectif du personnel dans une salle de remplissage lors du TRA doit être égal au nombre maximum autorisé lors d'un remplissage de produit. Les activités du personnel, telles que les interventions critiques, les changements du quart de travail, doivent être incluses dans la simulation.

- **Le délai de maintien du produit** : Le délai de maintien du support doit être égal au délai de maintien maximum autorisé pour le produit, avant le remplissage.

- **Les critères d'acceptation** : Dans le cas du TRA, un nombre maximum d'unités contaminées doit être spécifié pour que le procédé aseptique soit acceptable.

L'ISO 13408 «Traitement aseptique des produits de santé» spécifie le nombre maximal d'unités contaminées, selon le nombre d'unités remplies, en se basant sur un taux de contamination de 0,1% avec un niveau de confiance de 95%. Cependant, pour la validation, la cible réaliste pour les unités contaminées, quel que soit le nombre d'unités remplies, et selon les attentes de plus en plus strictes des régulateurs, doit être zéro. Cela ne suppose pas, qu'un seul récipient présentant des signes de croissance microbienne, bien que nécessitant une enquête, devrait nécessairement conduire à la fermeture d'une ligne de remplissage. Le tableau suivant spécifie, d'après les normes ISO, le nombre maximal d'unités positives acceptables, en fonction du nombre d'unités remplies :

Tableau 12: Le nombre d'unités contaminées autorisées selon la taille du TRA.

Nombre d'unités remplies dans le cadre du TRA	Le nombre acceptable d'unités contaminées
3000	1
4 750	2
9 160	5
10 520	6
14 440	9
16 970	11

6.3.2.2.2 Les étapes du protocole : ⁽⁸¹⁾

- **Préparation du milieu de culture** : La plupart des fabricants simulent les processus aseptiques avec un milieu de culture déshydraté comme point de départ. Le milieu doit être irradié avant son transfert à la zone de fabrication aseptique, où il est dissous. Il est ensuite passé à travers un filtre stérilisant, et stocké dans une cuve stérile que l'on raccorde aseptiquement à la machine de remplissage. Le milieu de culture doit être validé préalablement, et confirmé en parallèle du TRA.

- **la simulation du process de remplissage** : Tous les événements qui se produisent en relation avec le processus à valider doivent être simulés pendant l'exécution du TRA, même si certains de ces événements ne sont que rarement entrepris dans la pratique. Cela inclut :

- La simulation de la durée du process avec des arrêts sur la ligne de remplissage.
- Les gaz inertes (CO₂ ou de l'azote) normalement employés pour remplir l'espace de tête du récipient lors du remplissage, doivent être remplacés par l'air comprimé, ou éliminés pour ne pas empêcher la croissance des microorganismes.

- La simulation des pannes récurrentes, la réparation ou remplacement d'aiguilles/tubes de remplissage, remplacement des filtres en ligne, changement de gants (personnel, ou pour gants-manchettes).
- Les changements de quart de travail et simulation d'autres occasions où le personnel peut quitter ou entrer dans la salle de remplissage;
- Enlèvement des récipients avec des bouchons manquants, et déblocage de la ligne de remplissage.
- Surveillance environnementale, et échantillonnage agressif (par exemple, changement de plaques de sédimentation dans la zone critique de remplissage).

Les unités remplies vont être classées en 3 catégories, soit remplies conformes, soit mises au rebut suite à une intervention potentiellement contaminante, soit non conformes car montrant un défaut flagrant (mal bouchées, vides, défauts d'intégrité).

- **L'incubation** : Toutes les unités remplies (sauf celles rejetées pour des défauts évidents) devront être incubées en étuve dès que possible après le remplissage, normalement dans les 24 heures. L'incubation doit être déclarée comme ayant commencé lorsque les récipients ont atteint la température requise, et dure généralement 14 jours. Un régime courant consiste à incuber les récipients pendant 7 jours à 20–25 ° C, suivis de 7 jours à 30–35 ° C. La première plage de températures encourage la croissance des champignons et la seconde encourage la croissance des bactéries. Il est important que le milieu de culture soit en contact avec toutes les surfaces du récipient et de la fermeture. Pour cela, Il est habituel d'incuber les récipients posés normalement pendant la première moitié de la période d'incubation, et de les inversés ensuite (bouchon en bas) pour l'autre moitié.

- **L'inspection** : À la fin de la période d'incubation, chaque récipient doit être inspecté visuellement, sous un éclairage adéquat, pour déceler la turbidité qui indiquera la possibilité de croissance microbienne. Un récipient contaminé doit être soigneusement examiné pour toute violation de son intégrité. Le nombre d'unités conformes et mises en rebut doit être identique au nombre de d'unités mises en incubation et au nombre de celles lues. En cas de perte d'unité, il n'est pas possible de conclure quant à la conformité du TRA. L'objectif d'un TRA conforme est de zéro unité contaminée.

Tout récipient trouble doit être envoyé à un laboratoire de microbiologie pour identifier les contaminants microbiologiques au niveau de l'espèce, et idéalement en utilisant des techniques génotypiques. L'identité des contaminants microbiens est une partie importante de l'information obtenue par un TRA, car elle aide à discerner les événements contaminants qui se sont produits pendant le process aseptique.

- La déclaration de la conformité du TRA :

Pour qu'un TRA soit déclaré conforme, il faut qu'il respecte ses critères prédéterminés d'acceptation, en termes d'unités contaminées autorisées, et cela sans avoir aucune perte d'unité. D'autre part, la fertilité et la stérilité du milieu de culture employé doivent être confirmées. Il faut également que toutes les opérations réalisées soient tractables dans le dossier de lot, incluant les interventions planifiées et non planifiées. Trois TRA conformes consécutifs doivent être effectués pour la validation d'un nouveau procédé de remplissage aseptique.

Si le critère d'acceptation est dépassé dans quelconque des trois TRA de validation, une action appropriée doit être prise et les TRA doivent être répétés jusqu'à ce que trois tests successifs réussis soient obtenus. En réalité, il n'est généralement pas facile de définir avec précision la source de contamination dans un TRA, et cette difficulté n'est que plus prononcée pour un nouveau processus.

6.4 Les contrôles en cours de production : ⁽⁸⁴⁾

Un plan robuste doit être en place pour surveiller le niveau de la biocharge, et des endotoxines dans le produit intermédiaire, et cela lors de plusieurs points critiques du process. Ces contrôles sont essentiels pour évaluer l'efficacité des mesures de maîtrise de la contamination tout au long du procédé. Comme ils peuvent également servir l'argument de la libération paramétrique du lot, une fois leurs critères d'acceptation satisfaits, dans le cas d'une stérilisation terminale adéquatement menée et contrôlée

Une approche de gestion des risques doit être employée pour déterminer les étapes ou les points du procédé de fabrication qui seraient les plus susceptibles à une contamination, et que leurs données bénéficieront le plus, les efforts de maîtrise de la contamination et l'optimisation du procédé en général. Ces études révèlent généralement que les points où le produit intermédiaire est maintenu dans une cuve pour un temps considérable (entre la fin de la formulation/mélange, et

le début du remplissage par exemple), et ceux immédiatement avant la stérilisation terminale ou la filtration stérilisante sont les plus critiques.

Le temps et les conditions du maintien du produit intermédiaire après la formulation, peuvent représenter une opportunité pour la croissance microbienne. La température, l'eau, l'oxygène, le pH, la valeur nutritive des composants de la formulation, sont des facteurs qui pourraient promouvoir cette croissance. Ce maintien (temps, température) doit être bien évidemment validé, à l'aide de tests de biocharge initiale, et finale (au début et à la fin du temps de maintien), acceptables.

Pour un process aseptique, l'échantillonnage du produit avant la réalisation de la filtration stérilisante, est primordiale, pour s'assurer que la capacité de rétention microbiologique du filtre est adéquate pour celle-ci. Des limites acceptables de la biocharge doivent être déterminées, cependant, les directives EMA en relation avec les produits stériles, recommande pas plus de 10ufc/100 ml du produit.

7 Le personnel :

7.1 Introduction : ⁽¹²⁾

De toutes les sources potentielles de contamination dans une zone de fabrication de produits injectables, le personnel est considéré comme la plus grave, et la plus difficile à maîtriser. Car ultimement, son comportement dans le système, est facilement influençable par des facteurs émotionnels et physiques imprévisibles, et rarement détectables. C'est donc l'élément qu'introduit le plus de variabilité au système.

Néanmoins, des mesures doivent être prises pour minimiser le risque de contamination présenté par le personnel dans un environnement contrôlé. Ces mesures doivent inclure, un habillage approprié à chaque classe d'environnement, des règles et consignes d'hygiène et de comportement, et une formation qui ne cesse de mettre à jour les connaissances critiques du personnel, et leur conscience des risques de contamination qu'ils introduisent au système.

7.2 L'habillage : ⁽³³⁾ ⁽⁸⁵⁾

Des tenues spécialement conçues pour être portées par le personnel dans les environnements contrôlés, sont d'une importance critique quant à la maîtrise de la contamination de source humaine.

L'homme transporte et émet constamment des contaminants particuliers, viables et non viables, dans son environnement. Le but avec cette habillage spécial, bien que loin d'être parfait, est de minimiser ce taux d'émission, à des niveaux qu'on pourra plus facilement éliminer grâce aux autres mesures de la maîtrise de contamination, comme le flux d'air propre, et le nettoyage et désinfection des ZAC. Cela est achevé avec une conception de tenues qui :

- fournissent une barrière qui retient les particules émises par la personne, tout en assurant un niveau d'aération convenable.
- permettent une liberté de mouvement confortable à l'opérateur.
- Achèvent une couverture totale du corps dans les zones qui le demandent.

- Doivent être conçues de matériaux et tissus n'émettant pas de particules eux même, et d'une manière à éviter les points repliés qui peuvent accumuler la contamination. Les ouvertures quant à elles doivent être aussi étroites que possible (fermeture élastique sur poignet, cheville, col...), et les points de coutures bordés, afin de minimiser la fuite des particules émises par la personne.

- Dans le cas des tenues réutilisables, ils doivent avoir une certaine résistance aux cycles de nettoyage et désinfection/stérilisation, pour éviter qu'ils ne deviennent une source de contamination avec la dégradation progressive de leurs matériaux.

Les BPF décrivent le type d'habillement qui doit être respecté pour chaque classe de ZAC :

- **Classe D** : les cheveux et la barbe doivent être couverts par charlotte et cache barbe. Un vêtement protecteur avec des chaussures ou couvre-chaussures doit être porté.

Classe C : charlotte et cache barbe, ainsi que des chaussures ou couvre-chaussures sont également portés ici. Un vêtement approprié serait composé d'une veste et d'un pantalon ou d'une combinaison, avec les poignets serrés et le col montant. Le tissu du vêtement ne doit pas émettre de particules.

Classe A/B : une cagoule doit totalement couvrir les cheveux, barbe et moustache, et doit être reprise étroitement sous le col de la combinaison. Un masque doit en plus être porté, afin de retenir les gouttelettes émises par la parole, la respiration, la toux, ou l'éternuement. Des gants de caoutchouc stérilisés où les manches sont enserrées, ainsi que des bottes stérilisées /désinfectées où la terminaison du pantalon est étroitement reprise, sont indispensables. Ce vêtement bien évidemment ne doit pas émettre de particules.

Le choix du tissu, ses matériaux, et la façon dont ils sont tissés, peut considérablement influencer sa capacité de retenir les particules. Une variété de tissus peut être utilisée pour la fabrication de vêtements pour salles blanches. Parmi les principaux types disponibles on compte :

- **Les types tissés** : Ce sont des vêtements généralement fabriqués avec des fibres synthétiques continus, en polyester. Le tissage sophistiqué de ces fibres permet d'avoir un vêtement avec des pores de taille minimisée, pour une meilleure rétention particulaire. La fibre de polyester est considérée comme solide, non absorbante et peut être traitée pour réduire les charges

électrostatiques. Ils sont le plus souvent réutilisables, comme ils peuvent être stérilisés par irradiation gamma.

- **Les types laminés** : fabriqué par laminage de plusieurs couches, généralement une membrane polytétrafluoroéthylène (PTFE) externe pour une adhérence réduite de particules, liée à une base polyester tissé. Il est rapporté que ce type de vêtement libère environ 50% de particules en moins que les vêtements en polyester tissé seul.

- **Les types à usage unique** : Ce type est fait généralement de fibres de polyoléfine, liés par un processus thermique sous pression. Ils ont de très petites tailles de pores (environ 10 μm).



Figure 72: Tenue pour environnements contrôlés grades A et B.

Une étude a été menée par Romano et al. , pour déterminer le taux d'émission de particules (viables et non viables, $\geq 0,5 \mu\text{m}$ et $\geq 5\mu\text{m}$) par le personnel dans une ZAC, tenant compte de différentes combinaisons d'habillement (combinaison de Polyester tissé réutilisable ou fibres non tissés à usage unique, nombre de cycles de lavage/séchage subis, type (polyester ou coton) de tenue du personnel sous la combinaison). Il a été trouvé que les combinaisons à usage unique sont associées avec un taux d'émission réduit des particules, non viables ainsi que viables. En plus de ça, les vêtements portés sous les combinaisons ont également eu un impact significatif sur les particules mesurées, avec ceux faits de polyester étant supérieur dans leur performance à ceux faits de coton.

7.3 Hygiène et comportement du personnel : (30) (85) (86)

Une bonne hygiène personnelle ne peut être suffisamment soulignée lorsque l'on travaille selon des normes élevées de propreté.

Comme la contamination se propage le plus souvent par contact avec les mains, le suivi de certaines mesures de « bon sens » simples, par le personnel, aurait un impact considérable sur la maîtrise de celle-ci. Ces mesures comptent le lavage fréquent des mains, en particulier après chaque geste sale (après avoir toussé, éternué, utilisé les toilettes, ou fumé lors des pauses), et surtout avant chaque geste propre, (l'habillage dans les vestiaires pour accéder aux zones contrôlées). Il est également important d'être attentif à la condition de ses ongles, cuticules, et à l'existence des plaies et lésions ouvertes sur les mains, parce que, pour être bien lavée, la main ne doit présenter ni blessure, ni maladie de la peau, les ongles doivent être courts et non vernis, et aucun bijou ne doit être porté. Les cheveux doivent également être lavés régulièrement, et les barbes longues et mal entretenues, évitées. La bouche étant aussi une source majeure de contamination, une bonne hygiène bucco-dentaire est vitale.

Les personnes souffrant de problèmes de santé pouvant entraîner une émission ou une dissémination anormalement élevée de particules et de micro-organismes, ne devraient pas être autorisées dans des salles de remplissage aseptiques, jusqu'à guérison complète. Les conditions pertinentes comprennent l'eczéma, le psoriasis, les orgelets et les furoncles, la toux, le rhume et la rhinite saisonnière

En ce qui concerne le comportement du personnel dans les zones à atmosphère contrôlée, il existe un certain nombre de règles fondamentales qu'il faut suivre, et chaque déviation de ces consignes peut potentiellement être la cause d'une contamination ultérieure :

- Suivre les procédures d'hygiène personnelle déjà citées.
- Respect et application des règles et procédures d'habillage approprié en tout temps.
- Désinfection des mains gantées à chaque fois avant d'entrer dans une zone critique, et savoir quand le changement des gants est nécessaire. Il ne faudra jamais toucher une surface de contact du produit directement avec la peau non couverte.

- N'introduire aucun objet non nécessaire au procédé dans les zones contrôlées, et surtout pas aux zones aseptiques
- Garder les interventions aseptiques au minimum possible.
- Être conscient de la possibilité de perturbation du flux d'air laminaire avec un objet mal placé, ou une mauvaise posture dans la zone critique, et l'éviter.
- Minimiser les conversations. Il faudra surtout éviter de crier ou élever la voix, et quand l'éternuement ou la toux sont inévitables, la personne doit se détourner de la zone de travail critique. Une étude faite par Asadi et al. , a démontré que le taux d'émission des particules lors de la parole est positivement corrélé à l'amplitude de la vocalisation.
- Il faudra également minimiser les mouvements du corps et réduire leur intensité, en particulier dans les zones de classe A/B. Vers ce point, l'étude citée pour l'habillement, a également démontrée que les mouvements larges et intenses donnent un taux d'émission de particules plus important, spécialement avec la levée des bras, et le fléchissement exagéré des genoux lors de la marche.

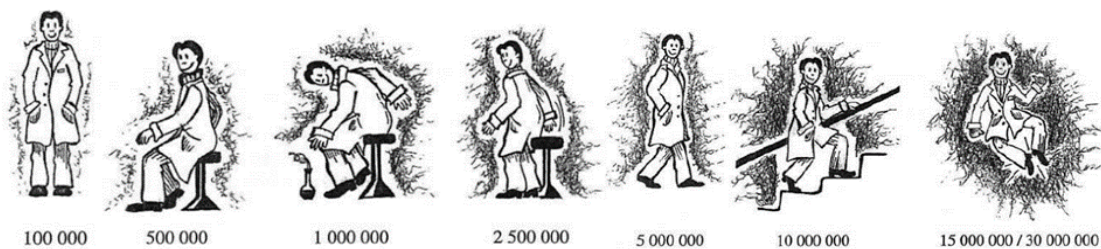


Figure 73: Le taux d'émission des particules est fortement corrélé à l'intensité d'activité de la personne.

7.4 Formation : (87)

La formation est un processus dynamique, essentiel au succès des opérations de fabrication, qui doit se dérouler tout au long de la carrière de chaque employé. Une équipe d'experts doit donc être assemblée pour l'élaboration de ce programme, et pour être compréhensive dans sa vision, doit inclure des membres opérateurs expérimentés, des microbiologistes, ainsi que des membres de l'assurance qualité. Ce programme, doit généralement traité des éléments suivants :

- Une explication claire et pertinente des concepts de base de la microbiologie, dans le contexte des opérations en ZAC, pour promouvoir une prise de conscience des risques microbiologiques dans ces environnements.
- Une liste compréhensive, avec explication du raisonnement, des types de comportement acceptables, et non acceptables dans les ZAC, et lors du travail dans les zones critiques, pour minimiser les risques précédemment discutés. Une consigne est plus respectée quand on comprend sa raison d'être.
- Une vue globale de la réglementation (BPF) applicable aux ZAC (classification, opérations dans celle-ci), ainsi qu'à la fabrication aseptique.
- Exigences et procédures relatives à l'habillement, l'hygiène personnelle, et la régulation du flux du personnel vers/à partir des différents ZAC.
- Une explication des techniques spécifiques et procédures de travail aseptique (manipulation et transfert aseptique, importance du flux d'air laminaire sans perturbations).
- Bonnes pratiques de documentation.
- Les bases du nettoyage et désinfection.
- Une formation plus spécialisée doit être fournie au personnel responsable du monitoring environnemental, et ceux qui rencontrent des risques spécifiques dans leurs tâches (manipulation produit toxique).

Toutes ces explications, consignes, procédures écrites, et leçons pratiques, ne sont efficace pour la formation que lorsqu'on les associe à des méthodes d'évaluation. Le personnel en question doit donc être examiné, comme partie du programme de formation, pour juger ses compétences acquises. Cet examen inclut généralement, des opérations supervisées, de nature critique et moins critique, pour obtenir une certification microbiologique qui témoigne de la capacité du personnel à effectuer correctement les tâches qui lui sont assignées, avec un niveau convenable de maîtrise de contamination. Par exemple, la capacité de s'habiller pour accès à une ZAC, sans contaminer la tenue au-dessus des limites acceptables, en est un tel test. Un autre examen, plus intégral, permet à l'opérateur de participer à un TRA/Media Fill, pour illustrer avec la preuve du lot réussi, les compétences nécessaires à la fabrication aseptique.

8 Contrôle du produit fini :

8.1 Les particules visibles :

Tout produit fini parentéral doit être soumis à une inspection visuelle par une personne qualifiée, ou contrôlé automatiquement à l'aide d'une machine, pour confirmer l'absence de toute particule visible, ou défaut dans le système récipient-fermeture du produit qui pourrait compromettre son intégrité, et par conséquent sa qualité. Les unités sont également observées pour détecter tout aspect inhabituel du produit (couleur, limpidité...).

8.1.1 L'inspection visuelle manuelle : ⁽⁸⁸⁾

La pharmacopée européenne indique que la procédure d'inspection manuelle doit être telle que le récipient du produit, doucement agité par l'opérateur, doit être observé sous un éclairage adéquat (2 000 à 3 750 lux au point d'observation), pour au moins 5 secondes avec un panneau blanc comme arrière-plan, et ensuite avec un panneau noir pour la même période de temps. Toute détection doit être enregistrée, et le récipient en question rejeté du lot. Une limite de rejection doit également être établie, pour s'alerter des lots atypiques, dépassant cette limite.

Cette inspection est soumise à plusieurs facteurs limitants, qui rendent la détection un acte probabiliste. Avec la probabilité de détection d'une même particule, qui diffère d'un inspecteur à l'autre. Il s'agit notamment, du niveau d'acuité visuelle de l'opérateur, son état émotionnel et capacité de concentration, et la fatigue oculaire entre autres.

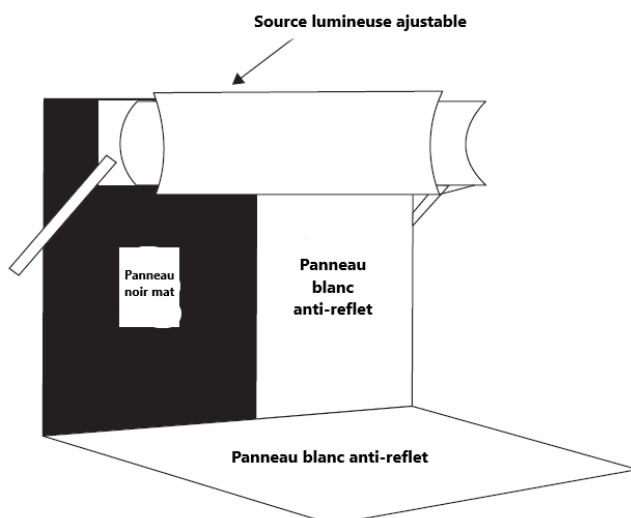


Figure 74: Schéma d'équipement utilisé pour l'inspection visuelle manuelle.

8.1.2 L'inspection visuelle automatique : ⁽⁸⁹⁾

Des machines d'inspection visuelle automatique, peuvent être préférées à l'inspection manuelle. Non seulement elles présentent une variabilité inférieure, et un taux de détection généralement supérieur qu'avec un inspecteur humain, mais elles peuvent en plus être intégrées à une ligne de production continue. Le seul inconvénient avec ses machines, est leur taux de rejet élevé causé par les faux positifs (bulles d'air détectées comme particules généralement). Cependant, ce problème peut facilement être résolu avec la réinspection manuelle des unités rejetées par la machine.

En principe, Ces machines emploient un jeu de caméras pour prendre des images à haute résolution de plusieurs angles de l'unité, pour ensuite les faire analyser par un algorithme préprogrammé décrivant les critères d'acceptation souhaités, afin de rejeter automatiquement les unités non conformes. Des avancées dans le domaine de l'intelligence artificielle, et particulièrement en « Deep Learning », ont permis, et vont continuer de permettre l'amélioration et l'optimisation des algorithmes qui décident de la conformité/non-conformité de l'unité inspectée, pour augmenter le taux de détection des particules, et minimiser en même temps les faux rejets.



Figure 75: Point d'inspection à caméras dans une machine d'inspection visuelle automatique.

8.1.3 La caractérisation des particules détectées : ⁽⁹⁰⁾

Les particules détectées, au cas d'un taux de rejet élevé du lot, peuvent être caractérisées pour déterminer leur nature, qu'elle soit extrinsèque, intrinsèque ou inhérente, et déduire leur source, afin d'implémenter si possible, après appréciation des risques, des mesures correctives qui permettront d'éviter le même scénario pour un futur lot.

L'échantillon est préparé en faisant passer le produit par un filtre revêtu d'or (interférences spectroscopiques réduites), avec des pores de taille $<5\mu\text{m}$, afin de retenir les particules en question sur ceci.

L'échantillon est placé ensuite sous un microscope optique, pour discerner la morphologie de la particule, l'identification peut être faite directement par l'opérateur, ou une image de la particule est prise pour une identification ultérieure, ou comparé à une librairie d'images. Néanmoins, cette identification morphologique est généralement accompagnée par une méthode spectroscopique. Le principe spectrométrique RAMAN, est très exploité dans l'identification des particules, grâce au spectre unique généré par leurs composants moléculaires.

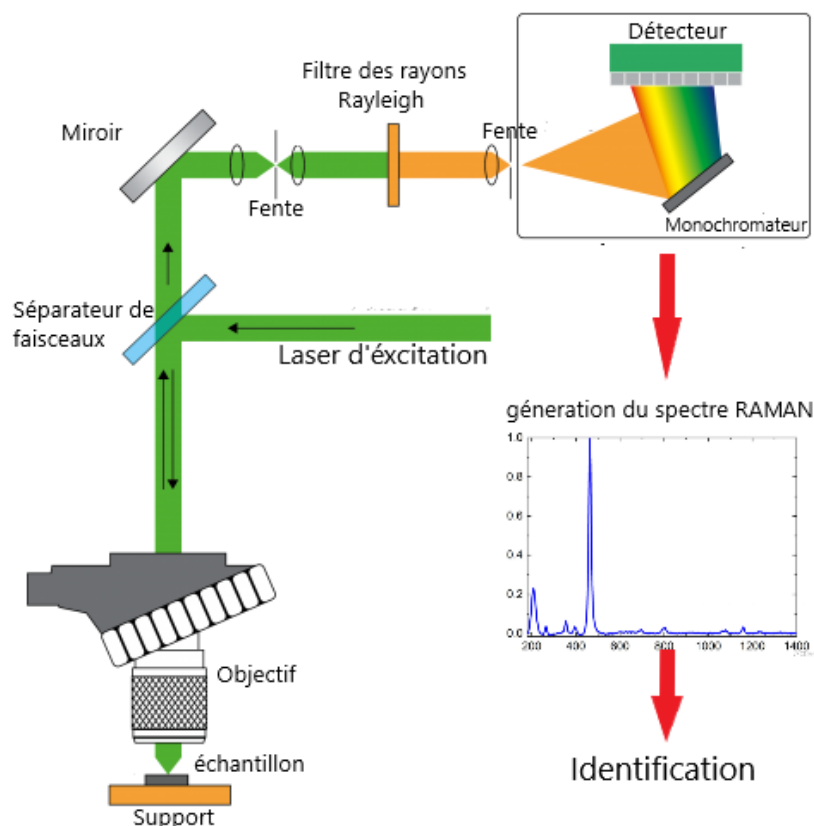


Figure 76: Principe de fonctionnement d'un microscope à spectroscopie RAMAN pour l'identification des particules.

8.2 Les particules non visibles :

Il existe deux méthodes de référence, qui sont détaillées par l'USP et la Ph. Eur., pour la détermination de la contamination particulaire non visible dans les produits parentéraux : le test de comptage de particules par blocage de lumière, et le test microscopique. Tout lot fabriqué, doit être échantillonné, selon un plan statistiquement représentatif de ce dernier, et les échantillons testés doivent tous se conformer aux critères d'acceptation des particules non visibles.

8.2.1 Compteur de particules par blocage de lumière : ⁽⁹¹⁾

Il s'agit de la méthode mentionnée comme préférable, par les pharmacopées, pour la quantification des particules non visibles dans les produits injectables. Néanmoins dans certains cas, où le produit est trop visqueux, ou présente une haute turbidité, la méthode microscopique est un alternatif adéquat.

En principe, Une source lumineuse produit un faisceau de lumière collimaté qui traverse un petit passage rectangulaire et frappe une photodiode qui le convertit en signal électrique. L'intensité lumineuse reçue par la photodiode reste constante tant que le passage est dégagé (absence de particules détectables), par contre, quand le liquide examiné, s'écoulant à travers le passage de détection (perpendiculairement par rapport au faisceau lumineux) contient des particules, il en résulte une réduction de l'intensité normale de la lumière reçue par la photodiode, et donc du signal électrique, avec cette réduction étant proportionnelle à la surface de la particule interrompant le faisceau lumineux. Ainsi, le compteur par blocage de lumière donne la taille des particules détectées en se basant sur le diamètre d'un cercle ayant une surface équivalente à celles-ci, distribuées sur les intervalles suivantes : $\geq 2 \mu\text{m}$; $\geq 5 \mu\text{m}$; $\geq 10 \mu\text{m}$; $\geq 25 \mu\text{m}$; $\geq 50 \mu\text{m}$; $\geq 100 \mu\text{m}$.

Si le volume du produit dans le récipient est inférieur à 25 ml, 10 unités ou plus de produit sont combinées dans le même récipient pour atteindre au moins ce volume. Si nécessaire, pour des volumes unitaires inférieurs à 2,5 ml, les échantillons mis en commun peuvent être dilués avec de l'eau ou un solvant sans particules approprié pour atteindre un volume de 25 ml. Ce contrôle requiert un volume d'échantillon d'au moins 5 ml du produit, à chaque lancement de comptage, et

Pour 4 comptages successifs. Le premier test n'est pas pris en compte, lors du calcul de la moyenne du nombre de particules détectées dans les intervalles de taille $\geq 10 \mu\text{m}$ et $\geq 25 \mu\text{m}$.

Les injectables de grand volume ($>100 \text{ ml}$) peuvent être testé par unité individuelle, mais pas moins de 10 unités doivent être contrôlées.

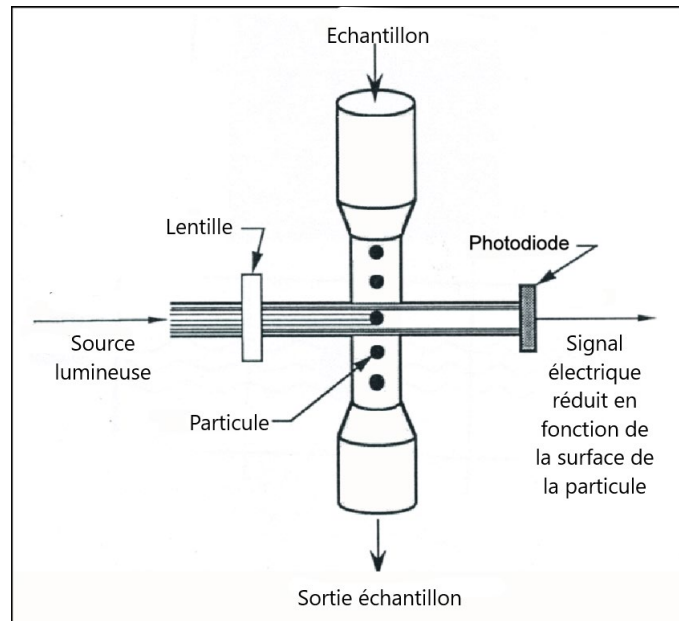


Figure 77: Schéma du principe de fonctionnement du compteur de particules par blocage de lumière.

Dans le cas des préparations thérapeutiques protéiques, présentant une haute interférence contre la détection des particules non visibles à cause, principalement, d'une concentration élevée d'agrégats protéiques, une dilution du produit peut être envisagée, avec un volume total d'échantillons inférieur à 20 ml pour les 4 comptages. Une étude réalisée par Hawe et al, a trouvé que des volumes aussi bas que 1 ml par comptage (4 ml pour le volume total de l'échantillon examiné), peuvent être employés, sans compromettre les résultats du comptage particulaire.

8.2.2 La méthode microscopique : ⁽⁹²⁾

La méthode microscopique devient préférable, quand on a affaire aux émulsions, colloïdes, ou liposomes comme exemples, et pour la même raison, les produits qui génèrent des bulles d'air lorsqu'ils sont aspirés vers le détecteur du compteur particulaire. L'échantillon à examiner est filtré sur une membrane de porosité inférieure ou égale à $1 \mu\text{m}$, et les particules retenues sur cette membrane sont ensuite dénombrées sous microscope binoculaire approprié, équipé d'un micromètre oculaire étalonné avec un micromètre objet. Cette méthode fournit des

données à la fois qualitatives et quantitatives, des particules d'au moins 10 μm peuvent être comptées et décrites en fonction de leur forme et, parfois, de leur nature (par exemple, une fibre de coton, un morceau de verre ou un fragment métallique). Des images fournissent en outre un archive permanent des résultats.

Le récipient de l'échantillon est inversé une vingtaine de fois avant que tout son volume (on effectue un pooling d'échantillons si le volume unitaire est inférieure à 25 ml) ne soit transféré dans l'entonnoir de filtration, où il est laissé en repos pendant 1 minute avant qu'un vide ne soit démarré pour le filtrer. La section d'entonnoir de l'assemblage de filtration est soigneusement retirée, et la membrane de filtration est soulevée de la base à l'aide de pinces, et placée dans une boîte de Pétri entrouverte sous un flux d'air laminaire, pour le séchage, après lequel, La boîte de pétri contenant la membrane filtrante est placée sur la platine micrométrique du microscope pour analyse. Deux tailles de particules sont comptées, celles ayant des dimensions linéaires effectives $\geq 10 \mu\text{m}$ et $\geq 25 \mu\text{m}$. La détermination de la taille est effectuée par transformation mentale de l'image de chaque particule en un cercle, et sa comparaison aux cercles de référence. Les dénombrements obtenus à partir des membranes échantillons sont comparés aux dénombrements obtenus à partir du témoin négatif, si 5 particules ou plus $\geq 25 \mu\text{m}$ et/ou plus de 20 particules à $10 \mu\text{m}$ sont comptées sur la membrane du témoin négatif, le test est invalidé.

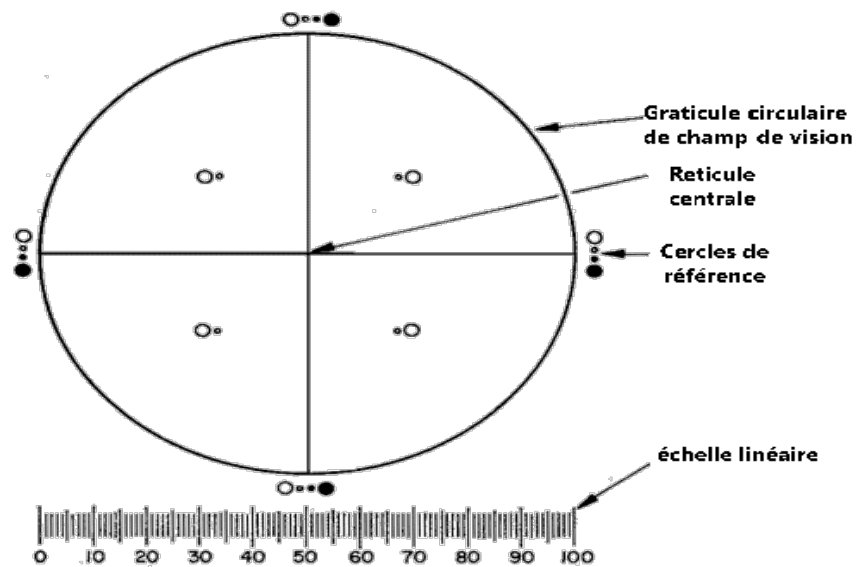


Figure 78: Schéma de la graticule du champ de vision (GCV) pour le comptage microscopique des particules.

Le tableau suivant donne une vue comparative des 2 méthodes de la pharmacopée en résumant leurs principales différences :

Tableau 13: Comparaison des deux méthodes de la détermination de la contamination particulaire non visible dans les produits parentéraux.

Critères de comparaison	Méthode 1	Méthode 2
Principe d'analyse	Blocage de lumière	Filtration sur membrane et microscopie
Temps d'analyse	Relativement court	Relativement lent
Facteur de biais	Bulles de gaz	Erreur de préparation d'échantillon, et d'analyse d'image microscopique
Détermination de la taille	Répartition statistique par intervalle de taille	Taille précise pour chaque particule analysée
Distribution des tailles	Résolution modérée	Haute résolution
Estimation de la forme et nature des particules	Rendement quantitatif	Rendement quantitatif et qualitatif

8.2.3 Les critères d'acceptation des particules non visibles : ⁽⁹²⁾

Les limites de particules non visibles dans les produits injectables, sont harmonisées à travers les différentes pharmacopées (Ph. Eur., USP, JP), et sont fonction du volume de la préparation parentérale et de la taille des particules, comme indiqué sur le tableau suivant :

Tableau 14: La limite des particules non visibles autorisées selon la méthode employée et le volume du produit.

Volume de la préparation parentérale	Taille des particules	Méthode (1) : blocage de lumière	Méthode (2) : comptage microscopique
> 100 ml	$\geq 10 \mu\text{m}$	25 par ml	12 par ml
	$\geq 25 \mu\text{m}$	3 par ml	2 par ml
≤ 100 ml	$\geq 10 \mu\text{m}$	6000 par contenant	3000 par contenant
	$\geq 25 \mu\text{m}$	600 par contenant	300 par contenant

8.2.4 Autres méthodes : ⁽⁹³⁾

Les préparations à macromolécules biologiques, peuvent présenter un haut niveau de particules inhérentes, notamment des agrégats protéiques, qui se forment par interaction des protéines avec eux-mêmes ou avec un autre agent extrinsèque ou intrinsèque, comme une particule de silicone. Pour des raisons de contrôle de qualité, ces préparations doivent avoir des limites pour les particules $\leq 10 \mu\text{m}$, et des méthodes de comptage et caractérisation des particules, comme extrinsèques, intrinsèques ou inhérentes, entre 2 et $10\mu\text{m}$ deviennent donc utiles.

- **Le compteur Coulter (0,4 – 1600 μm):** La méthode est basée sur le principe d'augmentation de la résistance du courant ionique entre deux électrodes séparées par une ouverture de longueur et diamètre fixes, lors du passage d'une particule par celle-ci. Le changement de la résistance est proportionnel au volume sphérique de la particule en question, et inaffecté par son type. Les fluctuations du courant sont enregistrées comme pulsations de voltage à amplitude proportionnel au volume de la particule, avec leur fréquence représentant la concentration en particules.

- **La Diffraction laser (0,1 – 3500 μm)** : Les particules qui traversent un laser, le diffractent dans des angles spécifiques qui dépendent de leur taille. C'est une technique non destructive.

- **Analyse par imagerie en flux (0,7 – 100 μm , taille ; 4 – 100 μm , morphologie)** : L'échantillon, dans ce système, est passé par une cellule de flux illuminée, où une caméra spécialisée à haute fréquence de capture, prend des images de haute résolution des particules en motion, les énumérant. Ces images peuvent également être analysées par un algorithme, pour des besoins de caractérisation.

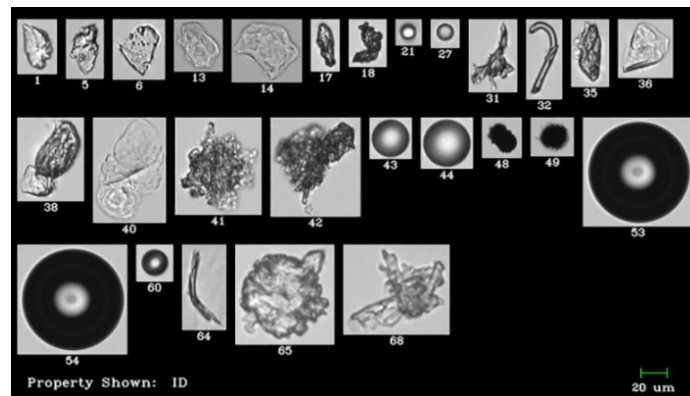


Figure 79: Des images de fragments de verre, agrégats protéiques, gouttelettes de silicone, et autres particules prises par imagerie en flux.

8.3 Essai d'endotoxines bactériennes :

Historiquement effectué sur le lapin, l'essai des pyrogènes est aujourd'hui plutôt synonyme au test du Lysat d'Améboocytes de Limule (LAL), plus communément appelé essai d'endotoxines bactériennes ; pyrogènes, LPS et endotoxines sont couramment utilisés de manière interchangeable dans le cadre de cet essai. C'est la méthode de choix pour la quantification d'endotoxines dans les produits parentéraux.

8.3.1 La limite autorisée d'endotoxines : ⁽⁹⁴⁾

La dose seuil pyrogène « K » ; dont l'unité d'évaluation universelle est « l'unité endotoxine » (UE), approximative pour un être humain adulte est de 5 UE/kg/h, comme indiqué dans les pharmacopées. Toute administration d'un produit contenant une dose supérieure à 5 UE/kg/h entraînera très probablement une réaction fébrile. Il a donc été établi que 5 UE/kg/h est la limite maximale pour la plupart des produits injectables. Avec le poids moyen d'un adulte étant

de 70 kg, la quantité totale d'endotoxines pouvant être administrée à un être humain ne doit donc pas dépasser 350 EU/h.

Il est également reconnu que les produits injectables qui sont administrés dans le liquide céphalo-rachidien (intrathécale) nécessitent une limite de seuil K beaucoup plus basse, de 0,2 UE/kg/h, ou 14 UE/adulte/h. Il est donc important de considérer la voie d'administration lors de la détermination de la limite autorisée d'endotoxines pour le produit à tester. Le tableau suivant donne les valeurs K selon la voie d'administration et le type du produit :

Tableau 15: La dose seuil pyrogène « K » selon le type du produit et sa voie d'administration.

Type de produit	Voie d'administration	K	
		/personne (70kg)	/kg
Toutes les préparations parentérales	Intrathécale*	14	0,2
Radiopharmaceutiques	IV	175	2,5
Toutes les préparations parentérales sauf les radiopharmaceutiques	Toutes les voies parentérales sauf l'intrathécale	350	5,0

* : Quand un produit peut être administré par voie intrathécale en plus d'une quelconque autre voie parentérale, la valeur k de la voie intrathécale, étant plus stricte, est prise comme base pour déterminer la limite d'endotoxines pour le produit.

Le calcul de la limite d'endotoxines pour un produit médicamenteux injectable est effectué par la formule suivante :

$$EL = \frac{K}{M}$$

Où K est la dose seuil d'endotoxines ayant un effet pyrogène, par kilogramme de masse corporelle. Et, M la dose maximale recommandée pour le produit, en bolus, par kilogramme de masse corporelle. «EL» est la limite autorisée d'endotoxines pour le produit, exprimée

généralement en UE/ml. Il est important de noter que cette limite est basée sur une concentration de produit spécifique. Si la concentration du produit change, la limite d'endotoxine changera.

La limite autorisée d'endotoxines de chaque produit parentéral doit être déterminée avant de procéder aux tests d'endotoxines bactériennes.

8.3.2 Le test du lysat des amébocytes de limule (LAL) :

8.3.2.1 Principe biologique : ⁽⁹⁵⁾

Le test LAL, doit son principe au phénomène, connu depuis les années 50, de coagulation (formation d'un caillot) du sang du limule (*Limulus polyphemus*), lorsque ce dernier est en contact avec les endotoxines des bactéries gram négatif (LPS). Il est actuellement reconnu que cette coagulation est le produit d'une cascade d'étapes d'activation, déclenchée par des endotoxines, d'enzymes retrouvées dans des granules d'amébocytes (cellules sanguines du limule), aboutissant au clivage d'une protéine, le coagulogène. Le produit insoluble du clivage du coagulogène, la coaguline, s'unit par interaction ionique. Si une quantité suffisante de coaguline est formée, une turbidité apparaît, suivie par la formation d'un gel-caillot.

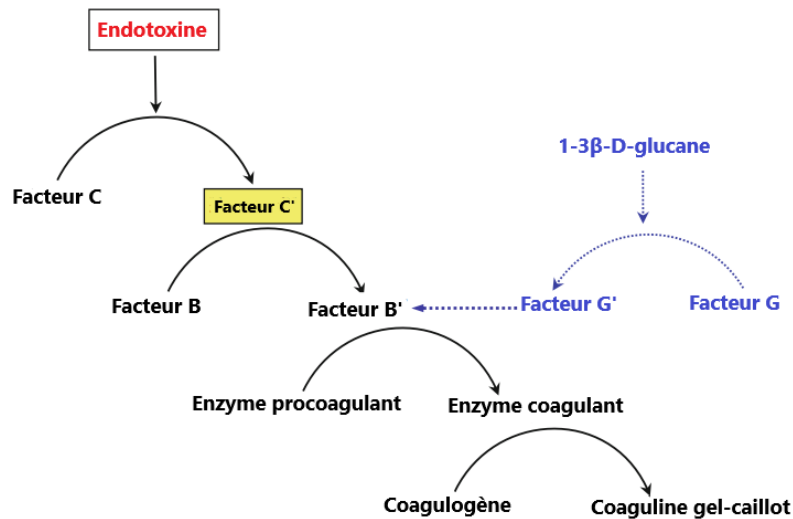


Figure 80: Cascade de coagulation LAL en présence du LPS.

C'est sur cette base que le LAL, fabriqué à partir de l'extrait protéique soluble (lysate) des amébocytes, est devenu le réactif de test incontournable pour la détection et la quantification d'endotoxines. Tous les lysats commerciaux peuvent détecter des picogrammes (10^{-12} g) d'endotoxines.

8.3.2.2 Les méthodes du test : ⁽⁹⁴⁾

Les principales méthodes de test LAL sont la gélification, et deux autres photométriques.

- **La gélification** : c'est une méthode (essai limite et essai semi-quantitatif) qui exploite la cascade de coagulation déclenchée par les endotoxines, qui se produit naturellement chez le limule, pour produire un gel-caillot après incubation à 37 ± 1 ° C. Ici, une protéine de coagulation est clivée par une enzyme de coagulation activée, auquel point les produits de clivage insolubles se rassemblent et forment un gel. La méthode est réalisée à l'aide de tubes en verre dépyrogénés contenant un volume égal de solution d'essai et de lysat (généralement 0,1 ml de solution d'essai et 0,1 ml de lysat) qui sont mélangés ensemble et incubés dans un bain-marie non agité à 37 ° C, pendant 1 h. Après cela, le point final est observé en inversant soigneusement le tube de 180 °. Le tube est considéré comme positif pour l'endotoxine si, après inversion à 180°, un caillot solide (gélification) s'est formé et reste intact. Le tube est considéré comme négatif pour l'endotoxine si aucun caillot ne se forme, ou si le caillot se brise par inversion du tube.

- **La turbidimétrie** : Avec ce test (cinétique ou en point final), au cours du processus de formation de caillots, le mélange réactionnel lysat-échantillon devient de plus en plus trouble. La concentration de coaguline insoluble augmente à mesure que son précurseur, le coagulogène, est clivé. Ce processus provoque une augmentation correspondante de la densité optique (DO) du mélange réactionnel. C'est cette augmentation de DO qui est détectée par un spectrophotomètre. Le taux d'augmentation de la DO, ou le temps pour arriver à une certaine valeur du DO, est directement proportionnel à la concentration d'endotoxines présente dans l'échantillon.

- **La méthode chromogénique** : l'essai chromogénique (en point final ou cinétique) utilise un substrat chromogène synthétique qui contient une séquence spécifique d'acides aminés qui sont conçus pour imiter le site de clivage de la coagulogène. Les enzymes de coagulation activées clivent ce site et provoquent la libération du chromophore (p-Nitroaniline, pNA), qui a une couleur jaune. Le pNA libéré absorbe la lumière à 405 nm, et la mesure du taux de changement de cette absorption dans le temps nous indique la concentration d'endotoxines dans l'échantillon.

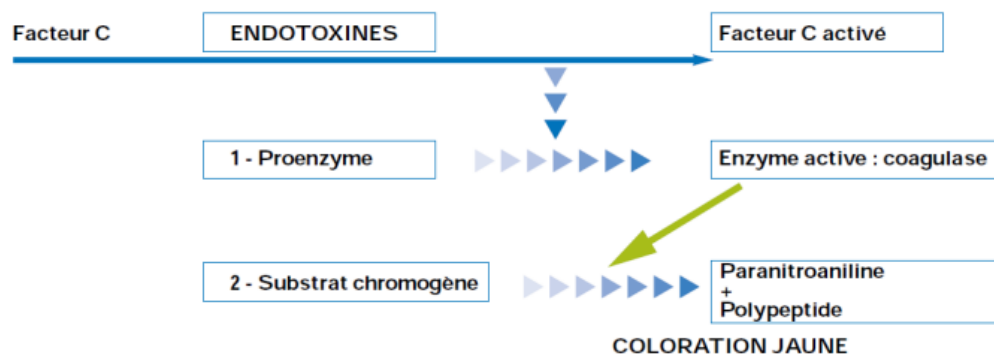


Figure 81: Cascade de la réaction produite lors de l'essai chromogénique.

Lors de l'utilisation de méthodes cinétiques, l'aspect le plus important est la courbe d'étalonnage des concentrations d'endotoxines. En effet, la courbe d'étalonnage sélectionnée et son fonctionnement déterminent la sensibilité du test. Par conséquent, le point maximal et le point le plus bas de la courbe déterminent les limites inférieures et supérieures d'endotoxines pouvant être détectés par la méthode.

8.3.2.3 Interférences et dilution maximale valide : ⁽⁹⁴⁾

Les interférences peuvent affecter le lysat ou l'endotoxine. L'inhibition ou l'amélioration de la détection des endotoxines est normalement exposée par l'utilisation de contrôles dopés. L'inhibition est sans doute la plus grande préoccupation car elle peut entraîner une incapacité à détecter le niveau réel d'endotoxine dans un échantillon.

Lors de la réalisation de tests LAL, la dilution des échantillons est importante. Ceci afin de minimiser les effets de tout composant de la substance testé, qui peut être inhibiteur de la réaction LAL. Cependant, il est impératif que le matériau testé ne soit pas trop dilué car cela garantirait éventuellement des faux négatifs. La façon d'éviter cela est d'avoir une dilution maximale valide (MVD), qui est dérivée du rapport de la limite d'endotoxine du produit et la sensibilité du test :

$$MVD = \frac{\text{limite en endotoxines} \times \text{Concentration de la solution à examiner}}{\lambda}$$

Où λ , la sensibilité relative à la méthode du test utilisée, équivaut à la concentration la plus basse dans la gamme d'étalonnage.

8.4 La méthode au facteur C recombinant : ⁽⁹⁵⁾ ⁽⁹⁶⁾

Des avancées biotechnologiques ont permis le développement et la production du facteur C recombinant, extrêmement sensible et réactif aux endotoxines (sensibilité de 0,001 UE/ml), sur lequel cette méthode est basée. Le FCr agit comme proenzyme, jusqu'à ce qu'il rencontre l'endotoxine, à tel point, le FCr enzymatiquement activé (FCr'), provoque l'hydrolyse d'un substrat, formant ainsi un agent quantifiable par colorimétrie ou par fluorescence.

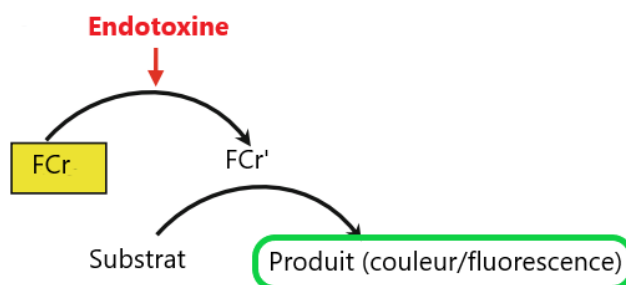


Figure 82: La cascade courte au FCr pour la quantification d'endotoxines.

Le FCr permet un essai d'endotoxines rapide, et sans interférence par les composants normalement retrouvés dans le lysat, comme le 1-3 β -D-glucane qui active le facteur G de la cascade LAL et réduit sa spécificité potentielle aux endotoxines, et nécessite pas, en plus, l'exploitation des espèces des limules dans son production.

Une étude menée par Maïke Piehler et al, a fait la comparaison, dans le cadre d'un programme de surveillance d'application sur le terrain entre 2014 et 2019, de la robustesse des deux essais, LAL et FCr, pour la quantification des endotoxines. Les résultats ont démontrés que les deux tests étaient comparables dans leur performance. Cependant les méthodes basées sur le FCr ont démontrées leur supériorité, quant au taux de récupération d'endotoxines, en comparaison avec les méthodes LAL. Cela confirme la pertinence et l'applicabilité de la méthode au FCr pour le contrôle d'endotoxines dans les produits injectables.

8.5 Essai de stérilité :

Pour les produits répartis aseptiquement, et certains stérilisés en phase terminale, le test de stérilité est une exigence réglementaire (selon la FDA des États-Unis et l'Agence européenne

des médicaments). C'est un test d'arbitrage, car son résultat informe, parmi d'autres facteurs, la décision de libération du lot testé. Par ailleurs, pour assurer la stérilité, d'autres exigences en matière de BPF doivent être en place, contrôlées et surveillées, telles que le programme de surveillance environnementale, et la validation des processus de fabrication aseptique et de stérilisation terminale. Le test de stérilité du produit fini représente donc une partie des données qui contribuent à la décision de déclarer ou non, un lot de produit comme stérile, et sa libération. L'essai a été introduit pour la première fois en 1932 dans la pharmacopée britannique en tant que test d'inoculation directe. Cela a été suivi par l'USP en 1935. Une version de filtration sur membrane a été introduite en 1957, devenue depuis la méthode de référence.

8.5.1 Echantillonnage pour l'essai de stérilité : ⁽⁹⁷⁾ ⁽⁹⁸⁾

Le plan d'échantillonnage pour l'essai de stérilité doit être statistiquement valide pour que ses résultats puissent être pris en compte lors de la décision de libération du lot. Une approche qui considère le nombre d'unités dans le lot, et le volume de produit par récipient, est détaillée dans les pharmacopées, dans des chapitres harmonisés. Par exemple, si la taille du lot est supérieure à 500 unités, au moins 20 unités sont échantillonnées. Si la taille du lot est comprise entre 100 et 500 unités, pas moins de 10 sont testées, bien qu'il existe des exigences minimales pour les tests de stérilité des produits biologiques. Pour les produits parentéraux de grand volume (LVP) (volume de 100 ml ou plus par contenant), au moins 2% du lot ou 10 récipients, la valeur la plus petite, sont échantillonnés.

Sachant que le produit parentéral administré au patient ne peut pas être testé pour sa stérilité, il est absolument essentiel que la procédure d'échantillonnage soit aussi valide et représentative de l'ensemble du lot que possible, pour avoir le plus de probabilité de détecter une brèche catastrophique dans le système implémenté d'assurance de stérilité. Néanmoins, La FDA dans ces directives GMP sur les procédés aseptiques, reconnaît la limite inhérente du test à détecter la contamination à cause des tailles d'échantillons typiquement utilisés, en citant que « Les évaluations statistiques indiquent que les plans typiques d'échantillonnage ne permettent la détection de la contamination dans un lot, dans lequel 10% des unités sont contaminées, que neuf fois sur dix ».

Le tableau suivant résume le plan d'échantillonnage selon les standards de la pharmacopée :

Tableau 16: Les exigences d'échantillonnage telles que spécifiées dans la section des essais de stérilité de la Pharmacopée européenne (Ph. Eur.)

Nombre d'unités dans le lot ^a	Nombre minimum d'unités à tester par milieu de culture ^b (Sauf indication contraire justifiée et autorisée)
Pas plus de 100 récipients.	10 % ou 4 récipients ; la valeur la plus élevée.
Plus de 100 et moins de 500 unités.	10 récipients.
Plus de 500 unités.	2 % ou 20 récipients (10 pour les LVP) ; la valeur la plus petite.
<p>a : Si la taille du lot est inconnue, utilisez le nombre maximal d'articles prescrit / b : Si le contenu d'un récipient est suffisant pour inoculer les deux milieux, cette colonne donne le nombre de récipients nécessaires pour les deux milieux ensemble</p>	

8.5.2 Les méthodes de référence d'essai de stérilité :

L'essai de stérilité est un test qualitatif, c.à.d. qu'il discerne la présence ou l'absence de microorganismes dans l'échantillon, en se basant sur leur capacité de croissance dans deux types de milieux de culture. La pharmacopée spécifie deux méthodes de référence pour la réalisation des tests de stérilité, la méthode de transfert ou d'inoculation directe, et la méthode de filtration sur membrane, en précisant que cette dernière, lorsqu'elle est faisable, est préférable.

8.5.2.1 Les Milieux de culture : ⁽⁹⁷⁾

La pharmacopée décrit deux types principaux de milieux de culture à utiliser dans les tests de stérilité des produits parentéraux :

- Le premier est le thioglycolate (Fluid Thioglycollate Medium/FTM), principalement utilisé pour la croissance des bactéries anaérobies. Le thioglycolate et la L-cystéine sont des antioxydants ou des agents réducteurs qui maintiennent l'anaérobiose dans les niveaux inférieurs

du tube de milieu de culture. Le bouillon FTM présente une couleur rosâtre dans la partie supérieure de la solution indiquant la présence de résazurine sodique, un indicateur sensible à l'oxygène. La couleur rose ne doit pas consommer plus d'un tiers du volume du milieu.

- Le deuxième est l'hydrolysate de caséine et de soja (Soybean-casein Digest/SCD), il présente un pH légèrement plus élevé ($7,3 \pm 0,2$) que le FTM ($7,1 \pm 0,2$). Comme c'est un excellent milieu nutritionnel pour les contaminants fongiques, il favorise leur croissance. Il est également considéré comme un meilleur média pour les bactéries aérobies à croissance lente en comparaison avec le FTM.

Pour vérifier que les milieux de culture utilisés pour l'essai de stérilité ne manifestent aucune activité antimicrobienne et permettent la croissance et la récupération des microorganismes pour lesquels on test, un petit nombre de micro-organismes (10 à 100 UFC) sont inoculés dans le milieu SCD pour la détection des champignons et des bactéries aérobies, et dans le milieu FTM pour la détection des microorganismes anaérobies. Les microorganismes utilisés lors de ces tests de fertilité représentent généralement différents types retrouvés dans les environnements industriels pharmaceutiques. Il est également nécessaire de prouver la stérilité du media, en incubant, en parallèle du test de fertilité, des milieux non ensemencés. Le milieu est considéré satisfaisant si des preuves visuelles de croissance microbienne sont observées dans les 5 jours sur les milieux inoculés, avec les milieux non ensemencés ne présentant aucune croissance après 14 jours d'incubation, comme le tableau suivant récapitule :

Tableau 17: Tests de validation des milieux de culture

Milieu	Ensemencement direct de Max 100 ufc	Nom du test	Durée d'incubation	Résultat attendu
Hydrolysate de caséine et de soja (SCD)	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Fertilité	5	Trouble
	<i>Bacillus subtilis</i>	Fertilité	3	Trouble
	<i>Candida albicans</i>	Fertilité	5	Trouble
	Pas d'ensemencement	Stérilité	14	Limpide

Thioglycolate (FTM)	<i>Clostridium sporogenes</i>	Fertilité	3	Trouble
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fertilité	3	Trouble
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Fertilité	3	Trouble
	Pas d'ensemencement	Stérilité	14	Limpide

8.5.2.2 Le transfert direct (TD) : ⁽⁹⁷⁾

C'est la méthode traditionnelle du test de stérilité. C'est une méthode simple d'exécution, mais répétitive. Ses étapes sont les suivantes:

- L'ouverture aseptique du récipient d'échantillon à examiner.
- Le prélèvement à l'aide d'une seringue et aiguille stériles, le volume d'échantillon requis pour les deux milieux de culture.
- L'injection de la moitié du volume prélevé dans un tube à essai contenant le FTM, et ensuite de l'autre moitié dans un second tube à essai contenant le volume requis du SCD.
- Les milieux de cultures sont incubés pour 14 jours, après lesquels ils sont observés pour tout signe de croissance microbienne, cela signifie généralement la présence de turbidité dans ceux-ci. Si aucun signe de croissance microbienne n'est apparent, le produit testé est considéré comme conforme à l'essai de stérilité.

Le technicien effectuant le test doit avoir une excellente dextérité physique et une bonne attitude mentale face au souci de maintenir l'asepsie. La répétitivité dans l'ouverture des récipients, l'échantillonnage, le transfert et le mélange peut potentiellement causer de la fatigue et de l'ennui avec une détérioration ultérieure de la technique et des préoccupations aseptiques de l'opérateur. Par conséquent, et au fil de la session, la probabilité d'incidence d'une contamination accidentelle du test de stérilité augmentera.

8.5.2.3 La filtration sur membrane (FM) : ⁽⁹⁷⁾

L'implémentation réussie de cette méthode nécessite plus de compétences et de connaissances que celles requises pour la méthode TD. Six étapes fondamentales sont impliquées :

1. L'unité de filtration et le canister doivent être correctement assemblée et stérilisée avant utilisation.
2. L'échantillon du produit est transféré (un diluant est utilisé en cas de produit lyophilisé) à l'ensemble de filtration dans des conditions d'asepsie strictes.
3. Le contenu est filtré à l'aide d'un système d'aspiration ou pression différentielle. Les micro-organismes présents dans l'échantillon sont capturés sur la membrane microporeuse (une membrane adaptée pour les tests de stérilité a une porosité de $0,45\ \mu\text{m}$ et un diamètre d'environ 47 mm) dans le canister.
4. Un rinçage est entrepris pour éliminer ou neutraliser les éventuels résidus du produit.
5. Le type et le volume approprié du milieu de culture est ajouté au canister.
6. Le canister contenant le filtre et le milieu de culture est incubée conformément aux pharmacopées en vigueur. Une filtration du diluant seul est également incubée comme témoin négatif. L'incubation dure 14 jours.



Figure 83: Dispositif de test de stérilité par filtration sur membrane.

Tableau 18: Les méthodes d'essai de stérilité et les résultats attendus.

Milieu	Manipulation effectuée	Essai	Résultat attendu
Hydrolysate de caséine et de soja (SCD)	Filtration de l'échantillon du produit	Examen de stérilité	Limpide
	Filtration du diluant	Témoin d'asepsie (négatif)	Limpide
Thioglycolate (FTM)	Filtration de l'échantillon du produit	Examen de stérilité	Limpide
	Filtration du diluant	Témoin d'asepsie (négatif)	Limpide

La méthode FM offre au moins quatre avantages par rapport à l'utilisation de la méthode TD. Ils sont les suivants:

1. Une plus grande sensibilité, car la contamination est concentrée sur la membrane en filtrant de grands volumes du produit.

2. Les agents antimicrobiens dans l'échantillon du produit peuvent être éliminés par rinçage avant de transférer le milieu de culture dans le canister, minimisant ainsi l'incidence de faux négatifs.

3. Les microorganismes présents dans un produit oléagineux peuvent être séparés du produit pendant la filtration et incubés dans un milieu aqueux plus adéquat.

Avec les méthodes d'inoculation directe et de filtration sur membrane, le test de stérilité est une procédure exigeante où l'asepsie doit être assurée pour permettre une interprétation correcte des résultats. Plus important encore, l'environnement du test doit être adéquat (comme la zone de production). Cela nécessite l'utilisation d'une enceinte à flux d'air laminaire assurant une zone de

travail de grade A, se trouvant dans une ZAC de grade B, ou d'un d'isolateur de grade A dans une salle blanche de classe C ou D. Une surveillance environnementale rigoureuse doit être entreprise pendant la session de l'essai.

8.5.2.4 Validation de la méthode d'essai : ⁽⁹⁹⁾

La validation implique l'étude d'applicabilité de la méthode au produit, Dans le sens qu'elle doit démontrer la non-interférence du produit à examiner avec la méthode d'essai de stérilité adoptée, principalement, l'absence d'effet inhibiteur de celui-ci sur la croissance des microorganismes.

La méthode, qu'elle soit TD au FM, est effectuée de façon normale comme indiqué auparavant, avec la seule différence étant l'ajout d'un inoculum (pas plus de 100 ufc) de microorganismes viables, au diluent de rinçage final du filtre pour FM, et directement dans le mélange milieu de culture/produit, dans le cas de TD. Les échantillons du produit dans les milieux SCB sont incubés à $22,5 \pm 2,5$ °C, tandis que ceux dans FTM sont incubés à $32,5 \pm 2,5$ °C, pendant 5 jours au maximum. Pour chaque micro-organisme testé, il faut effectuer en parallèle un essai de fertilité (témoin positif) en utilisant le diluant contenant les micro-organismes, sans l'échantillon du produit. Le tableau suivant résume les étapes du test d'applicabilité, qui doit être effectué 3 fois successives pour des fins de validation de la méthode :

Tableau 19 : Tests de l'applicabilité de la méthode pour le produit, et les résultats attendus.

Milieu	Echantillon du produit + 100 UFC max de	Résultats attendus
Hydrolysate de caséine et de soja (SCD)	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Croissance visible comparable au témoin positif
	<i>Bacillus subtilis</i>	Croissance visible comparable au témoin positif
	<i>Candida albicans</i>	Croissance visible comparable au témoin positif

Thioglycolate (FTM)	<i>Clostridium sporogenes</i>	Croissance visible comparable au témoin positif
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Croissance visible comparable au témoin positif
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Croissance visible comparable au témoin positif

Si la croissance microbienne est visuellement comparable entre expérimental et témoin, le produit alors n'a pas d'activité antimicrobienne dans les conditions du test. S'il n'y a pas de croissance comparable entre les deux échantillons, les conditions d'essai doivent être modifiées. Une telle modification consiste à diluer davantage l'échantillon testé dans un milieu de croissance, d'ajouter des neutralisants (tels que le polysorbate 20 et 80, le thiosulfate de sodium et la lécithine), ou, dans le cas de la méthode FM, d'augmenter le nombre d'opérations de rinçage du filtre avant l'ajout du milieu de culture.

La validation doit être effectuée à chaque fois qu'il y a un nouveau produit ou un changement dans les conditions expérimentales du test. La documentation de tous les travaux de validation doit suivre les bonnes pratiques et garantir la reproductibilité des tests.

8.5.3 Les méthodes microbiologiques rapides et alternatives :

L'essai de stérilité classique, bien qu'historiquement prouvé, souffre de plusieurs limitations, en relation principalement, à sa valeur statistique négligeable pour l'assurance de stérilité du produit, comme c'est un test destructif. Secondairement, l'utilisation de deux milieux de cultures seulement, peut laisser des microorganismes viables indétectables avec des capacités de croissance douteuse dans ces milieux et conditions d'incubation. Sans parler du temps considérable nécessaire pour l'obtention des résultats, dans le cadre du cycle de production d'un lot. Par ces faits, des méthodes alternatives qui peuvent potentiellement contourner ces inconvénients, doivent être explorées pour l'essai de stérilité.

8.5.3.1 Méthodes alternatives basées sur la croissance microbienne :

Ces méthodes cherchent à exploiter et mesurer les paramètres physiologiques ou biochimiques des microorganismes, qui signalent la croissance. Ils utilisent généralement des milieux de culture, avec une certaine période d'incubation, cependant, le temps à la détection est considérablement réduit en comparaison avec les méthodes de références.

8.5.3.1.1 La détection du CO₂ : ⁽¹⁰⁰⁾

Les échantillons sont ajoutés à des récipients de milieux de culture, et incubés dans un système équipé de senseurs fluorimétriques, qui détectent le CO₂ générés par le phénomène de croissance microbologique et accumulé dans les récipients fermés, en cas de présence de microorganismes. Le système vérifie les senseurs toutes les 10 minutes, et le temps à la détection peut être aussi court que 8 heures.

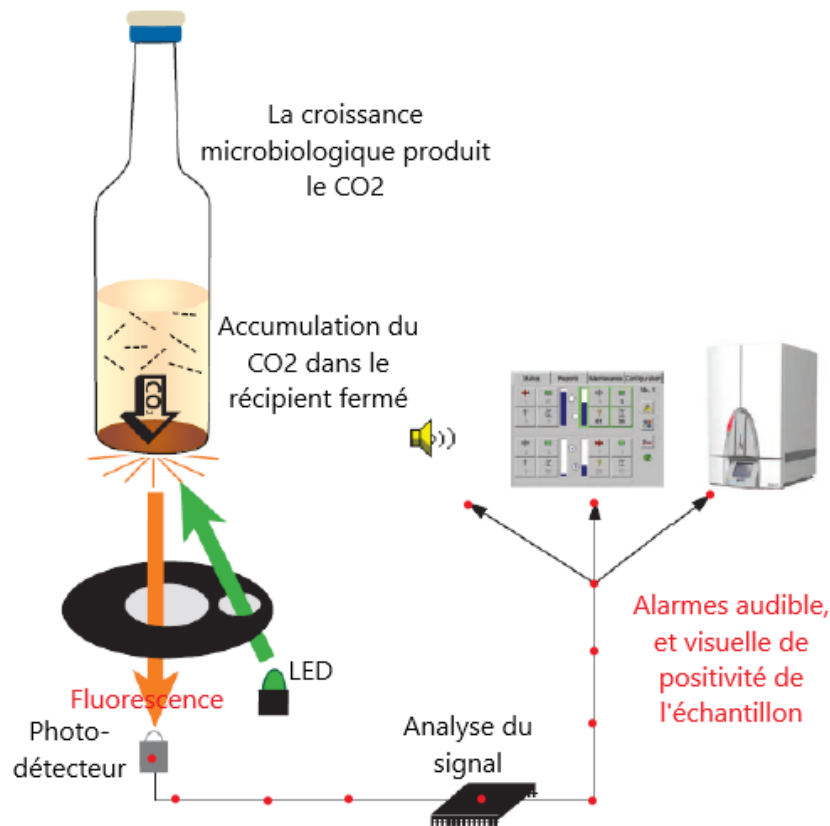


Figure 84: Principe de la méthode alternative à croissance par détection de CO₂.

8.5.3.1.2 Bioluminescence ATP : ⁽¹⁰¹⁾

Cette méthode utilise un filtre membrane pour capter les microorganismes potentiellement présents dans l'échantillon, qui est ensuite placé sur une cassette à gélose et incubé pour 5 jours pour développer des micro-colonies. Le filtre est ensuite traité dans une station spéciale avec les réactifs qui libèrent l'ATP et ceux de bioluminescence (luciférine et luciférase). Le filtre ainsi traité est placé sur une unité de détection de bioluminescence, pour déterminer la croissance microbienne et l'énumération des ufc. Les images modélisées par le système selon les points d'émission de bioluminescence sont archivées. Un système qui exploite en plus l'adénylate kinase de la cellule, un enzyme qui catalyse la production d'ATP à partir d'ADP, en ajoutant un réactif contenant l'ADP, permet une production d'ATP plus élevée, et donc un signal de bioluminescence plus fort et moins bruité.

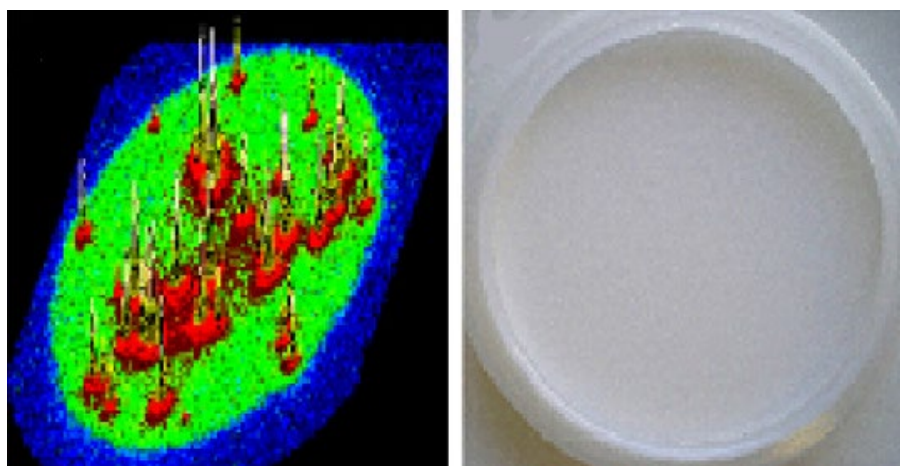


Figure 85: Image du filtre à l'œil nu à droite, avec celle à gauche du même filtre, modéliser par le système et montrant les ufc qu'émettent la bioluminescence.

8.5.3.1.3 Coloration de viabilité et fluorescence : ⁽¹⁰²⁾

Le principe de cette méthode est basé sur la détection de la fluorescence, émise par un substrat, une fois clivé dans la cellule microbiologique viable. L'échantillon est préparé de la même façon qu'avec la méthode de bioluminescence, Cependant, cette fois on le traite avec un substrat non fluorescent et on l'incube pendant 30 minutes. Pendant ce temps, le substrat de coloration de viabilité (les cellules à membranes intactes vont pouvoir le retenir) pénètre le cytoplasme des cellules et se fait clivé enzymatiquement, libérant ainsi un fluorochrome qui s'accumule dans les micro-colonies. Le filtre est ensuite placé dans une unité de détection, qui l'expose aux rayons dans la longueur d'onde d'excitation du fluorochrome, et les micro-colonies fluorescentes sont

automatiquement énumérées. C'est une méthode conservatrice, dans le sens qu'elle permet la ré-incubation des colonies pour des besoins d'identification.

8.5.3.2 Les méthodes alternatives de détection directe : ⁽¹⁰³⁾ ⁽¹⁰⁴⁾

Ces méthodes permettent de différencier et visualiser les cellules microbiologiques, sans avoir recours à un milieu de culture, et sans croissance microbienne. Ils dépendent généralement d'une coloration de viabilité, suivie d'une détection de fluorescence.

- **Marquage de viabilité avec cytométrie en phase solide :** Les cellules microbiologiques dans un échantillon sont retenues sur le filtre, qui est traité par un substrat non-fluorescent, avant qu'il ne soit introduit dans une machine de cytométrie en phase solide, qui permet de capter la fluorescence une fois le substrat dans le cytoplasme de la cellule (à paroi intacte) est clivé par un mécanisme enzymatique (condition de viabilité), libérant un fluorochrome. Ces systèmes permettent la détection et l'énumération des cellules viables (cellules/ml) dans l'échantillon, dans un temps extrêmement rapide (Moins de 3 heures).

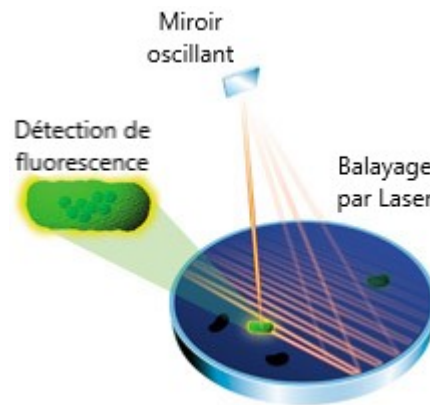


Figure 86: Schéma de détection des cellules viables par cytométrie en phase solide

9 La gestion des événements de contamination :

Un événement de contamination est essentiellement, une déviation des données collectées par le programme du monitoring environnemental, les tests de remplissage aseptique, ou par les essais de contrôle du produit intermédiaire ou fini, qui peut potentiellement représentée un risque à la qualité du système et produit. Suivant les principes de QbD, ce système doit être maintenu continuellement dans un état de contrôle figurant des limites d’alerte et d’action, et toute déviation, non-conformité, variation spéciale, ou tendance notable dans le champs de ces limites, et particulièrement hors de ce dernier, doit nécessairement et sans délai, faire l’objet d’une enquête visant à identifier sa cause, et implémenter des mesures préventives et correctives adéquates pour éviter son avènement futur, selon une approche de gestion des risques. Un processus de gestion des déviations, permet d’organiser et guider ces efforts proportionnels au niveau du risque, selon une approche structurée.

9.1 Le processus de gestion des déviations : ⁽¹⁰⁵⁾

C’est un processus qui doit faire partie intégrante du SQP de l’entreprise, comme stipulé par la réglementation, notamment, dans le chapitre qui traite du système de qualité pharmaceutique dans les BPF : « Des procédures ou protocoles doivent être établis pour les investigations des déviations et des non conformités, ainsi que pour l’enregistrement des actions décidées ou des conclusions».

9.1.1 Détection et caractérisation de la déviation : ⁽¹⁰⁶⁾

Une déviation dans le contexte de la maîtrise de la contamination, est généralement un résultat hors limite d’un système de contrôle ou monitoring. Elle peut également être observée par le personnel lors des opérations, ou durant une auto-inspection, audit ou évaluation, comme une brèche des procédures opérationnelles standards, qui pourrait potentiellement nuire à la qualité du produit. Elle peut même provenir d’une communication avec le fournisseur, ou d’une plainte externe ou interne. Quel que soit son point de détection, la déviation doit être rapidement (dans un délai de 24h) relayé au service pertinent, pour qu’elle soit traité selon le protocole de gestion adopté par l’entreprise, après réalisation de corrections immédiates évidentes.

Le service ou département en question, une fois notifié de son existence, doit caractériser la déviation dans une étude préliminaire selon son impact sur la qualité du produit, exploitant l'historique des événements similaires, connaissances préétablies, et outils de gestion des risques.

Selon le PIC/S, un organisme de convention sur l'inspection pharmaceutique, la déviation peut être jugée comme :

- **Mineure** : Une déviation sans impact sur les attributs de qualité du produit, les paramètres critiques du process, ou sur un équipement critique pour le système en général. Des niveaux de pression différentielle hors limites d'une ZAC de classe D, ne donnant pas accès à une ZAC de classe supérieure, serait un exemple de cette caractérisation.

- **Majeure** : Une déviation qui impacte l'un des éléments cités, mais ne représente pas un risque au patient, ou ce risque est négligeable. La performance d'un test de stérilité par une personne non qualifiée, serait une déviation majeure.

- **Critique** : l'impact de la déviation sur le patient est très probable. Les rappels de lot, Suspensions d'AMM, cessations d'activité et ruptures de stock, sont considérés pour la plupart des cas, comme des conséquences de déviations critiques.

L'évaluation de l'impact de la déviation informera le chemin et l'étendue de l'investigation supplémentaire, et l'importance des efforts et ressources qui vont être dédiés à celle-ci. Elle conduit également à une recommandation sur le statut du/des lots associés à la déviation. Il faut garder à l'esprit qu'avec les déviations majeures et critiques, l'ensemble du lot peut être suspect.

9.1.2 Identification et analyse des causes racines : ⁽¹⁰⁷⁾

Une investigation approfondie doit être effectuée pour identifier la ou les causes racines, ou encore appelée « root cause » de la déviation, afin de proposer les solutions les plus adaptées au problème.

Il s'agit alors, de lister exhaustivement et d'investiguer les causes possibles de la déviation, pour arriver en fin de compte, aux causes racines. Le brainstorming est généralement employé pour élaborer la liste des causes potentielles, en se basant sur des données historiques, connaissances accumulées, ainsi que sur les intuitions professionnelles de l'équipe de

l'investigation. Cette liste peut être organisée et optimisée en diagramme d'Ishikawa, un outil qui permet la compartimentation des différentes causes selon leur relation à chaque élément pertinent au process/produit (comme la main d'œuvre, matériel, environnement, matières, et procédé...), et la détermination de leurs sous-causes, ou celles secondaires et tertiaires etc. dans le but de se rapprocher de la cause racine réelle.

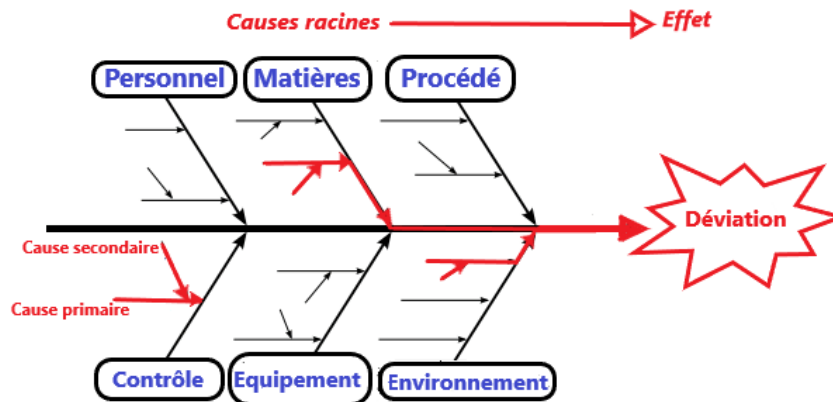


Figure 87: Le diagramme d'Ishikawa, organisant les causes selon leur domaine de pertinence.

Les causes les plus probables sont ensuite sélectionnées et testées sur le terrain, vérifiant ainsi leur pertinence à la déviation. À partir d'une cause vérifiée, on peut employer la méthode des « 5 pourquoi », en se posant la question : "Pourquoi cette cause à l'origine du problème est-elle apparue ?" 5 fois, parfois moins, jusqu'à ce qu'on arrive à la cause racine.

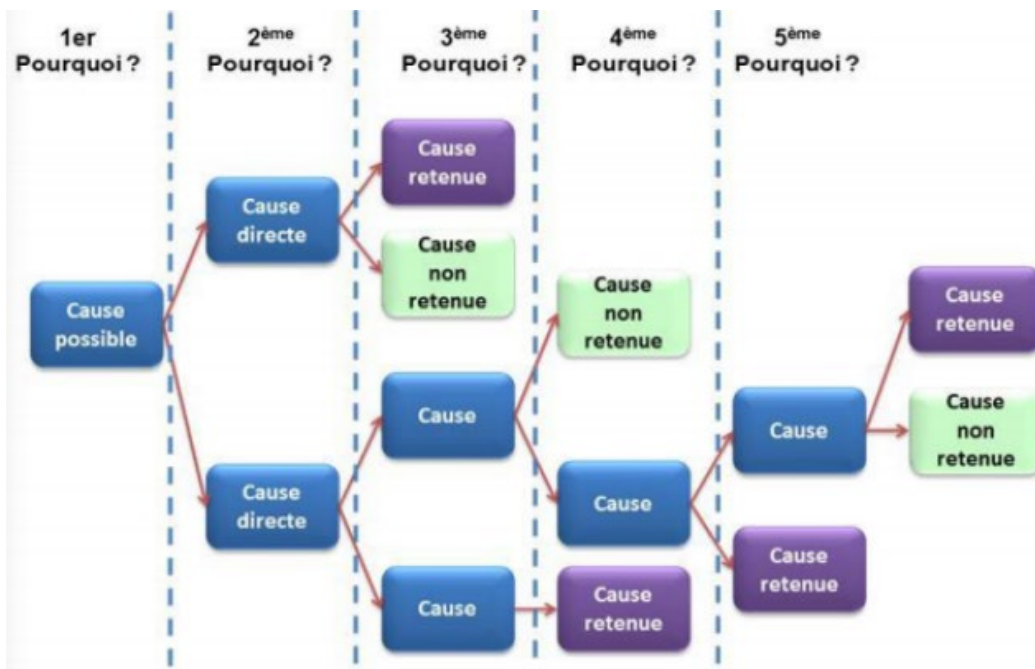


Figure 88: Schéma représentant la chaîne logique de la méthode des « 5 pourquoi ».

Une fois les causes racines déterminées, une analyse des risques qu'elles présentent doit être effectuée, afin de les classer selon leur score de priorité. L'AMDEC est un outil efficace pour cela. Cette classification révèle où la grande partie des ressources et efforts de l'étape qui suit, doivent être dépensés.

9.1.3 Le système (CAPA) : ⁽¹⁰⁸⁾

Une fois les causes racines identifiées et leur impact évalué, une stratégie doit être conçue et mise en œuvre pour choisir, implémenter, et vérifier l'efficacité d'actions spécifiques qui vont permettre une amélioration, vis-à-vis de l'occurrence ou la récurrence d'événements indésirables. Ces actions spécifiques, font partie du système CAPA (Corrective Actions Preventive Actions), et peuvent agir à quelconque niveau des éléments du système. La méthodologie CAPA comporte deux types d'actions, mais tous devrait aboutir à une amélioration des produits et processus et de leur compréhension. C'est système peut être considéré comme l'arme du principe d'amélioration continue, faisant partie de l'approche QbD. Selon ICH Q10 :

Action Corrective (CA) : Il s'agit d'actions réactives, entreprises pour éliminer la ou les causes qui ont conduits à la déviation, sujet de l'investigation, pour prévenir sa récurrence.

Action Préventive (PA) : Actions proactives mises en œuvre pour éliminer la ou les causes qui peuvent conduire à une déviation potentiel, et pas exactement la déviation qui a déclenchée l'investigation.

Le plan d'action d'un CAPA comprend une description d'objectifs et mesures identifiées et approuvées, ainsi que les personnes responsables de l'implémentation de ces mesures et le délai prévisionnel de leur achèvement, en plus de la périodicité de vérification de leur efficacité. Le système doit être supporté par des preuves documentées de sa réalisation. La CAPA peut consister d'une formation du personnel qui prend en compte les nouveaux risques appréciés, d'un changement de process, équipement, procédure opérationnelle standard ou toute action de monitoring et de contrôle pour prévenir une anomalie ou sa récurrence. L'étendue de l'investigation et la taille de l'investissement en CAPA est en fonction de la criticité de la déviation.

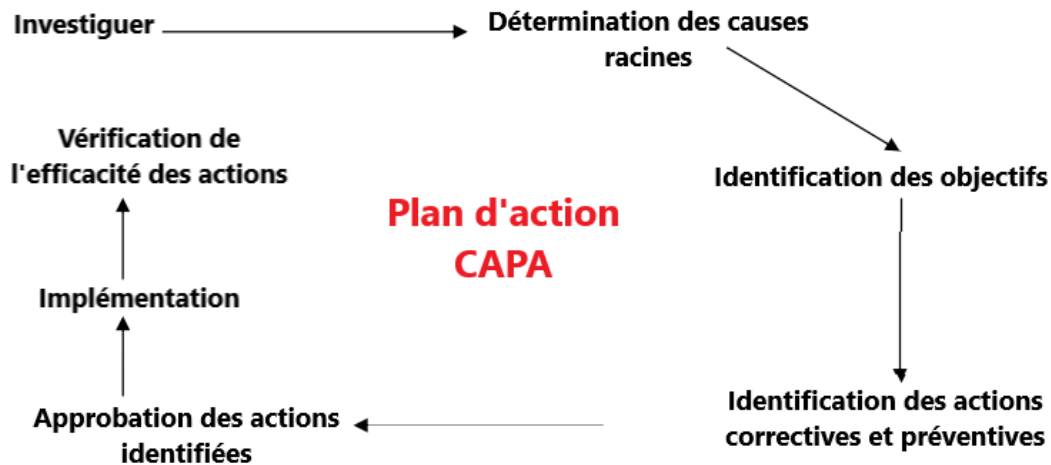


Figure 89: Schéma d'étapes d'un plan d'action CAPA.

L'efficacité du CAPA mis en œuvre, doit être vérifiée à l'aide d'une revue périodique des déviations qui se sont manifestées après son implémentation. La détection fréquente de déviations similaires sur une période donnée, est indicative d'un CAPA inefficace. Le responsable qualité, et s'il trouve les CAPA efficaces, clôture finalement la déviation, et donne son jugement concernant la libération du ou des lots pertinents, en récapitulant tous les arguments assurant l'absence d'impact qualité sur le produit, résultant de l'anomalie en question.

9.2 Investigation de l'échec d'essai de stérilité :

Un essai de stérilité positif est considéré comme un résultat hors spécification « OOS » (out of specification), et ce type d'évènement nécessite une investigation où l'on examine le laboratoire du test en premier temps, pour confirmer la véracité du résultat OOS. En d'autres termes, on doit s'assurer que le résultat obtenu n'est pas un faux positif causé par l'opérateur ou les conditions de l'essai. Une investigation de la production n'est entreprise qu'une fois le résultat confirmé comme un vrai positif, pour déterminer la cause ou les causes racines de cette déviation.

La conclusion donc d'une investigation d'un échec de d'essai de stérilité, sera soit l'invalidation de ce test par l'enquête laboratoire, ou que le lot a été contaminé en raison d'un évènement qui s'est produit dans une étape ou autre de la fabrication. Dans les deux scénarios, un CAPA doit être mis en place, et son efficacité vérifiée.

9.2.1 Actions immédiates :

Une fois qu'un échec du test de stérilité a été détecté, certaines mesures doivent être prises immédiatement. Le lot en question doit être mis en quarantaine et une décision documentée doit être prise sur le statut de la ligne de remplissage sur laquelle ses produits ont été remplis.

En même temps, et en se basant sur les informations initiales collectées, qui sont naturellement limitées, une décision doit également être prise concernant l'arrêt ou la quarantaine d'autres lignes de remplissage et d'autres lots en proximité spatiale ou temporelle du lot qui a donné le résultat OOS.

9.2.2 Enquête de laboratoire : ⁽¹⁰⁹⁾

L'enquête au niveau du laboratoire cherche à déceler une erreur dans la méthodologie de réalisation du test de stérilité, ou bien une irrégularité dans son environnement, qui a pu être la cause du résultat OOS signalé. En microbiologie, le temps d'incubation nécessaire avec les méthodes traditionnelles pour la croissance microbienne, peut-être trop long. Cette période de temps cruciale, en combinaison avec le caractère éphémère des conditions sous lesquelles la contamination a pu être réalisée, rendent l'investigation de l'échec du test de stérilité, plus difficile par rapport aux autres types de déviations.

L'investigation doit commencer par une revue détaillée des records et registres qui décrivent les éléments suivants :

- Numéro de lot, le nombre d'unités de produit testées.
- Description et détails de la méthode du test réalisé, date du test, le transfert aseptique, volume testé, diluants / solvants utilisés, numéro de lot du milieu de culture utilisé
- Personnel effectuant le test et leurs qualifications.
- Température et temps d'incubation
- Date de lecture du test et le personnel responsable de cette lecture.
- Le résultat (réussite ou échec)
- Résultats de la surveillance environnementale

- Résultats de contrôle négatifs

Cette revue sert de point de départ pour guider les efforts de l'investigation, et peut révéler des domaines de préoccupations. Ces efforts incluent :

- L'identification du contaminant :

L'identification aidera avec la détermination des points d'origine possibles. Une bactérie du microbiote cutanée, par ex. Staphylococcus, Micrococcus, ou corynéforme peuvent indiquer une source humaine, tandis qu'une bactérie à Gram négatif peut suggérer un problème d'eau possible. Si une croissance s'est produite dans les contrôles négatifs, les micro-organismes doivent être identifiés (identification génotypique, comme le séquençage de l'ARNr 16S) et comparés avec ceux de l'essai.

- Revue de l'historique du test :

L'historique du test de stérilité doit être pris en compte, en particulier la fréquence des échecs des tests de stérilité et les cas où les tests ont été invalidés. L'examen doit particulièrement tenir compte des résultats des autres tests effectués dans les instances précédentes. Cela fournira des informations sur la fiabilité du test et la propreté de son environnement, en plus de la compétence des opérateurs.

- Examen des données de surveillance environnementale :

L'examen des données de surveillance environnementale est fondamental pour établir tout lien entre le micro-organisme contaminant de l'essai, et l'environnement de ce dernier, l'opérateur qui l'a effectué, ou l'environnement de production. L'évaluation doit inclure une analyse des tendances récentes du monitoring, ainsi qu'une revue des documents relatifs aux procédures de nettoyage et désinfection de la salle, et de l'environnement immédiat du plan de travail.

- Personnel effectuant l'essai de stérilité :

L'historique du personnel qui a effectué le test de stérilité doit être soigneusement examiné. Son expérience, formation, et son implication dans les déviations antérieures, peut guider l'investigation et la recherche du coupable.

- Equipement et matériel exploité lors du test :

L'environnement du test, qu'il s'agisse d'un poste de travail à flux d'air laminaire ou d'un isolateur, doit être pris en compte. L'historique de maintenance doit être vérifié conjointement avec sa condition actuelle. Notamment, les systèmes de pression et étanchéité, ainsi que les cycles de biodécontamination pour les isolateurs. Il faut également tenir compte de la méthode de transfert aseptique et de l'assurance de stérilité relative aux articles stériles utilisés dans le test.

9.2.3 Enquête en production : ⁽¹¹⁰⁾

L'investigation du processus de fabrication doit toujours commencer par une revue du dossier du lot en question, ainsi qu'une interrogation initiale du personnel, pour révéler les indices flagrants, s'ils existent, d'événements qu'auraient pu conduire à la contamination détectée. Sinon, les points de focalisation de l'investigation doivent inclure :

- Matières premières entrantes:

Le traitement et les tests de contrôle qualité des matières entrantes doivent être revues.

- Le process de fabrication :

Le processus de fabrication doit être examiné pour tout événement notable ou inhabituel (par exemple, le temps de maintien du produit en cuve de remplissage est inhabituellement long). Cela devrait inclure un examen des dossiers de fabrication des lots antérieures, et spécialement ceux qui ont figurés des déviations similaires ou proche du sujet de déviation investiguée. Cela pourrait inclure des équipements susceptibles à l'accumulation de l'humidité, ou des instances dans les étapes de production avec des opportunités de contamination exceptionnelles

- L'analyse de la biocharge :

La biocharge doit être suivie à travers les différentes étapes de fabrication, et une diminution linéaire de celle-ci, de l'amont vers l'aval du processus, doit être attendue. Si non, et avec la présence de pic au milieu du procédé, on tient à investiguer l'étape directement avant ce pic, car de telles variations peuvent indiquer une brèche de la maîtrise de contamination, qui pourrait être liée à notre déviation. Il faut également identifiés les micro-organismes dans les biocharges pour les comparés à ceux de l'essai. Cependant, l'analyse de la biocharge avant la filtration stérilisante reste le point le plus pertinent à investiguer, comme il faut être sûr que le

niveau de l'épreuve microbienne, par rapport aux paramètres validés pour le filtre, soit acceptable. L'examen doit également s'étendre aux tests d'intégrité (pré et post-filtration) du filtre pour rechercher des anomalies.

- Résultats des tests d'endotoxines:

En cours de fabrication, Parfois, des valeurs hautes d'endotoxines peuvent être quantifiées, même avec une biocharge basse, indiquant la présence de bactéries Gram négatives. Les endotoxines du produit fini, et s'ils sont anormalement élevés, ou dépassant la limite calculée pour le produit, sont certainement indicatifs, avec un essai de stérilité échoué avec bactéries Gram négatives, d'une brèche catastrophique du système de maîtrise de la contamination, via l'eau.

- Salle et ligne de remplissage:

Les conditions de fonctionnement et la documentation de qualification et validation périodiques de propreté de la salle et de la performance de la ligne de remplissage, ainsi que la maintenance des utilités doivent être revues. Il convient également de tenir compte de tout changement récent qui pourrait avoir un impact sur le fonctionnement de ces éléments.

- Procédures et interventions dans la ZAC de remplissage:

Les opérations de la salle de remplissage doivent être soigneusement étudiées, y compris un examen de toutes les interventions effectuées dans la zone critique.

- Le personnel :

Les opérateurs impliqués dans le remplissage du produit devraient être interrogés et idéalement, ils devraient jouer un rôle dans l'équipe d'enquête. Il est toujours utile de demander aux opérateurs s'il y a quelque chose dont ils peuvent se souvenir du processus concerné qui n'a pas été formellement documentée. Lors de l'examen des activités des opérateurs dans la salle de remplissage, l'enquête doit tenir compte du nombre d'opérateurs présents dans la salle ainsi que des noms de ces derniers (certaines personnes peuvent, par exemple, avoir des antécédents avec des tendances défavorables). Lors de l'examen de chaque individu, une évaluation doit être faite des tendances récentes de la surveillance environnementale liée au personnel pour l'opération de remplissage en question. L'enquête doit également tenir compte des résultats récents des TRA, en particulier si l'un des opérateurs était associé à un échec de ces tests.

- Les tests de remplissage aseptique :

Les données des tests les plus récents doivent être analysées. Cette analyse sera davantage méticuleuse si des unités troubles ont été enregistrées, et comprendra une comparaison des interventions pour :

- Déterminer s'il existe des points communs entre les causes racines des TRA échoués.
- Vérifier que toutes les interventions effectuées lors du remplissage du lot d'échec du test de stérilité, sujet de l'investigation, ont été réalisées dans le TRA le plus récent - sinon, ces types d'interventions pourraient être un point de risque à considérer.

- Surveillance environnementale :

Les données sur les particules viables et non viables en relation avec le remplissage du produit doivent être examinées. Cela comprendra les résultats d'identification de tous les micro-organismes récupérés. Lorsque des espèces similaires ont été récupérées, elles doivent être caractérisées pour déterminer si les micro-organismes sont liés au niveau génétique à l'aide de tests génotypiques. Les résultats d'une telle analyse doivent être comparés aux micro-organismes contaminants du test de stérilité, ainsi qu'aux isolats du laboratoire du test.

L'examen des données de surveillance environnementale devrait inclure à la fois les zones critiques et non critiques, en tenant compte des tendances récentes pour la salle de remplissage et le processus, qui pourrait indiquer une détérioration progressive des conditions opérationnelles. Cela devrait s'étendre à la prise en compte des données de classification des ZAC.

- Nettoyage et désinfection :

La documentation relative au nettoyage et désinfection de la ZAC de remplissage et zones critiques, doivent être examinés. Un nettoyage inadéquat peut expliquer pourquoi une contamination microbienne s'est produite. Un tel examen devrait tenir compte de l'efficacité des techniques de nettoyage et de la date d'expiration des détergents et désinfectants utilisés.

Le micro-organisme responsable de l'échec du test de stérilité doit être considéré en termes de sa résistance au désinfectant employé. En cas de doute, et s'il ne figurait pas dans l'épreuve microbiologique de l'étude d'efficacité du désinfectant, un test en suspension à la concentration d'utilisation du désinfectant, doit être effectué pour répondre à cette question.

9.2.4 Conclusion de l'investigation : ⁽⁹⁷⁾

A la fin de l'investigation, l'organisme décisionnel doit produire une conclusion, et trois possibilités sont à considérer :

a) L'échec du test de stérilité était dû à une erreur de laboratoire, et le résultat est invalidé : Dans ce cas-là, un argument solide doit être fourni pour invalider le test de stérilité et justifier sa répétition, et cet argument doit idéalement être basé sur une correspondance génétique de micro-organismes identifiés, et doit décrire un lien de cause à effet entre l'erreur de laboratoire et le résultat OOS. Une des quatre conditions suivantes, et selon le chapitre de l'essai de stérilité figurant dans la pharmacopée, doit être réalisée au moins :

- Données de surveillance microbiologique de l'environnement d'essai de stérilité montrant un défaut.
- Anomalie révélée dans la procédure suivie lors du test.
- Des témoins négatifs préparés lors du test, montrent une croissance microbienne.
- Après l'identification des micro-organismes responsables de l'échec du test, la croissance de cette espèce (ou de ces espèces) peut être attribuée sans équivoque à des défauts concernant le matériel et / ou la technique utilisée dans la conduite de la procédure de test de stérilité.

Les tests de stérilité répétés nécessitent le double du nombre original d'échantillons testés. Et des mesures CAPA doivent être mises en place pour éviter la même occurrence au futur.

b) L'échec du test de stérilité était dû à un événement spécifique au processus de production : l'enquête doit conduire à l'établissement d'une cause racine, ou plusieurs causes probables, qui ont pu engendrer l'événement de contamination. Ici le lot en question est rejeté, et le statut des autres lots, y compris ceux précédemment libérés, doit être reconsidéré après une évaluation des risques. Des mesures CAPA doivent être mise en place, et leur efficacité vérifiée.

c) Si l'enquête n'aboutit à aucune des deux conclusions précédentes, et par excès de prudence, le lot doit être rejeté.

Conclusion générale :

Une maîtrise optimale de la contamination est un exercice d'équilibre, qui nécessite une compréhension approfondie, à la fois, des principaux contributeurs à la contamination et des mesures qu'agissent pour les éliminés ou minimiser leur effet, en plus des conséquences potentiellement indésirables, de l'instauration de ces mesures dans un système de fabrication de produits injectables. La clé à une telle compréhension, réside dans l'adoption d'une approche QbD à la conception du produit/procédé, qui lie dans le contexte le plus fondamental, les activités de fabrication et la maîtrise de la de contamination, aux attributs critiques de la qualité du produit. Et Ceci suivant les principes de gestion des risques, de manière qu'une relation de cause à effet peut être isolée et évaluée, afin d'instaurer les mesures les plus adéquates. Une stratégie de maîtrise de la contamination, doit être préférablement le fruit d'une telle approche.

On a discuté dans le cadre de cette thèse, les éléments et les mesures les plus pertinents de cette stratégie. Et on doit noter que pour les efforts de maîtrise de la contamination, les tests de contrôle du produit fini, sont d'une valeur douteuse pour l'assurance de qualité du produit. une stratégie qui dépend plutôt des mesures intégrés au processus de fabrication, comme les contrôles en temps réel des paramètres critiques du process, environnement, matières et produit intermédiaire, est infiniment préférable, bien que plus couteuse à instaurer. En tout cas, les contrôles du produit fini, ne peuvent servir que le role d'une dernière ligne de défense contre la libération d'un médicament parentérale contaminé, en cas d'événement de contamination catastrophique. Le fait de ne pas aborder ces questions, d'un point de vue stratégique, entraîne un risque énorme pour le patient, ainsi que le temps et les dépenses investis dans le rappel des produits contaminés et l'enquête sur les événements de contamination.

Il est à noter, également, qu'avec l'homme étant la cause la plus commune de ces événements, on pourrait affirmer sans doute, que le futur de la fabrication des parentérales, et particulièrement ceux issus de la biotechnologie, et de thérapie personnalisée, réside dans des systèmes qui éliminerons le besoin de toute implication du personnel dans les activités de fabrication, plus que les isolateurs ou RABS pour le remplissage aseptique, les moyens de mener toutes les activités de production, qui présentent un risque de contamination au produit, seront plutôt exécutés par des agents automatisés.

Résumé

Titre : La maîtrise de la contamination dans une zone de fabrication de formes injectables.

Auteur : EL BOUKHARI EL KHAMLICHI Reda

Rapporteur : Pr Younes RAHALI

Mots Clés : Parentérales ; Process aseptique ; ZAC ; isotechnie ; QbD.

Les médicaments injectables, représentent une large part du marché mondial des médicaments, et cette part ne fait qu'augmenter avec le développement continu de la biotechnologie et la mise sur le marché de plus en plus de biomolécules ne pouvant être administrées que par voie parentérale.

Une société d'industrie pharmaceutique a une responsabilité morale envers le patient, de lui délivrer un médicament sûr et efficace, en plus de la responsabilité économique envers ses actionnaires, et les enjeux ne sont que plus considérables lorsqu'on parle d'un processus de fabrication des injectables. Un process délicat et onéreux, qui doit résulter en un produit efficace, sans pyrogènes, et sans contaminants particuliers ni microbiologiques. Une bonne maîtrise de la contamination joue un rôle essentiel dans la capacité de la société de s'acquitter de ces responsabilités. Pour ce faire, la question de la contamination dans une zone de production de formes injectables, doit être explorée, parallèlement, et faire partie intégrante de la conception du procédé/produit, avec les types de contaminants, leurs sources et modèles de dispersion, et leurs conséquences sur la qualité du produit et la santé du patient, pris en compte. Une telle approche de qualité par conception ou QbD, mène à une stratégie de maîtrise de contamination plus adaptée et optimisée aux besoins spécifiques du procédé/produit.

on a cerné, et discuté dans le cadre de cette thèse, les éléments les plus pertinents à une telle stratégie de maîtrise de la contamination : ceux relatives à l'environnement de fabrication (ZAC conventionnelles, isolateurs, RABS), les éléments relatives au matières de production (EPPI, matières entrantes), le process et matériel de fabrication (validation de la stérilisation terminale, la filtration stérilisante, TRA), le personnel (habillage, comportement et formation), et finalement les tests de contrôle du produit fini. Ces éléments, s'ils fonctionnent correctement et harmonieusement, doivent prévenir, détecter, et éliminer toute contamination potentielle. En revanche, et quand la contamination ait lieu, un processus d'investigation doit être lancé pour en trouver la cause, et implémenter des mesures pour l'éliminer, ce processus de gestion des déviations est également discuté.

Abstract

Title: Contamination control in a manufacturing area for injectable drugs.

Author : EL BOUKHARI EL KHAMLICHI Reda

Thesis director : Pr Younes RAHALI

Keywords : Parenterals ; Aseptic process ; Clean room ; isolator ; QbD.

Injectable drugs represent a large share of the global drug market, and this share is only increasing with the continued development of biotechnology and the market release of more and more biomolecules that can only be administered parenterally.

A pharmaceutical industry company has a moral responsibility to deliver a safe and efficacious drug to the patient, in addition to its economic responsibility to the shareholders, and the stakes are only greater when it comes to a manufacturing process for injectables. A delicate and expensive process, which must result in an efficacious product without pyrogens, and without particulate or microbiological contaminants. Good contamination control plays an essential role in the company's ability to meet these responsibilities. To accomplish this, the issue of contamination in a production area of injectable forms, must be explored, in parallel, and be an integral part of the process / product design, with the types of contaminants, their sources and dispersion patterns, and their consequences on the quality of the product and the health of the patient, taken into account. Such an approach of quality by design or QbD, leads to a contamination control strategy that is more adapted and optimized to the specific needs of the process / product.

We have identified, and discussed in the context of this thesis, the elements most relevant to such a contamination control strategy: those relating to the manufacturing environment (cleanrooms, isolators, RABS), elements relating to raw production materials (WFI, raw materials), the manufacturing process and equipment (validation of terminal sterilization, sterilizing filtration, MFT), personnel (gowning, behavior and training), and finally the control tests of the finished product. These elements, if functioning properly and harmoniously, must prevent, detect, and eliminate any potential contamination. On the other hand, and when contamination does occur, an investigation process must be initiated to find out the cause, and implement measures to eliminate it, this process of management of deviations is also discussed.

المُلخَص

العنوان: التحكم في التلوث في منطقة تصنيع الأدوية القابلة للحقن

المؤلف: البخاري الخليلي رضا

المشرف: الأستاذ يونس رحالي

الكلمات المفتاحية: أدوية للحقن؛ تصنيع معقم؛ غرفة نظيفة؛ الإزوتقنية؛ الجودة حسب التصميم.

تمثل العقاقير القابلة للحقن حصة كبيرة من سوق الأدوية العالمي، وهذه الحصة في تزايد مع استمرار تطوير التكنولوجيا الحيوية وإصدار المزيد من الجزيئات الحيوية في السوق، التي لا يمكن تقديمها للمريض إلا بالحقن.

تتحمل شركة صناعة الأدوية مسؤولية أخلاقية لتقديم دواء آمن وفعال للمريض، بالإضافة إلى مسؤوليتها الاقتصادية تجاه المساهمين، ولا تكون المخاطر الا أكبر عندما يتعلق الأمر بعملية تصنيع الأدوية المخصصة للحقن. عملية حساسة ومكلفة، يجب أن ينتج عنها دواء فعال خالٍ من البيروجينات، وبدون جسيمات أو ملوثات ميكروبيولوجية. يلعب التحكم الجيد في التلوث دورًا أساسيًا في قدرة الشركة على الوفاء بهذه المسؤوليات. لتحقيق ذلك، يجب استكشاف مسألة التلوث في منطقة إنتاج الأشكال القابلة للحقن، بالتوازي مع، وأن تكون جزءًا لا يتجزأ من تصميم عملية الإنتاج/المنتج، مع الأخذ بعين الاعتبار أنواع الملوثات، ومصادرها وأنماط انتشارها، وعواقبها على جودة المنتج وصحة المريض. مثل هذا النهج للجودة حسب التصميم أو QbD، يؤدي إلى استراتيجية مكافحة تلوث أكثر تكيفًا مع الاحتياجات المحددة لعملية الإنتاج/المنتج.

لقد حددنا وناقشنا في سياق هذه الأطروحة، العناصر الأكثر صلة باستراتيجية مكافحة التلوث، هذه العناصر متعلقة ببيئة التصنيع (الغرف النظيفة، العوازل، RABS)، بمواد الإنتاج (ماء للحقن، المواد الأولية)، عملية التصنيع والمعدات (التحقق من صحة التعقيم النهائي، ترشيح التعقيم، MFT)، الأفراد (الملابس، السلوك والتدريب)، وأخيرًا اختبارات مراقبة المنتج النهائي. إذا كانت هذه العناصر تعمل بشكل صحيح ومتناسق، فيجب أن تمنع وتكشف وتزيل أي تلوث محتمل. من ناحية أخرى، عندما يحدث التلوث، يجب الشروع في عملية تحقيق لمعرفة السبب، وتنفيذ تدابير للقضاء عليه، عملية إدارة الانحرافات هذه، تمت مناقشتها أيضًا.

Références bibliographiques:

- 1: Myers K. A history of injection treatments - I the syringe. *Phlebology*. 2019 Jun; 34(5):294-302.
- 2: J-D. Hecq. Une brève histoire de la thérapie intraveineuse. *Journal de pharmacie de Belgique*. Decembre 2018; 100 (4):38-50.
- 3: Gregory Sacha, J. Aaron Rogers, and Reagan L. Miller. Pre-filled syringes: a review of the history, manufacturing and challenges. *Pharm Dev Technol*, 2015; 20(1): 1–11.
- 4: Ph. Eu. 10.0, (04/2015), 0520.
- 5 : Loyd V. Allen Jr., Howard C. Ansel-Ansel's *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems-LWW* (2013).
- 6: Duma RA, Akers MJ. *Parenteral Drug Administration, Routes, Precaution, Problems, and Complications*. Vol. 1. Marcel Dekker, 1992.
- 7: Larousse. (s. d.). Contamination. *Dictionnaire en ligne*.
- 8: ISO 14644-4:2001. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 4: Conception, construction et mise en fonctionnement. Termes et définitions.
- 9: Ph. Eur. 10.0, (01/2020), 20920.
- 10: STEPHEN E. LANGILLE. Particulate Matter in Injectable Drug Products. *PDA J Pharm Sci and Tech* 2013, 67 186-200.
- 11: Bauer M, Gerlach H, Vogelmann T, Preissing F, Stiefel J, Adam D. Mortality in sepsis and septic shock in Europe, North America and Australia between 2009 and 2019- results from a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2020;24(1):239.

- 12: Kawai M, Ichijo T, Takahashi Y, Noguchi M, Katayama H, Cho O, Sugita T, Nasu M. Culture independent approach reveals domination of human-oriented microbes in a pharmaceutical manufacturing facility. *Eur J Pharm Sci.* 2019 Sep 1;137:104973
- 13: Cavaillon JM. Exotoxins and endotoxins: Inducers of inflammatory cytokines. *Toxicon.* 2018 Jul;149:45-53.
- 14: Suffredini AF, Noveck RJ. Human endotoxin administration as an experimental model in drug development. *Clin Pharmacol Ther.* 2014 Oct;96(4):418-22.
- 15: U.S. Department of Health and Human Services. FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). GMP Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients. Revision 1. September 2016.
- 16: Tanyous JN. Cleaning Validation: Complete Guide for Health - Based Approach in Chemical Cross - Contamination Risk Assessment. *PDA J Pharm Sci Technol.* 2019 Mar-Apr;73(2):204-210.
- 17: Whyte W, Eaton T. Microbiological contamination models for use in risk assessment during pharmaceutical production. *Eur J Parenter Pharm Sci* 2004; 9(1):11–5.
- 18: Larousse. (s. d.). Qualité. Dictionnaire en ligne.
- 19: ISO 9000:2015(Fr) Systèmes de management de la qualité — Principes essentiels et vocabulaire.
- 20 : ICH Q8 (R2) (2009) Pharmaceutical Development.
- 21 : Juran, J.M. (1992) *Juran on Quality by Design: The New Steps for Planning Quality into Goods and Services*, 1st ed., The Free Press, New York, USA.
- 22 : Dhawal Chobisa. *QbD-Based Development of Pharmaceutical Parenteral Drug Products: An Overview*. *Pharmaceutical Quality by Design*. Academic Press, 2019, Pages 151-172.

- ²³ : ISPE Product Quality Lifecycle Implementation (PQLI®) Guide: ‘Overview of Product Design, Development and Realization: A Science- and Risk-Based Approach to Implementation’, International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE), First Edition, October 2010.
- ²⁴ : Yu LX, Amidon G, Khan MA, Hoag SW, Polli J, Raju GK, Woodcock J. Understanding pharmaceutical quality by design. AAPS J. 2014 Jul;16(4):771-83.
- ²⁵ : PDA (2013). Technical Report No. 60. Process Validation: A Lifecycle Approach. Parenteral Drug Association, Bethesda, MD, USA.
- ²⁶ : Mark Gibson, Alan Carmody, and Roger Weaver. Development and Manufacture of Drug Product In : Pharmaceutical Quality by Design: A Practical Approach. 2018, John Wiley & Sons Ltd. 148-149.
- ²⁷ : NIST/SEMATECH e-Handbook of Statistical Methods. What is process capability?
<http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/pmc/section1/pmc16.htm>.
- ²⁸ : European Commission. GMP. Annex 1 Revision: Manufacture of Sterile Medicinal Products (Draft). December 2020.
- ²⁹ : ISO 31000:2018(fr) Management du risque — Lignes directrices.
- ³⁰ : International Conference on Harmonization. Quality Guideline Q9: Quality Risk Management; 2005.
- ³¹ : Technical Report No. 44. PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology. Vol 62, 2008.
- ³² : ANSM. Guide des bonnes pratiques de fabrication. Glossaire. 2020.
- ³³ : ANSM. Bonnes Pratiques de Fabrication, Ligne Directrice 1 : Fabrication de médicaments stériles. 2020
- ³⁴ : ISO 14644-1:2015(fr) Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 1: Classification de la propreté particulière de l'air.

- ³⁵ : Del Ciello R. Buildings and facilities: Subpart C. In: Nally JD, ed. Good Manufacturing Practices for Pharmaceuticals. 6th Ed. New York: Informa, 2007:37–50.
- ³⁶ : Hoyles ED. (2010). Airlocks and access control. Cleanroom Technology.
- ³⁷ : Cosslett AG. The design of controlled environments. In: Denyer SP, Baird RM, eds. Guide to Microbiological Control of Pharmaceuticals and Medical Devices. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007:69–87.
- ³⁸ : Khazaii J. (2016) Cleanrooms. In: Advanced Decision Making for HVAC Engineers. Springer, Cham.
- ³⁹ : Xu Z. (2014). Filtration Mechanism of Fine Particles. In: Fundamentals of Air Cleaning Technology and Its Application in Cleanrooms. Springer, Berlin, Heidelberg.
- ⁴⁰ : Nakpan W, Yermakov M, Indugula R, Reponen T, Grinshpun SA. Inactivation of bacterial and fungal spores by UV irradiation and gaseous iodine treatment applied to air handling filters. Sci Total Environ. 2019 Jun 25;671:59-65.
- ⁴¹ : Casas J. (2019). Integrity testing of HEPA filters: A practical approach. Cleanroom technology.
- ⁴² : Sun, W. (2018). Cleanroom airlock performance and beyond. ASHRAE Journal. 60. 64-69.
- ⁴³ : ISO 14644-16:2019(fr) Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 16: Efficacité énergétique dans les salles propres et les dispositifs séparatifs.
- ⁴⁴ : ISO 14644-3:2019(fr) Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 3: Méthodes d'essai.
- ⁴⁵ : Crevoisier, Michel & Barle, Ester & Flueckiger, Andreas & Dolan, D.G. & Ader, Allan & Walsh, Andrew. (2016). Cleaning limits-why the 10-ppm criterion should be abandoned. 28. 30-34.

- 46 : Sarwar A , McSweeney C , Smith M , Timmermans J , Moore E . Investigation of an alternative approach for real-time cleaning verification in the pharmaceutical industry. *Analyst*. 2020 Nov 9;145(22):7429-7436.
- 47 : U.S. Pharmacopeial Convention, General Chapter <1072> Disinfectants and Antiseptics.
- 48 : Willison-Parry D, Yang S, Forng RY, Cirbo T, Mcmeel A, Kiler B, Phillion C. Disinfectant Efficacy: Understanding the Expectations and How to Design Effective Studies That Include Leveraging Multi-Site Data to Drive an Efficient Program. *PDA J Pharm Sci Technol*. 2020 Mar-Apr;74(2):249-263.
- 49 : Dorn, E., and P. Valerio. “ISPE Barrier Survey 2020.” the ISPE Aseptic Conference, Bethesda, MD, March 2020.
- 50 : European Commission. Annex 1 Revision: Manufacture of Sterile Medicinal Products (Draft). In: *EudraLex—Volume 4—Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines*. Revised December 2020.
- 51 : Lysfjord, J. “Aseptic Processing Barrier Technology Trends with the Use of RABS and Isolators.” .October 2015
- 52 : Didier Meyer. Design and engineering of isolators. In: *Advanced Aseptic Processing Technology* Edited by James Agalloco. 2010.
- 53 : L’isotechnie Getinge. La sécurité dans la prévention de la contamination et la protection de l’environnement dans les sciences de la vie.
- 54 : GETINGE. Half-suit isolator. FP 106. revised Jan – 2008.
- 55 : Bässler, Hans-Jürgen & Lehmann, Frank. (2020). Robots in Aseptic Isolators for Pharmaceutical Applications. 10. 254-260.
- 56 : SKAN AG, Electron Energy brought to Perfection.
- 57 : Getinge. The DPTE® System, The original Rapid Transfer Port.

- ⁵⁸ : Tim Coles. Leak rate measurement for pharmaceutical isolators: Practical guidance for operators and test engineers. Clean Air and Containment Review. Issue 11. 2012.
- ⁵⁹ : Getinge. DPTE transfet leak tester (TLT), and glove leak tester (GLT).
- ⁶⁰ : Richard Denk. Decontamination with H₂O₂ for aseptic Isolators. 2019.
- ⁶¹ : Raval JS, Koch E, Donnenberg AD. Real-time monitoring of non-viable airborne particles correlates with airborne colonies and represents an acceptable surrogate for daily assessment of cell-processing cleanroom performance. Cytotherapy. 2012 Oct;14(9):1144-50.
- ⁶² : Beckman and Coulter. Specifying Non-Viable Particle Monitoring for Aseptic Processing. 2019.
- ⁶³ : Tim Sandle. Selection of active air samplers. January 2010. European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences 15(4):119-124.
- ⁶⁴ : Sandle T. Microbial recovery on settle plates in unidirectional airflow cabinets. 2011. Clean Air and Containment Review, (6), 8–10.
- ⁶⁵ : Sandle, Tim. (2020). Study of contact plates recovery from pharmaceutical cleanroom surfaces across three-time ranges. European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences. 25. 1-10.
- ⁶⁶ : Nigel Halls. Microbiological Environmental Monitoring in: Microbiological Contamination Control in Pharmaceutical Clean Rooms. CRC Press (2004).
- ⁶⁷ : Tim Sandle. Real-time counting of airborne particles and microorganisms: A new technological wave?. January 2012. Clean Air and Containment Review. Issue 9.
- ⁶⁸ : Tim Sandle. Data Handling and Trend Analysis. Biocontamination Control for Pharmaceuticals and Healthcare. 2019.
- ⁶⁹ : Ph. Eur. 10.0. (04/2017). 0169.

- 70 : Mark Keyashian. Water Systems for Pharmaceutical Facilities. 2014. Fermentation and Biochemical Engineering Handbook (Third Edition).
- 71 : Sandle Tim. (2017). Design and control of pharmaceutical water systems to minimize microbial contamination. *Pharmaceutical Engineering*, 37(4).
- 72 : Thomas Earl Matthews, Christine Coffman, Dave Kolwyck, et al. Enabling Robust and Rapid Raw Material Identification and Release by Handheld Raman Spectroscopy. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 2019.
- 73 : FDA Guidance for Industry, Process Validation: General Principles and Practices. US Food and Drug Administration. Latest revision 2011.
- 74 : ANSM. Bonnes Pratiques de Fabrication, Annexe 15 : Qualification et validation.
- 75 : ISO 11139:2018(fr) Stérilisation des produits de santé — Vocabulaire des termes utilisés dans les normes de procédés de stérilisation et les équipements connexes.
- 76 : Sandle T. Sterility, sterilization and sterility assurance for pharmaceuticals: technology, validation and current regulations. Cambridge, UK: Woodhead Publishing; 2013.
- 77 : Moldenhauer, Jeanne. “Validation of Moist and Dry Heat Sterilization.” *AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series* (2013).
- 78 : Vu H. Le, Scott Weiss, Brad Lundahl, Stan Lam. Terminal sterilization. Assurance of Sterility for Sensitive Combination Products and Materials. Academic Press. 2020.
- 79 : Akers MJ. Sterile Filtration. *Int J Pharm Compd*. 2015 Sep-Oct;19(5):393-401.
- 80 : Technical Report No. 26, Sterilizing filtration of liquids, *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*.
- 81 : PDA, 2011. Technical Report No. 22 Process Simulation for Aseptically Filled Products.

- 82** : Harold S. Baseman. Aseptic Process Validation: Aseptic Process Simulation Design. Principles of Parenteral Solution Validation. Academic Press. 2020.
- 83** : International Standards Organization (ISO) (2008), ISO 13408-1 Aseptic Processing of Health Care Products – Part 1: General Requirements.
- 84** : Clontz, L. Microbial limit and bioburden tests: validation approaches and global requirements. 2013.
- 85** : Francesco Romano, Samanta Milani, Cesare M. Joppolo. Airborne particle and microbiological human emission rate investigation for cleanroom clothing combinations. Building and Environment, Volume 180, 2020.
- 86** : Asadi S, Wexler AS, Cappa CD, Barreda S, Bouvier NM, Ristenpart WD. Aerosol emission and superemission during human speech increase with voice loudness. Sci Rep. 2019 Feb 20;9(1):2348.
- 87** : Jeanne Moldenhauer. Personnel and Their Impact on Clean Room Operations. Parenteral Medications 4th Edition. 2019.
- 88** : Ph. Eur. 01/2020. 20920.
- 89** : Artificial Intelligence: Syntegon validates first AI-equipped visual inspection system in production line. Syntegon technology.
- 90** : JAN DUCHEK , BALAZS HAVASI. Analysis of Particulate Matter in Liquid-Finished Dosage Forms. PDA J Pharm Sci and Tech 2018.
- 91** : Andrea Hawe et al. Pharmaceutical feasibility of sub-visible particle analysis in parenterals with reduced volume light obscuration methods. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 85 (2013) 1084–1087.
- 92** : Ph. Eur. 04/2011. 20919.

- 93** : Gross-Rother J, Blech M, Preis E, Bakowsky U, Garidel P. Particle Detection and Characterization for Biopharmaceutical Applications: Current Principles of Established and Alternative Techniques. *Pharmaceutics*. 2020 Nov 19;12(11):1112.
- 94** : Ph. Eur. 01/2018. 20614.
- 95** : Ding JL, Ho B. Endotoxin detection--from limulus ameocyte lysate to recombinant factor C. *Subcell Biochem*. 2010;53:187-208.
- 96** : Pichler M, Roeder R, Blessing S, Reich J. Comparison of LAL and rFC Assays-Participation in a Proficiency Test Program between 2014 and 2019. *Microorganisms*. 2020;8(3):418.
- 97** : Ph. Eur. 04/2011. 20601.Corrected 7.7.
- 98** : US Food and Drug Administration. Guidance for industry: sterile drug products produced by aseptic processing—current good manufacturing practice. 2004
- 99** : Tim Sandle. The Sterility Test. In Woodhead Publishing Series in Biomedicine, Sterility Sterilisation and Sterility Assurance for Pharmaceuticals. 2013.
- 100** : Ali Mohammed Somily et al. Time-to-detection of bacteria and yeast with the BACTEC FX versus BacT/Alert Virtuo blood culture systems. *Ann Saudi Med*. 2018 May-Jun; 38(3): 194–199.
- 101** : 2017 - 07533 - Milliflex Rapid Microbiology Detection System Data Sheet.
- 102** : Milliflex® Quantum – Rapid Detection System. An easy-to-use, non-destructive, fluorescent staining-based system for faster microbial detection. Millipore.
- 103** : SCANRDI® Rapid Microbial Detection and Enumeration. Biomérieux.
- 104** : CHEMUNEX® Rapid Microbiology Analyzers. Rapid Microbial Detection. BIOMERIEUX.
- 105** : Guide des bonnes pratiques de fabrication. Chapitre 1 : Le système de qualité pharmaceutique. ANSM. 2019.

- 106:** PIC/S GUIDANCE ON CLASSIFICATION OF GMP DEFICIENCIES. PIC/S January 2019.
- 107:** World Health Organization. Deviation Handling and Quality Risk Management. July 2013.
- 108:** ICH guideline Q10 on pharmaceutical quality system EMA/CHMP/ICH/214732/2007.
- 109:** US Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Guidance for industry: investigating out-of-specification (OOS) test results for pharmaceutical production. Guidance Document. 2006.
- 110:** Tim Sandle. Investigating Sterility Test Failures. In : Microbial Risks and Investigations. 2012.



Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de cette faculté :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.



قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَحْسِنَ بِاللَّذِينَ عَالَمَهُمُ

أن أراقب الله في مهنتي

أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوماً وفيًا لتعاليمهم.

أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وألا أقصر أبداً في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.

أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترف.

ألا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وألا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.

لأحطى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتراماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



جامعة محمد الخامس بالرباط
Université Mohammed V de Rabat

الأطروحة رقم : 54

السنة : 2022

التحكم في التلوث في منطقة تصنيع الأدوية القابلة للحقن

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : 2022/ /
من طرف

السيد البخاري الخمليشي رضا

المزاد في 11 فبراير 1993 بتطوان

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات المفتاحية: التحكم في التلوث؛ تصنيع معقم؛ غرفة نظيفة؛ الإزوتقنية؛ الجودة حسب التصميم.

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس

السيد عبد القادر لعثيريس
أستاذ في الصيدلة الجالينوسية

مشرف

السيد يونس رحالي
أستاذ في الصيدلة الجالينوسية

عضو

السيد جواد الحارثي
أستاذ في الكيمياء العلاجية

عضو

السيد سيدي ياسر العلوي
أستاذ في الصيدلة الجالينوسية