



# THÈSE

Faculté des sciences  
pharmaceutiques

En vue de l'obtention du :

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Délivré par *l'Université Toulouse III - Paul Sabatier*  
Discipline ou spécialité : *Pharmacie*

THESE 2021 / TOU3 / N°2090

---

**Présentée et soutenue par** *PREVOT Robin*  
Le 19 novembre 2021

**Titre :**

*Place des technologies barrières dans les procédés aseptiques. Comment concevoir, qualifier et mettre en exploitation un isolateur d'une ligne de répartition aseptique ?*

---

**JURY**

**Président : Pr. Nicolas FABRE** Professeur des Universités, Pharmacien  
**1<sup>er</sup> Assesseur : Dr. Aymen BOUBAKER** Pharmacien  
**2<sup>sd</sup> Assesseur : Dr. François ROUX** Pharmacien d'officine  
**3<sup>ème</sup> Assesseur : Dr. Charlotte ROUZAUD LABORDE** PhD, Pharmacien

---

**Directeur(s) de Thèse :**

*Dr. Aymen BOUBAKER*  
Chef de projet mise en forme pharmaceutique  
LFB BIOMEDICAMENTS

**PERSONNEL ENSEIGNANT  
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier  
au 1er octobre 2020**

**Professeurs Emérites**

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERA EVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

### Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique
----------------------------	----------------------

## REMERCIEMENTS

Au président de jury **Pr. Nicolas Fabre**, professeur à la faculté de pharmacie de Toulouse ; merci de me faire l'honneur de présider mon jury.

A mon directeur de thèse **M. Aymen Boubaker**, responsable de projet mise en forme pharmaceutique au LFB ; merci de m'avoir offert l'opportunité de traverser la France jusque dans les Hauts de France ! Je n'aurais jamais pu imaginer un meilleur début de vie professionnelle. Qui eut cru un jour me voir en bottes, casque et chasuble de chantier, vadrouillant, en pleine pandémie dans l'Europe ? J'étais définitivement l'alternant le plus heureux de France.

Aux autres membres du jury : **Dr. François Roux**, pharmacien d'officine, c'est avec toi que j'ai débuté dans le monde de la pharmacie. Ta rigueur et tes enseignements (et les cafés le samedi matin) ont définitivement marqué ma vie d'étudiant en pharmacie. C'est un grand plaisir de compter sur toi au début de ma vie de pharmacien. **Dr. Charlotte Rouzaud Laborde**, pharmacienne au pôle neurosciences du CHU de Toulouse. Si les études ne sont qu'une étape de notre vie, j'en garde assurément un bon souvenir. J'ai apprécié échanger avec vous au cours des différents projets à la Faculté.

Aux équipes LFB ARRAS, **Aurélie, Milia, Jonathan, Abdel, Jean Michel, Mourad** et tous les autres. Merci pour votre accueil chaleureux et votre bienveillance au quotidien. C'est un plaisir de se lever chaque jour pour travailler à vos côtés.

Aux camarades du Master TMPP, **Audrey Millon et Audrey Maillard, Lison, Baptiste, Estéban, Thomas, Andrée, Sophie, Léa C et Léa R, Sonia, Camille, Solenn, Corentin, Estelle** ! Quelle année passée ensemble, on ne l'a même pas vu passer. La pandémie n'aura pas su nous séparer et je suis très heureux d'avoir pu vous rencontrer. Merci à vous et à bientôt !

A la meilleure colocation de l'île de France : **Chloé, Yosra, Nicolas et Brice** ; On a passé tellement de bons moments tous ensemble cette année. Merci d'avoir rendu mes haltes parisiennes infiniment plus chouettes. A bientôt sur la capitale !

A « mon Harem », **Inès, Alix, Mélanie, Yosra, Sarah** ; j'ai été très heureux de passer toutes ces années d'études avec vous. A la BU, au RU (IAS), à la cafète ! A tous ces plaisirs du quotidien qui ont rythmé nos années.

Aux autres copains de pharmacie : **Laura, Gautier, Gaël, Quentin, Pierre** ; on en aura fait des bêtises. J'espère sincèrement que nos routes se croiseront de nouveau.

Aux copains de longue date : **Adrien, Sarah, Mélissa, Loïc, Arthur, Tanguy, Anthony, Eusciane, Benoit, Elisa, Frédo, Adrian, Anita, Mathias** ; à nos répètes sans fin, à nos soirées de folies, à tous ce qu'on a vécu qu'on n'oubliera pas. Merci pour ces souvenirs.

Enfin, à **ma famille**, qui m'a soutenu toute ma vie, dans mes choix, tant dans les moments de plaisir que dans les moments difficiles. **Gautier**, mon frère, he oui !!! Il faudra m'appeler « docteur » maintenant ! **Papa, Maman** ; si j'ai pu arriver jusqu'ici aujourd'hui c'est surtout grâce à vous. Votre soutien, vos conseils, votre amour m'ont toujours permis d'avancer. Merci

## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	3
LISTE DES FIGURES .....	7
LISTE DES TABLEAUX.....	10
I. Maitrise des contaminations en répartition aseptique .....	11
I.1 Définition .....	11
I.1.1 Définition du médicament.....	11
I.1.2 Les médicaments injectables.....	12
I.1.3 Caractéristiques des produits injectables.....	15
I.2 Exigences réglementaires .....	16
I.2.1 Les Bonnes Pratiques de Fabrication .....	16
I.2.2 La révision de l'annexe 1 des Bonnes Pratiques de Fabrication.....	17
I.3 Les contaminations.....	20
I.3.1 Les différents types de contamination.....	20
I.3.2 Les différentes sources de contamination.....	24
I.4 Les Zones à Atmosphère Contrôlée .....	26
I.4.1 Définitions .....	27
I.4.2 La surveillance particulière.....	28
I.4.3 La surveillance microbiologique .....	29
I.4.4 Principes de fonctionnement de la ZAC.....	30
I.5 Conclusion.....	39
II. Les technologies barrières et l'isolateur au cœur des processus aseptiques ....	40
II.1 Définitions.....	40
II.1.1 Objectifs d'une barrière dans les processus aseptiques .....	40
II.1.2 Histoire de l'isolement dans la fabrication de médicaments stériles .....	41
II.2 Technologie de l'isolateur.....	47
II.2.1 L'isolateur.....	47

II.2.2	Isolateur VS RABS.....	50
II.2.3	Les applications en santé .....	52
II.3	Spécificités techniques .....	54
II.3.1	Les matériaux .....	54
II.3.2	La gestion atmosphérique et décontamination.....	57
II.3.3	La décontamination par l'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	62
II.3.4	Glove managing.....	64
II.3.5	Les méthodes de transfert .....	66
II.3.6	Le sas de décontamination .....	67
II.4	Conclusion.....	68
III.	La conception, la qualification et la mise en service d'un isolateur d'une ligne de répartition aseptique .....	69
III.1	La définition du besoin et études préliminaires.....	70
III.1.1	L'URS ou User Request Specifiction .....	70
III.1.2	La conception.....	70
III.1.3	Mock-up study.....	73
III.2	La qualification.....	79
III.2.1	Qualification d'installation.....	79
III.2.2	Qualification opérationnelle.....	79
III.2.3	Qualification de performance .....	83
III.2.4	Les essais de mediafill.....	85
III.3	Retour d'expérience sur le design et l'installation d'un isolateur d'une ligne de répartition aseptique.....	86
III.3.1	Rédaction de l'URS.....	86
III.3.2	Le mock-up .....	86
	BIBLIOGRAPHIE.....	88
	SERMENT DE GALIEN.....	92

# LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: ILLUSTRATION DE L'OUVRAGE CLYSMATICA NOVA (1667) DU MEDECIN ALLEMAND JOHANN SIGISMUND ELSHOLTZ QUI DONNE « LA DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE DE PERFUSION AU BRAS ET A LA JAMBE ».....	12
FIGURE 2: ETIQUETTE D'AMPOULE HYPODERMIQUE FABRIQUEE ET DELIVREE PAR LA PHARMACIE LIMOUSIN A PARIS .....	13
FIGURE 3: PREMIERE SERINGUE DE PRAVAZ ET AIGUILLES CREUSES FABRIQUEES PAR CHARRIERE EN 1852 .....	13
FIGURE 4 : LABORATOIRES DEBAT, REMPLISSAGE DE SOLUTE DE P.A.S (ACIDE PARA-AMINOSALICYLIQUE STABILISE) (1938).....	13
FIGURE 5: LIGNE DE REMPLISSAGE DU VACCIN COMIRNATY® SUR LE SITE PFIZER DE PUURS, BELGIQUE. SOURCE : PFIZER .....	14
FIGURE 6: POPULATIONS BACTERIENNES (BIOFILM) MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE RECOLORISEE GROSSISSEMENT X7,500 [17] .....	20
FIGURE 7 : LEVURES OBSERVEES AU MICROSCOPE (ELECTRONIQUE A TRANSMISSION) [18] .....	21
FIGURE 8: PENICILLIUM SP. OBSERVE AU MICROSCOPE. (CREDIT PHOTO : GENEVIEVE MARCHAND) [19].....	21
FIGURE 9 : VIRUS NU A CAPSIDE ICOSAEDRIQUE, UN ADENOVIRUS DE LA FAMILLE DES ADENOVIRIDAE.....	22
FIGURE 10 : VIRUS ENVELOPPE A CAPSIDE TUBULAIRE, UN VIRUS GRIPPAL DE LA FAMILLE DES ORTHOMYXOVIRIDAE .....	22
FIGURE 11 : MISE EN EVIDENCE, EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE, D'ATNC (MERZ ET AL., 1981) [22] .....	23
FIGURE 12 : DISTRIBUTION DES PARTICULES EN FONCTION DE LEUR GRANULOMETRIE ET DE LEUR VISIBILITE [23] .....	23
FIGURE 13 : TOPOGRAPHIE DE DISTRIBUTION DES BACTERIES SELON LA LOCALISATION SUR LE CORPS [24] .....	26
FIGURE 14 : GENERATION DE PARTICULES $\geq 0,3 \mu\text{m}$ EN FONCTION DE LA POSTURE OU DE L'ACTIVITE EN COURS [25].....	26
FIGURE 15 : CLASSIFICATION DES ZONES (DEFINIES PAR LES BPF) OBLIGATION POUR LES MEDICAMENTS STERILES [26] .....	27
FIGURE 16 : SCHEMA DE LA COMPOSITION D'UN FILTRE [29].....	31
FIGURE 17: FILTRE A PLIS PROFONDS [32] .....	33
FIGURE 18 : FILTRE A PETITS PLIS [32].....	33
FIGURE 19 : SCHEMA D'UNE CASCADE DE PRESSION COMPLEXE DANS DIFFERENTS LOCAUX DE PRODUCTION (AVEC UTILISATION DE TECHNOLOGIE ISOLATEUR).....	34
FIGURE 20 : PRESENTATION DES TENUES RECOMMANDEES EN ZAC .....	36
FIGURE 21 : QUANTIFICATION DE GENERATION DE PARTICULES DE DIAMETRE $>0,5 \mu\text{m}$ / MINUTES PAR UNE PERSONNE EN FONCTION DE L'HABILLAGE ET DE L'ACTIVITE EFFECTUEE.....	36
FIGURE 22 : SIMULATION NUMERIQUE MODELISANT EN 3D L'ECOULEMENT D'AIR DANS LA SALLE AVEC SES EQUIPEMENTS [38].....	38
FIGURE 23 : SCHEMA D'UN ECOULEMENT LAMINAIRE [39].....	39
FIGURE 24 : SCHEMA D'UN ECOULEMENT TURBULENT [39].....	39
FIGURE 25 : FACE A UNE DEMANDE CROISSANTE DE PARENAMINE, UNE SOLUTION D'ACIDES AMINES UTILISEE POUR LES INJECTIONS, LES INGENIEURS DE FREDERICK STEARNS & CO. ONT CONÇU CETTE MACHINE DE REMPLISSAGE STERILE POUR ELIMINER LE TRAVAIL MANUEL LABORIEUX. L'ENSEMBLE DE L'APPAREIL EST ENTOURE D'UNE HOTTE EN PLEXIGLAS ET EST SOUMIS A UN FLUX CONSTANT DE RAYONS ULTRAVIOLETS BACTERICIDES. LA MACHINE PEUT REMPLIR 2 000 BOUTEILLES PAR HEURE. [41].....	42
FIGURE 26 : BOITES A GANTS (A DROITE) ET SYSTEME DE VENTILATION (A GAUCHE) PRODUIT PAR JACOMEX DANS LES ANNEES 40 [42] .....	43
FIGURE 27: L'INVENTEUR DES SALLES BLANCHES WILLIS WHITFIELD DANS LE PREMIER LOCAL SOUS FLUX UNIDIRECTIONNEL DANS LES LABORATOIRES NATIONAUX SANDIA [43] .....	44

FIGURE 28 : SALLE BLANCHE LABORATOIRES LABAZ - GROUPE SANOFI (SITE AMBARES) ANNEES 60-70.....	45
FIGURE 29 : UN ISOLATEUR A PAROI "FLEXIBLE" UTILISE POUR DES TESTS DE STERILITES DANS UN LABORATOIRE SUR DES PRODUITS SANGUINS (COURTESY OF ASTEC MICROFLOW.) [45] .....	45
FIGURE 30 : ISOLATEUR D'UNE LIGNE DE REMPLISSAGE - CIRCA 1988 [47] .....	46
FIGURE 31 : LIGNE COMPLETE DE REPARTITION ASEPTIQUE. LAVAGE DES FLACONS, TUNNEL ET SOUS ISOLATEUR REMPLISSAGE BOUCHAGE LYOPHILISATION (SOURCE : OPTIMA).....	47
FIGURE 32 : DIFFERENTS DISPOSITIFS DE MANIPULATION GANTS (GAUCHE), DEMI-SCAPHANDRE (MILIEU) ET COMBINAISON INTEGRALE (DROITE) [49].....	48
FIGURE 33 : SCHEMA D'UN "PETIT" ISOLATEUR AVEC FLUX NON-LAMINAIRE ET AVEC UNE PRESSION POSITIVE.[45] .....	48
FIGURE 34 : CENTRALE DE TRAITEMENT D'AIR [50].....	49
FIGURE 35 : DIFFERENTS MODES D'INTRODUCTION DU MATERIEL MOUSEHOLE (GAUCHE) ET RTP (DROITE) [51] .....	49
FIGURE 36 : LES DIFFERENTES DECLINAISONS DE RABS [52] .....	51
FIGURE 37 : EXEMPLES D'ISOLATEURS DISPONIBLES EN LABORATOIRES. ....	52
FIGURE 38 : DIFFERENCE ENTRE UN ISOLATEUR DE REPARTITION ASEPTIQUE ET UN ISOLATEUR DE REPARTITION ASEPTIQUE D'UN PRODUIT TOXIQUE [53] .....	53
FIGURE 39 : EXEMPLES D'ISOLATEURS UTILISES DANS LE MILIEU HOSPITALIER .....	53
FIGURE 40 : EXEMPLE D'ISOLATEURS UTILISES DANS LA PRODUCTION DE MEDICAMENTS.....	54
FIGURE 41 : ISOLATEUR ASEPTIQUE FLEXIBLE SOLOPURE™ A USAGE UNIQUE [54] .....	55
FIGURE 42 : (1949) PHILIP C. TREXLER ("Trex"), ON THE LEFT WITH J.A.REYNIERS, CENTRE AND BOB ERVIN, ASSISTANT DIRECTOR OF THE LOBUND INSTITUTE ON THE RIGHT.[55] .....	55
FIGURE 43: PROCESSUS DE PASSIVATION DE L'INOX [56] .....	57
FIGURE 44 : EXTRAIT D'UN P&ID D'UN ISOLATEUR DE REPARTITION ASEPTIQUE .....	58
FIGURE 45 : DIFFUSEUR D'AIR A ECOULEMENT UNIDIRECTIONNEL (SCHEMA D'INTEGRATION A GAUCHE) [58] .....	59
FIGURE 46 : SCHEMA D'UNE CONCEPTION DES FLUX D'AIR (EXEMPLE DU RECHAUFFAGE DE L'AIR INJECTE DANS L'ISOLATEUR) .....	60
FIGURE 47: VUE MECANIQUE D'UN ASSECHEUR D'AIR RATTACHE A LA CTA DE L'ISOLATEUR.....	61
FIGURE 48 : SCHEMA D'INTEGRATION DU SYSTEME DE GENERATION DE VAPEUR DE PEROXYDE D'HYDROGENE.....	62
FIGURE 49 : SCHEMA D'UN TEST D'ETANCHEITE REALISE SUR UN ISOLATEUR, FERMETURE DES CLAPETS ET INJECTION D'AIR COMPRI ME FILTRE .....	62
FIGURE 50 : QUANTITE D'H2O2 CUMULEE INJECTEE DANS UN ISOLATEUR LORS D'UN CYCLE DE DECONTAMINATION .....	63
FIGURE 51 : SCHEMA D'UN EXEMPLE DE CYCLE DE VIE D'UN GANT.....	65
FIGURE 52 : GRAPHIQUE D'UN TEST D'INTEGRITE D'UN GANT D'ISOLATEUR (A GAUCHE) ET PHOTO D'UN GLT (A DROITE) (SOURCE : GETINGE).....	66
FIGURE 53 : SCHEMA DE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME DPTE® (SOURCE : LACALHENE) [59].....	67
FIGURE 54 : SAS SARA-P (SOURCE SKAN AG)[61] .....	68
FIGURE 55 : DIAGRAM DE VALIDATION. SCHEMA SIMPLIFIE MONTRANT LES ACTIVITES A REALISER POUR LA VALIDATION D'UN ISOLATEUR [45] .....	69
FIGURE 56 : PLACEMENT DES ELEMENTS DE MONITORING ENVIRONNEMENTAL SOUS L'ISOLATEUR.....	73
FIGURE 57 : PLAN DE LA REMPLISSEUSE FOURNI PAR LE FABRICANT DE LA MACHINE.....	74

FIGURE 58 : PLAN DEFINISSANT LE PERIMETRE DE L'ETUDE .....	75
FIGURE 59 : MAQUETTE DE LA LIGNE DE REMPLISSAGE .....	76
FIGURE 60 : VUE EXTERIEURE MAQUETTE DU SYSTEME DE CHARGEMENT/DECHARGEMENT AUTOMATIQUE DES LYOPHILISATEURS.....	76
FIGURE 61 : MAQUETTE DE LA CAPSULEUSE POST-LYOPHILISATION .....	77
FIGURE 62 : VUE EN 3 DIMENSIONS DE LA LIGNE DE REMPLISSAGE LIQUIDE SOUS ISOLATEUR .....	77
FIGURE 63 : EXEMPLE DE RAPPORT A L'ISSUE D'UNE ETUDE MAQUETTE SUR UN ISOLATEUR DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE (SOURCE : SKAN AG) .....	78
FIGURE 64 : EXEMPLE D'UNE MAQUETTE D'ISOLATEUR (A GAUCHE) ET DU RENDU FINAL CHEZ LE CLIENT (A DROITE) .....	78
FIGURE 65 : ESSAIS D'INTEGRITE D'UN FILTRE HEPA AVEC UN ROBOTSCANFLEX® [62].....	80
FIGURE 66 : TESTS DE FUMEE METTANT EN EVIDENCE UNE TURBULENCE (A GAUCHE) ET UN FLUX CONFORME (A DROITE) .....	81
FIGURE 67 : INDICATEUR CHIMIQUE (GAUCHE) ET INDICATEUR BIOLOGIQUE AVEC LE TUBE DE MEDIA POUR LA MISE EN CULTURE (DROITE) (SOURCE : STERIS).....	83
FIGURE 68: ORGANISATION D'UN MFT SUR UNE LIGNE DE REMPLISSAGE POUR VALIDER UNE PLAGE ASEPTIQUE DE 7 JOURS .....	85
FIGURE 69 : PRINCIPALES PHASES DU PROJET ISOLATEUR DANS LE PROJET ARRAS DU LFB .....	87

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : PRESENTATION DES DIFFERENTES FORMES STERILES EN FONCTION DE LEUR VOIE D'ADMINISTRATION .....	15
TABLEAU 2 : PRESENTATION DU PLAN DE L'EBAUCHE DE REVISION DE L'ANNEXE 1 (VERSION DE DECEMBRE 2020) .....	19
TABLEAU 3 : QUANTIFICATION PARTICULAIRE PAR M <sup>3</sup> EN FONCTION DE L'ENVIRONNEMENT.....	25
TABLEAU 4 : QUANTIFICATION DES BACTERIES SUR LE CORPS HUMAIN ET DANS LES SECRETIONS .....	26
TABLEAU 5 : CLASSIFICATION DE LA PROPRETE PARTICULAIRE DE L'AIR SELON LA NORME ISO 16644-1 [27] .....	28
TABLEAU 6 : CONCENTRATION PARTICULAIRE MAXIMALE AUTORISEES EN FONCTION DE L'ACTIVITE DANS LE LOCAL ANNEXE 1 DES BPF [9] .....	28
TABLEAU 7: COMPARAISON DE LA CLASSIFICATION DE LA PROPRETE PARTICULAIRE DE L'AIR ENTRE LES REQUIS BPF ET LA NORME ISO 16644-1.....	29
TABLEAU 8 : LIMITES RECOMMANDEES DE CONTAMINATION MICROBIENNE EN FONCTION DE LA CLASSE (BPF) DE LA ZAC [9].....	29
TABLEAU 9 : TAUX DE RECUPERATION DE CONTAMINATION INITIALE SUGGERES DANS DES ENVIRONNEMENTS ASEPTIQUES SELON LES DIRECTIVES FDA [28].....	30
TABLEAU 10 : CLASSIFICATION DES FILTRE DE MOYENNE ET HAUTE EFFICACITE SELON LA NORME ISO 16 890 [30].....	32
TABLEAU 11 : CLASSIFICATION DES FILTRES TRES HAUTE EFFICACITE SELON LA NORME EN 1822 [31] .....	32
TABLEAU 12 : EXEMPLES DE SALLES BLANCHES SELON LA NORME ISO 14644-4 [37].....	38
TABLEAU 13 : SYNTHESE DES SPECIFICATIONS BPF POUR UNE ZAC CLASSIFIEE GRADE A.....	41
TABLEAU 14: CLASSIFICATION DES TYPES D'ACIER INOXYDABLES EN FONCTION DE LA NORME CONSIDEREE .....	56
TABLEAU 15 : TYPES DE TRAITEMENT FINAL DE L'INOX.....	57
TABLEAU 16 : SPECIFICATIONS DU TAUX DE FUITE POUR LES TESTS D'ETANCHEITE DES ISOLATEURS .....	59
TABLEAU 17 : TABLEAU DE COMPARAISON DES MATIERES COMPOSANT LES GANTS D'ISOLATEURS EN FONCTION DE LEUR RESISTANCE	64
TABLEAU 18 : VALEURS CIBLES D'UN TEST D'INTEGRITE SUR UN GANT D'ISOLATEUR .....	66
TABLEAU 19 : EXEMPLE D'EVALUATION DU RISQUE DANS UNE ANALYSE DE RISQUE.....	72
TABLEAU 20 : EXEMPLE D'ECHELLE D'EVALUATION DE L'OCCURRENCE.....	72
TABLEAU 21 : EXEMPLE D'ECHELLE D'EVALUATION DE LA DETECTABILITE .....	72

# I. Maitrise des contaminations en répartition aseptique

Dans cette première partie nous allons décrire ce qu'est un médicament injectable. A travers ses caractéristiques et son histoire, nous allons aborder les contraintes réglementaires auxquelles il est confronté. Ensuite, par la description des sources de contamination possibles, nous verrons que la maitrise de l'environnement est la clef pour garantir la production de médicaments injectables de qualité.

## I.1 Définition

### I.1.1 Définition du médicament

En France, le médicament est décrit dans le code de la santé publique comme. Une substance administrée et exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. [1]

Le médicament contient ainsi :

- **Un principe actif.** Il s'agit d'une substance d'origine chimique ou naturelle caractérisée par un mécanisme d'action curatif ou préventif précis dans l'organisme.
- **Des excipients.** Ce sont des substances d'origine chimique ou naturelle qui facilitent l'utilisation du médicament mais ne présentent pas d'effet curatif ou préventif.

Pour pouvoir être commercialisé, un médicament doit disposer d'une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Cette autorisation est délivrée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM). [2]

Cette autorisation n'est délivrée qu'après l'examen d'un dossier déposé auprès des autorités. Le médicament devra aborder les caractéristiques suivantes : [3]

- **Qualité**
- **Sécurité**
- **Efficacité**

Parmi toutes les formes de médicaments existantes sur le marché, il en existe une particulière : les médicaments injectables.

## I.1.2 Les médicaments injectables

### I.1.2.1 Histoire

Il faut remonter au milieu du XVII<sup>ème</sup> siècle pour trouver des premiers écrits mentionnant une action bienfaisante à la suite d'une injection intraveineuse. Le médecin allemand Michel ETTMULLER raconte qu'un veneur pouvait souffler, par un os de poule dans les veines de chiens, du vin et de l'eau de vie qu'il tenait à la bouche provoquant ainsi l'ivresse le l'animal. [4]



Figure 1: Illustration de l'ouvrage *Clysmatica nova* (1667) du médecin allemand Johann Sigismund Elsholtz qui donne « la description de la technique de perfusion au bras et à la jambe ».

L'injection médicamenteuse dans les vaisseaux reste alors réservée aux cas les plus désespérés. L'acte en lui-même reste dangereux et était le plus souvent fatal pour le patient. Les injections sous-cutanées et intramusculaires avaient davantage de contraintes techniques à surmonter comme la résistance tissulaire et leur plus grande sensibilité aux contaminations microbiennes.

Les inventions de la seringue hypodermique par le médecin lyonnais Charles-Gabriel Pravaz en 1853 et de l'ampoule hypodermique par le pharmacien parisien Stanislas Limousin en 1886 vont révolutionner le monde de l'injectable. Ces inventions vont offrir au monde médical les solutions techniques jusqu'alors manquantes pour surmonter les obstacles de l'injection médicamenteuse. [5]



Figure 2: étiquette d'ampoule hypodermique fabriquée et délivrée par la pharmacie Limousin à Paris



Figure 3: Première seringue de Pravaz et aiguilles creuses fabriquées par Charrière en 1852

Le XX<sup>ème</sup> siècle verra l'explosion de ces techniques tant dans leur amélioration technique que dans leur utilisation. Le professeur R. Charonnat nous livre quelques chiffres dans la *revue d'histoire de la pharmacie 40<sup>e</sup> année* avec le nombre d'ampoules délivrées par la pharmacie centrale des hôpitaux de Paris au XX<sup>ème</sup> siècle : [6]

- 1916 : quelques centaines par ans.
- 1938 : 300 000 environ par mois.
- 1951 : Un million environ par mois.

Des flacons fermés par un bouchon caoutchouc et une capsule métallique apparaîtront à partir de la seconde guerre mondiale. Ils sont faciles à utiliser, le bouchon garantissant l'étanchéité du flacon et le produit pouvant être prélevé au moyen d'une aiguille sans ôter le bouchon [7]



Figure 4 : Laboratoires Debat, remplissage de soluté de P.A.S (Acide para-aminosalicylique stabilisé) (1938)

L'automatisation des procédés de fabrication permettra, à partir de la fin de la seconde guerre mondiale, la production de masse de produits injectables. L'industrialisation de la fabrication des médicaments injectables permet de répondre aux enjeux modernes de santé comme la pandémie de SARS-CoV-2 responsable de la COVID-19. En 2021 c'est près de 500 millions de flacons de vaccin BioNTech-Pfizer qui seront produits permettant près de 3 milliards d'injections. [8]



Figure 5: Ligne de remplissage du vaccin Comirnaty® sur le site Pfizer de Puurs, Belgique. source : Pfizer

#### 1.1.2.2 Définition

Aujourd'hui, les médicaments injectables doivent être stériles. Ils doivent répondre à des exigences supplémentaires par rapport aux médicaments non stériles : [9]

- **STERILE** : se dit d'un médicament dans lequel on constate l'absence de tout micro-organisme vivant ou revivable.
- **APYROGENE** pour les injectables : Absence de substance pyrogène (qui provoque la fièvre).
- **APARTICULAIRE** : Absence de particules inertes.

La pharmacopée européenne distingue les formes stériles en fonction de leur voie d'administration. Ces formes sont décrites dans le tableau 1 ci-dessous

<b>Les préparations parentérales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Préparations injectables</li> <li>- Préparations pour perfusion</li> <li>- Préparations à diluer pour injection ou pour perfusion</li> <li>- Poudres pour injection ou perfusion</li> <li>- Gels injectables</li> <li>- Implants</li> </ul>
<b>Les préparations ophtalmiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Collyres</li> <li>- Solutions pour lavage ophtalmique</li> <li>- Poudres pour collyre et poudre pour lavage ophtalmique</li> <li>- Préparations ophtalmique semi-solides</li> <li>- Inserts ophtalmiques</li> </ul>
<b>Les préparations pour oreilles lésées</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Préparation liquides</li> <li>- Préparations semi-solides</li> <li>- Préparations solides</li> </ul>
<b>Les préparations pour application cutanée sur peau lésée</b>	
<b>Les préparations intra-mammaires</b>	
<b>Préparations intra-utérines</b>	
<b>Certaines préparations pour inhalation</b>	

Tableau 1 : Présentation des différentes formes stériles en fonction de leur voie d'administration

Un produit injectable doit donc être stérile pour pouvoir être administré

### I.1.3 Caractéristiques des produits injectables

#### I.1.3.1 La stérilité

La stérilisation est une opération qui consiste à détruire (inactiver) ou à éliminer des bactéries, levures et moisissures.

La stérilité est la résultante d'une opération conduisant à l'absence de micro-organismes viables définie dans la pharmacopée européenne par un Niveau d'Assurance de Stérilité (NAS) d'une valeur  $\leq 10^{-6}$ . Tous les produits présentés comme stériles doivent répondre à l'essai de stérilité, mais la réalisation de cet essai ne suffit pas à garantir la stérilité d'un produit.

La stérilité du produit peut être obtenu de différentes manières :[10]

- Stérilisation dans le récipient final :
  - Stérilisation par la chaleur :
    - Stérilisation par chaleur humide : Passage à l'autoclave : 121°C au minimum pendant 20 minutes
    - Stérilisation par chaleur sèche : Passage au four : 160°C pendant 2 heures

- Stérilisation par irradiation ionisante
- Stérilisation par les gaz
- Certains produits sont sensibles aux techniques de stérilisation finale, on utilise la méthode de filtration. Cette technique est celle du **Remplissage Aseptique**

## I.2 Exigences règlementaires

### I.2.1 Les Bonnes Pratiques de Fabrication

L'OMS définit les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) comme « un des éléments de l'assurance de la qualité, garantissant que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon des normes de qualité adaptées à leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché ».[11]

Les BPF portent sur tous les aspects des processus de production et de contrôle[12] :

- Un processus de fabrication déterminé et des étapes critiques validées ;
- Des locaux, un stockage et un transport adaptés ;
- Un personnel de production et de contrôle de la qualité formé et qualifié ;
- Des installations suffisantes et qualifiées ;
- Des instructions et des modes opératoires écrits et approuvés ;
- La traçabilité complète d'un produit grâce aux dossiers de lot ;
- Des systèmes d'enregistrement et d'examen des réclamations ;
- Un système d'audit interne permettant la vérification de la mise en application et le monitoring des BPF.

En France, le Guide des Bonnes Pratique de Fabrication est un document diffusé par l'ANSM.[13] Il est construit en 4 parties :

- Partie 1 : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain (divisé en 9 chapitres).
- Partie 2 : Bonnes pratiques de fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments
- Partie 3 : Documents relatifs aux bonnes pratiques de fabrication
- Partie 4 : Guide des bonnes pratiques de fabrication spécifiques aux médicaments de thérapie innovante

A ces parties viennent s'ajouter 19 annexes appelées Lignes Directrices Particulières (LDP). Elles viennent apporter des précisions sur des concepts particuliers de la production.

L'annexe 1 est consacrée à la fabrication des médicaments stériles. Cette annexe fait l'objet d'une révision depuis 2014.

Dans une volonté d'uniformité des recommandations au niveau de l'Union Européenne, Le guide des BPF et le guide européen sont équivalents [9]

#### 1.2.2 La révision de l'annexe 1 des Bonnes Pratiques de Fabrication

En 2014 un groupe de travail de 16 experts provenant de l'EMA, de la PIC/S et de l'OMS est chargé de réviser les lignes directrices particulières attenantes à la fabrication des médicaments stériles. La dernière version remonte à 2008.

Une première version de travail est présentée en décembre 2017. La dernière version du draft à l'étude actuellement date de décembre 2020.[14]

Le document de 52 pages contre 16 pour sa version de 2008 est découpé en 11 sections qui, pour la première fois, introduisent ou mettent en avant des notions.

##### 1.2.2.1 Le QRM (Quality Risk Management)

La notion de gestion du risque est mise en avant dans cette nouvelle version. C'est une notion connue des industriels et appliquée notamment dans les stratégies de qualification des équipements. Cependant les autorités souhaitent que les producteurs maîtrisent le cycle de vie de leur produit, de son développement à sa libération sur le marché. Cette maîtrise passe par une stratégie d'évaluation du risque.

##### 1.2.2.2 La CCS (Contamination Control Strategy)

Les autorités insistent particulièrement sur cette notion de stratégie de contrôle des contaminations. Le terme est cité 43 fois dans le document. Il s'agit d'une grande nouveauté, du moins dans la pratique. En effet cela implique une méthodologie qui ramène la connaissance du particulier, de l'individuel à celle de l'ensemble dans lequel elle s'inscrit. C'est un exercice de réflexion pluridisciplinaire aboutissant à la rédaction d'un document unique considérant tous les éléments susceptibles d'être source de contamination (croisée, particulière ou microbienne) et les moyens de contrôle mis en place :

- La conception architecturale des locaux et des processus de fabrication ;
- Les équipements et bâtiments ;
- Le personnel ;
- Les utilités ;
- Les opérations de contrôles ;
- Les consommables de production ;
- Les processus d'agrément des fournisseurs ;
- La maîtrise des étapes sous traitées ;
- La validation des procédés de fabrication ;
- Les opérations de maintenance préventives, de nettoyage, de désinfection ;
- Les systèmes de surveillance, notamment environnemental ;
- La prévention des risques par la surveillance des données critiques ;
- La gestion des déviations et la mise en place d'action correctives ou préventives après l'identification des causes racines ;
- La stratégie d'amélioration continue ;

#### *1.2.2.3 Le PQS (Pharmaceutical Quality System)*

Plus globalement la notion de système qualité pharmaceutique est rendu indispensable pour les fabricants de médicaments stériles. Cette notion est présentée dans l'ICH Q10 (International Conference on Harmonisation) [15]. Ce document décrit un modèle efficace d'une stratégie globale qualité au sein d'une entreprise. En effet la stratégie doit impliquer tous les niveaux de responsabilité de l'entreprise, jusqu'à la direction de l'établissement pharmaceutique qui doit être transparente sur les objectifs de qualité fixés, la politique qualité établie, la revue de direction, les indicateurs qualité (déviations), les actions correctives et préventives mises en place et le système de management du changement.

### 1.2.2.4 Contenu du document

Le tableau 1 ci-dessous présente le plan selon lequel est conçu l'annexe 1 :

Chapitre	Contenu
1. But	But additionnel (autre que les produits médicaux stériles) pour lesquels les principes généraux de l'annexe peuvent s'appliquer
2. Principe	Principes généraux appliqués à la fabrication de produits pharmaceutiques
3. Système Qualité Pharmaceutique	Requis spécifiques du système qualité pharmaceutique appliqués aux produits médicaux stériles. Cette partie reprend les recommandations de l'ICH Q10 et évoque les notions de stratégie de contrôle des contaminations et de gestion des risques
4. Locaux	Besoins spécifiques pour le design et recommandations pour la qualification des locaux, incluant l'utilisation des technologies barrières.  C'est la première fois que les textes opposables nomment directement des noms d'équipements (Restricted Area Barrier System et Isolateurs). C'est une des modifications majeures apportée par la révision
5. Equipements	Inclue des recommandations sur l'utilisation d'équipements et sur leur conception
6. Utilités	Requis spécifiques concernant les utilités comme l'eau, l'air et le vide
7. Personnel	Requis en termes de formation, connaissances, aptitudes et recommandations pour la qualification du personnel.
8. Production et Technologies spécifiques	Conduite à tenir lors des procédés de remplissage aseptique et de stérilisation terminale.  Technologies spécifiques comme la lyophilisation et le Blow Fill Seal (BFS)  Approches à avoir concernant la stérilisation des produits, des équipements et des éléments du packaging
9. Surveillance environnementale Vivant et non vivant	Cette section diffère de la section 4 car elle aborde les surveillances à réaliser en routine et les critères à prendre en compte en fonction du design des systèmes. Elle aborde les réglages et les niveaux d'alerte et la gestion des données Requis des APS (Aseptic Process Simulation) ou MFT (Media Fill Test)
10. Contrôle Qualité	Requis spécifiques concernant le Contrôle Qualité des produits stériles
11. Glossaire	Explication de termes spécifiques

Tableau 2: Présentation du plan de l'ébauche de révision de l'annexe 1 (version de décembre 2020)

La version définitive de l'annexe 1 n'est toujours pas publiée, néanmoins cette dernière ébauche donne aux industriels une idée des exigences réglementaires qu'il faudra respecter prochainement. En effet il s'agira de suivre ces recommandations lorsqu'elles seront intégrées au guide des bonnes pratiques de fabrication, dont le respect est obligatoire pour être autorisé à produire des médicaments et ainsi garantir pour les patients la mise à disposition de médicaments exempts de toute contamination.

### 1.3 Les contaminations

Pour qu'un médicament soit efficace, qualitatif et sécurisé il est indispensable de le préserver de toute contamination. Elles peuvent être de plusieurs sorte et ont des origines diverses.

#### 1.3.1 Les différents types de contamination

##### 1.3.1.1 Biologiques

##### 1.3.1.1.1 Bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires (procaryotes). Elles peuvent s'agglutiner entre elles pour former des populations complexes appelée biofilm. Les bactéries sont de formes diverses (en sphère, allongées, en bâtonnet ou encore en spirale). Leur taille est variable, allant de 0,3  $\mu\text{m}$  pour les plus petites connues à plusieurs  $\mu\text{m}$  pour les plus grosses. Toujours sur un support (particules, surface, eau etc...) on peut en retrouver partout. Elles sont pour la plupart inoffensives ou bénéfiques à l'organisme humain, cependant, il existe des bactéries dites pathogènes qui sont responsables de maladies infectieuses. Deux types de bactéries peuvent être retrouvés dans l'environnement : [16]

- Des bactéries d'origine humaine (peau, muqueuses) comme *Staphylococcus aureus*, les entérobactéries ou les *Enterococcus*.
- Des bactéries d'origine environnementale, les bacilles à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Legionella pneumophila* ou les mycobactéries atypiques.



Figure 6: Populations bactériennes (biofilm) microscope électronique à balayage recolorisée grossissement x7,500 [17]

Certaines bactéries peuvent, en réponse à des conditions environnementales défavorables, développer des mécanismes de survie appelés spore. Les bactéries peuvent ainsi perdurer des années.

#### 1.3.1.1.2 Levures

Les levures sont des micro-organismes unicellulaires appartenant au domaine des champignons. Ce sont des cellules ovales qui se développent par bourgeonnement (thalles levuriformes). Elles peuvent être pathologiques pour l'homme.



Figure 7 : levures observées au microscope (électronique à transmission) [18]

#### 1.3.1.1.3 Moisissures

Les moisissures sont également des champignons. Les cellules se développent en s'allongeant pour former des filaments (thalles filamenteux) comme le montre la figure 8, pour créer des structures visibles à l'œil appelées colonies fongiques. Les moisissures peuvent être pathogènes et peuvent libérer des toxines appelées mycotoxines.

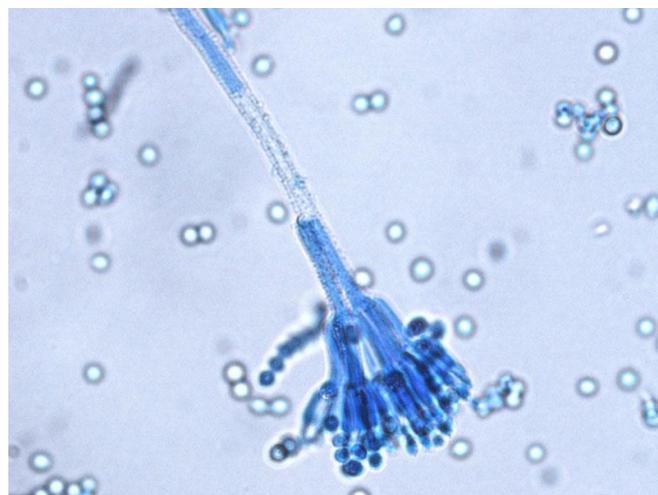


Figure 8: *Penicillium* sp. observé au microscope. (Crédit photo : Geneviève Marchand) [19]

Les champignons peuvent être à l'origine d'altérations physicochimiques d'une solution destinée à être injectée.

Les plus fréquemment retrouvés dans l'environnement sont *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium*.

#### I.3.1.1.4 Virus et produits biologiques

Les virus sont des agents infectieux parasites des cellules vivantes, qui se caractérisent par leur incapacité à se multiplier seul par division. Ils ont besoin pour cela d'utiliser le métabolisme interne d'une cellule hôte. On distingue 2 types de virus selon leur composition biochimique [20]:

- Les virus nus : Le matériel génétique incorporé dans une capsid. Ils sont stables dans l'environnement, peuvent se transmettre de manière direct et indirect à l'être humain.
- Les virus enveloppés : Ces derniers disposent en plus d'une enveloppe lipidique les rendant plus fragiles.

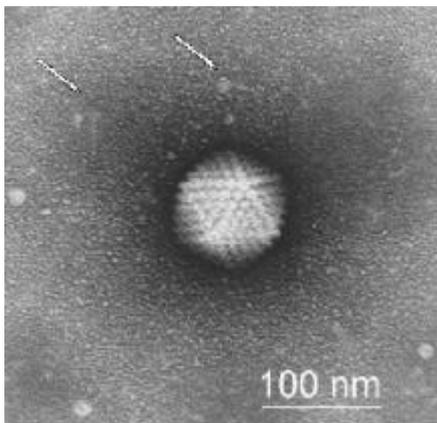


Figure 9 : virus nu à capsid icosaédrique, un adénovirus de la famille des Adenoviridae.

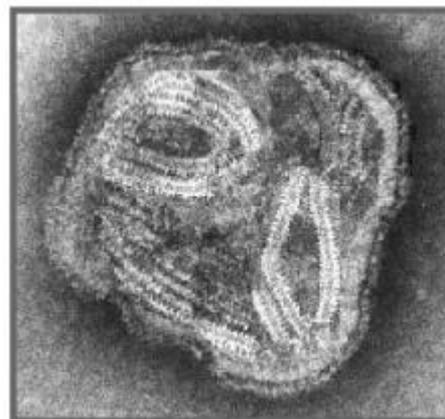


Figure 10 : virus enveloppé à capsid tubulaire, un virus grippal de la famille des Orthomyxoviridae

Ainsi la durée de vie des virus sur les surfaces est variable allant de quelques heures (le virus respiratoire syncytial) à une dizaine de jours pour les plus résistants (rotavirus).

Les encéphalopathies spongiformes transmissibles, ou maladies à prion, sont des maladies humaines et animales, affectant le système nerveux central (cerveau et moelle épinière). Elles peuvent être transmises par voie alimentaire. Elles sont induites par des agents transmissibles non conventionnels (ATNC) - également appelés prions.

Ils sont particulièrement résistants aux procédés classiques d'inactivation. Ces maladies sont toujours mortelles et aucun traitement n'existe encore à ce jour. [21]

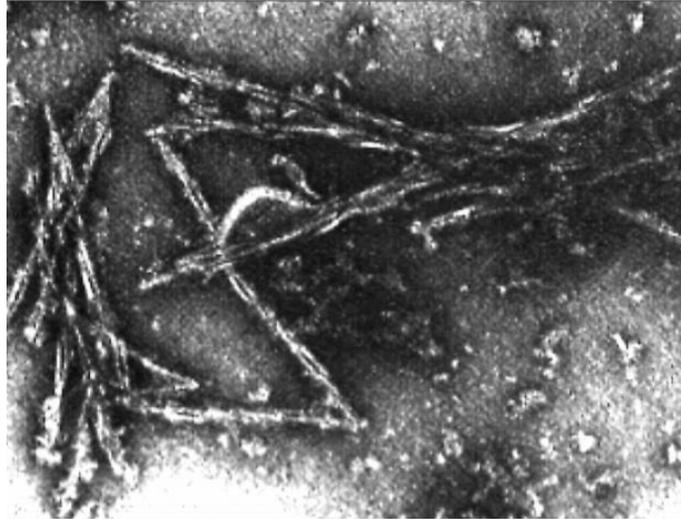


Figure 11 : Mise en évidence, en microscopie électronique, d'ATNC (MERZ et al., 1981) [22]

### 1.3.1.2 Particulaire

Une particule est un objet de composition liquide, solide ou les deux, et généralement d'une taille de 0,001 à 1000  $\mu\text{m}$ . Les particules de taille inférieure à 30  $\mu\text{m}$  ne sont pas visible à l'œil nu.

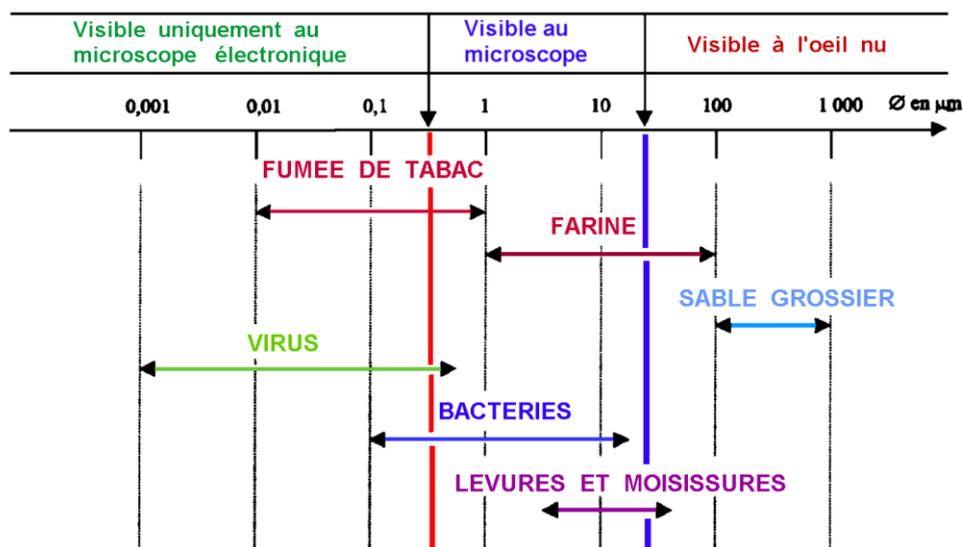


Figure 12 : Distribution des particules en fonction de leur granulométrie et de leur visibilité [23]

Les particules non visibles représentent la majorité des particules présentes dans l'atmosphère. De plus, plus le diamètre d'une particule est petit, moins elle sera affectée pas le phénomène de sédimentation et donc sont plus susceptible de se propager.

Dans un atelier de production pharmaceutique les particules peuvent être de plusieurs sortes :

- Cellules de peau morte
- Poussière
- Particules métalliques
- Particules de verre
- Etc...

De plus, les particules servent de support à la propagation des micro-organismes. En effet une bactérie a besoin d'un support pour survivre (gouttelette, poussière etc...). La maîtrise des taux particuliers est donc un élément particulièrement important pour la production des médicaments stériles.

#### *1.3.1.3 Chimiques*

Un contaminant chimique correspond à une entité (molécule, ion ou atome), interagissant avec le produit et étant susceptible d'influer sur son intégrité physico-chimique. Les contaminations chimiques les plus courantes sont des contaminations croisées également appelé mix up. Le guide des bonnes pratiques de fabrication décrit les contaminations croisées comme : « Contamination d'une matière ou d'un produit par une autre matière ou par un autre produit ».

Elle peut être soit direct, soit indirect et peut survenir à toutes les étapes de la fabrication du médicament (de la pesée jusqu'au conditionnement secondaire). En effet tout produit intervenant dans le circuit de fabrication peut être un contaminant. Principe Actifs, Excipients, agent de nettoyage peuvent être des agents contaminants.

#### *1.3.2 Les différentes sources de contamination*

Les différents contaminants décrits ci-dessus peuvent avoir plusieurs origines

##### *1.3.2.1 Le matériel*

Les équipements du fait de leur fonctionnement peuvent être source de contamination. En effet la composition des équipements, la friction dû aux mouvements, voir leur conception peut favoriser la libération de particules ou le développement de micro-organismes. De plus un équipement mal nettoyé ou mal désinfecté favorisera les contaminations.

### 1.3.2.2 La matière première

La matière peut être à l'origine de contamination. Croisée, si elle est à l'origine d'une production antérieure. Les fluides process peuvent être à l'origine de contamination. Le produit à réception peut être déjà contaminé. Les audits fournisseurs permettent de limiter les risques de contamination en sélectionnant l'origine des matières. Pour certains produits (d'origine biologique), le risque de contamination de la matière première doit être évalué en accordant une attention particulière à l'encéphalite spongiforme transmissible (EST).

### 1.3.2.3 Le milieu

Le milieu est source de contamination. L'air extérieur non traité contient entre 500 millions et 10 milliards de particules (supérieures à 0,1  $\mu\text{m}/\text{m}^3$ ). Le tableau 3 ci-dessous présente en fonction des milieu la quantification particulaire ( $>0,5 \mu\text{m}$ ).

Particules supérieures à 0,5 $\mu\text{m}$ par $\text{m}^3$ d'air [23]	
Air extérieur propre	3 000 000 à 10 000 000 particules/ $\text{m}^3$
Bureau avec fumeurs	30 000 000 à 40 000 000 particules/ $\text{m}^3$
Intérieur inoccupé	5 000 000 particules/ $\text{m}^3$
Intérieur occupé	10 000 000 à 15 000 000 particules/ $\text{m}^3$

Tableau 3 : quantification particulaire par  $\text{m}^3$  en fonction de l'environnement.

Toutes ces particules en suspension servent de support pour d'éventuels micro-organismes. Le contrôle particulaire dans l'atmosphère d'une zone de production de médicaments stériles est capital pour maîtriser les risques de contamination.

### 1.3.2.4 La méthode

L'ensemble du procédé peut être source de contamination. Les mouvements, étapes de stockage, temps d'attentes etc... La maîtrise des processus de fabrication et des temps d'attentes est particulièrement important dans la stratégie de contrôle des contaminations.

### 1.3.2.5 La main d'œuvre

Le personnel reste la source de contamination la plus importante. Un être humain perd chaque jour près de 7g de peau (desquamation). Il perd aussi des cheveux, des cils et des poils. Même inactif il génère des particules en respirant.

Des micro-organismes vivent sur l'épiderme et le derme humain, des virus, des champignons, des parasites mais surtout des bactéries. C'est le microbiote cutané. De même, des microorganismes vivent dans le tractus digestif humain.

Bactéries par cm <sup>2</sup> de peau	
Mains	100 à 1 000
Cuir chevelu	1 000 000
Front	10 000 à 100 000
Aisselles	1 000 000
	à 10 000 000
Bactéries par g de sécrétion	
Sécrétion nasale	10 000 000
Salive	100 000 000
Matière fécales	100 000 000

Tableau 4 : Quantification des bactéries sur le corps humain et dans les sécrétions

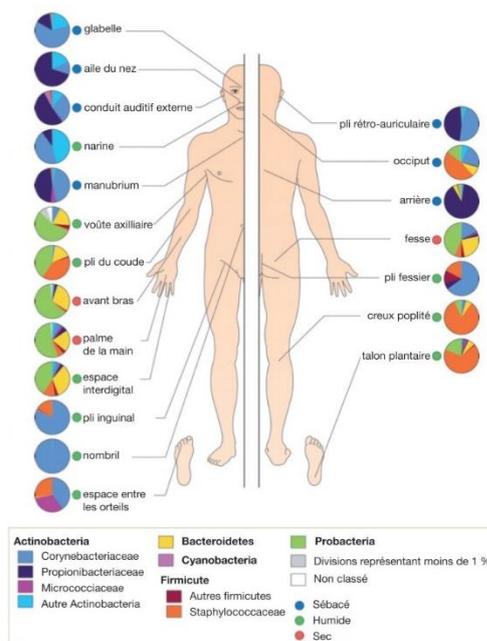


Figure 13 : Topographie de distribution des bactéries selon la localisation sur le corps [24]

L'activité humaine génère des particules non visibles à l'œil nu. La figure 14 ci-dessous montre l'impact de la posture et de la gestuelle du personnel dans la génération de ces particules.

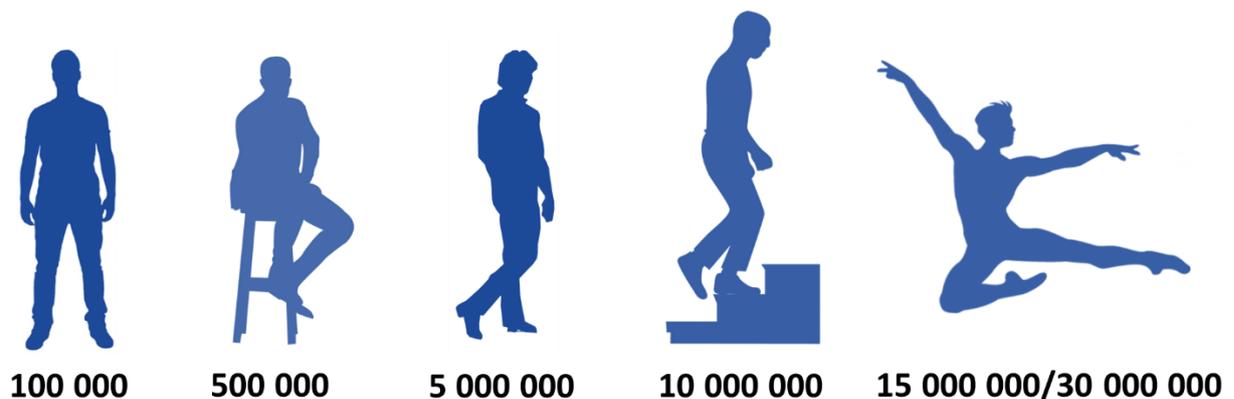


Figure 14 : Génération de particules  $\geq 0,3 \mu\text{m}$  en fonction de la posture ou de l'activité en cours [25]

#### 1.4 Les Zones à Atmosphère Contrôlée

Les textes réglementaires demandent aux fabricants de médicaments stériles qu'ils maîtrisent les risques de contaminations des médicaments. Elles imposent en fonction des activités un contrôle plus ou moins rigoureux des contaminants dans l'atmosphère.

#### 1.4.1 Définitions

Une Zone à Atmosphère Contrôlée (ZAC) est une « zone dont le contrôle des contaminations particulaires et microbiologique est défini et qui est construite et utilisée de façon à réduire l'introduction, la multiplication et la persistance de substances contaminantes. » [14]

Chaque opération de fabrication de médicaments stériles requiert un niveau de propreté approprié de l'environnement « en activité » de façon à réduire le risque de contamination particulaire ou microbienne des produits. Selon les qualités environnementales requises de l'opération, les ZAC seront classées.

Les textes vont alors décrire 4 classes de ZAC en fonction de ces activités. La figure 15 ci-dessous liste ces zones.

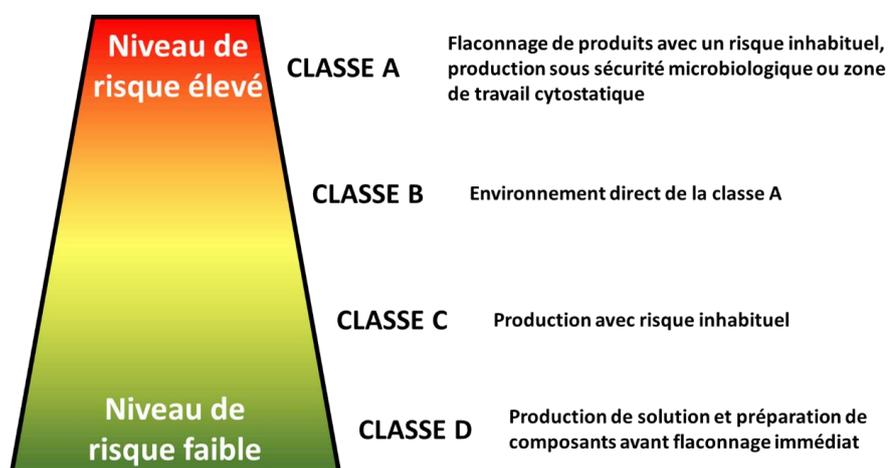


Figure 15 : Classification des zones (définies par les BPF) obligation pour les médicaments stériles [26]

Des dispositions particulières sont applicables aux produits stériles, liquides, pâteux et lyophilisés concernant l'activité de sertissage :

- Elle doit être réalisée dans une zone différente de celle du bouchage ;
- Les contenants bouchés non sertis ne doivent pas quitter la classe A ;
- La sertisseuse est placée à minima sous poste à flux laminaire (classe A au repos) ;
- Les flacons non ou mal bouchés sont éliminés après le sertissage.

Plusieurs paramètres vont être importants pour vérifier la bonne classification d'une zone. Les textes s'appuient sur des normes pour la définition des requis en termes de taux de contaminants au sein d'une ZAC.

#### I.4.2 La surveillance particulière

Pour la maîtrise particulière, la norme ISO 14644-1 (l'Organisation Internationale de Normalisation) est une référence.

Numéro de classification	Concentration maximales admissibles par m <sup>3</sup> d'air en particules de taille égale ou supérieur à celles données ci-dessous					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO 1	10	2	0	0	0	0
ISO 2	100	24	10	4	0	0
ISO 3	1 000	237	102	35	8	0
ISO 4	10 000	2 370	1 020	352	83	0
ISO 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
ISO 7	N/A	N/A	N/A	352 000	83 200	2 930
ISO 8	N/A	N/A	N/A	3 250 000	832 000	29 300
ISO 9	N/A	N/A	N/A	35 200 000	8 320 000	293 000

Tableau 5 : Classification de la propreté particulière de l'air selon la norme ISO 16644-1 [27]

Pour la surveillance particulière des particules en suspension, les BPF limite le contrôle sur les concentrations maximales autorisées pour les particules dans l'air ( $\geq 0,5\mu\text{m}$  et  $\geq 5\mu\text{m}$ ). Le tableau 6 ci-dessous décrit les requis réglementaires en termes de surveillance particulière en fonction du grade de la ZAC revendiqué.

Grade	Grade Maximum limits for particulates $\geq 0.5 \mu\text{m}/\text{m}^3$		Maximum limits for particulates $\geq 5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	
	at rest	in operation	at rest	in operation
<b>A</b>	3 520	3 520	20	20
<b>B</b>	3 520	352 000	29	2 900
<b>C</b>	352 000	3 520 000	2 900	29 000
<b>D</b>	3 520 000	Not defined <sup>1</sup>	29 000	Not defined <sup>1</sup>

Tableau 6 : Concentration particulière maximale autorisées en fonction de l'activité dans le local annexe 1 des BPF [9]

En fonction du pays dans lequel on souhaite commercialiser le produits la classification européenne (A, B, C et D) n'est pas toujours utilisée. Dans ce cas les autorités se serviront de la classification ISO pour la surveillance environnementale. On peut faire

<sup>1</sup> Pour le grade D, les limites en activité ne sont pas définies. L'entreprise devra établir elle-même les limites maximales autorisés pour l'activité dans cette zone.

le lien entre la classification dite BPF (européenne) et la classification ISO davantage utilisée outre-Atlantique.

Classes selon les BPF		Classes selon ISO 14644-1
Classe A	Au repos	ISO 4,8
	En activité	
Classe B	Au repos	ISO 5
	En activité	ISO 7
Classe C	Au repos	ISO 7
	En activité	ISO 8
Classe D	Au repos	ISO 8
	En activité	Non applicable

Tableau 7: Comparaison de la classification de la propreté particulière de l'air entre les requis BPF et la norme ISO 16644-1

#### 1.4.3 La surveillance microbiologique

##### 1.4.3.1 Surveillance bactérienne

Il n'existe pas de classification de surveillance microbiologique selon la norme ISO 14644. Seule les sources BPF européenne et française donnent des spécifications.

La réglementation BPF recommande une surveillance microbiologique de l'air, des surfaces et du personnel dans les ZAC. Les requis sont exprimés en UFC (Unité Formant Colonie), il s'agit de l'unité permettant de dénombrer les bactéries vivantes ou les champignons (levures/moisissures). Une UFC correspond à une colonie.

Le tableau 8 ci-dessous présente les limites recommandées de contaminant microbiologiques.

Limites recommandées de contamination microbiologiques (en valeurs moyennes)				
Classe	Echantillon d'air UFC/m <sup>3</sup>	Boîtes de pétri (diam : 90mm) UFC/4heures	Géloses de contact (diam : 55mm) UFC/plaques	Empreintes de gants (5 doigts) UFC/gant
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Tableau 8 : Limites recommandées de contamination microbienne en fonction de la classe (BPF) de la ZAC [9]

La pharmacopée des États-Unis US pharmacopea (USP) 1116 donne également des recommandations sur l'évaluation microbiologique d'une salle blanche. Le texte explique que cette évaluation est le marqueur d'efficacité des activités de nettoyage/désinfection et de l'impact de la présence du personnel dans les locaux. L'identification et la quantification systématique de chaque contaminant n'est pas une nécessité selon l'USP mais elle doit démontrer que le système mis en place permet la maîtrise des contaminations biologiques. Enfin les mesures devront être réalisées en activité. (pire cas – worst case). [28]

Au lieu d'utiliser les limites microbiennes basées sur les UFC, la pharmacopée des États-Unis propose des valeurs de CRR (Contamination Recovery Rates ou Taux de Récupération de la Contamination) exprimées en pourcentage maximum autorisé d'échantillons contaminés. Le tableau 9 ci-dessous montre les valeurs des exigences américaines.

Room Classification	Active Air sample (%)	Settle plates (Ø 90mm). (%)	Contact plate or swab (%)	Glove or Garment (%)
Isolator/Closed RABS (ISO 5 or better)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
ISO 5	<1	<1	<1	<1
ISO 6	<3	<3	<3	<3
ISO 7	<5	<5	<5	<5
ISO 8	<10	<10	<10	<10

Tableau 9 : Taux de récupération de contamination initiale suggérés dans des environnements aseptiques selon les directives FDA [28]

#### 1.4.4 Principes de fonctionnement de la ZAC

Le fonctionnement d'une ZAC repose sur 3 grands principes :

- **Empêcher** l'entrée de la contamination ;
- **Limitier** le développement de contaminant ;
- **Eliminer** les contaminants ;

Chacun de ces principes fait appel à des solutions techniques ou des méthodologies dont l'application permet de maîtriser la qualité environnementale de la ZAC

#### 1.4.4.1 Empêcher l'entrée de la contamination

##### 1.4.4.1.1 Filtration de l'air

La filtration de l'air sert à limiter l'introduction de particules ou micro-organismes dans un local de production. La réglementation explique que les ZAC doivent être alimentées en air passé sur des filtres d'efficacité correspondant au niveau requis, c'est-à-dire permettant d'atteindre un niveau de propreté suffisant pour répondre à la classe de zone revendiquée.

Dans la pratique, l'air passera dans des filtres avec des capacités de filtration (en fonction de la taille des particules retenues) différents.

Un filtre est composé de 4 éléments :

- Le média (c'est une matière fibreuse qui confère les propriétés filtrantes du filtre) ;
- Le lut (c'est un produit placé à l'intérieur du cadre afin d'assurer l'étanchéité entre le médium filtrant et l'armature) ;
- Le cadre (armature en acier galvanisé ou inoxydable, parfois en polymères) ;
- Le joint d'étanchéité autour de l'armature, néoprène, fibres de verre ou silicone ;

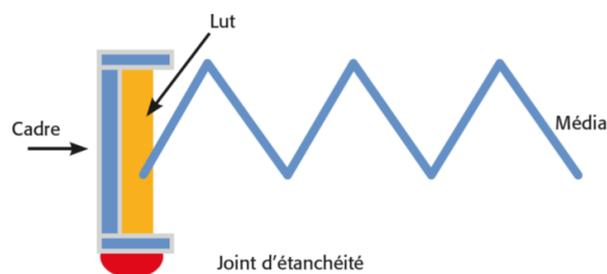


Figure 16 : Schéma de la composition d'un filtre [29]

On décrit 2 groupes de filtres selon le séquençement de la filtration de l'air :

- Les filtres « grossiers » utilisés pour une première filtration de l'air entrant dans le système :
  - o Gravimétriques
  - o Opacimétriques

La norme ISO 16 890 définit la classification des filtres à air moyenne efficacité et haute efficacité utilisés dans les systèmes de ventilation générale, ainsi que les procédures de tests. Elle est la norme de référence depuis 2018 remplaçant la norme

EN 779:2012. La norme ISO 16 890 classe les filtres à leur capacité à retenir les particules PM1, PM2,5 et PM10 (paramètres utilisés par l'OMS).

PM signifie Particule Matter soit la concentration massique des particules. Par exemple PM2,5 signifie qu'il s'agit de particules de taille moyenne de 2,5 µm.

Nom du groupe	Efficacité moyenne			Efficacité minimale	
	PM1	PM2,5	PM10	PM2,5	PM1
<b>ISO « Grossier » (ISO G)</b>	-	-	< 50%	-	-
<b>ISO PM10</b>	-	-	≥ 50%	-	-
<b>ISO PM2,5</b>	-	≥ 50%	-	≥ 40%	-
<b>ISO PM1</b>	≥ 50%	-	-	-	≥ 50%

Tableau 10 : Classification des filtres de moyenne et haute efficacité selon la norme ISO 16 890 [30]

- Les filtres dits « absolus » ou THE (Très Haute Efficacité ou HEPA pour High Efficiency Particulate Air filter).

La conception de ces filtres est particulière, ils sont systématiquement testés selon la norme EN 1822. Les filtres sont classés en 3 groupes EPA (Efficacité Particules Aériennes), HEPA (Haute Efficacité Particule Aériennes) et ULPA (Ultra Low Penetration Air Filter) et leur capacité à arrêter la plus petite particule possible, le MPPS (Most Penetrating Particule Size)

Groupe de filtre	Classe de filtre	Valeurs intégrales MPPS			Valeurs locales MPPS		
		Efficacité minimale (%)	Pénétration maximale (%)	Coefficient d'épuration minimal	Efficacité minimale (%)	Pénétration maximale (%)	Coefficient d'épuration minimal
<b>EPA</b>	<b>E10</b>	85	15	6,7	-	-	-
	<b>E11</b>	95	5	20	-	-	-
	<b>E12</b>	99,5	0,5	200	-	-	-
<b>HEPA</b>	<b>H13</b>	99,95	0,05	200	99,7	0,25	400
	<b>H14</b>	99,995	0,005	2000	99,975	0,025	4 000
<b>ULPA</b>	<b>U15</b>	99,9995	0,0005	20 000	99,9975	0,0025	40 000
	<b>U16</b>	99,99995	0,00005	200 000	99,99975	0,00025	400 000
	<b>U17</b>	99,999995	0,000005	2 000 000	99,9999	0,0001	1 000 000

Tableau 11 : Classification des filtres très haute efficacité selon la norme EN 1822 [31]

Il existe deux techniques de plissage du média :

- Le plissage à petits plis entrecroisés au moyen de fils ou de bandelettes ininflammables ;
- Le plissage à plis profonds dans lequel le papier est plissé en accordéon suivant toute la profondeur du filtre et entretoisé au moyen d'intercalaires en carton, plastique ou aluminium.

Les figures 17 et 18 schématisent les techniques de plissages.

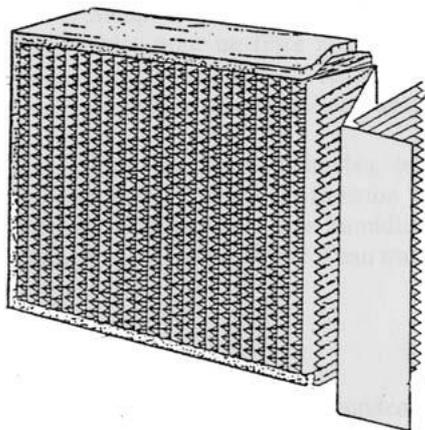


Figure 17: Filtre à plis profonds [32]

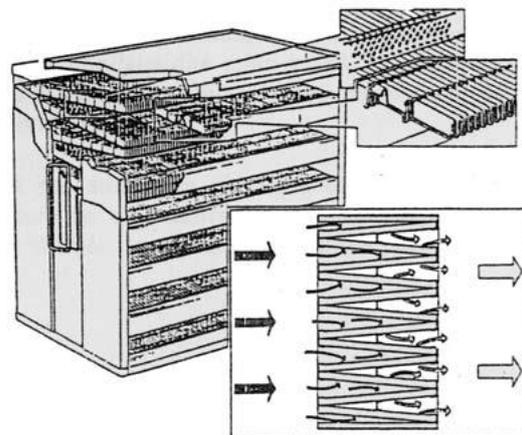


Figure 18 : Filtre à petits plis [32]

Les étages de filtration sont sensiblement similaires d'une installation à l'autre. Au départ, on trouvera un filtre à air pour les poussières grossières ou fines (ISO G), servant de préfiltre. Ensuite sera présent, toute une machinerie pour le contrôle de la température et de l'humidité relative (échangeur et humidificateur). Un ventilateur de circulation générera le flux d'air qui passera au travers d'un préfiltre adapté (ISO PM10 à ISO PM1) puis d'un filtre HEPA (H14) ou ULPA (U15 à U17) correspondant aux conditions requises pour la classe souhaitée de la salle blanche.

#### 1.4.4.1.2 Surpression

La mise en place de cascade de surpression (débit de soufflage d'air > débit d'extraction et de fuite d'air) empêche l'air extérieur de rentrer dans la ZAC. De ce fait cela limite l'apport de contaminant provenant de l'air. A l'inverse avec une dépression (débit de soufflage d'air < débit d'extraction et de fuite d'air) c'est le personnel qui sera protégé. La dépression de la zone permettra d'éviter la dispersion de contaminants d'un local vers le reste du bâtiment.

Les locaux à protéger sont mis en surpression par rapport aux pièces adjacentes pour assurer un sens de flux d'air du « propre » vers le « sale ». Au changement de classe cette valeur est de l'ordre de 20 pascals. Elle peut être inférieure dans le cas de locaux différents au sein d'une même classe. [33]

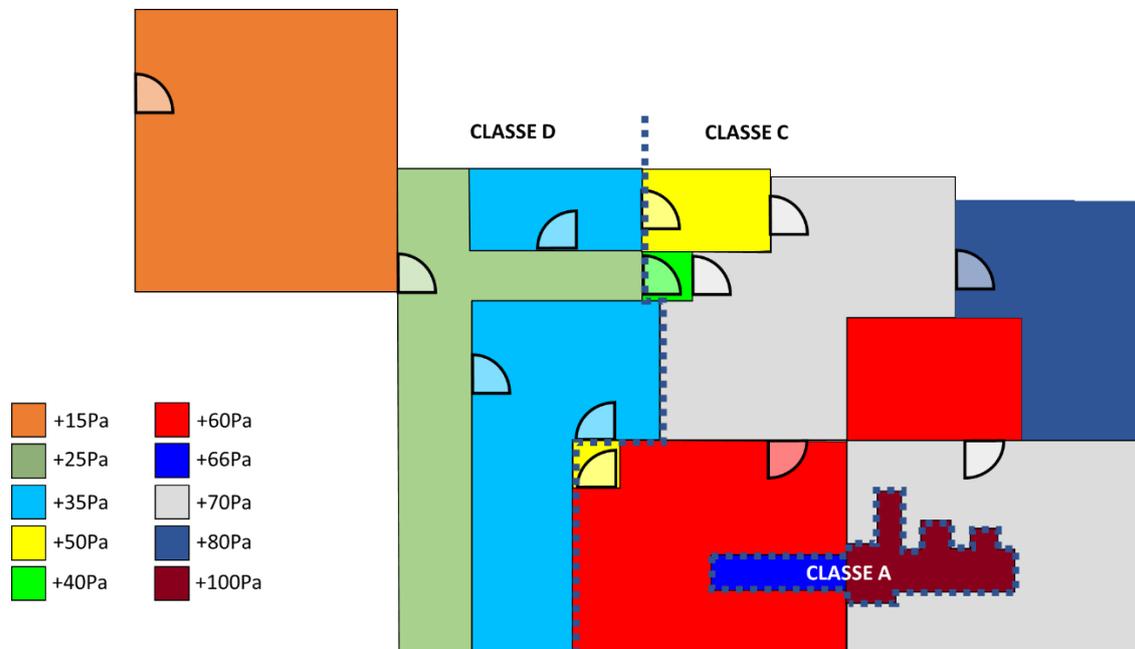


Figure 19 : Schéma d'une cascade de pression complexe dans différents locaux de production (avec utilisation de technologie Isolateur).

#### 1.4.4.1.3 Les SAS

Les sas sont des zones de transitions qui organisent les flux entrants et sortants autant pour le matériel que pour le personnel. Ce sont des locaux ventilés en air filtré dont la classification est identique à la pièce sur laquelle ils débouchent. Des systèmes d'interlock sont mis en place et une temporisation doit être effectuée entre la fermeture de la porte en amont avant l'ouverture de la porte en aval pour maintenir le gradient de pression atmosphérique et limiter l'introduction de contaminants.

#### 1.4.4.1.4 La stérilisation / décontamination

La décontamination des locaux est un moyen de maîtrise des risques de contamination. L'emploi du peroxyde d'hydrogène en tant qu'agent désinfectant et stérilisant de surface est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Il est utilisé en condition post-nettoyage pour la décontamination des zones classées ou de leur Centrales de Traitement d'Air et d'une manière globale pour la maîtrise des procédés aseptiques sur les étapes les plus critiques des procédés : (SAS de transfert, RABS et Isolateurs). En effet, il est courant de pratiquer et revendiquer une bio-décontamination

dans les sas de transferts et les isolateurs pour tests de stérilité, afin de maintenir un état propre.

L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peut être employé sous forme de microgouttelettes, nébulisé, par centrifugation, par évaporation, enfin il peut être employé avec le principe de vaporisation-condensation. La condensation sur la charge à stériliser permet d'augmenter la concentration en produit sur la surface à décontaminer. [34]

#### *1.4.4.2 Limiter la contamination produite*

##### *1.4.4.2.1 La conception des machines*

La notion de Quality by Design est introduite dans l'ICH Q8, où le développement pharmaceutique évolue vers une meilleure connaissance des interactions entre les processus de fabrication et le produit. La connaissance du produit et des processus de fabrication permet au producteur de travailler avec ses équipementiers sur la conception de solutions techniques adaptés aux spécificités, permettant de mettre sous contrôle des risques identifiés au préalable. [35]

##### *1.4.4.2.2 La tenue des opérateurs*

Les exigences réglementaires (BPF chapitre 2) expliquent que toute personne pénétrant dans une zone de fabrication doit porter des vêtements protecteurs appropriés aux opérations qui s'y déroulent. Dans les ZAC les vêtements de ville, effets personnels (bijoux, montres etc...) et maquillages sont proscrits. Des tenues sont mises à disposition dans des vestiaires pour tout accès en zone de production.

Les tenues sont en matières synthétiques (fibres longues) et étanches pour limiter l'émission de particules. A chaque changement de zone classée, la tenue sera changée après un lavage et une désinfection des mains.

La figure 20 ci-dessous représente les tenues utilisées en ZAC selon la classification du local. Avec à gauche la première « sous-tenue » composé d'un pantalon + casaque, d'une charlotte (et cache-barbe si besoin) et de chaussures de sécurité, ensuite la tenue de classe D qui vient rajouter par-dessus la tenue blanche une blouse synthétique et des surchaussures. La tenue de classe C est composée d'une combinaison de gants et de surchaussures. Enfin la tenue de classe B/A comporte une combinaison avec une cagoule, des gants stériles et des surbottes décontaminées.

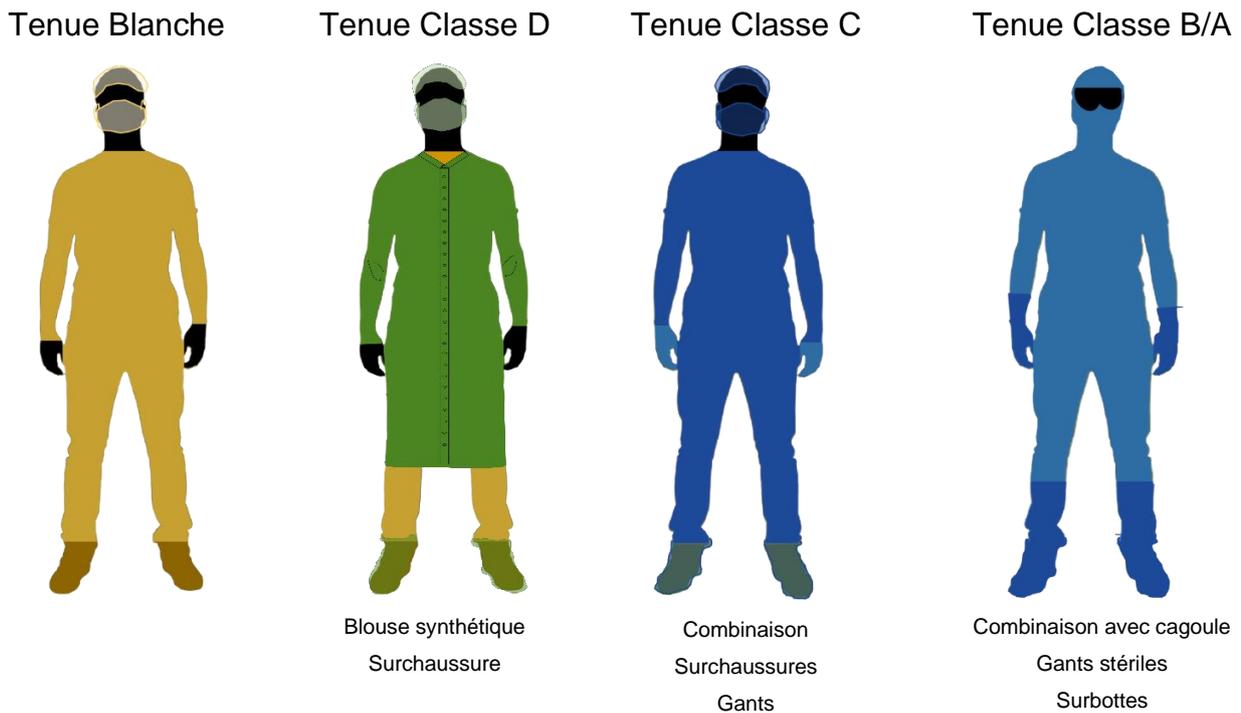


Figure 20 : Présentation des tenues recommandées en ZAC

#### 1.4.4.2.3 Les attitudes générales et la gestuelle des opérateurs

Nous avons vu dans la partie 1.3.2.5 que les mouvements généraient des particules. L'habillement permet de limiter l'introduction de particules dans la ZAC. Une gestuelle mesurée permet également de limiter la génération de particules.

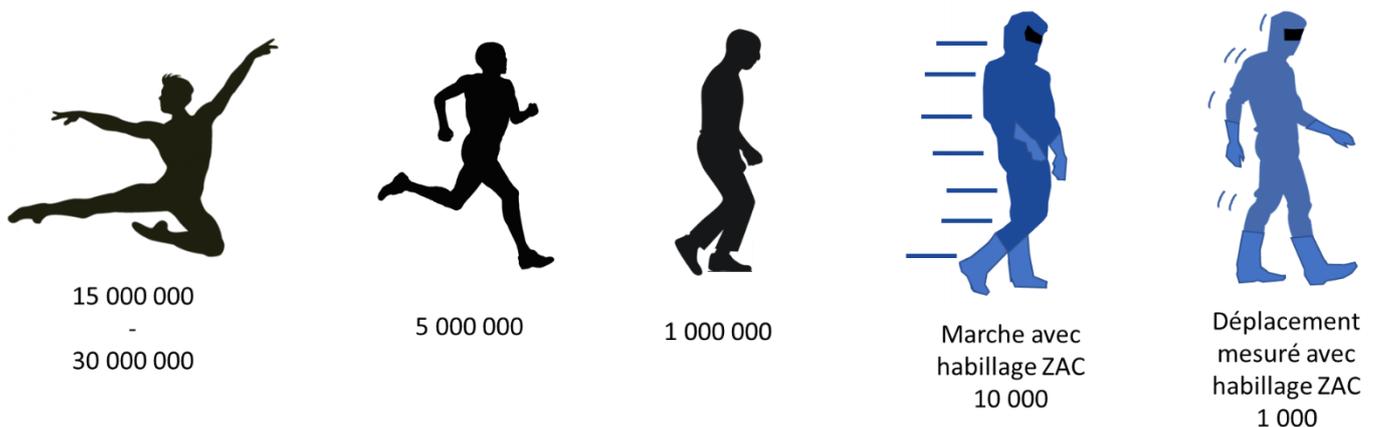


Figure 21 : Quantification de génération de particules de diamètre  $>0,5 \mu\text{m}$  / minutes par une personne en fonction de l'habillement et de l'activité effectuée

La figure 21 ci-dessus illustre ce propos. En effet avec un habillement et un comportement adapté, on peut observer une réduction d'un facteur 10 à 100 du nombre de particules émises. [25]

#### I.4.4.2.4 Le nettoyage et la décontamination des locaux et équipements

La réglementation impose que les équipements et matériels nécessaires à la production soient nettoyés, stockés et décontaminés ou stérilisés afin de prévenir le développement de contaminants dans la zone de production.

Le nettoyage peut être décomposé en plusieurs étapes : [36]

- **Rangement et pré-nettoyage** : consiste à dégager la zone de travail et éliminer les plus grosses souillures, visibles et adhérentes ;
- **Nettoyage** : élimine les souillures au moyen de détergent par aspersion, trempage et en utilisant des lavettes, éponges balais etc ;
- **Rinçage intermédiaire** : Il consiste à éliminer les souillures résiduelles et surtout les traces de détergent pour favoriser l'action du désinfectant appliqué à l'étape suivante ;
- **Désinfection** : La désinfection réduit le nombre de microorganismes restant sur les surfaces et matériels. On peut utiliser un désinfectant par pulvérisation, trempage, aspersion ou brumisation de la surface traitée ;
- **Rinçage final** : Cette dernière étape sert à éliminer les traces de solution désinfectantes si cette dernière nécessite d'être retirée.

#### I.4.4.3 *Éliminer en continue la contamination produite*

Le dernier pilier de fonctionnement d'une ZAC est l'expulsion des contaminants. Plusieurs moyens existent pour garantir la bonne élimination des contaminants dans l'atmosphère.

##### I.4.4.3.1 Le Taux de Renouvellement Horaire (TRH)

Le Taux de Renouvellement Horaire (TRH), aussi nommé « taux de brassage horaire », correspond au nombre de fois où le volume de la salle devra être soufflé/renouvelé en une heure. Il se calcule par le rapport entre le débit d'air soufflé et le volume du local. Comme l'air soufflé est purifié par un jeu de filtres de plus en plus performants, plus le renouvellement d'air est important, plus les particules présentes seront évacuées rapidement.

Si le flux est unidirectionnel, les particules sont chassées par effet piston et si le flux est « turbulent » ou non unidirectionnel, les particules sont diluées.

La norme ISO 14644-4 donne des recommandations sur la conception des salles blanches en termes de vitesse de l'air et de taux de renouvellement d'air par heure.

Le tableau 12 ci-dessous donne quelques chiffres de TRH en fonction de la classification de la ZAC concernée.

Classification	Température recommandé	Humidité relative	Classe ISO	TRH	Diffusion
Classe A	22°C	45%	ISO5	40 à 600	Laminaire
Classe B	22°C	45%	ISO5	>40	Turbulente
Classe C	22°C	45%	ISO7	>20	Turbulente
Classe D	22°C	45%	ISO8	>20	Turbulente

Tableau 12 : Exemples de salles blanches selon la norme ISO 14644-4 [37]

#### 1.4.4.3.2 Le schéma aéraulique

Lors de la conception et de la qualification d'une ZAC, des schémas aérauliques sont réalisés. Ils permettent de s'assurer qu'il n'y a aucune zone morte pour éviter l'accumulation de contamination dans ces zones stagnantes. Les schémas permettent également de vérifier que le système élimine la contamination présente dans l'air.

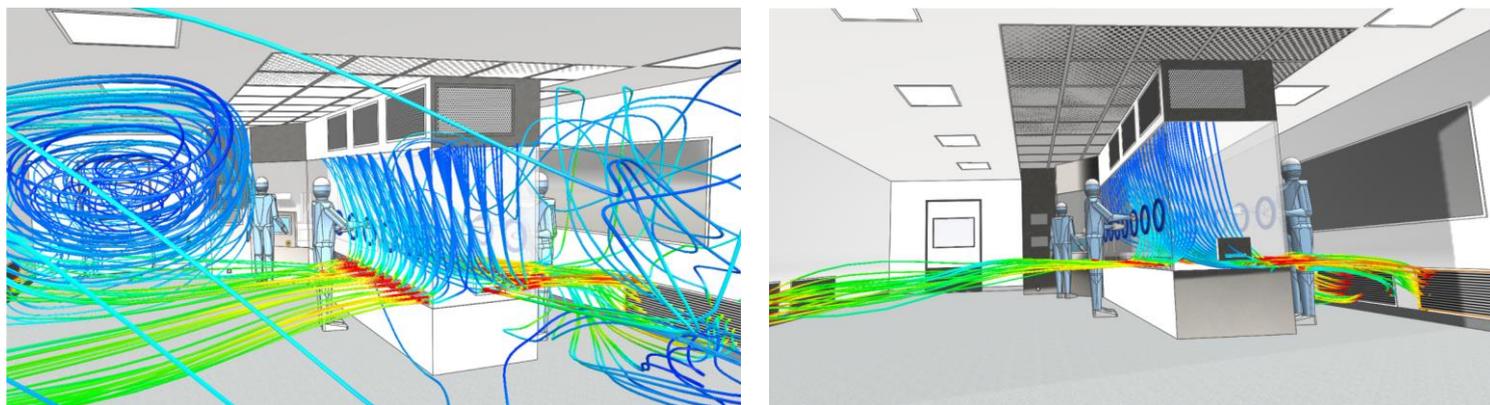


Figure 22 : simulation numérique modélisant en 3D l'écoulement d'air dans la salle avec ses équipements [38]

La figure 22 ci-dessus montre l'intérêt de la simulation durant la phase de conception d'une salle blanche. A gauche nous observons des zones de rétention dans la pièce. Après affinage des réglages du flux, le schéma apparaît conforme (à droite). En effet les caractéristiques influant l'aéraulique d'une pièce peuvent être conditionné sur le dimensionnement ou les caractéristiques techniques des équipements sélectionnés.

Ces études permettent de participer au Quality by Design en garantissant dans des phases en amont des aspects qualités du projet.

#### I.4.4.3.3 Le flux laminaire / flux turbulent

##### **Écoulement laminaire :**

Les particules d'air glissent parfaitement les unes sur les autres (figures 23) sans échanges de particules entre elles. Elles suivent un mouvement rectiligne et parallèle. Les BPF recommandent ce flux pour les ZAC classées A. Les particules sont évacuées par effet piston.

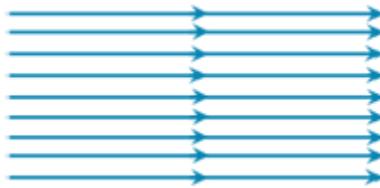


Figure 23 : Schéma d'un écoulement laminaire [39]

##### **Écoulement turbulent :**

Les particules d'air ont des trajectoires non rectilignes (figure 24) mais elles se déplacent globalement dans le même sens et à la même vitesse. Les BPF recommandent ce flux pour les ZAC classées B, C et D. Les particules sont diluées dans l'air nouvellement injecté dans le local.



Figure 24 : Schéma d'un écoulement turbulent [39]

## I.5 Conclusion

Un produit revendiqué comme stérile doit, s'il ne peut supporter une étape de stérilisation finale, être mis en forme pharmaceutique de manière aseptique. La maîtrise du processus dans sa globalité, et des conditions de production et de manipulation sont indispensables pour garantir la sécurité microbiologique ou particulière du produit. Les textes réglementaires exigent des objectifs de propreté en fonction des activités par la définition des ZAC. Les industriels disposent alors des objectifs clairs pour concevoir leur zone de fabrication. Le respect des 3 piliers d'une

ZAC permet d'atteindre cet objectif. Empêcher l'introduction, limiter la contamination et éliminer, sont les principes fondamentaux d'une ZAC permettant de maîtriser l'asepsie du processus de fabrication.

## II. Les technologies barrières et l'isolateur au cœur des processus aseptiques

L'isotechnie ou les technologies de l'isolation (barrière) sont apparues pour répondre aux contraintes de la production aseptique. Nous allons voir au travers de cette partie comment ces technologies apportent des éléments de maîtrise de la qualité environnemental, clef de la production aseptique de médicaments.

### II.1 Définitions

#### II.1.1 Objectifs d'une barrière dans les processus aseptiques

On entend par barrière, un obstacle [...] qui interdit le passage ou le rend difficile. [40] La séparation physique est utilisée pour protéger le produit confiné de l'environnement extérieur ou à l'inverse éviter la dissémination de ce produit dans l'environnement (ou les deux).

La production de médicaments stériles ne pouvant pas subir d'étape de stérilisation terminale doit faire appel à une filtration stérilisante avant les opérations de mise en forme pharmaceutique. Cette dernière opération devra se réaliser de manière aseptique en garantissant un état de propreté (classifié grade A).

La conception d'un local, même en disposant des technologies existantes les plus avancées, n'empêchera pas la dissémination de particules et indirectement de micro-organismes. En effet nous l'avons vu dans la partie I.4.4.2.3, une personne correctement habillée et ayant une gestuelle adaptée générera au minimum 1000 particules ( $<0,5\mu\text{m}$ ) par minutes, elle pourrait perturber la laminarité du flux créant des zones de rétention particulières etc... La séparation du processus de fabrication avec l'opérateur apparaît comme indispensable pour respecter les spécifications demandées par les autorités pour les ZAC classé A (rappelées par le tableau 13 ci-dessous).

<b>Spécifications ZAC Grade A</b>	
Quantification de particules $\geq 0.5\mu\text{m}/\text{m}^3$ au repos	<b>3 520</b>
Quantification de particules $\geq 0.5\mu\text{m}/\text{m}^3$ en activité	<b>3 520</b>
Limite contamination microbiologique Echantillon d'air (UFC/m <sup>3</sup> ) Boite de pétri (UFC/4heures) Gélose de contact (UFC/plaques) Empreinte de gants (UFC/gant)	<b>&lt;1</b>
Température	<b>22°C</b>
Humidité relative	<b>45%</b>
Taux de Renouvellement Horaire	<b>40 à 600 volumes / heure</b>
Diffusion du flux	<b>Unidirectionnel</b>
Vélocité du flux d'air	<b>0.36 – 0.54 m.s<sup>-1</sup></b>

Tableau 13 : synthèse des spécifications BPF pour une ZAC classifiée grade A

## II.1.2 Histoire de l'isolement dans la fabrication de médicaments stériles

### II.1.2.1 Les années 40

Nous avons vu dans la partie précédente qu'à partir des années 30 la production de médicaments injectables doit s'accélérer pour répondre aux besoins grandissants, surtout après la seconde guerre mondiale. Parallèlement les méthodes manuelles de remplissage de fermeture du contenant atteignent leurs limites.

Vers la fin des années 1940, pour réduire la contamination et augmenter les capacités de production de ses usines, le pharmacien américain Frederick Stearns (Detroit) demande à ses ingénieurs de développer une machine de remplissage mécanisée. La machine conçue est recouverte d'une structure en plexiglas et intègre des lampes UV pour limiter les contaminations microbiennes. Les opérateurs ne peuvent intervenir sur le processus qu'avec des ouvertures limitées et avec un habillage particulier (figure 25).

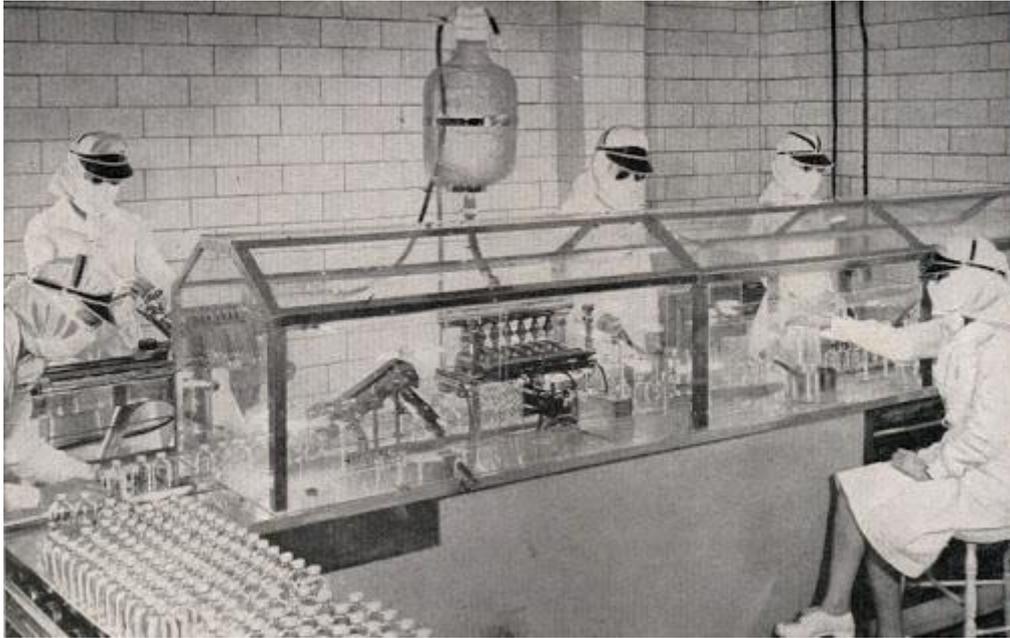


Figure 25 : Face à une demande croissante de parénamine, une solution d'acides aminés utilisée pour les injections, les ingénieurs de Frederick Stearns & Co. ont conçu cette machine de remplissage stérile pour éliminer le travail manuel laborieux. L'ensemble de l'appareil est entouré d'une hotte en plexiglas et est soumis à un flux constant de rayons ultraviolets bactéricides. La machine peut remplir 2 000 bouteilles par heure. [41]

Au fur et à mesure de la montée en puissance de la production, la mécanisation des processus de fabrication s'accélère avec des machines toujours plus ingénieuses et des cadences toujours plus importantes.

Les fabricants sont de plus en plus nombreux, on notera :

- Cioni et Marzocchi (Italie) ;
- Poper&Sons (USA) ;
- Autopack (Grande Bretagne) ;
- Meyer et PKB (France) ;
- Strunck, Bausch&Ströbel et Rota (Allemagne) ;

Parallèlement, à la sortie des conflits de la seconde guerre mondiale et après l'utilisation par les Etats-Unis de l'arme atomique sur les villes d'Hiroshima, 6 août 1945 et Nagasaki, 9 août 1945 (le projet Manhattan), les grandes puissances victorieuses cherchent, développent et produisent des armes nucléaires. Cette production implique la manipulation de plutonium 239. Cet élément est ce qu'on appelle un émetteur alpha. La désintégration spontanée d'un atome de plutonium émet une particule  $\alpha$  ( $\text{He}^{2+}$ ) qui se recombina avec des électrons pour former de l'hélium, tandis que le plutonium est transmuté en uranium.

Au contact de l'humidité de l'air, le plutonium se désagrège en formant une fine poussière volatile dont l'inhalation peut provoquer de graves maladies. Il apparaît indispensable de manipuler le métal dans une enceinte confinée pour limiter les risques sanitaires. Des boîtes à gants « étanches » sont alors utilisées. Elles empêchent la dissémination des particules de plutonium dans l'atmosphère et protègent les manipulateurs des radiations émises. Les stations de traitement font appel à des filtres HEPA développés pour le projet Manhattan. Ils seront déclassifiés dans les années 50.

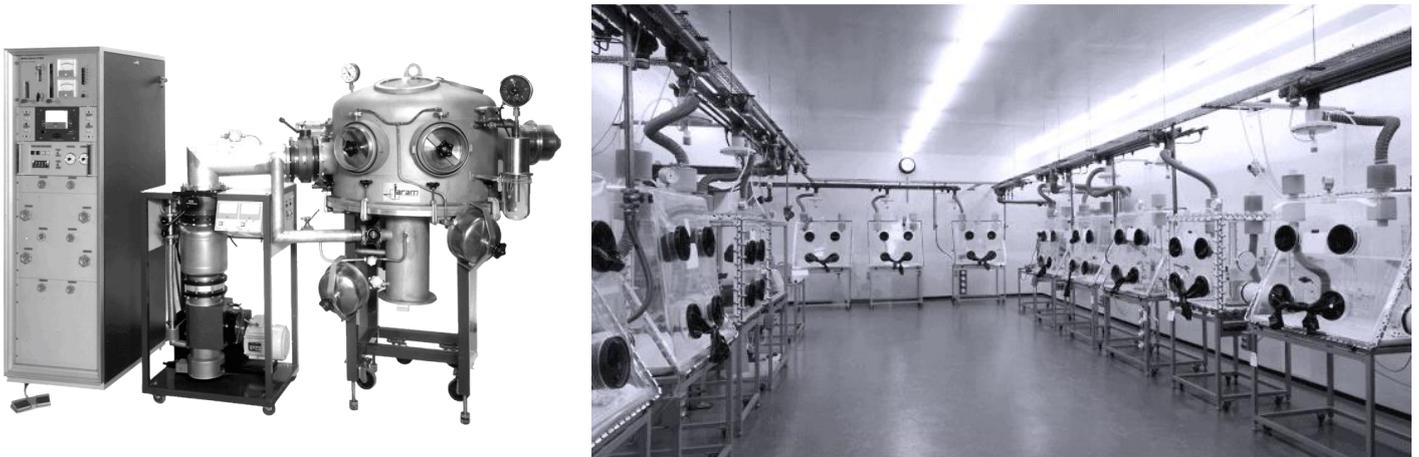


Figure 26 : Boîtes à gants (à droite) et système de ventilation (à gauche) produit par Jacomex dans les années 40 [42]

#### II.1.2.2 Les années 60

La mécanisation des processus est nécessaire mais n'est pas suffisante pour améliorer le niveau de qualité des produits qui sortent des usines.

En 1961 les laboratoires Sandia spécialisés dans l'armement nucléaire américain (nouveau Mexique) construisent le premier flux laminaire pour limiter les dépôts de particules dans circuits électroniques des armes nucléaires. Willis Whitfield surnommé « mister clean » développe le concept de salle blanche qui s'exportera dans le monde et dans différentes industries.



*Figure 27: L'inventeur des salles blanches Willis Whitfield dans le premier local sous flux unidirectionnel dans les laboratoires nationaux Sandia [43]*

En 1963, l'administration américaine approuve les « United States (U.S.) Federal Standard 209 » (FS 209) éditée par l'Institut de l'Administration Générale des Services (GSA). C'est la première norme donnant des recommandations de surveillance atmosphérique pour des salles blanches et une classification qui sera utilisée dans l'industrie nucléaire, micro-électronique et de santé. Cette première norme sera reprise par les administrations : Française (AFNOR X44101), Allemandes (VDI 2083:3), Danoises (VCCN 1), Japonaises (JIS-B-9920), Russes (Gost-R50766), Australiennes (AS 1386) et Anglaises (BS 5295) etc... Elle sera remplacée par la norme ISO 14644 décrite dans la partie 1 dans une logique internationale. [44]

Plus tard en 1971, l'association ASPEC pour la prévention et l'étude de la contamination est créée. Elle sera reconnue d'utilité publique par l'état français en 2012.

Les opérateurs revêtissent alors des tenues synthétiques avec des cagoules dans des sas dédiés, les matériaux utilisés pour la production sont choisis pour limiter les générations de particules. L'air des locaux est filtré (HEPA) et des cascades de surpression sont mises en place.

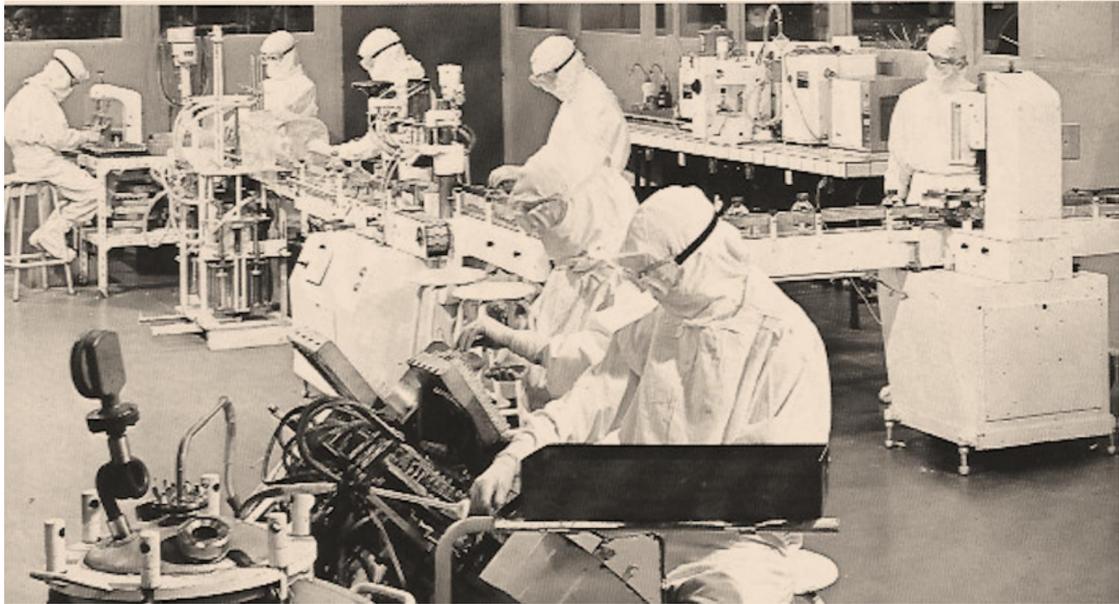


Figure 28 : salle blanche Laboratoires LABAZ - groupe SANOFI (site Ambares) années 60-70

### II.1.2.3 Les Années 80

Malgré des recommandations de plus en plus détaillées, les solutions techniques utilisées ne permettent pas d'améliorer davantage la qualité des produits en termes microbiologiques et particulaires. En 1980 la société LaCalhene (Vendôme) propose, à une réunion de la PDA (Parenteral Drug Association), ce qu'elle appelle la « Barrière Absolue ». LaCalhene est spécialisée dans la conception d'équipements de confinement déjà éprouvés depuis une vingtaine d'année pour l'industrie nucléaire et a développé de solides dispositifs de transferts étanches qu'elle souhaite exporter vers l'industrie pharmaceutique.



Figure 29 : Un Isolateur à paroi "flexible" utilisé pour des tests de stérilités dans un laboratoire sur des produits sanguins (Courtesy of Astec Microflow.) [45]

Leur utilisation reste dédiée à la réalisation de tests de stérilité. C'est en 1985, qu'un rapport sur la validation des isolateurs pour cette utilisation a été publié par une filiale française de Bristol-Myers Co. Ce n'est qu'à la fin des années 80 que des isolateurs « flexibles » seront utilisés sur des lignes de remplissages aseptiques. En 1988 les Laboratoires Sandoz valident l'utilisation d'un tel dispositif sur une ligne d'ampoules. [46]

Les débats sont vifs entre les industriels quant à l'utilisation des Isolateurs. Tantôt qualifiés de « jouets de plage gonflés » ou « erector set » (comprendre jouet Meccano®) tantôt considérés comme le meilleur moyen de maîtriser les contaminations. Les designs évoluent avec les discussions et des versions rigides apparaissent.



*Figure 30 : Isolateur d'une ligne de remplissage - Circa 1988 [47]*

La crainte des industriels de ne pas pouvoir démontrer le bon fonctionnement d'un isolateur notamment leur décontamination les pousse à demander aux fabricants des systèmes avec un « haut niveau de désinfection ». La réponse est un système à mi-chemin entre une salle blanche et un isolateur. C'est le RABS « Restricted Area Barrier System ». Différentes variantes du RABS seront développées : RABS ouvert / fermé / actif / passif. Le débat est toujours vif quant au choix de la technologie barrière. Certaines firmes « pro-isolateur » qualifiant les RABS comme des « isolateurs sans pantalon ». [46]

#### II.1.2.4 Les années 2000

Les années 2000 apportent de nouvelles améliorations de design pour les isolateurs. Des flux laminaires sont intégrés. Les volumes sont adaptés aux activités réalisées sous l'enceinte et l'utilisation de l'inox devient privilégiée.



Figure 31 : Ligne complète de répartition aseptique. Lavage des flacons, tunnel et sous isolateur remplissage bouchage lyophilisation (source : Optima)

## II.2 Technologie de l'isolateur

### II.2.1 L'isolateur

#### II.2.1.1 Barrière physique

La norme ISO 14644 dans sa partie 7 définit les isolateurs comme une des « enceintes de séparation » permettant d'assurer un niveau de propreté conforme à l'ISO 5 ou plus. L'environnement extérieur sera au moins de qualité ISO 8. [48] Le docteur James Akers précise que « Les isolateurs sont des dispositifs qui assurent une séparation totale entre un environnement et un autre. Un isolateur n'échange pas directement l'air avec le milieu environnant et tout l'air doit entrer par un système de filtration HEPA ou ULPA. Tout transfert de matière dans l'isolateur doit être effectué tout en maintenant une séparation environnementale complète. » La séparation est donc absolue. L'intervention des opérateurs sur le processus se fait grâce à des dispositifs de manipulation comme des gants, des demi-combinaisons ou des combinaisons intégrales.



Figure 32 : Différents dispositifs de manipulation gants (gauche), demi-scaphandre (milieu) et combinaison intégrale (droite) [49]

### II.2.1.2 Traitement de l'air

La qualité de l'air dans un isolateur doit être maîtrisée. Pour limiter l'introduction de particules, des filtres HEPA ou ULPA sont placés en amont de la chambre. Pour maîtriser le Taux de Renouvellement Horaire, des détecteurs de pression et de flux de l'air sont placés dans l'enceinte, ils réguleront la vitesse du flux entrant. Des capteurs de températures, d'hygrométrie peuvent également être placés. Dans les procédés de répartitions aseptique, tous ces capteurs sont répétés au plus proches des zones les plus critiques.

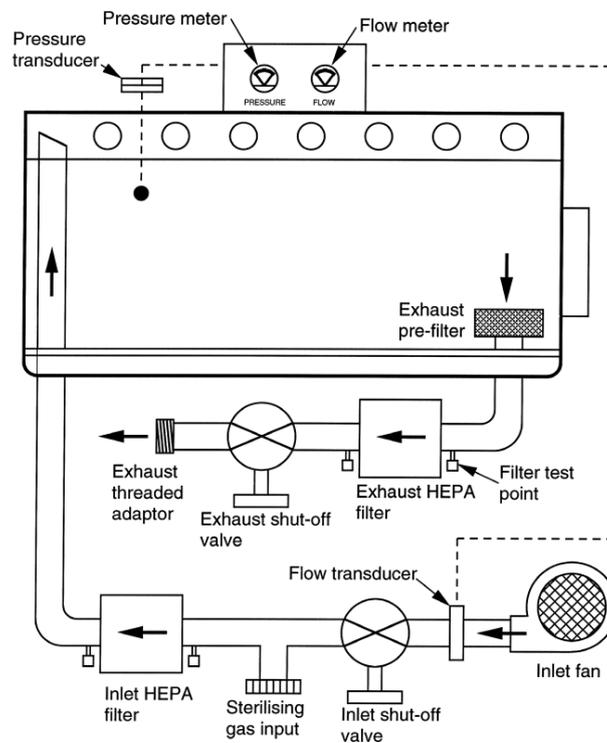


Figure 33 : Schéma d'un "petit" isolateur avec flux non-laminaire et avec une pression positive.[45]

Les isolateurs disposent de leur propre Centrale de Traitement d'Air (CTA). La CTA est implantée dans une zone technique attenante à la zone traitée (souvent dans un étage supérieur), dédiée d'accès facile pour permettre les opérations de maintenance et de réglages. Dans le cas des isolateurs, l'air neuf peut provenir de la salle blanche déjà très propre. La figure 34 ci-dessous présente une CTA.



Figure 34 : Centrale de traitement d'air [50]

Enfin on distingue deux types d'isolateurs :

- Les isolateurs dits « fermés ». Ils restent scellés tout au long des opérations. Ils ne sont pas utilisés en répartition aseptique.
- Les isolateurs dits « ouverts ». Leur conception permet d'introduire des matériaux durant le processus, soit en continu grâce à des mousehole (trous de souris), soit en semi-continue grâce à des RTP (Rapid Transfert Port). Des cascades de surpression empêchent l'entrée d'air extérieur par les mousehole.



Figure 35 : différents modes d'introduction du matériel mousehole (gauche) et RTP (droite) [51]

## II.2.2 Isolateur VS RABS

Nous l'avons vu dans la partie II.1, le concept de RABS est apparu après celui de l'isolateur. Leurs différentes déclinaisons apportent de la confusion, autant chez les exploitants de ces équipements que les autorités. Sur le plan technique un RABS est une séparation physique de la zone de répartition aseptique sans pour autant créer de l'étanchéité avec le milieu extérieur. C'est probablement le point de divergence majeur avec les isolateurs.

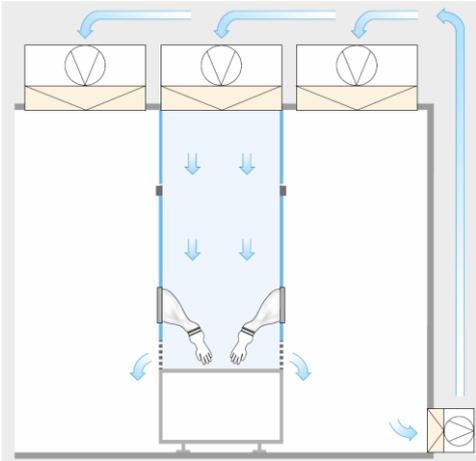
Cette non-étanchéité impose des contraintes :

- La zone environnante directe devra être classée B (ISO 7) en termes de maintien de niveau de propreté. (Habillage, contrôle particulaire et microbiologique etc...).
- Un flux laminaire appelé « flux débordant » sera placé à l'interface entre la paroi du RABS et le local environnant pour limiter le passage de contaminant de la classe B vers la classe A.

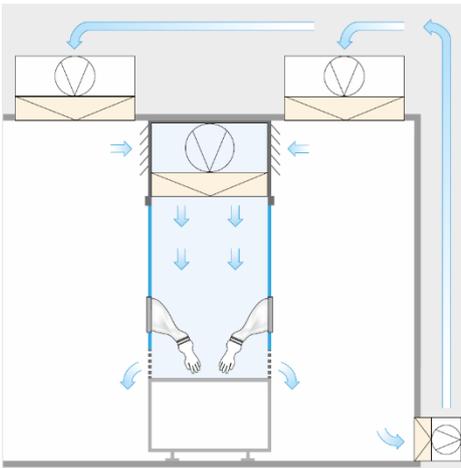
Le deuxième point de divergence majeur avec les isolateurs est le niveau de décontamination. Là où un isolateur peut être décontaminé chimiquement par des hautes concentrations de peroxyde d'hydrogène gazeux, les RABS n'ont « qu'un » haut niveau de désinfection. Elle est réalisée en phase gazeuse en même temps que lors de l'étape de décontamination du local classé B. Les concentrations en peroxyde d'hydrogène sont inférieures à une désinfection sous isolateur et des opérations manuelles de désinfection sont nécessaires.

Les différentes déclinaisons des RABS sont présentées dans la figure 34 ci-dessous. On trouvera des RABS dits passifs, soit des parois placées en dessous d'un plafond soufflant. A l'inverse les systèmes dits actifs, ils intégreront une machinerie qui prélèvera l'air de la pièce pour le diffuser dans l'enceinte. Enfin les systèmes peuvent être ouverts (l'évacuation de l'air se fait par des ouvertures en bas de l'équipement) et les systèmes fermés (qui recycle l'air dans leur enceinte ou est rejeté dans l'environnement après une étape de filtration). Ces derniers ressemblent à des isolateurs à ceci près qu'ils ne revendiquent pas d'étanchéité (les portes peuvent être ouvertes) et ne possèdent pas de CTA dédiée.

### RABS ouvert passif



### RABS ouvert actif



### RABS actif fermé

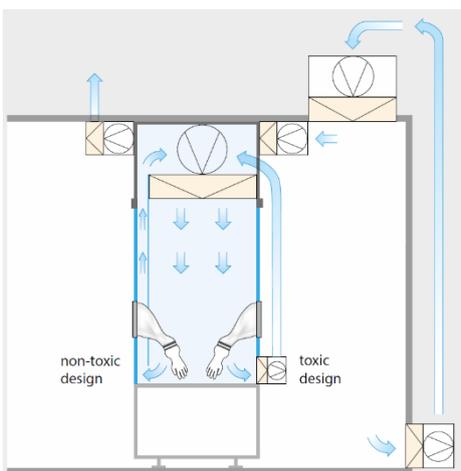


Figure 36 : Les différentes déclinaisons de RABS [52]

### II.2.3 Les applications en santé

L'isolateur est très présent dans le monde de la santé. Il peut être présent à toutes les étapes du cycle de vie d'un médicament, de sa conception dans des laboratoires de recherche jusqu'à sa préparation finale en hôpital (avant d'être administré chez les patients). Ils sont aussi utilisés pour les soins des patients.

#### II.2.3.1 En laboratoire

Au sein d'un laboratoire, des isolateurs peuvent être utilisés pour réaliser des expérimentations dans le cadre de recherche ou de développement sur des substances actives nécessitant l'isolement. Les opérations de routine peuvent être réalisés avec des isolateurs adaptés (échantillonnage de matière première – tests de routine comme les tests de stérilité ou PUPSIT pour Pre-Use Post Sterilisation Integrity Testing etc...)



Isolateur de R&D (Recherche et Développement)



Isolateur d'échantillonnage

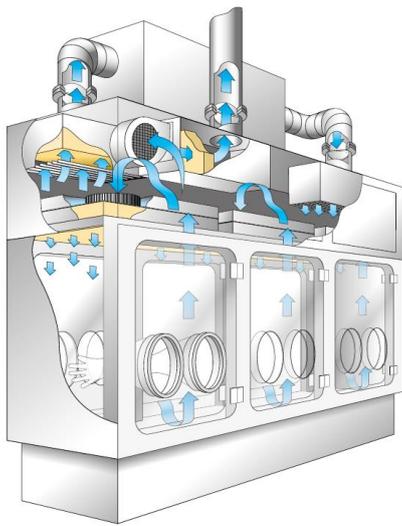


Isolateur de contrôle (test de stérilité, PUPSIT etc...).

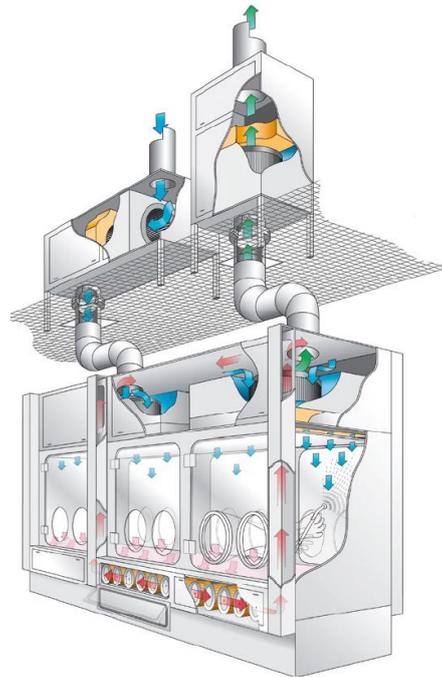
Figure 37 : Exemples d'Isolateurs disponibles en laboratoires.

#### II.2.3.1 Confinement des toxiques

Un isolateur peut garantir l'asepsie d'un processus impliquant un composé toxique. La conception sera alors différente. En effet là où un isolateur ne permettant que l'asepsie, l'air peut être réutilisé et rejeté avec un traitement mineur, un isolateur conçu pour l'asepsie de composés toxiques distinguera l'air soufflé dans l'enceinte pour de l'air extrait via un circuit dédié.



Isolateur pour la répartition aseptique



Isolateur pour la répartition aseptique de produits toxiques

Figure 38 : Différence entre un isolateur de répartition aseptique et un isolateur de répartition aseptique d'un produit toxique [53]

### II.2.3.2 Hospitalier et essais cliniques

A l'hôpital, des isolateurs sont utilisés pour la préparation de spécialités injectables toxiques (chimiothérapies) sur le même principe que les isolateurs de préparation aseptique de toxiques. Ci-dessous, les isolateurs hospitaliers permettent la manipulation du produit et la protection de l'opérateur.

Des isolateurs flexibles sont utilisés pour isoler des patients immunodéprimés ou qui auraient été infectés par un agent particulièrement infectieux.



Isolateur hospitalier pour la préparation de spécialités injectables spécifiques



Un enfant dans un des premiers isolateurs développés par LaCalhène pour les services pédiatriques.

Figure 39 : Exemples d'Isolateurs utilisés dans le milieu hospitalier

### II.2.3.3 Production

La production de médicaments stériles ou utilisant des substances toxiques peut faire appel à des isolateurs pour garantir une séparation entre le processus de fabrication et le milieu extérieur, garantissant ainsi la maîtrise des contaminations ou la sécurité des manipulateurs.



Isolateur pour la pesée de matières premières



Isolateur pour la préparation de BULK (VRAC)



Isolateur de répartition aseptique

Figure 40 : Exemple d'isolateurs utilisés dans la production de médicaments

## II.3 Spécificités techniques

### II.3.1 Les matériaux

Plusieurs matériaux peuvent être utilisés pour la fabrication d'un isolateur.

#### II.3.1.1 Les films plastiques

Les films plastiques sont largement utilisés depuis les années 50, dans la recherche animale, particulièrement pour les expérimentations sur les rongeurs. En effet le développement de films de chlorure de polyvinyle (PVC) et les recherches sur les propriétés germicides de l'acide peracétique ont permis au docteur Philip C, Trexler (figure 42) de développer des isolateurs simples, décontaminables par la vaporisation d'acide peracétiques. Aujourd'hui le développement des technologies dites « single use » (comprendre à usage unique) gagne également le secteur du confinement. La société américaine ILC DOVER connue pour avoir fourni les combinaisons des astronautes des missions Apollo (Niel Armstrong et Buzz Aldrin) a développé un isolateur à usage unique soloPURE™ (figure 41) destiné à la fabrication stérile

fournissant un environnement de classe A pour des activités de remplissage nécessitant des pressions négatives ou positives.



Figure 41 : Isolateur aseptique flexible soloPURE™ à usage unique [54]



Figure 42 : (1949) Philip C. Trexler ("Trex"), on the left with J.A.Reyniers, centre and Bob Ervin, Assistant Director of the Lobund Institute on the right.[55]

Les films de polychlorure de vinyle sont en général d'une épaisseur de 0,3 mm à 0,5 mm leur permettant d'avoir des propriétés optiques compatibles avec les activités (translucide). Les films sont soudés entre eux par des radio-soudures et peuvent supporter des fortes surpressions.

Les isolateurs flexibles présentes plusieurs avantages en fonction de leur utilisation :

- Le prix est bas par rapport à des isolateurs solides ;
- La visibilité est meilleure car il n'y a pas de parois opaques ;
- Le confort d'utilisation est meilleur, en effet la flexibilité des parois rend l'utilisation des gants, demi-scaphandres moins contraignant ;
- Faciles d'installation.

#### *II.3.1.2 Les plastiques rigides*

Le PVC peut également constituer des parois rigides. D'autres plastiques pourront être utilisés pour des parois rigides comme l'acrylique (plexiglas™), le polypropylène ou le polycarbonate.

Les plastiques ne sont pas des matériaux inertes. Ils peuvent réagir avec des composés chimiques comme le peroxyde d'hydrogène utilisés pour la décontamination des isolateurs et subir des phénomènes d'oxydation altérant leurs propriétés physicochimiques (opacification, jaunissement etc...).

### II.3.1.3 L'acier inoxydable

#### II.3.1.3.1 La matière

L'Inox ou acier inoxydable est la matière de choix pour la réalisation de parois rigides. La plupart des installations industrielles nécessitant des hauts niveaux de propreté font appel à l'inox. L'inox peut être tordu, soudé, poli pour créer des structures facilement nettoyables. Les procédés de passivation et de polissages permettent d'obtenir des rugosités de surface limitant le développement de micro-organismes (<0,5µm). L'Institut Américain du Fer et de l'Acier (AISI) décrit deux grades d'inox :

- Le grade 304 convient à la majorité des applications nécessitant des bonnes conditions de propreté.
- Le grade 316, plus cher il est réservé aux surfaces en contact avec le produit. Pour les isolateurs, l'inox 316L est en général utilisé pour l'intégralité de la structure. Le L indique que l'inox est particulièrement pauvre en carbone.

Pour différencier un inox 304 ou 316, les normes décrivent des tests (molybdène) pour classer l'inox.

Le tableau 14 ci-dessous montre les différentes classifications d'inox en fonction des normes considérées.

	Royaume-Uni	Etats-Unis	Allemagne	France	Suède
Norme de référence	BSI 449 970	AISI	Werkstoff No.	AFNOR	SIS
	304S15 EN58E	304	4301	Z6CN 18-10	2333
	316S16 EN58J	316	4401	Z6CND 18-12	2343

Tableau 14: Classification des types d'acier inoxydables en fonction de la norme considérée

#### II.3.1.3.2 La passivation

C'est la présence de chrome qui rend l'alliage résistant à l'oxydation. Au contact de l'oxygène de l'air il va former une couche protectrice d'oxyde de chrome. Pour se former la surface de l'alliage doit être exempt de contaminant (fer) et lisse.

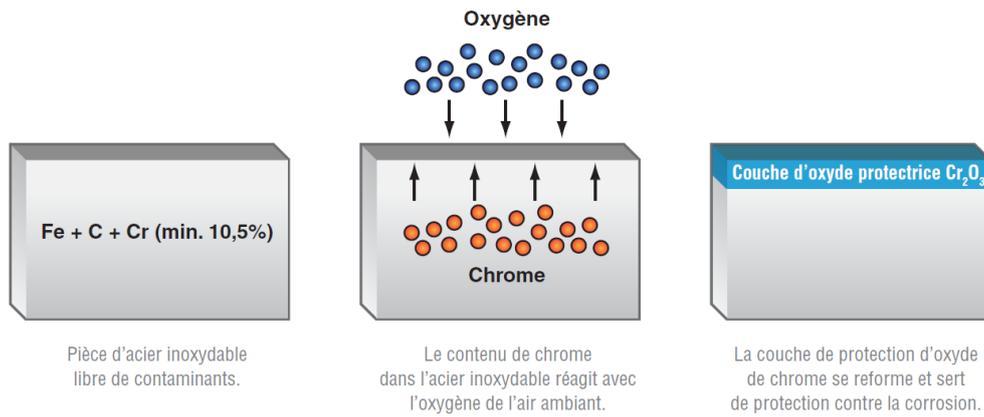


Figure 43: Processus de passivation de l'inox [56]

Les procédés de passivation font appel à du décapage pour retirer une couche superficielle de l'inox.

En fonction des activités, les spécifications de rugosité de l'inox ne seront pas les mêmes. Les procédés utilisés seront également différents. Le tableau ci-dessous détaille le procédé à utiliser pour atteindre le Ra (Roughness average) ciblé.

Nom du procédé	Ra en $\mu\text{m}$
Brossage grossier	2,5
Brossage fin	0,8
Polissage	0,4
Polissage Electrochimique	0,2

Tableau 15 : Types de traitement final de l'inox

## II.3.2 La gestion atmosphérique et décontamination

### II.3.2.1 Filtration de l'air

Pour garantir l'asepsie (ISO grade 5) du process, des filtres sont utilisés. De même quand un produit toxique est manipulé sous l'isolateur l'air extrait doit être filtré. La plupart du temps les filtres utilisés sont des filtres HEPA ou ULPA.

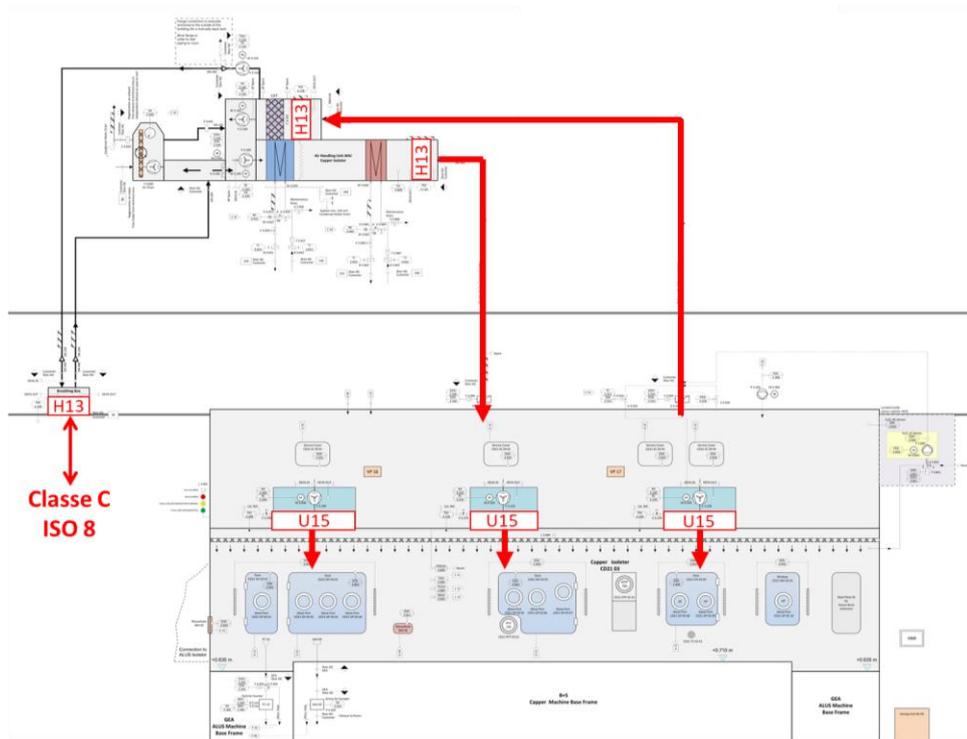


Figure 44 : Extrait d'un P&ID d'un isolateur de répartition aseptique

On note dans la figure 44 ci-dessus que l'air prélevé par la CTA de l'isolateur provient de la zone classée environnante de ce dernier et de la zone technique environnante de la CTA. Avant d'être rejeté (zone technique ou zone classée environnante) l'air passe par un filtre HEPA.

### II.3.2.2 Régimes de pression

Les isolateurs sont normalement maintenus à un différentiel de pression avec la zone environnante directe. Pour la répartition de médicaments stériles, ce différentiel est positif, ainsi toute fuite empêchera l'entrée d'air de la pièce vers l'isolateur. Pour les isolateur "ouverts" (segmentation des zones de l'isolateurs) des cascades de pressions de la zone la plus critique (postes de remplissage et de bouchage) vers les zones les moins critiques (capsulage etc...).

En termes de recommandations, le Secrétariat de la Convention sur l'inspection pharmaceutique (PIC/S) recommande une suppression  $>15$  Pa pour le traitement aseptique. [57]

Spécification d'étanchéité des isolateurs / PSM III selon la norme ISO 10648-2		
Type d'isolateur	Pression de test en Pa	Taux de fuite en (% vol/heure)
Isolateur flexible	<b>100</b>	<b>0,1</b>
Isolateur flexible sur base inox	<b>150</b>	<b>0,1</b>
Isolateur rigide en plastique	<b>150</b>	<b>0,1</b>
Isolateur rigide en plastique sur base inox	<b>150</b>	<b>0,5</b>
Isolateur en inox + verre	<b>300</b>	<b>0,5</b>
Gant	<b>3000</b>	<b>500PPM</b>
DPTE®	<b>4000</b>	<b>10<sup>-4</sup> à 5.10<sup>-4</sup> Pa.m3/sec</b>

Tableau 16 : Spécifications du taux de fuite pour les tests d'étanchéité des isolateurs

### II.3.2.3 Flux unidirectionnel

Le terme original utilisé est flux laminaire, cependant pour revendiquer la laminarité d'un flux, un gradient de vitesse de l'air doit être obtenu et démontré.

Un flux unidirectionnel a donc une direction uniforme et une vitesse uniforme également. Pour obtenir ce résultat, l'air entrant dans l'isolateur traverse un Diffuseur de Flux Unidirectionnel (DFU). Un DFU se présente sous la forme d'un panneau tissé de fibres synthétiques (toile de joutet) ou métalliques.

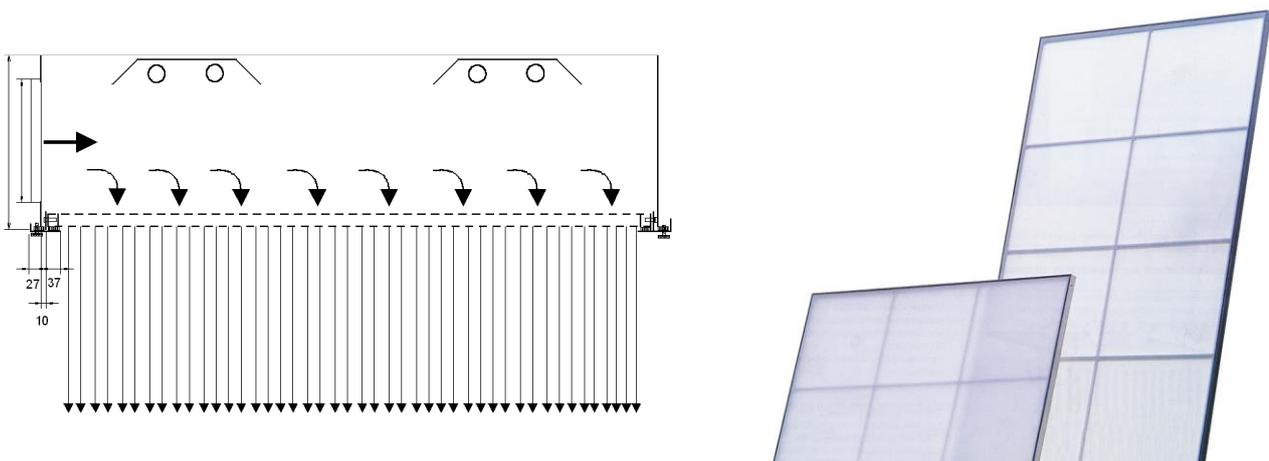


Figure 45 : Diffuseur d'air à écoulement unidirectionnel (schéma d'intégration à gauche) [58]

### II.3.2.4 Conditions de température et d'humidité

La température et l'humidité relative de l'air doivent également être maîtrisées. L'humidité et la température peuvent, en plus de constituer des conditions favorables au développement de micro-organismes, affecter la vitesse et le régime d'écoulement de l'air dans un isolateur. Une hygrométrie et une température doivent être maintenues pour limiter les perturbations. De plus certains produits manipulés sous l'isolateur peuvent être sensibles à certaines conditions environnementales. Pour atteindre ces conditions, des échangeurs thermiques sont intégrés, des humidificateurs au besoin le sont également.

Tous ces paramètres surveillés peuvent donner des systèmes particulièrement complexes faisant appel à des PLC (Programmable Logic Controller) ou en français des Automates programmables industriels. En effet, avec le monitoring en continu, la régulation d'un paramètre devient très complexe et impose l'utilisation de systèmes informatisés.

#### II.3.2.4.1 La régulation de la température

Pour maîtriser la température dans l'isolateur, un système d'échangeurs de température est installé dans la centrale de traitement de l'air. Une circulation d'eau froide ou chaude permet par échange thermique d'atteindre les températures voulues sous le contrôle du système PLC.

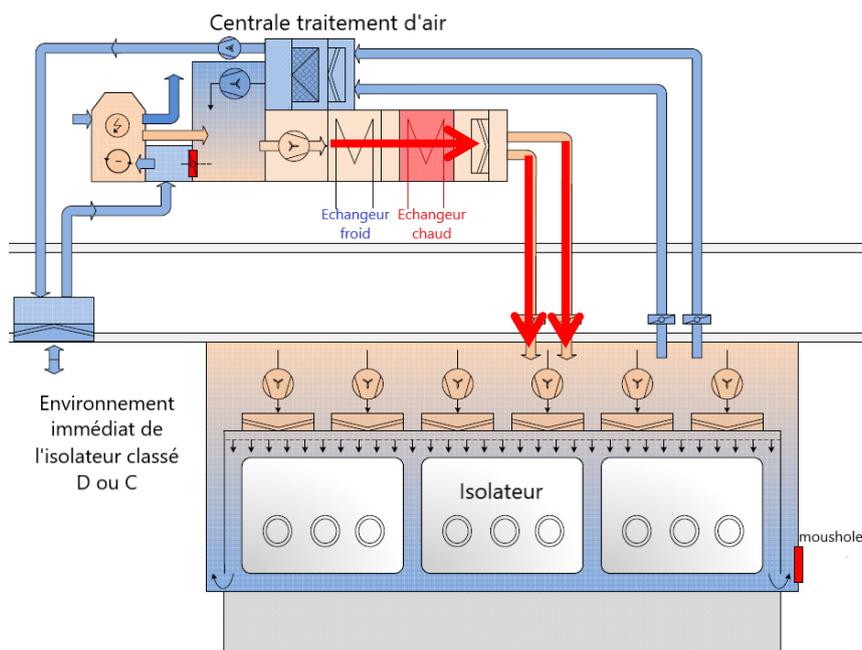


Figure 46 : Schéma d'une conception des flux d'air (exemple du réchauffage de l'air injecté dans l'isolateur)

#### II.3.2.4.2 La régulation de l'hygrométrie

Pour assécher l'air la CTA est équipée d'un module d'assèchement de l'air. Ce module se sert de l'air de la zone technique pour assécher. L'humidité est transférée à l'air de rejeté dans la zone technique.

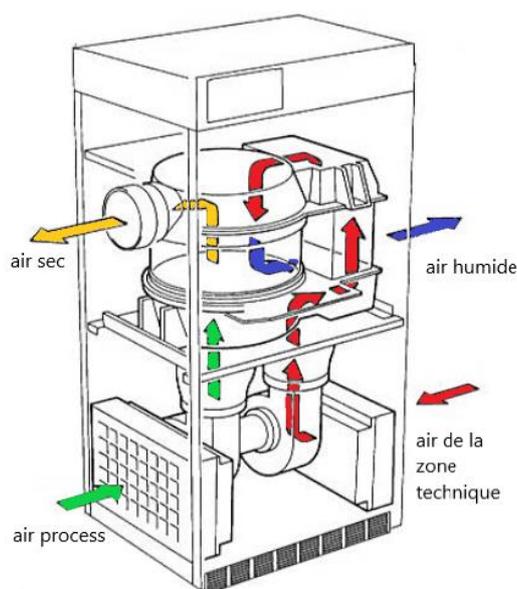


Figure 47: Vue mécanique d'un assécheur d'air rattaché à la CTA de l'isolateur

Certains isolateurs fonctionnent en prélevant l'air de la zone classée environnante. L'hygrométrie de l'air étant déjà contrôlé par la CTA de la ZAC il n'est pas nécessaire de la contrôler dans l'Isolateur. Les capteurs d'humidité réaliseront des mesures informatives et ces mesures seront exploitées durant les cycles de décontamination.

#### II.3.2.5 Composition (si différent d'air ambiant)

Des processus très sensibles imposent que l'atmosphère soit exempt d'oxygène. De l'azote est alors utilisé dans l'enceinte de l'isolateur. Le principe général de fonctionnement ne diffère pas, l'air entrant dans la centrale de traitement de l'air est juste différent. En revanche l'étanchéité du système doit être particulièrement contrôlé et des capteurs d'oxygène doivent être placés dans l'isolateur pour surveiller d'éventuelles fuites.

### II.3.3 La décontamination par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Après les opérations de nettoyage, un test d'étanchéité de l'isolateur est réalisé avant le début d'une campagne de production. Un cycle de décontamination va également être réalisé. Une fois terminé les portes ne devront pas être ouvertes et l'étanchéité de l'isolateur ne devra pas être rompue. La figure 46 ci-dessous montre comment est intégré la vapeur d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans l'isolateur.

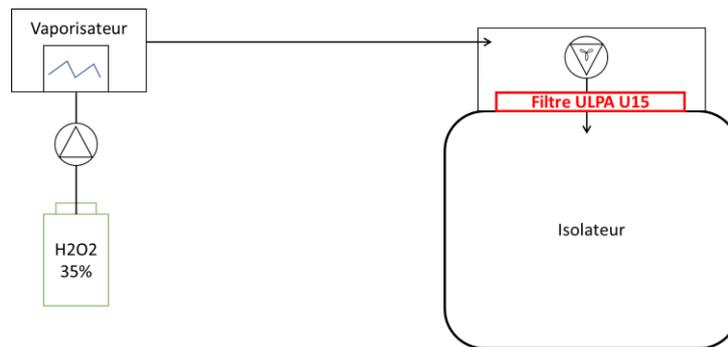


Figure 48 : Schéma d'intégration du système de génération de vapeur de peroxyde d'hydrogène

Un cycle de décontamination se déroule en plusieurs phases :

- **Test d'étanchéité sous pression** (pressurisation à 150 Pa, puis 10 min de maintien, avec une perte < 10Pa/min, et un seuil final >250Pa) : pressurisation de la chambre à l'air comprimé ventilateurs éteints (facultatif, mais recommandé 1/jour pour la sécurité de l'installation).

NB : le reste du cycle est réalisé à pression atmosphérique.

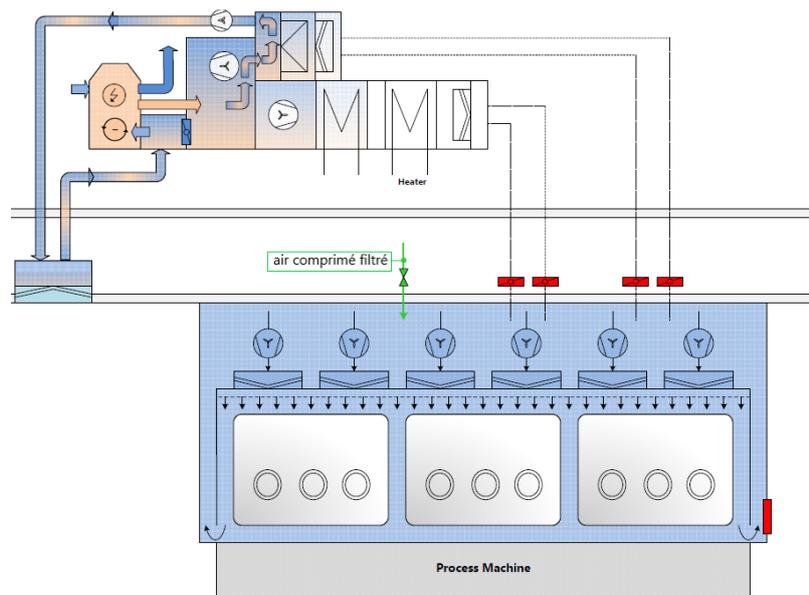


Figure 49 : Schéma d'un test d'étanchéité réalisé sur un isolateur, fermeture des clapets et injection d'air comprimé filtré

- **Séchage** (parfois appelé pré-conditionnement) (HR < 10%), par injection d'air comprimé process sec. Le séchage utilise à la fois le module assécheur d'air et l'échangeur chaud pour chauffer l'air injecté. Cette phase implique d'autres activités comme la mise en route des pompe d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liquide.
- **Conditionnement** : injection d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jusqu'au seuil prédéfini selon paramétrage du cycle, habituellement de 400 à 1 200 ppm. La mesure peut se faire in situ par sonde process haute concentration. Sinon, la quantité injectée peut être validé par type de charge (poreuse ou non), et en donnant un couple (XX g/min) pendant (Y minutes).
- **Plateau de décontamination** : 15 min (de 10 à 40 min selon validation).
- **Aération** : réalisée en "tout air neuf", 15 min environ, sous contrôle successif des 2 capteurs d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (haute concentration durant le cycle, puis basse concentration (1-50 ppm) en fin de cycle, pour la sécurité opérateur).

La figure 50 ci-dessous montre la quantité cumulée d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injectée lors du cycle de décontamination. On observe que lors de la phase de conditionning (conditionnement) l'injection de peroxyde d'hydrogène se fait en continu pour atteindre la concentration saturante dans l'isolateur. Lors du plateau de décontamination, la concentration d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est maintenue par des pulsations. Enfin lors de l'aération, le système n'injecte plus de produit. Le peroxyde d'hydrogène est éliminé par dismutation ( $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$ ). Cette dismutation peut être accélérée grâce à un catalyseur

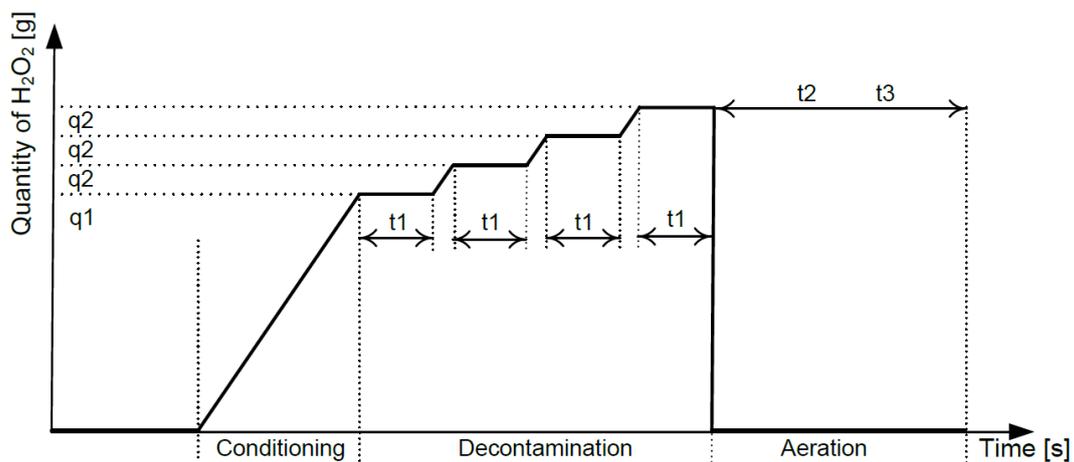


Figure 50 : Quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cumulée injectée dans un isolateur lors d'un cycle de décontamination

### II.3.4 Glove managing

Les gants, demi-scaphandres et combinaisons intégrales représentent les seules interfaces d'intervention par un opérateur sur le processus. L'utilisation des gants représente un risque d'introduction de contaminants dans l'isolateur. En effet les gants sont constitués d'une matière non rigide comme le CSM (polyéthylène chlorosulfoné), EPDM (éthylène-propylène-diène monomère) ou Néoprène qui peut se percer et rompre l'étanchéité du confinement.

<b>Matière\ Caractéristique</b>	<b>CSM</b>	<b>EPDM</b>	<b>Néoprène</b>
<b>Épaisseur</b>	40-85	30-85	30-80
<b>Élasticité</b>	Juste	Très bonne	Très bonne
<b>Déchirement</b>	Bonne	Bonne	Bonne
<b>Résistance érosion</b>	Excellent	Excellent	Très bonne
<b>Résistance H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Excellent	Excellent	Moyenne
<b>Résistance IPA</b>	Très bonne	Très bonne	Bonne
<b>Résistance bases</b>	Bonne	Bonne	Juste
<b>Résistance acides</b>	Très bonne	Bonne	Bonne
<b>Résistance eau</b>	Très bonne	Bonne	Excellente
<b>Durée de vie</b>	3 ans	2ans	No data
<b>Cout (cotation)</b>	3	1	2
<b>Cycles de vie</b>	40 cycles	30 cycles	No data

Tableau 17: Tableau de comparaison des matières composant les gants d'isolateurs en fonction de leur résistance

Le choix de la matière est important lors de l'étude de conception de l'équipement, il impactera le cycle de vie des gants (Figure 51). La stratégie de gestion des gants peut différer d'un utilisateur à un autre en fonction de la volumétrie, de la qualité de la matière et de l'expérience d'utilisation.

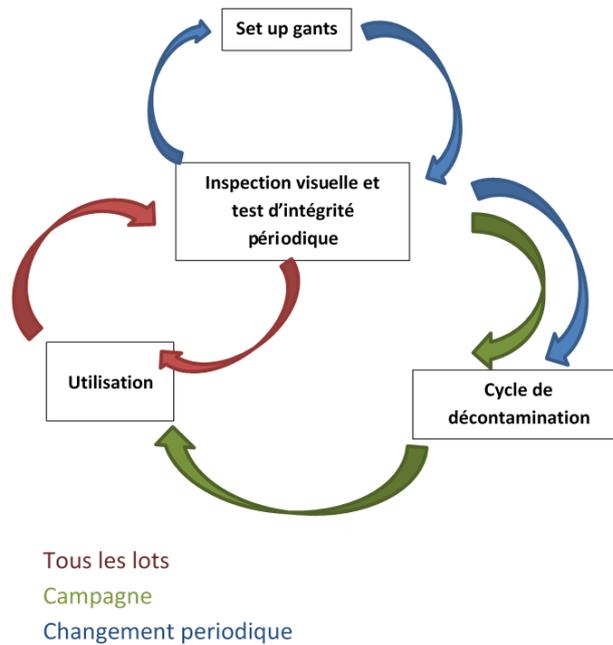


Figure 51 : schéma d'un exemple de cycle de vie d'un gant

#### II.3.4.1 Le Set up

Le « set up » ou préparation se fait à l'installation d'un nouveau gant sur l'isolateur. Après installation, le gant est nettoyé puis désinfecté à l'alcool. Une inspection visuelle et un test d'intégrité est systématiquement réalisé pour vérifier que le gant ne soit pas percé.

##### II.3.4.1.1 L'inspection visuelle

Les zones identifiées comme critiques seront vérifiées visuellement. Elle est réalisée à l'installation d'un nouveau gant et à minima entre chaque campagne de production. L'inspection doit se faire sur toute la surface du gant, sur chaque doigt sans omettre les zones interdigitales sensibles à la rupture. Le personnel effectuant cette inspection doit être formé à la reconnaissance des défauts.

##### II.3.4.1.2 Les tests d'intégrité

En plus des inspections visuelles, des tests d'intégrité peuvent être réalisés. Au moyen d'un GLT (Glove Line Tester) ou testeur de gant en ligne, le gant va être mis en surpression (c'est la pression de test) et le taux de fuite sera mesuré. Les spécifications sur le taux de fuite autorisé est présenté dans le tableau 18 ci-dessous :

Spécifications d'un test d'intégrité d'un gant			
Pression de test	Spécifications	Equivalent en taux de fuite Std cm <sup>3</sup> /sec à pression de test	Taux de fuite à pression d'utilisation std cm <sup>3</sup> /sec
3000 pa	500 PPM	5,8 10 <sup>-2</sup>	7,75 10 <sup>-3</sup>

Tableau 18 : Valeurs cibles d'un test d'intégrité sur un gant d'isolateur

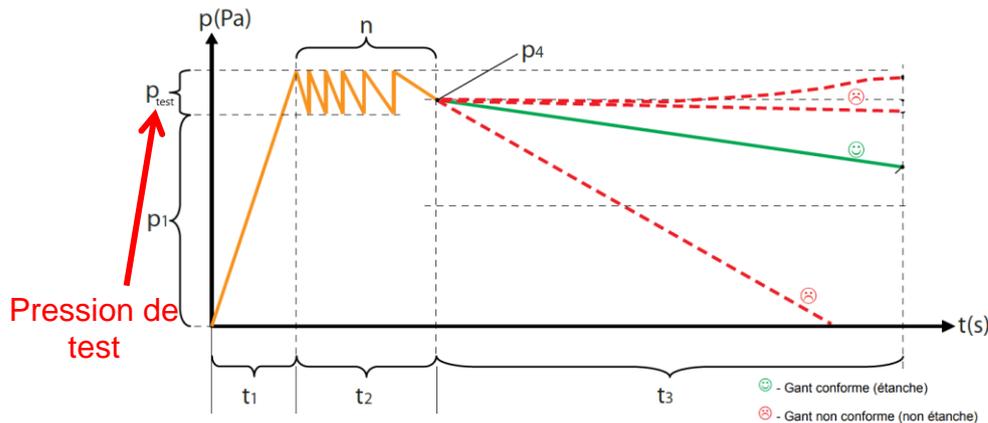


Figure 52 : Graphique d'un test d'intégrité d'un gant d'isolateur (à gauche) et photo d'un GLT (à droite) (source : Getinge)

### II.3.4.2 L'utilisation des gants

Dans les procédés de répartition aseptique, les gants sont utilisés pour :

- Le transfert de matériel et outils dans l'isolateur ;
- L'ouverture et la fermeture des RTP's ;
- Le changement des biocollecteurs ;
- Le prélèvement d'échantillons ;
- Réglages et ajustement des équipement en cour de production ;
- Les réglages au démarrage de la production ;
- Le changement des pièces de format ;
- Le nettoyage de l'équipement.

Chacune de ces actions représente un risque. Ces manipulations doivent être rigoureusement décrites et standardisées, validées lors des MFT (Media Fill Test) ou Simulation de Procédé Aseptique (SPA) en français. La définition de ces manipulations aseptiques représente un gros travail dans la mise en exploitation d'un isolateur.

### II.3.5 Les méthodes de transfert

L'introduction de matériel, d'outils, de consommable doit pouvoir se faire sans rompre ni l'étanchéité de l'isolateur, ni son statut décontaminé. La société LaCalhène a développé dans les années 60 (pour l'industrie nucléaire) un système de porte de

transfert rapide appelé DPTE® (Double Porte pour Transfert Etanche). Le système repose sur l'interaction entre deux unités distinctes (Alpha et Bêta), chacune équipée de pattes de verrouillage et de joints opposés. La partie alpha est montée sur la paroi de l'isolateur tandis que la partie bêta est le conteneur (sac, cuve, tunnel, tubings etc...) de transfert.

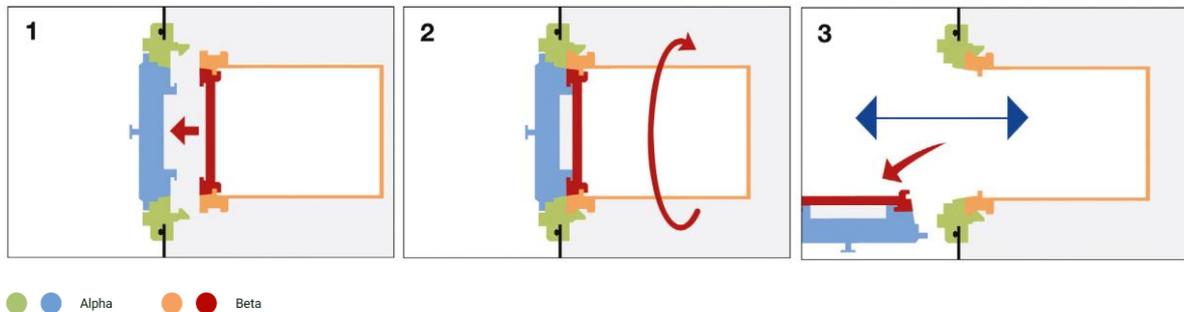


Figure 53 : Schéma de fonctionnement du système DPTE® (source : LaCalhène) [59]

L'introduction de composé avec un système DPTE® se fait en plusieurs étapes :

- 1 L'approche du port Beta vers la partie Alpha de la porte ;
- 2 L'interaction des deux parties par une rotation de 60° ;
- 3 L'ouverture des portes et l'entrée du matériel etc....

Le système comporte tout de même un point de faiblesse. L'ensemble du port est soumis à la fois aux tolérances techniques et à l'usure en cours d'utilisation. Ainsi, il y a un anneau au niveau du nez des joints (« seal noses » ou nez de phoque) dans lequel une contamination peut potentiellement être échangée. Cet anneau est appelé « ring of concerned » ou anneau des préoccupations en français. [60]

Pour limiter cette introduction, les joints peuvent être rigoureusement décontaminés par un agent chimique (alcool/peroxyde d'hydrogène) avant les opérations de connexion.

D'autres systèmes de transfert existent notamment pour le transfert de liquide en isolateur appelés SART®. Ils permettent la connexion de tubings pour l'entrée du produit dans l'isolateur.

### II.3.6 Le sas de décontamination

Outre les mousehole (vu précédemment) et les RTP, il existe très peu de solutions techniques pour l'introduction de matériel dans un isolateur en garantissant l'étanchéité du système et la stérilité de l'isolateur.

Les sas de décontamination rapides (SARA) permettent également l'introduction de matériel dans un isolateur. Il s'agit d'une chambre étanche connectée à l'isolateur qui peut via un cycle rapide de décontamination à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, introduire dans l'isolateur du matériel. La figure 54 ci-dessous montre un sas de décontamination rapide pour l'entrée de matériel dans un isolateur.



Figure 54 : Sas SARA-P (source Skan AG)[61]

#### II.4 Conclusion

L'isotechnie (les isolateurs) sont, du fait de leur conception et leurs fonctionnalités, adaptés pour garantir la maîtrise de la propreté d'un environnement immédiat au poste de remplissage ou de bouchage (grade A selon la réglementation). En effet, ils intègrent parfaitement les 3 piliers d'une ZAC décrit dans la partie I :

- Ils **empêchent** l'introduction de contaminants par l'étanchéité de l'enceinte, la filtration de l'air et les modes de transfert sécurisés du matériel ;
- Ils **limitent** le développement de contaminants en intégrant un système de décontamination des surfaces ;
- Ils **éliminent** les éventuels contaminants grâce à un taux de renouvellement de l'air élevé et la laminarité du flux d'air qui empêche la diffusion de particules (viable ou non).

### III. La conception, la qualification et la mise en service d'un isolateur d'une ligne de répartition aseptique

Nous avons vu dans la première partie les exigences des procédés aseptiques. La partie deux nous montre que techniquement un isolateur peut tout à fait répondre à ces exigences.

Pour un usage industriel, en plus de devoir apporter les éléments de preuves qu'un isolateur fonctionne en respectant les exigences des processus aseptiques, il est indispensable de bien travailler sur la conception de l'équipement. Pour répondre aux notions introduites dans l'ICHQ8 (présentées dans la partie 1) la démarche qualité doit être initiée dès les premiers échanges avec l'équipementier.

Pour cela les bonnes pratiques de fabrication décrivent également un parcours de qualification et validation, à l'initiale et périodique soumis à des approches d'évaluation. La figure ci-dessous montre le flux classique des actions nécessaires à la qualification d'un équipement pharmaceutique. Cette figure est un schéma simplifié des étapes nécessaires pour la validation d'un équipement pharmaceutique applicables pour un isolateur.

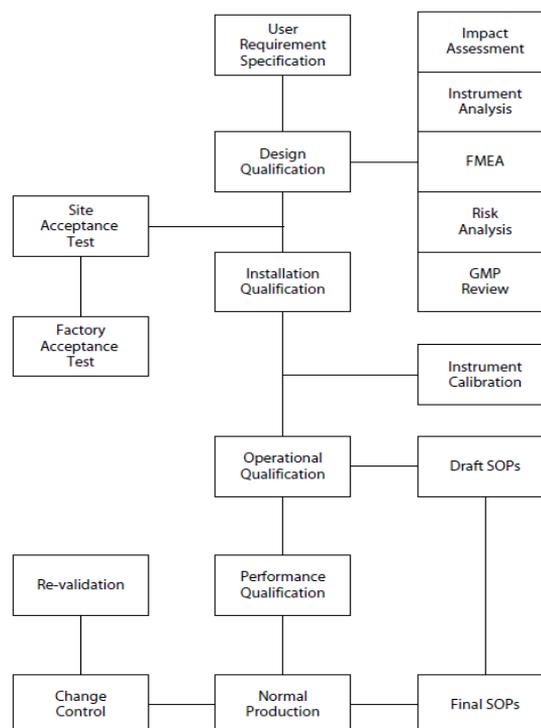


Figure 55 : Diagram de validation. Schéma simplifié montrant les activités à réaliser pour la validation d'un isolateur [45]

### III.1 La définition du besoin et études préliminaires

#### III.1.1 L'URS ou User Request Specification

L'URS (User Request Specification) ou spécifications requises par l'utilisateur est un document important. Il est rédigé au début du projet et définit le besoin auquel devra répondre le fabricant. Il est pluridisciplinaire et intègre des besoins de performance, de qualité, de sécurité, d'accessibilité, etc... Il permet de donner aux fournisseurs pressentis une base contractuelle figée dans un milieu où le changement stratégique peut survenir.

Dans la première partie du document, une description macroscopique de l'équipement est fournie. Les critères généraux de design sont décrits, par exemple le souhait d'avoir un isolateur rigide, composé d'inox, de verre, équipé de gants, de port de transferts rapides (RTP), trous de souris etc... Il donne également une description de l'environnement dans lequel sera implanté le futur équipement et les conditions générales de qualité qu'il devra respecter (normes en vigueur).

Ensuite une série de tableaux se succèdent détaillant les points ci-dessous :

- Les spécifications fonctionnelles
- Le design souhaité
- Les requis techniques généraux
- Les mises sous alarme...
- La stratégie de qualification et de validation de l'équipement

#### III.1.2 La conception

Le design final de l'équipement doit répondre à l'URS émis par le client. Il doit également répondre à la réglementation imposée par les autorités. Il est important de vérifier ce point car une fois fabriqué, il est très compliqué d'apporter des modifications à un isolateur. En effet nous l'avons vu, l'isolateur doit garantir une qualité d'air (grade A), pour cela des paramètres doivent être maîtrisés.

Des analyses de risques sont alors réalisées en intelligence avec les fournisseurs pour définir certains points de design, notamment celui du placement des éléments de monitoring environnemental. Ces choix de placement seront éprouvés durant l'étude maquette et lors des tests d'aérodynamique que nous aborderons plus tard.

### *III.1.2.1 Les Analyses de Risques*

Pour placer les éléments de monitoring dans l'isolateur en accord avec la réglementation, une stratégie d'analyse de risques comme une AMDEC (Analyse des Modes de Défaillance, de leur Effets et de leur Criticité) doit être réalisée. Pour cette analyse un découpage fonctionnel de l'environnement sous isolateur est défini en fonction des opérations suivantes :

- Accumulation des flacons en sortie du tunnel ;
- Décontamination du matériel/consommables via le sas H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ;
- Entrée/sortie du matériel/consommables sous isolateur ;
- Convoyage et remplissage des flacons (pour rappel, ces 2 fonctions sont regroupées selon la conception des 3 lignes de répartition) ;
- Bouchage ou pré-bouchage suivant qu'il s'agisse d'un produit liquide ou à lyophiliser ;
- Capsulage des flacons pour les produits liquides ;
- Convoyage des flacons de produit à lyophiliser après le poste de bouchage ;
- Insertion des sondes ;
- Mise en place du pusher de chargement, suivi du chargement /déchargement des lyophilisateurs ;
- Capsulage des flacons produits lyophilisés.

Pour chacune de ces fonctions, une recherche des modes de défaillance est réalisée selon les cinq axes de la méthode des 5 M, à savoir :

- Main d'œuvre
- Matériel
- Matière
- Méthode
- Milieu

Pour chacun de ces modes de défaillance, les effets et les causes sont listés. Enfin la probabilité d'apparition, la gravité et la détectabilité sont évalués.

### III.1.2.1.1 La gravité

La gravité est évaluée sur 3 niveaux détaillés dans le tableau suivant :

Niveau de gravité	Conditions d'attribution
Mineur	Absence de produit ou d'article de conditionnement à proximité de la défaillance
Significative	Si la défaillance se déroule à une distance entre 1 pied et 3 pieds du produit ou d'un article de conditionnement
Très importante	Si la défaillance se déroule à une distance inférieure à 1 pied du produit ou d'un article de conditionnement

Tableau 19 : Exemple d'évaluation du risque dans une analyse de risque

Ainsi chaque conséquence d'une défaillance sera étudiée selon cette évaluation. Par exemple, une défaillance qui entrainerait une contamination au niveau du poste de remplissage (moins d'un pied) serait considéré comme très importante.

### III.1.2.1.2 L'occurrence

L'occurrence peut être évaluée grâce à l'échelle détaillée dans le tableau ci-dessous :

Niveau de d'occurrence	Conditions d'attribution
Rare	Survient moins d'une fois par répartition
Modéré	Apparait entre 2 et 5 fois par répartition
Forte	Intervient régulièrement durant toute la répartition

Tableau 20 : Exemple d'échelle d'évaluation de l'occurrence

Par exemple, comme cause de défaillance, on peut prendre la génération de particules par la machinerie. Elle est systématique (têtes de sertissage) donc le niveau d'occurrence sera fort.

### III.1.2.1.3 La détectabilité

La détectabilité est également prise en compte selon les critères suivants :

Niveau de détectabilité	Conditions d'attribution
Certaine	Grâce à une surveillance en continue
Moyenne	Détection possible après la production et avant la libération
Très improbable	Pas de détection possible ou après libération

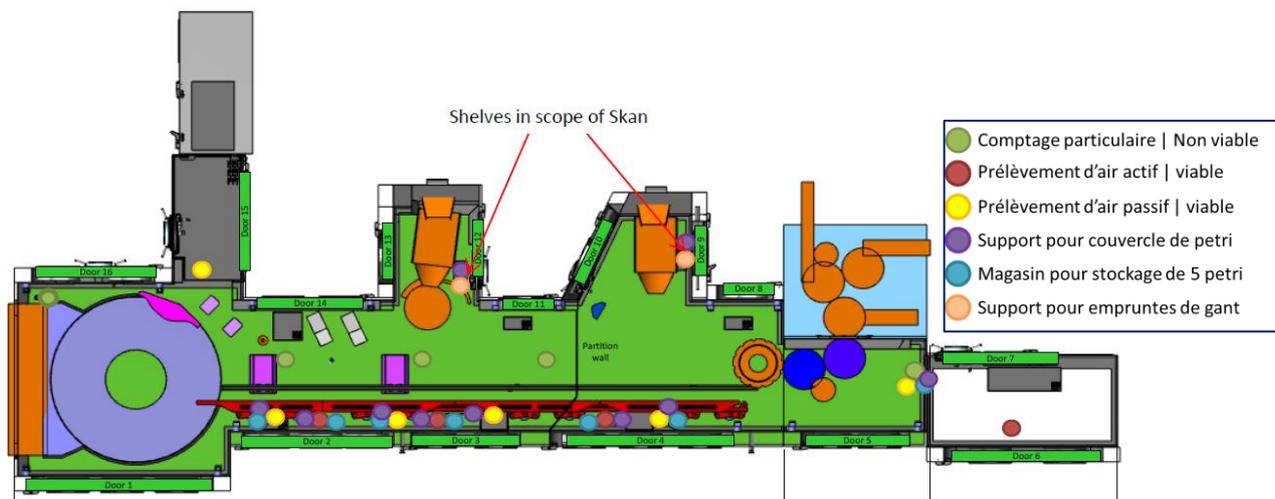
Tableau 21 : Exemple d'échelle d'évaluation de la détectabilité

### III.1.2.1.4 Le résultat de l'analyse

La criticité de chaque mode de défaillance va être calculé. Des dispositifs de monitoring/surveillance sont mis en place pour augmenter la détectabilité. Le

placement d'un module de comptage particulaire non viable permettra d'obtenir une détectabilité certaine. La figure 56 ci-dessous montre le placement de points de monitoring environnementaux à l'issus de l'analyse de risques.

A cette étape du projet le placement est tracé sur des plans (ou modélisation 3d) de l'équipement. Il est possible que les dispositifs interfèrent avec la machinabilité, avec la laminarité du flux ou sont inaccessibles à travers les gants. Leur position n'est donc pas figée. Elle devra être challengée lors des études mock-up (maquette) et des tests d'aéroulique.



### III.1.3 Mock-up study

« Mock-up » en anglais signifie maquette. La mock-up study est donc une étude de conception. Elle permet de vérifier que toutes les manipulations à réaliser par les opérateurs sont réalisables et que l'isolateur s'intègre parfaitement avec l'équipement.

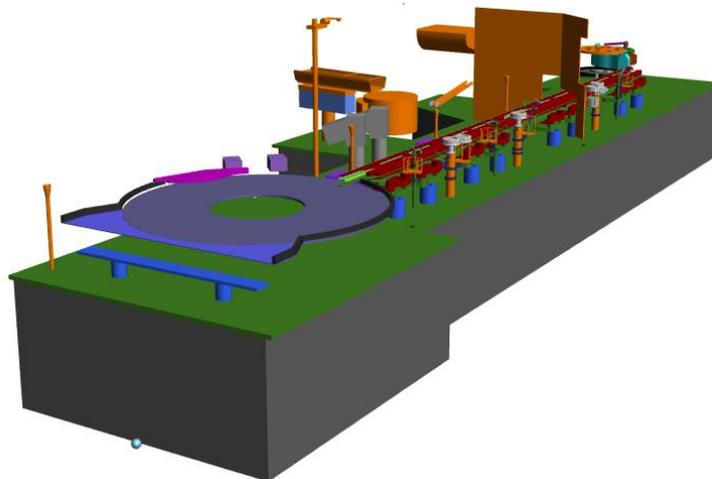
L'étude de conception fait appel à des maquettes pour permettre d'intégrer au mieux l'isolateur dans son environnement. Il permet de vérifier que toutes les interventions à faire sous l'isolateur soient réalisable. L'objectif principal est de définir l'emplacement, l'accessibilité et le non-encombrement des :

- Ronds de gants : leur taille, leur position et leur nombre ;
- Portes en verre : doubles ou simples, leurs dimensions et les systèmes de charnières ;

- Des systèmes de transfert : les Rapid Transfert Port, les SAS de décontamination rapide ;
- Des éléments de stockage en fonction des activités ;
- Des points de prélèvements divers ;
- Des éléments de machinerie du process nécessitant d'éventuelles interventions manuelles lors de leur fonctionnement ;
- Les éléments de sécurité ;

### *III.1.3.1 Les prérequis*

Avant de préparer la maquette il est important de disposer de certaines informations ou documentations. En effet une ligne de remplissage peut être très complexe (comme le montre la figure 57 ci-dessous). Pour cela les différents protagonistes sont rassemblés au sein d'un groupe de travail. Dans le cadre du projet Arras du LFB c'est 5 entreprises qui ont dû échanger autour de la table : Bausch&Ströbel (pour la machine de remplissage), ATEC sterile technology (pour les système d'approvisionnement), GEA (pour les système de lyophilisateurs), PARKER (pour les systèmes de filtration de produits) et SKAN AG (pour la conception de l'isolateur). Au-delà de la barrière de la langue, c'est l'organisation de réunions, la planification du projet et la coordination sur le chantier qui s'évère complexe.



*Figure 57 : Plan de la remplisseuse fourni par le fabricant de la machine*

A l'issue de ces échanges le fabricant de l'isolateur (SKAN AG) restitue le travail en présence du client :

- Un premier plan de l'équipement fournis par le fabricant de l'isolateur pour disposer d'une base de travail ;

- Les emplacements des éléments de monitoring ont été préalablement définis au cours d'une analyse de risques ;
- Un protocole explicite pour guider l'étude ;

La figure 58 ci-dessous montre un premier plan émis par le fabricant de l'isolateur. Il définit le périmètre de l'étude. Ici 3 isolateurs successifs intègrent une ligne de remplissage, une section lyophilisateurs (avec système de chargement déchargement automatique de lyophilisateurs) et une section capsuleuse.

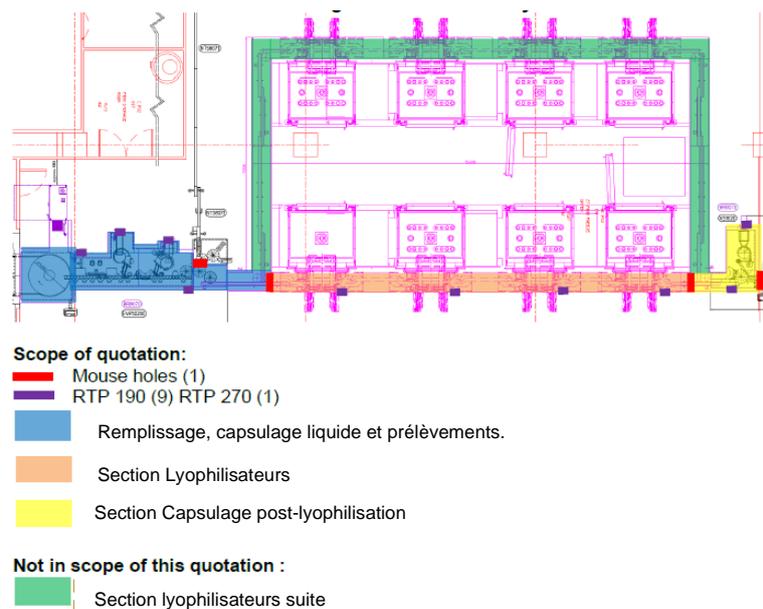


Figure 58 : Plan définissant le périmètre de l'étude

### III.1.3.2 Le déroulement de l'étude maquette

Après les premiers échanges avec les différents fournisseurs de livrables, le fabricant de l'isolateur va réaliser une maquette physique (à échelle réelle) ou numérique des équipements process concernés par le besoin. Le client est invité à participer à l'étude pour valider/vérifier le placement des différents éléments sur l'isolateur. Les manipulations à réaliser durant l'étude maquette permettront de vérifier le design de l'isolateur avant sa fabrication :

- Ouverture des éléments sous l'isolateur (emballages divers)
- Placement des éléments du système de remplissage (placement des aiguilles, placement des poches diverses etc...)
- Activités générales en cours de production (retirer un flacon, opération de nettoyage après projection etc...)

- Chargement d'un élément (trou de souris etc...)
- Installation des gants
- Positionnement des écrans Interface Humain Machine
- Vérification que le placement des éléments de monitoring convient

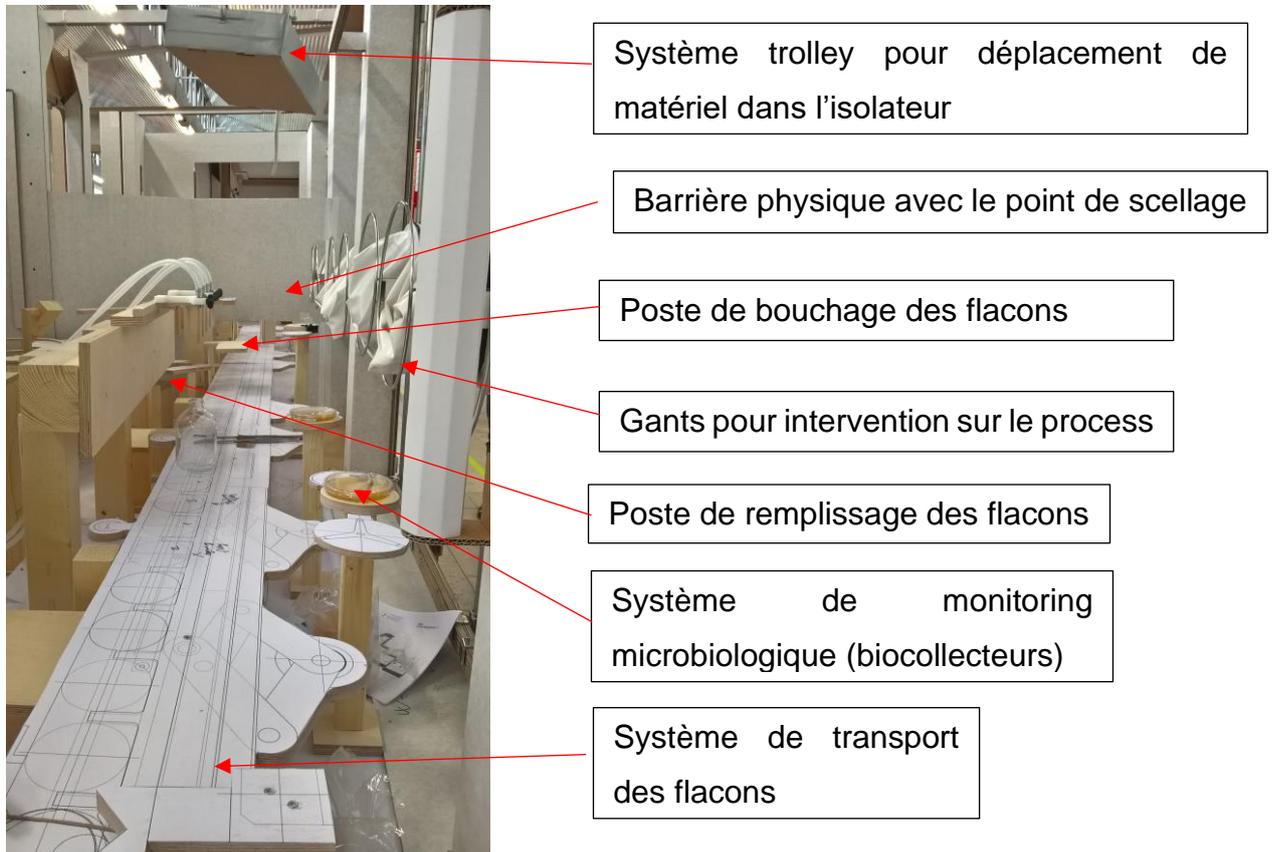


Figure 59 : Maquette de la ligne de remplissage

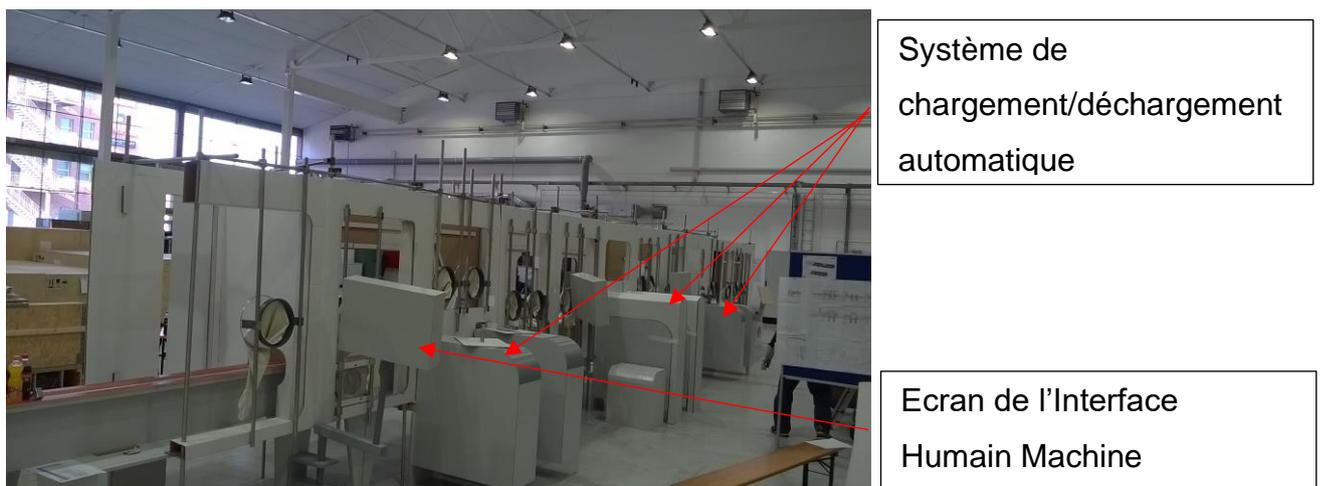


Figure 60 : Vue extérieure maquette du système de chargement/déchargement automatique des lyophilisateurs



Port RTP (Rapid Transfert Port) pour l'introduction de capsules

Figure 61 : Maquette de la capsuleuse post-Lyophilisation

L'étude maquette peut également être réalisée de manière informatique (figure 62) grâce à des logiciels de conception assistée par ordinateur. Il est possible de simuler l'accessibilité grâce à la technologie de la réalité virtuelle. Néanmoins l'authenticité des manipulations est limitée et bien souvent les utilisateurs préfèrent des maquettes réelles pour ce type d'études.

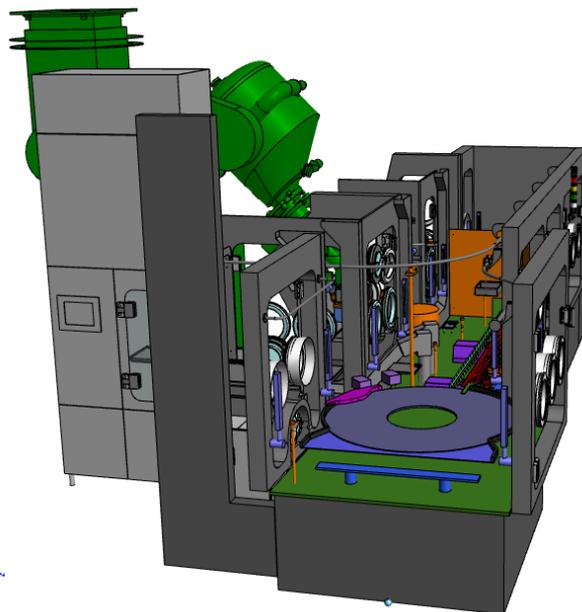


Figure 62 : Vue en 3 dimensions de la ligne de remplissage liquide sous isolateur

### III.1.3.3 La documentation de l'étude

A l'issue de l'étude un rapport est émis par le fournisseur. Il reprend toutes les remarques et décisions prises lors de l'étude. La figure 63 ci-dessous montre un exemple de rapport d'étude maquette.



**Mock-Up Report**  
10A-15-087 Lupin Limited  
Vial Filling Line Isolator

Page No.  
1 of 7  
Document No./Version  
234320\_A02  
Revision Date / Initia  
15.03.2016 / haubma1

6. Position of doors and windows, gloves	
Defined Positions	
	see tables and pictures below
Additional Information	
1.	The location of the gloves was tested and defined by the customer during the mock-up meeting in comparison with criteria like: pass material to next glove or hand shake between two gloves or clearance or cleaning of the filling line or get good access to RTP's...
2.	General: Each glove mounted in a double door window will be equipped with a PC transparent inner ring (located between the inner and the outer door).
3.	
4.	
5.	



Des plans accompagnent le rapport, ils seront repris pour la fourniture des livrables au client

Figure 63 : exemple de rapport à l'issue d'une étude maquette sur un isolateur de remplissage aseptique (source : skan AG)

### III.1.3.4 De la maquette vers le réel



Figure 64 : exemple d'une maquette d'isolateur (à gauche) et du rendu final chez le client (à droite)

Un fois les études terminées, le client donne un « GO » au fournisseur pour la fabrication de l'isolateur. La figure 64 ci-dessus montre l'évolution de la maquette vers la construction finalisée d'un isolateur.

## III.2 La qualification

Avant livraison, le client vient réaliser des tests en usine (Factory Acceptance Test). L'isolateur (seul) est alors contrôlé et des essais sont réalisés afin de valider la livraison de l'équipement.

### III.2.1 Qualification d'installation

Une fois livrée, le fournisseur (le plus souvent) rédige les documents de qualification d'installation. Ce document décrit l'équipement dans sa configuration statique/inactive. D'une autre manière : où et comment est installé l'isolateur.

### III.2.2 Qualification opérationnelle

La qualification opérationnelle peut également être réalisée par le fournisseur selon les termes de l'accord passé dans avec le client. Ces essais visent à démontrer le bon fonctionnement de l'équipement selon des tests documentés de manière précise :

- Nom du test
- Objet du test
- Matériel requis
- Méthode utilisée
- Critères d'acceptation
- Résultats
- Expression de la conformité ou non du test
- Un espace de commentaire
- Des preuves de tests doivent être fournies

Pour un isolateur on attend que les fonctions ou organes suivants soient testés lors des Qualifications Opérationnelles :

#### III.2.2.1 Intégrité des filtres

Le bon fonctionnement d'un isolateur est entre autres directement relié à l'intégrité des filtres qu'il comprend. Chacun des filtres doivent être conformes avec la norme ISO détaillée précédemment. L'essai implique de générer des particules en amont du filtre et de vérifier qu'elles sont bien arrêtées par le filtre. Un générateur de particules de taille de 0,5µm de diamètre est placé en amont du filtre (le plus souvent il s'agit d'un générateur de fumée fonctionnant avec une huile de qualité alimentaire). La photo ci-

dessous montre le montage à réaliser sous le filtre pour mesurer le taux de filtration d'un filtre. Le capteur va alors mesurer les particules en sortie de filtre.



Figure 65 : essais d'intégrité d'un filtre HEPA avec un RobotScanFlex® [62]

#### III.2.2.2 Tests de fuite

Le fonctionnement d'un isolateur dépend aussi de son étanchéité. Une recherche de fuite doit être réalisée pour vérifier que l'isolateur est bien étanche. Le plus souvent un test de détection de fuite d'un gaz est réalisé. Ce gaz (hélium – ammoniac) est injecté dans la chambre de l'isolateur avec une certaine pression puis les fuites sont révélées au moyen d'un détecteur ou de détection chimique par des révélateurs. Si une fuite est retrouvée, des actions sont mises en place pour rétablir l'étanchéité de l'isolateur.

#### III.2.2.3 Les tests de fumée (ou smoke test)

Ces tests sont utilisés pour vérifier l'aéraulique de l'isolateur et l'éventuelle perturbation qu'entraînerait l'ajout d'éléments dans la chambre. Pour réaliser ce test il faut disposer du même matériel que pour les tests d'intégrité des filtres : un générateur de fumée. L'ensemble de l'isolateur sera vérifié. Les images ci-dessous montrent des tests de fumés réalisés dans une chambre vide, la machine de remplissage n'est pas encore installée. La réalisation du test (en FAT) permet d'avoir une première visualisation de la qualité du flux sans la machine. Les turbulences identifiées sont signalées au fournisseur qui pourra ajuster les réglages ou le design de l'équipement.

Dans tous les cas ces tests devront être réalisés de nouveau une fois la configuration finale disponible.



Figure 66 : Tests de fumée mettant en évidence une turbulence (à gauche) et un flux conforme (à droite)

#### *III.2.2.4 Calibration des instruments*

Les éléments de monitoring des conditions de fonctionnement d'un isolateur doivent être vérifiables. Les anémomètres, les sondes de températures, les capteurs de pression, etc... sont vérifiés initialement pour les qualifications opérationnelles et seront vérifiés de nouveau périodiquement pour garantir leur fonctionnement.

#### *III.2.2.5 Classification particulaire au repos et en activité (fonctionnement de la machine de répartition).*

La vérification de la classification particulaire fait appel à des détecteurs particulaires qui viennent prélever un échantillon d' $1\text{m}^3$  d'air de l'isolateur et va compter les particules. La norme ISO 14644 explique également qu'un isolateur doit pouvoir absorber une fuite ponctuelle de l'environnement extérieur. En d'autres termes, on doit vérifier qu'après avoir injecté des particules pour atteindre les niveaux de propreté d'un local ISOgrade 7, l'isolateur doit revenir à des valeurs compatibles ISO 5. On vérifie ainsi la capacité de l'isolateur à éliminer les contaminants.

#### *III.2.2.6 Cycle de décontamination*

Avant de valider le cycle de décontamination d'un isolateur, il est nécessaire de développer ce cycle. En effet chaque isolateur étant différent en termes de design les données d'entrée peuvent varier. Le développement inclus également l'optimisation du cycle afin que sa durée soit réduite au maximum. Le fournisseur a en général la charge de ce développement.

Il commence par réaliser une cartographie de température de l'isolateur, elle démontrera l'uniformité de la répartition de la température dans l'isolateur. Pour ce test des thermocouples sont placés aux endroits jugés critiques sous l'isolateur :

- Les portes RTP ;
- Les systèmes d'alimentation des bouchons (bols et trémies) ;
- Les zones d'interfaces avec d'autres équipements comme les lyophilisateurs.

Les températures d'aire dans l'enceinte et dans la pièce sont relevées à l'aide de sondes ou à défaut de thermocouples de validation. Les données devront être compatibles avec le process de stérilisation.

Ensuite le fournisseur va démontrer la bonne dispersion du peroxyde d'hydrogène vaporisé dans l'enceinte en plaçant des indicateurs chimiques (témoin de présence de l' $H_2O_2$ ) couplés à des BioIndicateurs. Les BioIndicateurs (ou BI) sont des supports inertes contenant des microorganismes résistants à l'agent stérilisant utilisé (*Geobacillus stearothermophilus*) déposés à l'intérieur de l'isolateur. À la suite de leur exposition à cet agent, les coupons sont placés dans un milieu de culture (Trypticase-soja) et mis en incubation entre 50 et 60 degrés dans une étuve. Si les germes ne sont pas éliminés la recette sera modifiée. Enfin le fournisseur travaillera sur la durée d'aération (étape qui peut être longue), pour atteindre la valeur de 1ppm le plus rapidement possible.

Le client peut maintenant valider le cycle avec la recette développée par le fournisseur. Pour cela des BioIndicateurs sont placés partout dans l'enceinte de l'isolateur et un cycle est lancé. La validation est conditionnée par la conformité de 3 cycles consécutifs, les résultats des essais seront tracés dans les rapports de qualification de performance de l'équipement. La figure 67 montre des indicateurs chimiques et biologiques utilisés pour la validation d'un cycle de stérilisation au peroxyde d'hydrogène vaporisé.



Figure 67 : Indicateur chimique (gauche) et indicateur biologique avec le tube de média pour la mise en culture (droite) (source : Steris)

### III.2.2.7 Vérification des alarmes et organes de sécurité

La plupart des équipements disposent de moyens d’alerte lors de variations des paramètres critique, du fonctionnement d’un isolateur. Les protocoles d’essais doivent vérifier le fonctionnement de chacune des alarmes. Pour cela il est important de simuler les conditions d’apparition de l’alarme et vérifier si elle se déclenche. Il en va de même pour les organes de sécurité (verrouillage des portes par exemple).

### III.2.3 Qualification de performance

Les qualifications de performance sont en général à la charge du client, utilisateur final de l’équipement. Sur un format similaire aux qualifications opérationnelles, la qualification de performance répond à 2 objectifs :

- L’apport de preuves que le système fonctionne tel que décrit dans les études de design.
- Montrer qu’il continuera de fonctionner de manière répétable dans le temps.

Les qualifications de performance d’un isolateur sont transverses car elles intègrent le déroulement du process sous l’isolateur (répartition par exemple).

### III.2.3.1 La formation des opérateurs

En plus la documentation nécessaire à l’exploitation de l’équipement (procédures, check-list), la formation des opérateurs doit être mise en place. Ce sont des requis réglementaires. Ainsi ces éléments doivent déjà être à disposition à ce moment :

- Cibler tout le personnel concerné, y compris le personnel encadrant ;
- Procédures rédigées et approuvées par les services qualité ;
- Parcours de formation en place avec une stratégie d’habilitation définie.

La formation du personnel peut commencer de manière informelle au moment des études de design ou avec la participation aux FAT/SAT. Ces participations peuvent être capitalisées en gardant des éléments de preuve de présence ou d'implication. En exploitation le processus de formation devra inclure des modules théoriques et des modules pratiques sur le terrain. Ci-dessous une liste de quelques modules de formations théorique indispensables pour l'exploitation incluant des isolateurs :

- Isolateur : les principes, la répartition aseptique sous isolateur, la gestuelle sous flux et la décontamination ;
- Manipulation des bioindicateurs BI ;
- Gestion des gants et port RTP ;
- BioNettoyage d'un isolateur.

En plus de ces modules, des formations sur le terrain seront réalisées par des opérateurs formateurs sur l'équipement notamment pour toutes les activités impliquant l'utilisation des gants.

#### *III.2.3.2 Le BioNettoyage*

La validation des processus de bionettoyage sous l'isolateur doit être faite avant les qualifications de performance.

Le BioNettoyage consiste à maîtriser la charge microbiologique sur les surfaces dans l'isolateur avant le lancement du cycle de décontamination. Certains éléments nécessitent un traitement particulier :

- Les éléments en contact direct avec le produit (par exemple des seringues de remplissage) devront être stérilisées (à la vapeur) et incorporées de manière aseptique dans l'isolateur.
- Les éléments en contact indirect avec le produit (par exemple un élément du système d'alimentation de bouchons) devront également être stérilisés avant d'être introduits dans l'isolateur pour maîtriser la bio-charge avant le cycle de décontamination au peroxyde d'hydrogène.

Il faut donc prévoir des charges en laverie pour nettoyer et stériliser le matériel avant de l'inclure dans l'isolateur.

### III.2.4 Les essais de mediafill

Les essais de mediafill ou MFT consistent à vérifier l'asepsie du processus, en simulant le remplissage avec une solution de milieu de culture (Trypticase-soja) également appelé peptone. Ainsi toute contamination microbiologique sera détectée par inspection visuelle de chaque flacon. Chacune des opérations durant le processus (manipulations aseptiques) seront effectuées sous le contrôle d'observateurs.

Il existe 3 types de MFT :

- Les MFT Initiales au nombre de 3. Elles doivent être conformes successivement
- Les MFT périodiques à réaliser 2 fois par an
- Les MFT exceptionnels à réaliser après une modification importante ou majeur du process ou du fonctionnement d'un équipement.

Pour la réalisation de MFT initiales, l'objectif est de vérifier l'asepsie de remplissage de chaque format en fonction de la recette associée. Ils permettent également de valider la plage aseptique (durée de stérilité de l'isolateur). Une stratégie d'évaluation du risque pour chaque format permettra d'établir un « pire-cas » (worst-case) et de rationaliser ainsi les quantités de peptone à mettre en jeu. En fonction de la durée de la plage de validation aseptique voulue, (par exemple, 7 jours de campagne de production), les essais devront à minima s'étaler sur la durée souhaitée. En général les industriels valident une durée plus longue que celle utilisée en routine.

Une fois réparti, la peptone sera incubée durant 14 jours. Pour valider une campagne de 7 jours il est nécessaire de remplir des flacons en peptone au début de la campagne et à la fin afin de vérifier la plage aseptique. Cela impose une contrainte de planning. En effet les MFT initiales sont chronophages.

La figure 67 ci-dessous montre le chronogramme d'un MFT pour la validation d'une plage aseptique de 7 jours. Le résultat final de l'essai ne sera donc connu qu'à partir du 14<sup>eme</sup> jour.

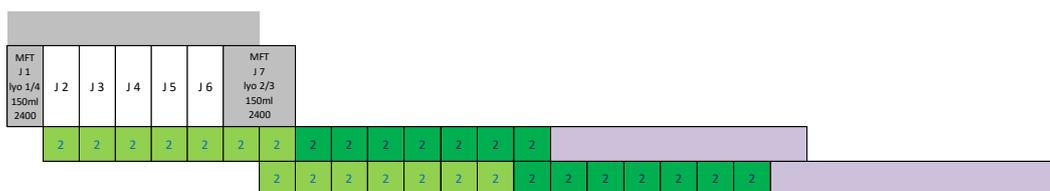


Figure 68: Organisation d'un MFT sur une ligne de remplissage pour valider une plage aseptique de 7 jours

Pour être conforme cette séquence doit être réalisée 3 fois consécutivement et aucun flacon ne doit « pousser » (développement de micro-organisme).

### III.3 Retour d'expérience sur le design et l'installation d'un isolateur d'une ligne de répartition aseptique.

Le projet Arras du LFB prévoit entre autres la mise en exploitation de 3 lignes de répartition, 4 lyophilisateurs avec système de chargement et déchargement automatisé et d'une capsuleuse le tout sous isolateur. Aujourd'hui les phases de qualification ont commencé et le projet est suffisamment mature pour pouvoir l'analyser rétrospectivement et en tirer des enseignements.

#### III.3.1 Rédaction de l'URS

La rédaction de l'URS est centrale dans un projet isolateur. La technologie est spécifique et la connaissance des contraintes aseptiques est nécessaire mais pas suffisante pour alimenter le document. Le premier enseignement à tirer du projet ARRAS dans la manière de mener l'écriture de l'URS est d'inclure des exploitants qui ont déjà pratiqué la technologie, apportant de ce fait un retour d'expérience. Soit l'entreprise possède cette expertise (par le biais de l'exploitation d'un isolateur sur un autre site par exemple) soit elle fait appel à une intervention extérieure. Le but est de couvrir l'exhaustivité des besoins pour le projet. Les points devant impérativement être définis et figés sont :

- L'entrée du produit des consommables dans l'isolateur ;
- La sortie des produits et des déchets ;
- L'environnement dans lequel l'isolateur sera implanté.

Si l'un de ces points venait à évoluer au cours du projet la conception même de l'isolateur serait amenée à évoluer impactant le budget et le planning du projet.

#### III.3.2 Le mock-up

Une fois le document rédigé et les premiers échanges réalisés avec le fournisseur, vient l'étape du mock-up. Le deuxième enseignement à tirer du projet ARRAS est que l'exercice du mock-up doit être fait en respectant rigoureusement une certaine méthode :

- Réaliser l'exercice avec une équipe pluridisciplinaire. En impliquant à minima :

- L'utilisateur final pour intégrer à l'étude l'exhaustivité des « gabarit » de personnel qui sera amené à manipuler autour de l'isolateur ;
  - Le ou les responsables d'assurance stérilité qui apporteront leur expertise microbiologique et vérifieront et valideront le positionnement des éléments de monitoring environnemental, sous l'isolateur après la réalisation de l'analyse de risque ;
  - Un représentant du service maintenance pour vérifier l'accessibilité des zones techniques de la machine.
- Réaliser l'exercice avec un listage des manipulations inhérentes les plus critiques qui viendraient à être réalisées (par exemple le changement des aiguilles sur le poste de remplissage) ;
  - Réaliser l'exercice avec du matériel de production. En effet, s'il est prévu d'introduire du matériel avec des systèmes de sac, de travailler avec des montages particuliers pour le poste de remplissage, le matériel ou des prototypes se rapprochant au plus de leur version définitive devront être à disposition lors du mock-up.

Le mock-up nécessite donc une préparation minutieuse en amont avec les bons interlocuteurs.

Les isolateurs ne représentent pas l'intégralité des technologies barrières sélectionnées pour les opérations de remplissage aseptique. Le parc d'isolateurs tend à s'agrandir tant dans le cadre de nouveaux projets comme celui du LFB ou encore pour moderniser des installations équipées de RABS par exemple. Ce retour d'expérience pourra servir aux futurs projets impliquant l'acquisition d'isolateurs.

**FAT**



**Etude mock-up**



**Installation**

*Figure 69 : Principales phases du projet isolateur dans le projet Arras du LFB*

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] « Article L5111-1 - Code de la santé publique - Légifrance ». <https://www.legifrance.gouv.fr/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [2] « Directive 2001/83/CE du parlement européen et du conseil », nov. 06, 2001. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [3] « Chapitre 1er : Dispositions générales. (Articles L5121-1 à L5121-21) - Légifrance ». <https://www.legifrance.gouv.fr/codes/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [4] *Dissertationem medicam de chirurgia infusoria Michael Ettmüller*. 1668. [En ligne]. Disponible sur: <https://iiif.wellcomecollection.org/pdf/b31916600>
- [5] *Guitard Eugène-Humbert. Stanislas Limousin : Albert Goris, in La pharmacie française, 1938. In: Revue d'histoire de la pharmacie, 26<sup>e</sup> année, n°102, 1938. pp. 313-314.*
- [6] *Charonnat R. Les origines de l'injection parentérale. In: Revue d'histoire de la pharmacie, 40<sup>e</sup> année, n°132, 1952. pp. 320- 323.*
- [7] A. Frogerais, *Les ampoules pharmaceutiques Histoire de la production industrielle*. 2018. Consulté le: mai 13, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01767700>
- [8] « BioNTech Announces First Quarter 2021 Financial Results and Corporate Update », mai 2021, Consulté le: mai 23, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://investors.biontech.de/>
- [9] European Medicines Agency, *Volume 4 EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products (corrected version)*. 2008.
- [10] European Medicines Agency, « guideline-sterilisation-medicinal-product-active-substance-exciipient-primary-container\_en », mars 06, 2019. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [11] « Good Manufacturing Practices ». <https://www.who.int/> (consulté le avr. 25, 2021).
- [12] Organisation Mondiale de la Santé, « Annex 2, WHO Technical Report Series 986, 2014 : Bonnes pratiques de fabrication des produits pharmaceutiques : grands principes ». <https://www.who.int/medicines/> (consulté le avr. 25, 2021).
- [13] Agence Nationale de Sécurité des Médicaments et des produits de santé, *GUIDE DES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION*. 2015.
- [14] Commission européenne, « Révision de l'annexe 1 des BPF de l'UE: fabrication de médicaments stériles (projet) - ECA Academy DRAFT décembre 2020 ». <https://www.gmp-compliance.org/guidelines/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [15] International Conference On Harmonisation, Éd., « ICH Q10 : Pharmaceutical quality system », in *Handbook of Transnational Economic Governance Regimes*, Brill | Nijhoff, 2010, p. 1041-1053. doi: 10.1163/ej.9789004163300.i-1081.897.
- [16] Direction Générale de la Santé, Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins, et Comité Technique National des Infections Nosocomiales, « surveillance-microbiologique-établissements-de-santé-2002 ». <https://cdnmedia.eurofins.com/> (consulté le juin 26, 2021).
- [17] « Trouvez l'inspiration. | Flickr ». <https://www.flickr.com/> (consulté le juin 19, 2021).
- [18] mariephilippine, « Levures à tout faire », *Ricochets*, mai 17, 2018. <https://ricochets.info/> (consulté le juin 26, 2021).

- [19] « Résultats rapportés et interprétation », *INSPQ*.  
<https://www.inspq.qc.ca/es/node/4894> (consulté le juin 20, 2021).
- [20] « Classification virale - Méthodes de diagnostic en virologie - Structure des virus et classification ». [http://un-ori2.crihan.fr/unspf/2010\\_Lille\\_Goffard\\_Virologie/co/03\\_classification\\_virale.html](http://un-ori2.crihan.fr/unspf/2010_Lille_Goffard_Virologie/co/03_classification_virale.html) (consulté le juin 26, 2021).
- [21] ANSES, « Les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ou maladies à prions ». <https://www.anses.fr/fr/> (consulté le juill. 03, 2021).
- [22] « Adjou, Karim et al. (2005). Méthodes de diagnostic des « maladies à prions » chez l'homme et chez l'animal. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France. 429. 10.4267/2042/47799. »
- [23] O. Tinseau, « Les zones à atmosphère contrôlées. », présenté à Intervention Master 2 Technologie et management de la Production Pharmaceutique., Université Paris-Saclay 2020-2021.
- [24] E. A. Grice et J. A. Segre, « The skin microbiome », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 9, n° 4, p. 244-253, avr. 2011, doi: 10.1038/nrmicro2537.
- [25] « Maîtrise de la contamination et des salles propres - Aspec ». <https://www.aspec.fr/> (consulté le juill. 02, 2021).
- [26] C. Ernst, G. Schmauz, et G. Kreck, « Systeme und Konzepte der Reinraumtechnik [Système et conception des salles blanches] », in *Reinraumtechnik*, L. Gail, U. Gommel, et H.-P. Hortig, Éd. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012, p. 1-35. doi: 10.1007/978-3-642-19435-1\_1.
- [27] Organisation internationale de normalisation, « ISO 14644-1:2015(fr), Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 1: Classification de la propreté particulaire de l'air », déc. 2015. <https://www.iso.org/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [28] USP 35 vol. 1 2012a, 2012 : pp. 697-707., « USP <1116> Microbiological control and monitoring of aseptic processing ». <https://www.pda.org/> (consulté le juill. 04, 2021).
- [29] France air, « Livre-blanc-normes-classifaction-filtres ». <https://www.france-air.com/> (consulté le juill. 11, 2021).
- [30] « ISO 16890-1:2016(fr), Filtres à air de ventilation générale — Partie 1: Spécifications techniques, exigences et système de classification fondé sur l'efficacité des particules en suspension (ePM) ». <https://www.iso.org/> (consulté le juill. 04, 2021).
- [31] AFNOR, « NF EN 1822-1 Filtres à air à haute efficacité (EPA, HEPA et ULPA) — Partie 1 : Classification, essais de performance et marquage », avr. 2019. <https://www.boutique.afnor.org/>
- [32] IRSN L'Institut de radioprotection et de sûreté nucléaire, « Document de synthèse relatif à une barrière technique de sécurité (BTS) Filtres à Très Haute Efficacité (THE) », juin 2006. [https://primarisk.ineris.fr/sites/default/files/Tox\\_Filtre\\_THE\\_V0.pdf](https://primarisk.ineris.fr/sites/default/files/Tox_Filtre_THE_V0.pdf) (consulté le avr. 23, 2021).
- [33] « Filtration de l'air en salles blanches ». <https://blog.sofise-filtration.com/industries-pharma-biotech/filtration-de-l-air-en-salles-blanches> (consulté le juill. 11, 2021).
- [34] « Traitement par le peroxyde d'hydrogène vaporisé : de la décontamination à la Stérilisation ? », *A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie*, oct. 06, 2017. <https://www.a3p.org/> (consulté le juill. 12, 2021).

- [35] International Conference On Harmonisation, « ICH Q8 : Pharmaceutical development », *European Medicines Agency*, sept. 17, 2018. <https://www.ema.europa.eu/> (consulté le juill. 12, 2021).
- [36] Centre Régional d'Innovation et de Transfert de Technologies Agroalimentaires, « Guide-Effinet Dossier Technique « Nettoyage et Désinfection » dans le cadre de l'action collective « Efficacité des opération de Nettoyage et Désinfection" ». <http://critt-iaa-paca.com/wp-content/uploads/2015/02/Guide-Effinet-ND.pdf> (consulté le juill. 12, 2021).
- [37] Organisation internationale de normalisation, « ISO 14644-4:2001(fr), Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 4: Conception, construction et mise en fonctionnement », avr. 2001. <https://www.iso.org/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [38] « Contrôle des flux laminaires dans les salles blanches pharmaceutiques », *andheo*, sept. 16, 2020. <https://www.andheo.fr/single-post/2020/06/30/controle-flux-laminaires-salles-blanches-pharmaceutiques> (consulté le juill. 14, 2021).
- [39] « Ecoulement de l'air ». <https://www.lavionnaire.fr/AerodynEcoulAir.php> (consulté le juill. 14, 2021).
- [40] É. Larousse, « Définitions : barrière - Dictionnaire de français Larousse ». <https://www.larousse.fr/> (consulté le juill. 14, 2021).
- [41] « Bottling Machine Defies Bacteria - Popular Science (Mar, 1947) », *Modern Mechanix*. <http://blog.modernmechanix.com/bottling-machine-defies-bacteria/> (consulté le mai 14, 2021).
- [42] « Qui sommes-nous », *Jacomex*. <https://www.jacomex.fr/qui-sommes-nous/> (consulté le juill. 17, 2021).
- [43] laboratoires nationaux Sandia, « Modern-day cleanroom invented by Sandia physicist still used 50 years later ». <https://phys.org/news/2012-11-modern-day-cleanroom-sandia-physicist-years.html> (consulté le juill. 17, 2021).
- [44] I. L. H. Chyan, « Federal standard 209E for cleanroom - an obsolete document », p. 15.
- [45] T. Coles, *Technologie d'isolement Un guide pratique, deuxième édition*, CRC Press. 2004.
- [46] « Slow-walking The Isolator — A Cautionary Tale ». <https://www.pharmaceuticalonline.com/doc/slow-walking-the-isolator-a-cautionary-tale-0001> (consulté le avr. 18, 2021).
- [47] S. L. Burton, « Comparison of cleanroom and isolator aseptic processing technology for small start-up parenteral facilities », p. 127.
- [48] Organisation internationale de normalisation, « ISO 14644-7:2004(fr), Salles propres et environnements maîtrisés apparentés — Partie 7: Dispositifs séparatifs (postes à air propre, boîtes à gants, isolateurs et mini-environnements) », oct. 2004. <https://www.iso.org/> (consulté le avr. 18, 2021).
- [49] D. Thorogood, « A history of isolator and containment technology Part 2: Flexible film isolators », p. 5.
- [50] TROX TECHNIK, « Des solutions de ventilation et climatisation intelligentes pour les zones hautement sensibles. » <https://www.trox.fr/> (consulté le juill. 13, 2021).
- [51] Andrew Hopkins, Brian Cullinan, et Dr Paul Beckett, « This major PHSS conference will focus on clarity of issues in GMP in sterile product manufacturing with consideration to EU GMP Annex 1 revision. » <https://docplayer.net/51406544-This-major-phss-conference-will-focus-on-clarity->

- of-issues-in-gmp-in-sterile-product-manufacturing-with-consideration-to-eu-gmp-annex-1-revision.html (consulté le juill. 20, 2021).
- [52] SKAN AG, « Restricted Access Barrier System – Reliable Protection of Product and Process ». <https://skan.ch/> (consulté le juill. 20, 2021).
- [53] SKAN AG, « Isolators for filling lines – state of the art technology for aseptic filling. » [En ligne]. Disponible sur: <https://skan.ch/images/products/>
- [54] « soloPURE™ Flexible Aseptic Isolator », *ILC Dover*. <https://www.ilcdover.com/products/solopure-flexible-aseptic-isolator/> (consulté le juill. 30, 2021).
- [55] D. Thorogood, « A history of isolator and containment technology Part 1: Early containment leading to flexible film isolators », p. 4.
- [56] Nathalie Vézina, « Mesure de la passivation de l'acier inoxydable à l'aide de la technologie "potentiel en circuit ouvert" - Conférence de l'ACS 2012 Québec (Québec) », sept. 2012. <https://www.walter.com/> (consulté le juill. 31, 2021).
- [57] « Isolateurs PIC/S utilisés pour le traitement aseptique et les tests de stérilité (PI 014-3) Sept 2007 - ECA Academy ». <https://www.gmp-compliance.org/> (consulté le juill. 31, 2021).
- [58] « Diffusion de l'air - Diffuseurs unidirectionnels », *VECTORI*. <https://www.vectori.com/elements-de-montage/diffuseurs-laminaires.html> (consulté le juill. 31, 2021).
- [59] « Système de transfert DPTE® ». <https://www.lacalhene.com/fr/applications-et-produits/transfert/systeme-de-transfert-dpte/> (consulté le août 01, 2021).
- [60] V. Allen, « Ring of concern - Isolation Technology », *78 Steps Health*, déc. 20, 2019. <https://www.78stepshealth.us/isolation-technology/ring-of-concern.html> (consulté le août 12, 2021).
- [61] « SKAN - SKANFOG® SARA - transfert rapide et sûr ». <https://skan.ch/> (consulté le août 01, 2021).
- [62] « Essai d'intégrité de filtre HEPA », *SKAN Pure Solutions*. <http://puresolutions.skan.ch/fr/> (consulté le sept. 07, 2021).

## SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances ;
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité ;
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- 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 faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens ;
- De coopérer avec les autres professionnels de santé.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.  
Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Date Signature

L'étudiant

Président du jury

---

**AUTEUR : Robin PREVOT**

**TITRE : Place des technologies barrières dans les procédés aseptiques.  
Comment concevoir, qualifier et mettre en exploitation un isolateur d'une ligne  
de répartition aseptique ?**

**DIRECTEUR DE THESE : Dr. Aymen BOUBAKER**

**LIEU : Faculté de Pharmacie de TOULOUSE,**

**DATE DE SOUTENANCE : le 19 NOVEMBRE 2021**

---

## **RESUME**

Les technologies barrières sont des solutions techniques qui permettent d'assurer la maîtrise environnementale d'un procédé. Qu'il s'agisse de confiner des produits toxiques ou d'isoler le processus des contaminants de l'environnement. La démonstration de leur étanchéité, de leur décontamination et de la maîtrise de la propreté de l'air est la clef de leur fonctionnement.

Pour les processus complexes et spécifiques comme les activités de remplissage des isoteurs sur-mesure sont fabriqués. Le coût de ces équipements étant élevé, un projet d'installation doit être mené en portant une attention particulière aux étapes préliminaires d'expression du besoin, de design de la machine et aux tests de qualification.

**DELIVRE PAR L'UNIVERSITE TOULOUSE III - PAUL SABATIER  
DISCIPLINE OU SPECIALITE : PHARMACIE**

---