

ACADÉMIE D'ORLÉANS-TOURS UNIVERSITÉ DE TOURS

FACULTE DE PHARMACIE « Philippe-Maupas »

Année 2023

N° 60

THÈSE D'EXERCICE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

LAURENT Candice

Nouvelles exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante des médicaments injectables

-

Exemple de la mise en place du PUPSIT sur une ligne de remplissage aseptique conventionnelle.

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 30 AOÛT 2023

JURY

Président :

Mme DOUZIECH EYROLLES Laurence, Pharmacien, Maître de Conférences, Facultés de Pharmacie - TOURS

Membres :

M. SCOTET Philippe, Pharmacien, Responsable MSAT, Fareva Pau - IDRON

Mme DAVID Stéphanie, Pharmacien, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie - TOURS

ANNEE : 2022 – 2023

Directeur : Pr Denys BRAND

Directeur Adjoint : M. Matthieu JUSTE

Assesseurs : M. Gildas PRIE, Mme Mélanie BOUVIN PLEY, Mme Emilie ALLARD-VANNIER, M. Bruno GIRAUDEAU, Mme Claire POUPLARD

ENSEIGNANTS

12 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ

ALLOUCHI	Hassan	CHIMIE PHYSIQUE
BOUDESOCQUE-DELAYE	Leslie	PHARMACOGNOSIE
BRAND	Denys	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
CHEVALIER	Stéphane	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
CHOURPA	Igor	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
CLASTRE	Marc	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
DIMIER-POISSON	Isabelle	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
ENGUEHARD-GUEIFFIER	Cécile	CHIMIE THERAPEUTIQUE
MAHEO	Karine	PHYSIOLOGIE
MAUPOIL-DAVID	Veronique	PHARMACOLOGIE
MUNNIER	Émilie	PHARMACIE GALENIQUE
VIAUD-MASSUARD	Marie-Claude	CHIMIE ORGANIQUE

6 PROFESSEURS D'UNIVERSITÉ ET PRATICIENS HOSPITALIERS

ANTIER	Daniel	PHARMACIE CLINIQUE
ARLICOT	Nicolas	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
EMOND	Patrick	BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
GIRAUDEAU	Bruno	SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistiques & ÉPIDÉMIOLOGIE
LANOTTE	Philippe	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
POUPLARD	Claire	HEMATOLOGIE

2 PROFESSEURS ÉMERITES

BARIN	Francis	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
THIBAULT	Gilles	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

36 MAITRES DE CONFÉRENCES

ALLARD-VANNIER	Emilie	PHARMACIE GALENIQUE
AUBREY	Nicolas	BIOCHIMIE GENERALE & BIOTHERAPIE
BESSON	Pierre	PHYSIOLOGIE
BIRER-WILLIAMS	Caroline	BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BONNIER (disponibilité)	Franck	CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BORDY	Romain	PHARMACOLOGIE
BOUVIN-PLEY	Mélanie	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BRAIBANT	Martine	MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BREDELOUX	Pierre	PHARMACOLOGIE
DAVID	Stéphanie	PHARMACIE GALENIQUE
DEBIERRE-GROCKIEGO	Françoise	IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
DELAYE	Pierre-Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE

DENEVAULT
DOUZIECH-EYROLLES
DUMAS
GERMON
GLEVAREC
HERVE-AUBERT
JUSTE
LAJOIE
LANOUE
MARC
MAVEL
OUDIN
POUPET
PASQUALIN
PRIE
SOUCE
TAUBER
VELGE-ROUSSEL
VERCOUILLIE
VERGOTE
VIERRON
ZHANG

Caroline
Laurence
Jean-François
Stéphanie
Gaëlle
Katel
Matthieu
Laurie
Arnaud
Jillian
Sylvie
Audrey
Cyril
Côme
Gildas
Martin
Clovis
Florence
Johnny
Jackie
Emilie
Bei-Li

CHIMIE THERAPEUTIQUE
AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
BIOCHIMIE GENERALE ET BIOTHERAPIE
IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BIOMOLECULES ET BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
CHIMIE THERAPEUTIQUE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
BIOLOGIE CELLULAIRE & BIOCHIMIE VEGETALE
PHARMACOLOGIE
CHIMIE ORGANIQUE
CHIMIE ANALYTIQUE & HYDROLOGIE
BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
IMMUNOLOGIE PARASITAIRE
BIOPHYSIQUE & BIOINFORMATIQUE
AFFAIRE REGLEMENTAIRE ET MANAGEMENT DE LA QUALITE
SANTÉ PUBLIQUE, BIostatistiques & ÉPIDÉMIOLOGIE
PHARMACOLOGIE

3 MAITRES DE CONFÉRENCES ET PRATICIENS HOSPITALIERS

FOUCAULT-FRUCHARD
FOUCAULT
MARLET

Laura
Amélie
Julien

PHARMACIE CLINIQUE
HEMATOLOGIE
MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE-BIOEPIDEMIOLOGIE

3 AHU (Assistant Hospitalier Universitaire)

POUPIN
RAMDANI
TULOUP

Pierre
Yanis
Vianney

BIostatistiques ET SANTE PUBLIQUE
IMMUNOLOGIE
PHARMACIE CLINIQUE

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

AMRANE
MEHENNI
VERGER

Dyhia
Lyes
Alexis

CHIMIE ORGANIQUE
CHIMIE ANALYTIQUE
PHARMACIE GALENIQUE

1 PRAG

WALTERS-GALOPIN

Susan

ANGLAIS

1 contrat d'enseignement

GERBIER (contrat enseig)

Soledad

ANGLAIS

3 CHARGÉS DE RECHERCHE

EPARDAUD
MEVELEC
MOIRE

Mathieu
Marie-Noëlle
Nathalie

INRAE
INRAE
INRAE



SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres 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 : 30 août 2023

L'étudiant

Candice Laurent



Le Doyen de la Faculté
Professeur Denys BRAND

Table des matières

Remerciements	3
Liste des abréviations	4
Liste des figures	7
Liste des tableaux	8
Introduction	9
Partie 1 : Exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante	10
1. Contexte réglementaire de la production aseptique	10
1.1 Bonnes Pratiques de Fabrication.....	11
1.2 Annexe 1 des bonnes pratiques de fabrication européennes.....	12
1.3 Autres réglementations	15
2. Production aseptique	16
2.1 Ligne conventionnelle.....	16
2.2 Ligne sous technologie barrière	16
2.3 Ligne sous isolateur	18
3. Environnement de production	19
3.1 Zone à atmosphère contrôlée	19
3.2 Contrôles de l'environnement.....	24
3.3 Habillage	26
4. Exemples de formes pharmaceutiques stériles/ injectables.....	30
4.1 Formes liquides	31
4.2 Forme poudre	34
4.3 Formes semi-solides.....	36
4.4 Formes solides	36
5. Stérilisation des formes pharmaceutiques	37
5.1 Stérilisation terminale	37
5.2 Répartition aseptique	42
6. Filtration stérilisante.....	43
6.1 Généralités sur les filtres.....	43
6.2 Validation des filtres stérilisants	46
6.3 Intégrité des filtres	49

Partie 2 : Cas pratique de la mise en place du PUPSIT sur un atelier de production aseptique conventionnelle	55
1. Contexte	55
1.1 Evolution de la réglementation	55
1.2 Exigences réglementaires sur la filtration.....	56
2. PUPSIT.....	59
2.1. Une exigence réglementaire.....	59
2.2 Enjeux	61
2.2. Contraintes	62
2.3 Limites	63
3. Mise en place du PUPSIT	66
3.1. Analyse de risque.....	66
3.2. Analyse d'impact	71
3.3. Gestion du changement dans le système qualité.....	75
3.4. Technologies	77
3.5. Essais.....	91
3.5 Qualification et validation.....	93
3.6 Impact sur les nomenclatures et les gammes opératoires	98
4. Documentation et formation.....	99
4.1. Protocole	100
4.2. Rapport.....	100
4.3. Mode opératoire	101
4.4. Dossier de lot	101
4.5. Formation des opérateurs	102
5. Validation de nettoyage et stérilisation	102
5.1. Méthodologie de nettoyage.....	102
5.2. Validation du nettoyage	103
5.3. Méthodologie de stérilisation.....	105
5.4. Validation de la charge de matériel	105
6. Validation de la mise en place par simulation aseptique des procédés.....	106
7. Problématiques rencontrées et points d'amélioration	108
7.1. Variabilité opérationnelle.....	108
7.2. Problématiques liées aux filtres	110
7.3. Automatisation du système	110
Conclusion.....	111
Bibliographie	112

Remerciements

Je tiens à remercier Philippe SCOTET pour m'avoir aidée et encadrée pour la réalisation de ce projet ainsi que la rédaction de cette thèse.

Je tiens à remercier Mme Stéphanie DAVID, pour avoir accepté d'encadrer cette thèse et m'avoir aidée dans sa rédaction.

Je tiens à remercier Mme Laurence DOUZIECH EYROLLES pour sa participation en tant que président du jury de soutenance de thèse.

Je tiens à remercier Patrick COPPENS pour son soutien lors de la réalisation de ce projet.

A ma famille, Maman, Papa, Marine, Emma, Papi, Mamie, Laurence et tous les autres qu'il serait trop long de tous citer un infini remerciement pour m'avoir soutenue tout au long de ces années et jusqu'au bout de mes (longues) études.

A mon Salah, merci pour ton soutien indéfectible en toutes circonstances.

Je tiens à remercier Hugo et Léa pour m'avoir soutenue, encouragée et supportée pendant la rédaction de cette thèse au bureau et autour d'un café.

A Nathalie pour avoir pris le temps de relire cette thèse et avoir attendu avec impatience le tome deux à lire au soleil. Merci pour tous tes conseils !

A vous tous un grand merci !

Liste des abréviations

AISI : Société Américaine du Fer et de l'Acier ou *American Iron and Steel Institute*

AMDEC : Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets et de leur Criticité

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

ANVISA : Agence Brésilienne de Régulation de la Santé ou *Agência Nacional de Vigilância Sanitaria*

APS : Simulation de Procédé Aseptique ou *Aseptic Process Simulation*

AQ : Assurance Qualité

ASME : Société Américaine des Ingénieurs en Mécanique ou *American Society of Mechanical Engineers*

ASTM : Société Américaine pour le Test et les Matériaux ou *American Society for Testing and Materials*

ATCC : Société américaine de collection type de culture ou *American Type Culture Collection*

AVE : Avenant

BFS : Formage-Remplissage-Scellage ou *Blow-Fill-Seal*

BOM : nomenclature ou *Bill Of Material*

BP : Point de Bulle ou *Bubble Point*

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CC : Maitrise du Changement ou *Change Control*

CCA : Action de maitrise du changement ou *Change Control Action*

CCS : Stratégie de Contrôle de la Contamination ou *Contamination Control Strategy*

CCTP : Cahier des Clauses Techniques Particulières

CCU : Cahier des Charges de l'Utilisateur

cGMP : Bonnes Pratiques de Fabrication en vigueur ou *current Good Manufacturing Practice*

CNC : Cuve à Niveau Constant

CSP : Code de la Santé Publique

CTA : Centrale de Traitement d'Air

D : Détectabilité

DHT : Temps de stockage sale ou *Dirty Hold Time*

DPTE : Double Porte pour Transfert Etanche

DUER : Document Unique d'Evaluation des Risques

EAEU : Union Economique Eurasienne ou *Eurasian Economic Union*

EDQM : Direction Européenne de la qualité du médicament & soins de santé ou *European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare*

EPDM : Ethylène-Propylène-Diène Monomère

EPPI : Eau Pour Préparation Injectable

EMA : Agence Européenne des Médicaments ou *European Medicines Agency*

FAT : Test d'Acceptation en Usine ou *Factory Acceptance Test*

FDA : Administration des aliments et des médicaments ou *Food And Drug Administration*

FF : Débit de Diffusion ou *Forward Flow*

FMEA : Analyse des modes de défaillance et de leurs effets ou *Failure Mode and Effects Analysis*

G : Gravité

GED : Gestion Electronique des Documents

GMP : Bonnes pratiques de fabrication ou *Good Manufacturing Practice*

HEPA : Filtre d'air à Haute Efficacité ou *High Efficiency Particulate Air*

HVAC : Chauffage, Ventilation ou Conditionnement de l'air ou *Heat, Ventilation and Air Conditioning*

ICH : Conseil International pour l'Harmonisation des Requis Techniques des Médicaments à Usage Humain

ID : Intradermique

IM : Intramusculaire

ISO : Organisation Internationale de normalisation ou *International Organization for Standardization*

IV : Intraveineuse

IWG : Groupe de travail des Inspecteurs ou *Inspector Working Group*

L : Faible teneur en carbone ou *Low carbon*

LAL : Lysat d'Amébocyte de Limulus

LD : Ligne Directrice

LVP : Unité Parentérale de Large Volume ou *Large Volume Parenterals*

MRA : Accord de Reconnaissance Mutuelle ou *Mutual Recognition Agreement*

NAS : Niveau d'Assurance de la Stérilité

NMPA : Administration Nationale des Produits de Santé ou *National Medical Products Administration*

P : Probabilité

P&P : Introduction des Nouveaux Produits et Procédés ou *Product and Process*

PES : Polyéthersulfone

PIC : Convention d'Inspection Pharmaceutique ou *Pharmaceutical Pharmaceutical Inspection*

PIC/S : acronyme regroupant sous une même appellation la Convention d'Inspection Pharmaceutique ou *Pharmaceutical Pharmaceutical Inspection (PIC)* et le Programme de coopération de l'Inspection Pharmaceutique ou *Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC Scheme)*

PMDA : Agence des Produits Pharmaceutiques et Dispositifs Médicaux ou *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency*

PTFE : Polytétrafluoroéthylène

PUPSIT : Test d'intégrité avant utilisation après stérilisation ou *Pre-Use Post Sterilization Integrity Testing*

PVC : Polychlorure de vinyle

PVDF : Polyfluorure de vinylidène

QC : Qualification de Conception

QI : Qualification d'Installation

QIO : Qualification de l'Installation et des Opérations

QO : Qualification Opérationnelle

QP : Qualification de Performance

RABS : Système Barrière de Restriction d'Accès ou *Restricted Acces Barrier System*

RCP : Résumé des Caractéristiques Produit

RI : Risque Initial

RPN : Nombre de Priorisation du Risque ou *Risk Priority Number*

SAT : Test d'Acceptation sur Site ou *Site Acceptance Test*

SC : Sous cutanée

SSE : Sécurité Santé Environnement

SVP : Unité Parentérale de Faible Volume ou *Small Volume Parenterals*

TIG : Soudage à l'arc sous protection gazeuse avec électrode non fusible ou *Tungsten Inert Gas*

TR : Rapport Technique ou *Technical Report*

UFC : Unité Formant Colonie

ULPA : Filtre à Pénétration d'Air Ultra Faible ou *Ultra Low Penetration Air*

URS : Cahier des Charge de l'Utilisateur ou *User Requirement Specification*

VHP : Peroxyde d'Hydrogène Vaporisé ou *Vaporized Hydrogen Peroxide*

WIT : Test d'intrusion d'eau ou *Water Intrusion Test*

ZAC : Zone à Atmosphère Contrôlée

Liste des figures

Figure 1: RABS passif ouvert - Source Sterigene (24)	17
Figure 2: RABS actif ouvert - Source Sterigene (24)	17
Figure 3: RABS actif clos - Source Sterigene (24)	18
Figure 4: Isolateur - Source Stérigène (24)	18
Figure 5: Concentration maximale de particules autorisées pour la qualification des locaux - BPF (6)	19
Figure 6: Classe ISO de la propreté particulaire de l'air - Source ISO 14644-1:2015 (21)	20
Figure 7: Eléments constitutifs d'une centrale d'air avec étages de filtration recommandés - Source Phi41 (22)	21
Figure 8: Exemple de centrale de traitement d'air pour environnement aseptique - Source Phi41 (22)	22
Figure 9: Limites maximales pour surveillance microbiologique - Source BPF (6)	24
Figure 10: Exemple impaction sur gélose - Source La Vague (31)	25
Figure 11 : Limites d'action recommandées - Source BPF (6)	26
Figure 12: Nombre de particules émises par une personne en salle propre en fonction de son niveau d'activité (22)	27
Figure 13: Méthode de Helmke Drum (37)	29
Figure 14: Body box test (37)	29
Figure 15: Voies d'administration parentérales (39)	30
Figure 16: Système de bouchage des flacons (38)	32
Figure 17: Seringue préremplie en verre (38)	32
Figure 18: Machine pour le remplissage unitaire d'ampoules (38)	33
Figure 19: Principe technique du procédé "blow-fill-seal" (41)	34
Figure 20: Cartouche et porte cartouche (38)	34
Figure 21: Bouchons pour lyophilisation (42)	35
Figure 22: Flacons lyophilisés (43)	35
Figure 23: Pourcentage de microorganismes détruits en fonction du temps (45)	38
Figure 24: Eléments constitutifs d'un filtre à cartouche (50)	46
Figure 25: Mouillage du filtre (54)	51
Figure 26: Relation débit/ pression du test de diffusion (54)	52
Figure 27: Intrusion d'eau (55)	53
Figure 28: Position des différentes réglementations internationales sur les tests d'intégrité du filtre stérilisant	59
Figure 29: Flowchart du procédé de filtration sans PUPSIT	60
Figure 30: Flowchart du procédé de filtration avec PUPSIT	60
Figure 31: Système de filtration redondant à usage unique - Source Merck Millipore (66)	62
Figure 32: Cotation analyse de criticité	67
Figure 33: Représentation schématique du PUPSIT à l'eau	68
Figure 34: Représentation schématique du PUPSIT au produit	70
Figure 35: Etapes du processus de change control	75
Figure 36: Ligne de transfert à usage unique - Source Sartorius (73)	78
Figure 37: Schématisation d'un exemple de système à usage unique (65)	79
Figure 38: Représentation d'une ligne de filtration	80
Figure 39: Raccord clamp (75)	81
Figure 40: Montage PUPSIT du produit A	82
Figure 41: Montage PUPSIT du produit B	83
Figure 42: Schématisation d'un exemple de système en dur automatisé (65)	84
Figure 43: Représentation schématique de l'emplacement du testeur d'intégrité	89
Figure 44: Processus de qualification	94
Figure 45: Exemple de pyramide documentaire	99

Liste des tableaux

Tableau 1: Comparaison annexe 1 de 2008 et 2022.....	13
Tableau 2: Aperçu général des sections de la nouvelle Annexe 1 2022 des BPF	14
Tableau 3: Chiffres clés du nombre de microorganismes/ cm ² des zones du corps humain (33).....	26
Tableau 4: Contraintes d'habillement en fonction de la classe	28
Tableau 5: Différents types de tests d'intégrité.....	50
Tableau 6: Présentation de différents testeurs d'intégrité	54
Tableau 7: Avantages et inconvénients du PUPSIT à l'eau.....	69
Tableau 8: Avantages et inconvénients du PUPSIT au produit.....	71
Tableau 9: Caractéristiques procédé filtration produit A et produit B	72
Tableau 10: Echelle d'évaluation de la gravité	73
Tableau 11: Echelle d'évaluation de la probabilité.....	73
Tableau 12: Echelle d'évaluation de la détectabilité	74
Tableau 13: Plan d'action pour le produit A.....	77
Tableau 14: Eléments constitutifs d'un raccord Clamp	81
Tableau 15: Différents types d'aciers inoxydables et leur composition (79).....	87
Tableau 16: Plan d'essai de mouillage.....	92
Tableau 17: Description des types de documents.....	100
Tableau 18: Comparaison validation initiale et périodique.....	107

Introduction

La fabrication de médicaments injectables fait appel à une réglementation stricte, qui est régulièrement mise à jour pour tenir compte des innovations technologiques. Les Bonnes Pratiques de Fabrication permettent de garantir les exigences de sécurité, l'efficacité et la qualité des médicaments. Ces bonnes pratiques se déclinent dans chaque pays où les médicaments peuvent être commercialisés.

Du fait de leur voie d'administration particulièrement impactante, ces médicaments font l'objet de contraintes particulières. Pour des formes ne pouvant pas être stérilisées dans leur récipient final, la filtration stérilisante est un élément clé du processus de fabrication, c'est la dernière barrière permettant de garantir la stérilité du produit avant sa répartition aseptique.

Dans ce cadre, de nouvelles exigences sur la filtration stérilisante sont apparues dans les réglementations, notamment avec le projet de mise à jour de l'annexe 1 des Bonnes Pratiques de Fabrication européennes. La maîtrise de l'intégrité des filtres demande la réalisation d'un test d'intégrité du filtre stérilisant après stérilisation et avant utilisation en place sur l'installation de remplissage ou *Pre-Use Post-Sterilization Integrity Testing* (PUPSIT) de manière à garantir l'absence de détérioration du filtre au cours des étapes de préparation et de stérilisation du filtre.

Dans le cadre de cette thèse, nous allons tout d'abord nous intéresser aux exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante des médicaments injectables en développant le contexte réglementaire et les configurations de la production aseptique seront évoquées, puis les contraintes particulières de l'environnement de production ainsi que quelques exemples de formes pharmaceutiques injectables seront présentées. Les méthodologies pouvant être utilisées pour procéder à la stérilisation ainsi que la filtration stérilisante sera évoquée plus précisément en fin de première partie.

Dans une seconde partie, nous nous intéresserons plus particulièrement à la mise en conformité à l'annexe 1 d'un atelier de remplissage conventionnel par la mise en place d'un test d'intégrité du filtre stérilisant avant utilisation et après stérilisation (PUPSIT). Dans cette partie seront développés le contexte de cette mise en place, la notion de test PUPSIT et les modalités de la mise en place de ce test. Nous examinerons ensuite des aspects plus spécifiques de documentation, formation, impact sur les gammes opératoires, validation du nettoyage, validation du procédé aseptique par simulation. Enfin les problèmes rencontrés lors de cette mise en place et les points d'amélioration pouvant être apportées lors de l'installation de ce type de système seront évoqués.

Partie 1 : Exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante

1. Contexte réglementaire de la production aseptique

Le **Code de la Santé Publique** (CSP) définit le médicament à usage humain comme suit dans l'article L5111-1 :

« I.-On entend par médicament à usage humain toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou pouvant lui être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier ses fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique.

Sont notamment considérés comme des médicaments les produits diététiques qui renferment dans leur composition des substances chimiques ou biologiques ne constituant pas elles-mêmes des aliments, mais dont la présence confère à ces produits, soit des propriétés spéciales recherchées en thérapeutique diététique, soit des propriétés de repas d'épreuve.

Les produits utilisés pour la désinfection des locaux et pour la prothèse dentaire ne sont pas considérés comme des médicaments. » (1)

La production de médicaments à usage humain et plus particulièrement la production aseptique s'inscrit dans un cadre normatif strict. Il existe des documents de deux types : les documents réglementairement **opposables** (qui ont un caractère obligatoire) et les documents **indicatifs** (qui comportent des recommandations).

Les **Bonnes Pratiques de Fabrication** (BPF), ou *Good Manufacturing Practice* (GMP) dans leur version anglaise, est un document réglementairement opposable qui décrit l'ensemble des standards à respecter par les industriels au cours du process de production des médicaments. Les BPF permettent de s'assurer que les médicaments produits respectent les standards de qualité, sont appropriés à leur usage, respectent les exigences de l'autorisation de mise sur le marché. Chaque région du monde possède son propre guide des BPF qui est applicable aux médicaments produits pour le marché en question (par exemple les médicaments à destination du marché européen se doivent de respecter les exigences des BPF européennes) (2).

La **Pharmacopée Européenne** est un texte juridiquement opposable qui présente les normes officielles des contrôles de la qualité du médicament sous la forme de monographies, textes généraux et descriptions de réactifs. C'est un ouvrage de référence publié par la Direction Européenne de la qualité du médicament & soins de santé (EDQM) (3).

Les normes de l'Organisation Internationale de Normalisation ou **normes ISO** sont établies par des experts et donnent des indications sur la meilleure façon de réaliser l'activité faisant l'objet de la norme (4). Elles consistent en une aide pour l'industriel mais ne sont pas opposables. Les normes courantes retrouvées dans l'industrie pharmaceutique sont notamment l'ISO 9001 (système de management de la qualité) ou l'ISO 14001 (système de management environnemental). Ces normes peuvent faire l'objet d'une certification de l'établissement au respect de leurs standard.

Les **lignes directrices** du Conseil International pour l'Harmonisation des requis techniques des médicaments à usage humain (ICH) sont un ensemble de lignes directrices qui décrivent des recommandations pour les industriels. Ces recommandations ont pour objectif de fournir une réponse harmonisée aux requis réglementaires imposés par les textes normatifs des BPF. Les lignes directrices sont établies par une collaboration d'experts industriels et d'experts réglementaires pour établir les meilleurs compromis nécessaires à la mise en conformité aux réglementations (5).

Nous allons maintenant nous concentrer plus en détail sur les Bonnes Pratiques de Fabrication.

1.1 Bonnes Pratiques de Fabrication

Le principal texte encadrant la fabrication des médicaments à usage humain est le Guide des Bonnes pratiques de Fabrication. Ce texte est issu de l'agence européenne des médicament ou *European Medical Agency* (EMA). L'agence du médicament est un établissement indépendant, exempt de conflit d'intérêt avec l'industrie pharmaceutique et qui a pour mission de garantir la qualité, l'efficacité et la sécurité des produits de santé qui sont mis sur le marché. L'agence européenne délègue ses responsabilités aux agences nationales dans chaque pays de fabrication. L'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) a pour rôle de transcrire les bonnes pratiques de fabrication européennes en droit français.

L'ensemble des règles à suivre pour la fabrication de médicaments est détaillé dans les BPF. Ces bonnes pratiques, dans leur version française, s'appliquent aux médicaments à usage humain dont la fabrication nécessite une autorisation de mise sur le marché et aux médicaments expérimentaux. Il est précisé dans les articles L.5121-5 et L.5138-3 du code de la santé publique que la fabrication des médicaments et substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments se doit de suivre les BPF.

Le texte se décompose en quatre parties et dix-neuf annexes et lignes directrices.

La première partie décrit les bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain et se décompose selon le plan qui reprend le plan de la version européenne et se détaille comme suit :

- Préambule
- Introduction
- Chapitre 1 : Système Qualité pharmaceutique
- Chapitre 2 : Personnel
- Chapitre 3 : Locaux et matériel
- Chapitre 4 : Documentation
- Chapitre 5 : Production
- Chapitre 6 : Contrôle de la qualité
- Chapitre 7 : Activités externalisées
- Chapitre 8 : Réclamations, défauts qualité et rappels de médicaments
- Chapitre 9 : Auto-inspection

La deuxième partie encadre la production des substances actives destinées à entrer dans la composition des médicaments

La troisième partie expose les documents relatifs aux bonnes pratiques de fabrication qui permettent de clarifier les attentes, notamment l'ICH Q9 relative à la gestion du risque qualité ou l'ICH Q10 relative au système de qualité pharmaceutique.

La quatrième partie traite des bonnes pratiques spécifiques aux thérapies innovantes. (6)

La première édition des bonnes pratiques de fabrication est issue de la directive 2003/94/CE de la commission européenne.

Le guide des BPF peut être amené à être mis à jour sur décision du directeur général de l'ANSM de manière à suivre les améliorations continues technologiques et qualité, de respecter les directives de la commission européenne en les transposant en droit interne. La version mise à jour est publiée au journal officiel en suivant les décisions du directeur général de l'ANSM.

La dernière version en vigueur des BPF françaises a été publiée le 29 décembre 2015 par décision du directeur général de l'ANSM puis amendé par les décisions du 30 décembre 2016, 6 mai 2019, 26 novembre 2020 et 29 décembre 2022.

1.2 Annexe 1 des bonnes pratiques de fabrication européennes

L'annexe 1 ou ligne directrice 1 (dans les BPF françaises) est celle qui décrit spécifiquement les exigences de fabrication des médicaments stériles et sera évoquée plus en détail dans la suite de cette thèse.

La dernière version de l'annexe 1 des GMP est consultable sur le site de l'Eudralex en annexe du volume 4. (7)

1.2.1 Contexte de la révision de l'annexe 1

En 2015, à la suite d'un travail entre l'EMA, le Programme de Coopération de l'Inspection Pharmaceutique et de la Convention de l'Inspection Pharmaceutiques ou PIC/S (8), ainsi que du Groupe de Travail des Inspecteurs ou IWG, un document de réflexion (ou *concept paper*) est publié et décrit les axes de travail ainsi que le plan d'action prévisionnel de la mise à jour de l'annexe 1.

L'annexe 1 des BPF européennes a trait aux produits stériles et a été publiée pour la première fois en 1971 puis a subi plusieurs révisions partielles en 1996, 2003 et 2007. Il n'y a cependant pas eu de révision majeure avant la nouvelle version de 2022. Les anciennes versions ne tiennent pas compte des avancées technologiques et des changements de BPF qui ont suivi l'adoption des lignes directrices ICHQ9 et ICHQ10.

La revue de l'annexe 1 doit permettre de clarifier des points qui sont ambigus dans la version actuelle en raison de l'âge du document et d'évoquer des points qui n'ont pas été abordés au préalable et permettre aux industriels de se conformer au mieux aux lignes directrices. Une volonté d'uniformisation fait également partie des moteurs de la mise à jour de l'annexe.

L'ambition de ce projet est de procéder à une réécriture et non à une révision pour repenser le document en profondeur.

Un premier planning de réalisation est établi dans le document pour cadrer son évolution et sa mise à disposition. (9) Une première version est mise à disposition pour consultation en 2017 qui a donné lieu à plus de 6000 commentaires (10), une deuxième version de la version de travail a donc été communiquée en 2020 avant d'aboutir à la validation du travail le 22 août 2022 par la Commission Européenne et une publication officielle le 22 août 2022. (11)

1.2.2 Comparaison entre l'ancienne et la nouvelle version de l'annexe 1

Les principaux changements de la nouvelle version de l'annexe 1 sont les suivants :

- Augmentation du nombre de paragraphes comme détaillé dans le tableau 1.
- Restructuration du document en sections au lieu de thèmes avec création d'une numérotation ce qui permet d'obtenir davantage de clarté sur l'organisation de fournir d'avantages de détail sur les attendus
- Création de nouveaux chapitres avec une augmentation des détails dans la présentation
- Apparition de nouvelles exigences
- Apparition du concept nouveau de la Stratégie de contrôle de la contamination (CCS : Contamination Control Strategy)

Tableau 1: Comparaison annexe 1 de 2008 et 2022

Annexe version 2008 (12)	Annexe version 2022 (13)
16 pages 127 paragraphes 21 thèmes	52 pages 291 paragraphes 11 sections Création d'un glossaire avec 69 définitions

1.2.3 Structure et détail de la mise à jour

La nouvelle version de l'annexe 1 comporte onze sections qui sont détaillées dans le tableau 2. Les articles de cette nouvelle annexe seront applicables le 25 août 2023 (sauf le point 8.123 qui est applicable le 25 août 2024) ce qui laisse un an aux industriels pour se mettre en conformité avec les nouvelles exigences.

Tableau 2: Aperçu général des sections de la nouvelle Annexe 1 2022 des BPF

Numéro de section	Description	Nombre paragraphes
1. Cadre	La nouvelle version fournit des orientations pour les médicaments stériles et les principes actifs stériles, mais devrait également être appliquée à d'autres produits qui ne sont pas destinés à être stériles mais pour lesquels la réduction et le contrôle de la contamination microbienne particulière et pyrogène sont considérés comme importants.	N/A
2. Principes	Principes généraux appliqués à la fabrication de produits stériles. Insiste sur les exigences d'une stratégie de contrôle de la contamination afin de minimiser les risques de contamination.	7
3. Systèmes de Qualité Pharmaceutique	Insiste sur la nécessité d'une mise en œuvre proactive et approfondie de la gestion des risques qualité tout au long du cycle de vie du produit. Souligne la nécessité de processus d'enquête rapides, approfondis et scientifiquement défailants, en mettant l'accent sur une évaluation justifiable de l'impact du produit.	2
4. Locaux	Référence à la nouvelle ISO 14644 avec suppression des particules de 5 µm pour la classification des salles et à l'annexe 15 pour la qualification des salles blanches. Introduction de limites microbiennes pour la qualification. Clarification des exigences sur les technologies barrière (introduction du Système Barrière de Restriction d'accès ou <i>Restricted Access Barrier System</i> , RABS). Renforce le besoin de tendances en temps réel, de définition de hors tendance et de réponse rapide aux alarmes.	39
5. Equipement	Directives générales sur la conception et le fonctionnement des équipements.	9
6. Utilités	Conseils concernant les exigences particulières des utilités tels que l'eau, l'air, le vide, la vapeur propre et les systèmes de refroidissement. Considérations spéciales pour la prévention et l'élimination des biofilms dans les systèmes d'eau.	23
7. Personnel	Orientation sur les exigences en matière de formation, de connaissances et de compétences spécifiques. Donne également des conseils sur la qualification/disqualification du personnel et la tenue vestimentaire. Exigence obligatoire du port de lunettes dans les zones critiques.	19
8. Production et technologies spécifiques	Discute des approches à adopter en ce qui concerne les processus de stérilisation aseptique et terminale. Discute des approches de la stérilisation des produits, de l'équipement et des composants d'emballage. Discute également de différentes technologies telles que la lyophilisation et le Form-Fill-Seal où des exigences spécifiques s'appliquent.	129
9. Monitoring de l'environnement viables et non viables et des processus	Discute de la surveillance de routine en cours en ce qui concerne la définition des limites d'alerte et l'examen des données de tendance. Introduit l'utilisation des méthodes microbiennes rapides. Donne également des conseils sur les exigences de la simulation de processus aseptique ou <i>Aseptic Process Simulation</i> (APS).	52
10. Contrôle de Qualité	Donne des conseils sur certaines des exigences spécifiques de contrôle de la qualité relatives aux produits stériles.	11
11. Glossaire	Explication de la terminologie spécifique.	69 définitions

1.3 Autres réglementations

Les industries pharmaceutiques sont soumises à la réglementation du pays dans lequel elles sont implantées mais également à la réglementation des pays destinataires des médicaments qui sont produits.

Dans ce contexte mondialisé, les industriels ont la nécessité de se tenir informés de l'évolution de l'ensemble des réglementations auxquels ils peuvent être confrontés, certains exemples de réglementations vont être développés ci-après.

Les principales réglementations que l'on retrouve dans un contexte d'export sont la réglementation des régions/pays suivants (14) :

- **Europe – EMA** (2)
- **Japon** – Agence des Produits Pharmaceutiques et Dispositifs Médicaux ou *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA)* (15)
- **Etats-Unis d'Amérique** - Administration des aliments et des médicaments ou *Food And Drug Administration (FDA)* (16)
- **Eurasie** - Union Economique Eurasiennne ou *Eurasian Economic Union (EAEU)* (17)
- **Brésil** - Agence Brésilienne de Régulation de la Santé ou *Agência Nacional de Vigilância Sanitaria (ANVISA)* (18)
- **Chine** – Administration Nationale des Produits de Santé ou *National Medical Products Administration (NMPA)* (19)

Les agences des médicaments se doivent de réaliser des inspections afin de s'assurer de la conformité des établissements de productions de médicaments avec les BPF en vigueur. Une démarche d'harmonisation à l'échelle mondiale est en cours depuis plusieurs années. Des accords de reconnaissance mutuelle ou *Mutual Recognition Agreement (MRA)* ont été signées entre l'Union Européenne et l'Australie, le Canada, Israël, le Japon, la Nouvelle Zélande, la Suisse, les Etats-Unis d'Amérique. Ces MRA permettent une réciprocité des systèmes d'inspection BPF de chacun et donc de faciliter les conditions d'accès au marché pour les produits commercialisés et de favoriser une harmonisation des BPF internationales.

Les MRA conclus entre les agences de chaque région/ pays peuvent avoir des spécificités en termes de :

- Produits concernés
- Produits exclus
- Applicabilité territoriale
- Echange d'information

Le détail de ces accords peut être retrouvé sur le site des agences des médicaments (20).

Dans le cas où aucun accord n'est signé entre les pays, l'agence de chaque pays se doit d'inspecter les sites de production destinés à l'import de produits de santé sur son territoire.

La partie suivante permettra de présenter les différents locaux pouvant être rencontrés dans ce contexte réglementé de production aseptique.

2. Production aseptique

Dans cette partie, nous allons décrire l'ensemble des locaux pouvant être rencontrés pour la production aseptique dans les industries pharmaceutiques.

2.1 Ligne conventionnelle

Une ligne conventionnelle est un équipement de remplissage qui se situe dans ce qu'on appelle une salle blanche, définie de la manière suivante dans l'ISO 14644-1:2015 (21) :

« Salle dans laquelle la concentration en nombre de particules en suspension dans l'air est maîtrisée et classée, et qui est construite et utilisée de façon à minimiser l'introduction des particules à l'intérieur de la pièce »

Les caractéristiques de ce type d'installation sont les suivantes (22):

- Contact possible entre le personnel et le produit
- Barrière non étanche : portes en verre ou rideaux de flux pour séparer l'humain de l'équipement de production
- Habillage du personnel spécifique à la fabrication en zone blanc, très contraignant pour le porteur
- Liberté de manipulation du matériel de procédé
- Environnement intérieur et extérieur de classe A (ISO 5/5)
- Décontamination au sporicide possible mais en même temps que la salle
- Interventions par le personnel en intrusion directe dans la zone critique procédé

2.2 Ligne sous technologie barrière

Les technologies barrières sont une évolution des salles blanches conventionnelles, elles permettent d'assurer une maîtrise accrue de l'asepsie avec une séparation rigide entre la zone critique process et l'opérateur. Les principales caractéristiques sont les suivantes (23):

- Barrière physique avec flux d'air unidirectionnel
- Environnement intérieur de classe A (ISO 5/5)
- Environnement extérieur de classe B (ISO 5/7)
- Décontamination aérienne possible mais en même temps que la salle
- Refoulement de l'air dans la salle
- Gants pour intervention dans la zone critique du procédé
- Ouverture possible des portes en production sous condition

Il existe plusieurs technologies barrière aussi appelées Système Barrière de Restriction d'Accès ou *Restricted Access Barrier System* (RABS). qui vont apporter des variations sur les caractéristiques détaillées ci-dessus (24) :

- **RABS ouvert passif** (figure 1) : circulation d'air dans la zone de fonctionnement directement via le système de traitement d'air de la pièce (arrivée d'air et reprise fait à l'aide de l'air de la salle)
- **RABS ouvert actif** (figure 2) : prélèvement d'air dans la zone de production, filtré à l'aide d'un système intégré à l'équipement RABS, l'air est repris par le traitement d'air global de la pièce
- **RABS clos actif** (figure 3) : recirculation d'air intégrée à l'équipement, des filtres intégrés à l'équipement filtrent l'air arrivant sur l'équipement et l'air restitué à l'environnement

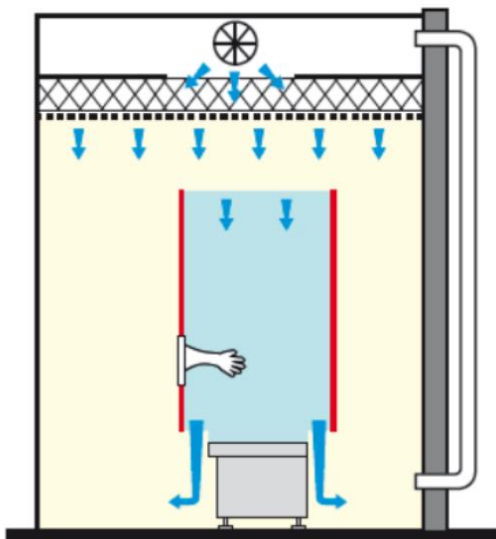


Figure 1: RABS passif ouvert - Source Sterigene (24)

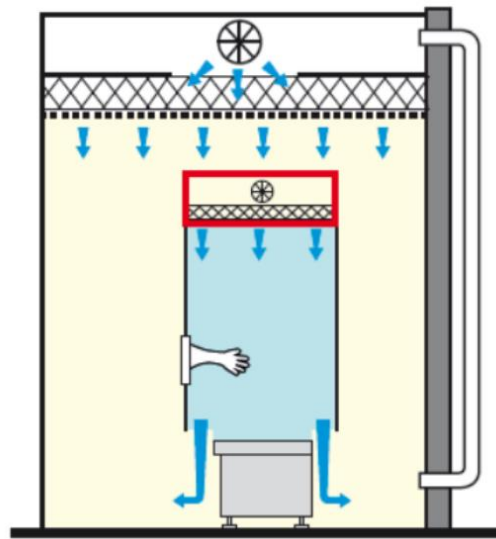


Figure 2: RABS actif ouvert – Source Sterigene (24)

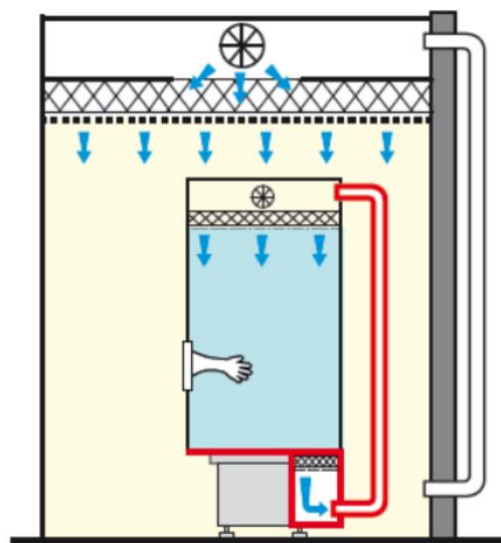


Figure 3: RABS actif clos – Source Sterigene (24)

2.3 Ligne sous isolateur

L'isolateur est un cas particulier de technologie barrière. La barrière créée par l'isolateur permet de créer un environnement aseptique maîtrisé qui permet de protéger à la fois le produit mais également le personnel. Un système isolateur comporte les caractéristiques suivantes (23) :

- Barrière physique étanche avec un flux d'air unidirectionnel
- Centrale d'air dédiée avec maîtrise de l'humidité et de la température
- Environnement intérieur de classe A (ISO 5/5)
- Environnement extérieur C/D (ISO 7/8)
- Décontamination automatique avec un agent sporicide via un système automatique de décontamination pour assurer la décontamination des surfaces internes comme les systèmes de décontamination à la vapeur de peroxyde d'hydrogène ou VHP
- Surpression ou dépression de la zone critique par rapport à l'extérieur
- Ouverture des portes interdites au cours de la production

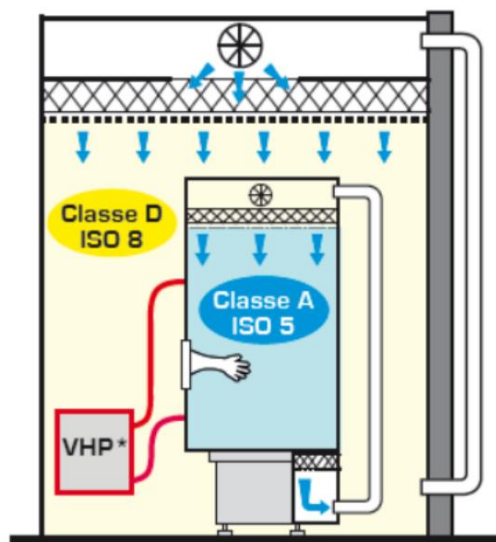


Figure 4: Isolateur – Source Stérigène (24)

Il est essentiel de maîtriser l'environnement des locaux de production aseptique, les éléments à disposition des industriels pour assurer cette maîtrise seront développés ci-après.

3. Environnement de production

La maîtrise de l'environnement est un des éléments clé dans l'industrie pharmaceutique. Son objectif est de contrôler la contamination qui peut être de trois types :

- Contamination **croisée** : « contamination d'une matière ou d'un produit par une autre matière ou un autre produit » (6)
- Contamination **particulaire** : contamination par des contaminants inertes qui peuvent être des particules de diverses origines
 - o **Solides** : minérales, végétales (pollen), métalliques, synthétiques (fibres), poussières, fumées, microorganismes morts, etc.
 - o **Liquides** : particules provenant de sprays, vapeurs condensées, vapeurs chimiques, etc.
- Contamination **microbiologique** : contamination par des contaminants vivants qui sont des microorganismes de taille variable comme les bactéries, les virus, les moisissures, les champignons, les levures et les spores.

Les moyens de maîtrise à disposition des industriels vont être décrits dans la suite de cette partie.

3.1 Zone à atmosphère contrôlée

L'annexe 1 des BPF demande une classification des locaux en accord avec les normes d'empoussièrement détaillées dans l'ISO 14644-1:2015.

Les salles propres peuvent être classifiées selon quatre grades ou classes (figure 5) :

- **Grade D** (ISO 8) : flux turbulent, il s'agit de la première classe après un environnement non classé
- **Grade C** (ISO 7/8) : flux turbulent
- **Grade B** (ISO 5/7) : flux turbulent
- **Grade A** (ISO 5/5) : environnement le plus contraignant, comportant un flux unidirectionnel

	Nombre maximal autorisé de particules d'une taille supérieure ou égale à 0,5 µm		
	Au repos (par m ³)	En activité (par m ³)	Classification ISO (au repos/en activité)
Classe			
A	3 520	3 520	5/5
B	3 520	352 000	5/7
C	352 000	3 520 000	7/8
D	3 520 000	Non défini	8

Figure 5: Concentration maximale de particules autorisées pour la qualification des locaux – BPF (6)

Les attendus de la norme ISO sont détaillés en figure 6, toutes les classes de la norme ne sont pas retenues pour la qualification des locaux dans les BPF, seules les ISO 5, 7 et 8 sont retrouvées.

Numéro de classe ISO (N)	Concentrations maximales admissibles (particules/m ³) en particules de taille égale ou supérieure à celles données ci-dessous					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
1	10 ^b	d	d	d	d	e
2	100	24 ^b	10 ^b	d	d	e
3	1 000	237	102	35 ^b	d	e
4	10 000	2 370	1 020	352	83 ^b	e
5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	d, e, f
6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
7	c	c	c	352 000	83 200	2 930
8	c	c	c	3 520 000	832 000	29 300
9g	c	c	c	35 200 000	8 320 000	293 000

^a Toutes les concentrations données dans le tableau sont cumulées. Par exemple, pour la classe ISO 5, les 10 200 particules indiquées à 0,3 µm incluent toutes les particules de tailles égales ou supérieures à cette taille.

^b Ces concentrations conduiront à prélever des volumes importants aux fins de classification. La procédure de prélèvement séquentiel peut être appliquée, voir l'[Annexe D](#).

^c Les concentrations maximales admissibles ne s'appliquent pas dans cette partie du tableau car elles sont très élevées.

^d Les limites du prélèvement et les limites statistiques sur ces faibles concentrations rendent la classification inappropriée.

^e Les limites des mécanismes de prélèvement, dues à la fois aux faibles concentrations et au prélèvement de particules de tailles supérieures à 1 µm, rendent la classification inappropriée à cause des particules potentiellement non mesurées car retenues à l'intérieur du système de prélèvement.

^f Pour réaliser une classification à cette taille de particules, pour la classe ISO 5 on peut adapter le descripteur macroparticules M en l'associant à au moins une autre taille de particules (voir Annexe C.7).

^g Cette classe est uniquement applicable pour l'état en activité.

Figure 6: Classe ISO de la propreté particulaire de l'air - Source ISO 14644-1:2015 (21)

Les locaux font l'objet d'une classification initiale lors de leur mise en service puis une reclassification périodique est réalisée.

Dans le cadre de la production aseptique, la zone à atmosphère contrôlée (ZAC) est organisée de manière à permettre l'ensemble des activités de production tout en garantissant le niveau de qualité d'air et de maîtrise environnementale convenant à la répartition aseptique d'une solution.

L'attendu pour la répartition aseptique est une salle propre de type mixte avec une classe A sous flux laminaire ISO5/5 (repos/activité) pour la zone en contact produit et une classe B en flux turbulent ISO 5/7 pour l'environnant. La réglementation tend à un durcissement des contraintes en allant de plus en plus vers un recours à des systèmes d'isotechnie (de type RABS ou isolateur) qui permettent de limiter l'intrusion humaine et de favoriser une bonne maîtrise de l'environnement.

Le maintien de la classe d'air de la zone de remplissage est garanti par un système de traitement d'air approprié ainsi que la mise en place d'une cascade de pression entre les salles. Cette cascade de pression permet d'empêcher l'entrée d'un air moins propre dans la zone de remplissage aseptique. De plus, les entrées/ sorties du personnel et du matériel dans ces zones est maîtrisé via l'utilisation de SAS dédiés qui permettent de confiner une potentielle contamination à une zone isolée (6) (22).

3.1.1 Centrale de traitement d'air

Le confinement des zones de production et le maintien de la qualité de l'air nécessaire en ZAC est assuré par la centrale de traitement d'air (CTA) ou HVAC pour *Heating, Ventilation and Air Conditioning system* (6) (22).

La CTA permet de contrôler les paramètres environnementaux suivants :

- **Température**
- **Hygrométrie**
- **Qualité de l'air** (contamination physique, chimique, microbiologique)
- **Surpression**
- **Débit air**

D'après les BPF (point 4.62), les salles propres doivent avoir un différentiel de pression positif par rapport aux zones adjacentes. La cascade de pression entre des pièces adjacente doit être entre 10 et 15 Pascal pour des classes différentes. (6)

Une CTA comporte les éléments techniques suivants (figure 7) (25):

- Un caisson de **mélange** ou d'aspiration : il traite le mélange entre l'air neuf et l'air repris dans le local ;
- Un caisson **filtres** : un minimum de trois filtres est utilisé pour le traitement d'air des salles blanches afin de protéger les filtres terminaux présents dans les plafonds de la salle blanche (26) ;
- Une **batterie chaude** et une **batterie froide** : elles permettent de porter l'air à la bonne température ;
- Un caisson **humidificateur** et/ ou le **déshumidificateur** : ils permettent de réguler l'hygrométrie ;
- Un **ventilateur** ;
- Des **registres** ;
- Des **pièges à son**.

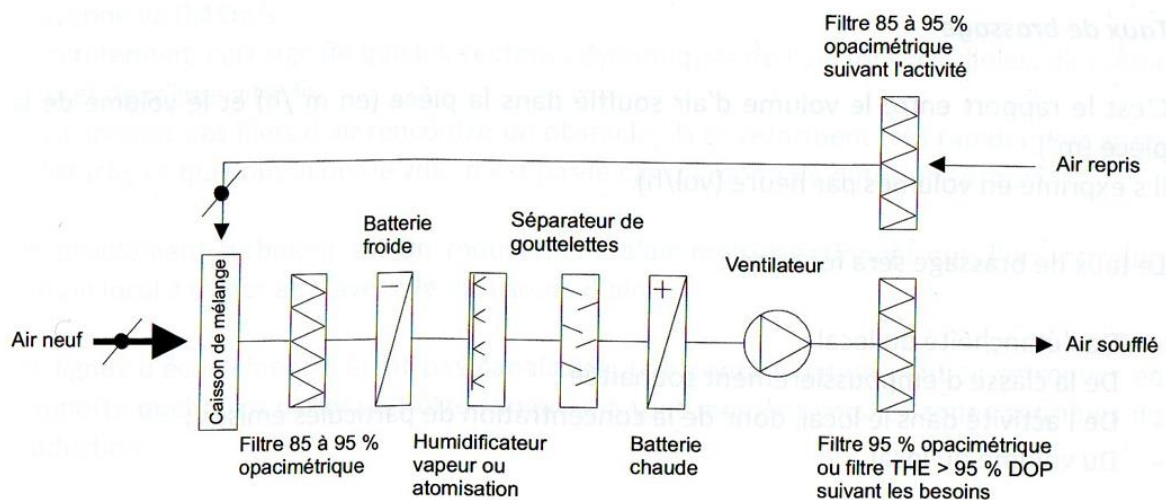


Figure 7: Eléments constitutifs d'une centrale d'air avec étages de filtration recommandés - Source Phi41 (22)

Le dimensionnement de la CTA est effectué en se basant sur le volume total de la zone à traiter et le taux de brassage adapté à la classe.

La filtration de l'air a pour but d'éliminer deux sortes de contaminants (vivants et inertes). L'air extérieur passe sur une grille pour retenir les débris importants. Il est ensuite filtré sur un premier système (filtre gravimétrique, ce sont des filtres ayant la capacité de retenir des particules grossières) de rétention qui retient les grosses particules et est efficace à 90%.

Un deuxième système est une batterie de filtres opacimétriques (ce sont des filtres ayant la capacité de retenir des particules fines) éliminant 95% des contaminants particulaires. (27) (28)

Le troisième système est constitué de filtres terminaux utilisés en salle propre qui sont le plus souvent des filtres absolus HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) ou ULPA (*Ultra Low Penetration Air*) et qui peuvent filtrer jusqu'à 99,9% des particules. Ces filtres sont disposés dans les plafonds de chaque pièce et permettent de garantir la classe particulaire de l'air

Un système de flux laminaires est installé dans les zones les plus critiques de classe A.

Un exemple de CTA pour le traitement d'air d'une salle en ambiance aseptique est présenté en figure 8.

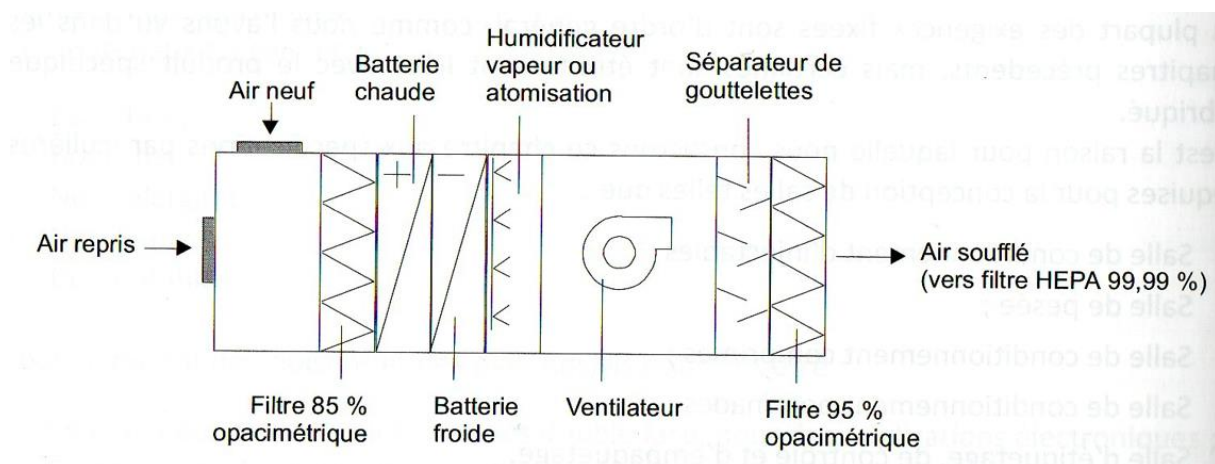


Figure 8: Exemple de centrale de traitement d'air pour environnement aseptique - Source Phi41 (22)

3.1.2 Utilités

Les utilités dans l'industrie désignent l'ensemble des fluides et gaz impliqués dans les processus de production.

Au sein de l'industrie pharmaceutiques, elles peuvent être séparées en deux types : les utilités pharmaceutiques et les utilités non pharmaceutiques.

Utilités pharmaceutiques :

- La **vapeur propre** ou **vapeur pure** : vapeur produite à l'aide d'un générateur de vapeur pure par évaporation d'eau purifiée, cette vapeur peut être utilisée pour la stérilisation en place ou l'alimentation des autoclaves ;
- **Azote pharmaceutique** : la qualité de l'azote est décrite dans la monographie 1247 de la Pharmacopée européenne. L'azote peut être utilisé au contact direct du produit pour l'inertage et la mise sous pression des cuves de produit ou pour le post-azotage servant à inerte des produits sensibles à l'oxydation notamment.

- **Eau à usage pharmaceutique** : Les standards de qualité de l'eau à usage pharmaceutique est décrit dans la Pharmacopée européenne. (29) On retrouve trois principaux types d'eaux à usage pharmaceutique :
 - ✓ **Eau potable** : qualité d'eau non décrite dans une monographie de la pharmacopée européenne. C'est cependant la première eau utilisée pour la production d'eau pour préparation injectable.
 - ✓ **Eau purifiée** : cette eau peut être utilisée pour la préparation de médicaments qui ne nécessitent pas d'être apyrogène et stérile. La méthodologie de production et de contrôle de l'eau purifiée est décrite dans la monographie 0008 de la Pharmacopée Européenne. Cette eau doit respecter le test d'endotoxine.
 - ✓ **Eau pour préparation injectable (EPPI)** : cette eau utilisée pour la préparation des médicaments pour administration parentérale. La méthodologie de production et de contrôle de l'EPPI est décrite dans la monographie 0169 de la Pharmacopée Européenne.

Les utilités pharmaceutiques font l'objet d'une qualification initiale avec Qualification d'installation (QI), Qualification Opérationnelle (QO) et Qualification de Performance (QP) selon la politique de qualification en vigueur sur le site, ces qualifications seront détaillées dans la seconde partie de cette thèse. (30)

La surveillance des utilités passe par un planning annuel de prélèvement des utilités monitorées sur la base des attentes de la pharmacopée, des résultats de validation et en fonction des résultats reportés lors de la validation initiale et des revues annuelles.

Un suivi annuel des tendances pour les utilités ayant un impact pharmaceutique est requis et permet de mettre en place des plans d'action si applicable avec des limites de tendances dynamiques pour assurer le suivi sur la base de seuils d'alerte et seuils d'alarme.

Utilités non pharmaceutiques :

- **Air comprimé** : l'air comprimé est utilisé dans le cadre du fonctionnement des équipements industriels et est filtré avant son utilisation ;
- **Vapeur industrielle** : la vapeur industrielle est une vapeur qui est essentiellement utilisée dans le cadre du chauffage des locaux ;
- **Eau potable** : l'eau potable répond à des normes pour les eaux destinées à la consommation humaine. Comme vu précédemment, c'est la première eau pharmaceutique car elle sert de base dans la production de l'EPPI ;
- **Eau glacée process** : l'eau glacée est une eau qui est essentiellement utilisée dans les systèmes de ventilation pour le traitement de l'air des CTA.

3.2 Contrôles de l'environnement

Afin de s'assurer de la maîtrise de l'environnement, il est nécessaire d'établir un programme de surveillance de l'environnement qui va s'intéresser notamment au contrôle de la contamination par les particules viables et non-viables, des différentiels de pression, de la température et de l'hygrométrie si leur surveillance est requise dans le procédé de fabrication. Il décrit un nombre d'échantillon, leur volume, les fréquences de surveillance, les limites d'alerte et d'action.

La détermination de ce programme est basée sur une analyse des risques et des résultats de qualification des locaux. (6)

3.2.1 Contrôles des particules viables

Le contrôle des particules viables va permettre de détecter la présence de microorganismes (ex : bactéries, levures, moisissures, ...) dans les salles propres. Les limites maximums recommandées dans les BPF pour la surveillance microbiologique sont celles de la norme ISO 14698 décrites en figure 9. La norme ISO 14698 est la norme spécifique aux contaminations microbiologiques.

Classe	Échantillon d'air UFC/m ³	Boîte de sédimentation (diamètre 90 mm) UFC/4 heures*	Gélose de contact (diamètre 55 mm) UFC/plaque	Empreintes de gant 5 doigts UFC/gant
A**	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

* Certaines boîtes de sédimentation peuvent être exposées moins de 4 heures. Les limites indiquées dans le tableau s'appliquent également si les boîtes de sédimentation sont exposées moins de 4 heures. Ces boîtes doivent être exposées pendant toute la durée des opérations essentielles et être changées lorsque cela est nécessaire au-delà de 4 heures.

** Il convient de noter que le résultat attendu pour la classe A est de 0 UFC ; tout résultat supérieur ou égal à 1 UFC doit donner lieu à une enquête.

Figure 9: Limites maximales pour surveillance microbiologique - Source BPF (6)

Les résultats des prélèvements sont exprimés en Unité Formant Colonie (UFC).

- Echantillon d'air

Un échantillon d'air est prélevé à l'aide d'un biocollecteur. Une des méthodes de prélèvement possible est le prélèvement par impaction sur gélose (figure 10). Le préleveur d'air va aspirer 1m^3 d'air de la zone avec un débit d'air suffisant pour prélever le volume nécessaire avec une vitesse raisonnable pour piéger les particules viables et conserver leur viabilité. L'air est aspiré à travers un crible (couvercle perforé). Ce prélèvement va donner un résultat exprimé en UFC/ m^3 . (31)

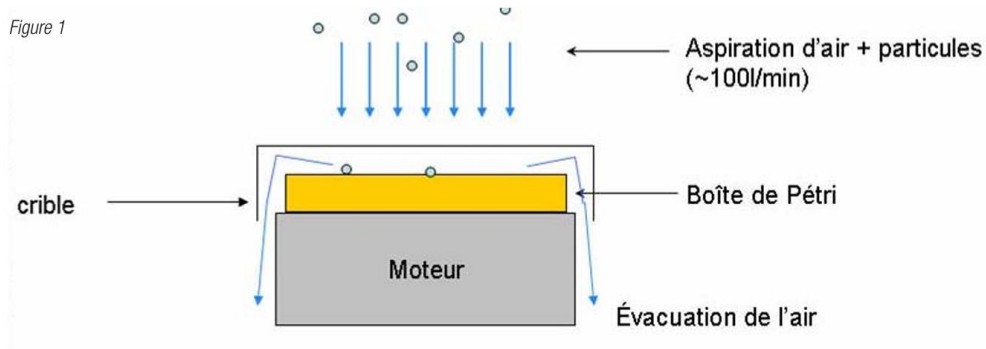


Figure 10: Exemple impaction sur gélose - Source La Vague (31)

- Boîte de sédimentation

Le prélèvement par boîte de sédimentation est un prélèvement d'air passif réalisé à l'aide d'une boîte de pétrie en position ouverte pendant 4h de prélèvement (la durée d'exposition peut être diminuée, par exemple 2h de prélèvement dans certains isolateurs afin d'éviter le dessèchement des géloses lorsque le taux de renouvellement d'air est important).

- Gélose de contact

Le prélèvement par gélose de contact est réalisé par l'application d'une pression constante sur la surface à prélever pendant un temps déterminé.

- Empreinte de gant

Le personnel évoluant dans des zones gradées A ou B réalise des prélèvements des gants des deux mains pour s'assurer de l'absence de dépassement des limites autorisées lors de la réalisation des interventions en zone de remplissage aseptique.

3.2.2 Contrôles non viables

Le programme de contrôle et plan de prélèvement des particules non viable doit être établi sur la base d'une analyse de risque et des résultats obtenus pendant les essais de classification des locaux et équipements (notamment à proximité des opérations critiques de répartition). La surveillance de routine est réalisée selon les normes indiquées en figure 11.

Classe	Nombre maximal recommandé pour des particules $\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$		Nombre maximal recommandé pour des particules $\geq 5 \mu\text{m}/\text{m}^3$	
	en activité	au repos	en activité	au repos
A	3 520	3 520	20*	20*
B	352 000	3 520	2 900	29
C	3 520 000	352 000	29 000	2 900
D	Définir une limite basée sur l'évaluation des risques	3 520 000	Définir une limite basée sur l'évaluation des risques	29 000

* La valeur de 20 est retenue du fait des limites de détection des équipements de surveillance. La détection répétée ou régulière de faibles quantités de particules en dessous de cette valeur nécessite une enquête.

Figure 11 : Limites d'action recommandées - Source BPF (6)

La détection des particules non viables s'effectue avec un compteur électronique de particules adapté à la taille de particules recherchées.

Un système de surveillance de particules en suspension dans l'air se compose d'une tête d'échantillonnage (sonde isocinétique), d'un compteur, d'une tubulure pour relier le compteur à la tête d'échantillonnage si celle-ci est déportée (6). Le profil de dépôt d'une particule sera différent pour chaque taille de particule et va dépendre de la vitesse et du volume d'échantillonnage, du diamètre de la tubulure, du rayon de courbure, de la température et du matériau de la tubulure. La bonne pratique est de minimiser la longueur de la tubulure et de maximiser son rayon de courbure. (32)

3.3 Habillage

Le principal vecteur de contamination particulaire et microbiologique est la présence humaine. Le corps humain abrite de nombreux microorganismes comme détaillé dans le tableau 3. Ces microorganismes sont présents naturellement et jouent un rôle clé dans la physiologie humaine et le fonctionnement des organes, notamment dans les mécanismes de digestion ou d'immunité.

La peau peut abriter jusqu'à un million de microorganismes par centimètre carré (33).

Tableau 3: Chiffres clés du nombre de microorganismes/ cm^2 des zones du corps humain (33)

Zone	Nombre de microorganismes/ cm^2
Cuir chevelu	1 million
Salive et fluide nasal	10 millions/ gramme
Dos	100
Nez	1 – 20 millions
Front	100 – 1000
Mains	10000 – 100000
Bras	1 – 10 millions
Pieds	1 million

Il est intéressant de noter que 80 à 90% des microorganismes identifiées en salle propre sont d'origine humaine (34).

Lors de chaque mouvement, l'homme va émettre une quantité de particules plus ou moins importante. Comme illustré en figure 12, le nombre de particules émises par un opérateur est beaucoup plus importante lorsqu'il est en mouvement que lorsqu'il est statique ou assis. En moyenne la peau d'une personne va relarguer 30000 à 40000 particules de cellules mortes par minute. Même en position statique, une personne génère approximativement 100000 particules de 0,3µm ou plus. En mouvement, ces chiffres atteignent plus de 5 millions de particules (35). L'émission de particules par l'homme pourra être minimisée par l'adoption d'une gestuelle et d'un comportement approprié lors de l'évolution au sein des zones classées.

Il est cependant essentiel d'adapter l'habillement du personnel pour mettre sous maîtrise la contamination microbiologique et particulaire.

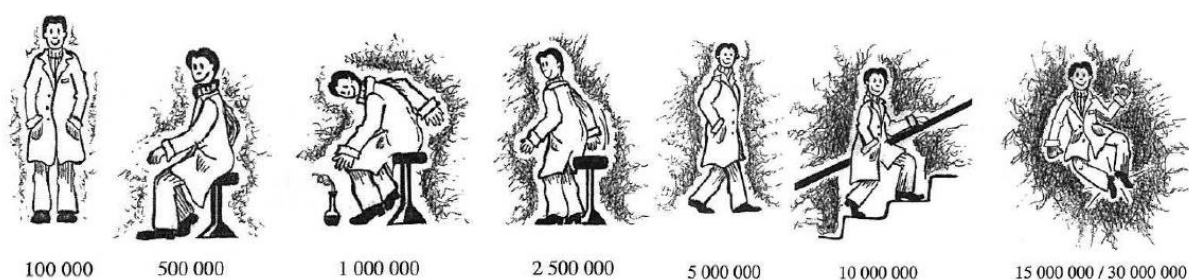


Figure 12: Nombre de particules émises par une personne en salle propre en fonction de son niveau d'activité (22)

Les BPF (partie PERSONNEL, §36 à 43) nous indiquent que le nombre de personnes en zone à atmosphère contrôlée doit être réduit au maximum (6).

La formation du personnel est une clé essentielle de la maîtrise de la contamination. Cette formation continue aux bonnes pratiques de fabrication de médicaments stériles doit comporter des modules sur l'hygiène et les bases de la microbiologie. La formation aux pratiques aseptiques est capitale. Elle indique les règles à respecter pour limiter l'impact de la gestuelle et de la parole lors des interventions en classe A ou B (6).

La formation et la qualification à un habillement spécifique à chaque classe de travail permet de limiter au maximum l'impact de l'humain sur le produit (tableau 4) (36).

Il est indispensable pour le personnel d'avoir une propreté et une hygiène personnelle de haut niveau. Au préalable à l'entrée en zone de classe D, le personnel doit retirer tout bijou, maquillage et se laver les mains. L'habillement avant l'entrée dans les différentes classes de la zone à atmosphère contrôlée se fait via l'utilisation de SAS personnels conçus et dédiés à cette utilisation. Il est également capital de prendre en compte l'ergonomie des zones de travail et des équipements lors de leur conception afin de limiter les contaminations.

Tableau 4: Contraintes d'habillage en fonction de la classe

Classe	Exigence réglementaire – BPF Ligne directrice 1 §43 (6)	Exemple d'habillage
D	« Les cheveux et, le cas échéant, la barbe doivent être couverts. Un vêtement protecteur normal et des chaussures ou des couvre-chaussures adaptées doivent être portés. »	- Charlotte - Cache barbe - Cache alliance - Blouse OU tenue de classe D (veste/pantalon) - Chaussures de sécurité et surchausses OU chaussures de zone
C	« Les cheveux et, le cas échéant, la barbe et la moustache doivent être couverts. Un vêtement constitué d'une veste et d'un pantalon ou d'une combinaison, serré aux poignets et muni d'un col montant, ainsi que des chaussures ou couvre-chaussures adaptées doivent être portées. »	Tenue de classe D à laquelle sont ajouté : - Combinaison - Masque et lunettes - Paire de surchausses supplémentaire - Gants
B/A	« Une cagoule doit totalement enfermer les cheveux et, le cas échéant, la barbe et la moustache ; cette cagoule doit être reprise dans le col de la veste ; un masque doit couvrir le visage pour éviter l'émission de gouttelettes ; des gants de caoutchouc ou de plastique, stérilisés et non poudrés, ainsi que des bottes stérilisées ou désinfectées doivent être portés. Le bas du pantalon doit être enserré dans les bottes, de même que les manches dans les gants. »	- Combinaison intégrale stérile - Masque stérile - 2 paires de gants stériles - Surbottes

Les tenues portées en classe C et A/B doivent être constituées d'un tissu qui ne doit pas libérer de fibres ou de particules (6).

La plupart des tenues utilisées sont des tenues réutilisables, et fabriquées en tissus constitués d'un mélange de polyester tissé qui peut se dégrader après de multiples cycles de nettoyage et de stérilisation. Afin de faciliter la mise en place des tenues et la conservation de leur stérilité lors de l'habillage, les fournisseurs de tenues stériles appliquent une méthodologie précise de pliage de la tenue dans l'emballage fournit ce qui permet aux opérateur d'enfiler la combinaison sans la contaminer (35).

Il est notamment essentiel de s'assurer que les vêtements mis à disposition pour l'habillage de l'opérateur de classe B est bien à sa taille (combinaison, cagoule, surbottes). En effet, si ces vêtements ne sont pas bien adaptés, la quantité de particules émise peut être plus importante (34).

Afin de s'assurer du maintien de la capacité filtrante et de l'absence de relargage de particules des tenues réutilisables utilisées pour l'habillage en zone classées, il est possible de réaliser un test d'émission de particules. Une des méthodes est appelée test de Helmke Drum (figure 13). Cette méthode de test permet de simuler l'émission de particules par le vêtement lors de la mise en mouvement de la tenue dans un tambour en rotation (environ 10 révolutions par minutes) pour libérer les particules de la surface de la tenue de salle propre de manière contrôlée. Un compteur de particule automatique est utilisé pour faire un prélèvement de l'air du tambour et permet de déterminer la concentration moyenne de particules relarguées au cours des 10 minutes de test (33).

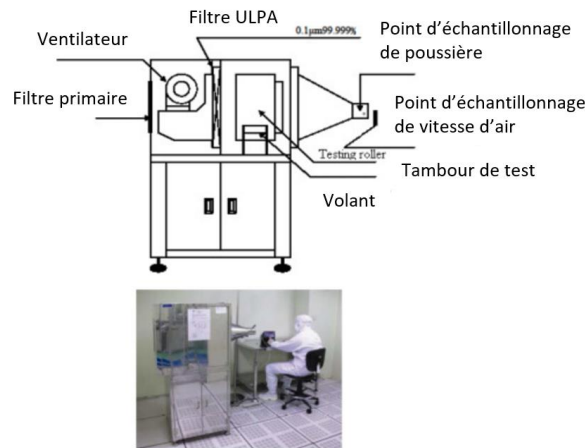


Figure 13: Méthode de Helmke Drum (37)

Une méthode alternative est la méthode de test de Body Box (figure 14) qui consiste à simuler la filtration et l'émission de particules dans les conditions réelle du port de la tenue stérile. Il permet donc d'estimer la contamination émise par la tenue et par son porteur. Afin de déployer cette méthode, un compteur de particules détermine la quantité de particules qui sont émises dans la chambre par l'ensemble tenue/porteur (33).

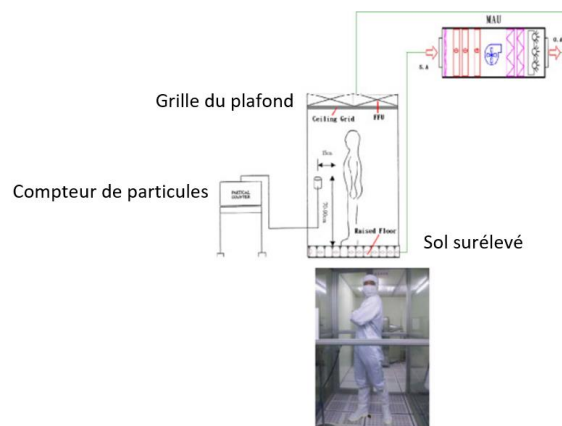


Figure 14: Body box test (37)

La maîtrise de l'environnement de production (les utilités, l'air, la quantité de particules viables et non-viables et l'opérateur) permet de respecter les exigences de qualité relatives à la forme injectable dont quelques exemples seront développés dans la partie suivante.

4. Exemples de formes pharmaceutiques stériles/ injectables

Une préparation parentérale est une préparation stérile qui peut être injectée, perfusée ou implantée dans le corps humain par effraction à travers la peau. Le principe actif est injecté à travers la peau au moyen d'un dispositif médical stérile (38).

Les principales voies d'administration pour les préparations injectables (figure 15) sont les voies :

- **Intramusculaire (IM)** : dans le muscle
- **Sous-cutanée (SC)** : sous la peau, dans le tissu conjonctif
- **Intraveineux (IV)** : dans la veine
- **Intradermique (ID)** : sous l'épiderme

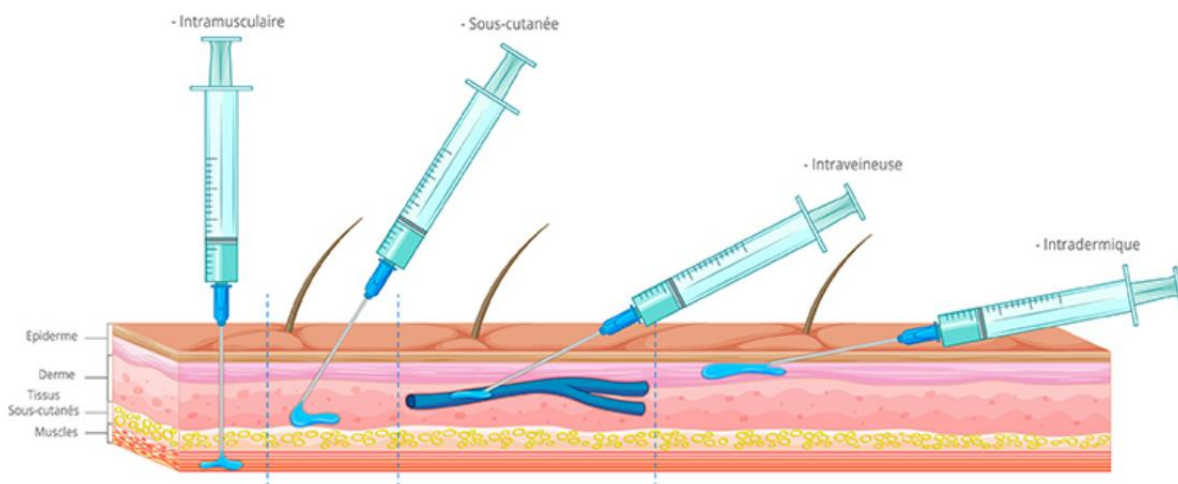


Figure 15: Voies d'administration parentérales (39)

Les préparations injectables doivent répondre aux exigences suivantes (38):

- **Limpidité** : l'examen visuel de la préparation demande le contrôle de l'aspect, de la coloration et de la limpidité de la solution qui doit être pratiquement exempte de particules. Une modification de l'aspect attendu de la solution peut être un signe de son altération. Lors du processus industriel, l'inspection visuelle des unités est appelée mirage et demande des équipements et un personnel habilité et qualifié à cette activité particulièrement sensible et contraignante. Il est important que l'article de conditionnement primaire soit le plus transparent possible de manière à faciliter le contrôle de limpidité.
- **Neutralité** : le pH doit être aussi proche possible de la neutralité des liquides biologiques qui est de l'ordre de 7,35-7,40. Afin de satisfaire à cette exigence, des excipients ajusteurs de pH ou tampons peuvent être ajoutés dans la formulation. Cette contrainte n'est cependant pas compatible avec la stabilité de l'ensemble des principes actifs, il peut donc être nécessaire d'avoir un pH différent du pH physiologique. L'injection de ce type de préparation peut s'accompagner de douleurs au moment de l'administration.

- **Isotonie** : la concentration molaire doit être similaire à celle des liquides dans lesquels la préparation est injectée dans la mesure du possible. Cette contrainte est particulièrement importante pour la voie IV, la pression osmotique doit se rapprocher de celle du plasma sanguin afin d'éviter tout phénomène de plasmolyse ou hémolyse qui pourrait détruire les hématies
 - o Il est difficile de déterminer directement l'osmolalité d'une solution. Celle-ci est donc déterminée à l'aide d'une relation faisant intervenir l'abaissement cryoscopique qui est un phénomène qui, comme l'osmolalité, varie avec le nombre de particules dissoutes.
- **Apyrogénicité** : les solutions ne doivent pas contenir de substances pyrogènes, c'est-à-dire de substances qui pourraient provoquer une élévation de température (fièvre) par injection. Les manifestations cliniques de l'administration de pyrogènes surviennent généralement dans l'heure qui suit l'injection. Les pyrogènes sont des substances d'origine naturelle. Les plus connus sont les endotoxines dérivées de bactéries Gram négatif qui résistent à la stérilisation à l'autoclave et passent à travers la plupart des filtres.
- **Stérilité** : la préparation doit être stérile, c'est-à-dire qu'elle ne doit pas contenir de microorganismes vivants qui provoqueraient une infection lors de l'injection.

Le respect de ces exigences permet notamment d'éviter la douleur au point d'injection pour le patient.

Les méthodes de contrôle à appliquer pour l'ensemble de ces exigences sont détaillées dans la Pharmacopée Européenne.

Les préparations peuvent être prêtes à l'emploi ou à reconstituer extemporanément comme pour des solutions liquides à diluer avec un liquide spécifié prescrit ou une poudre à reconstituer au moyen d'un solvant approprié et/ou à diluer (40).

4.1 Formes liquides

Les préparations injectables liquides peuvent se présenter sous la forme de solutions, suspensions ou émulsions.

Les **solutions** sont obtenues par des méthodes classiques de dissolution du principe actif et des excipients (38).

Les **suspensions** injectables sont une forme moins courante qui est utilisée lorsque le principe actif n'est pas soluble dans l'eau et qu'un effet de libération prolongée est recherché (38). Les suspensions se décomposent en une phase dispersée (dispersion de fines particules) dans une phase dispersante (phase liquide). Afin d'assurer la qualité de la dispersion des particules, celles-ci sont souvent de très petite taille ce qui peut être obtenu par micronisation des poudres. Des gélifiants peuvent être ajoutés dans la phase dispersante afin d'améliorer la stabilité (22).

Les **émulsions** injectables sont constituées de deux phases, une phase lipophile et une phase aqueuse. La dispersion d'une des deux phases dans l'autre est obtenue via l'utilisation d'agents émulsionnants (22).

4.1.1 Flacons

Les préparations injectables peuvent se présenter sous la forme de **flacons**. Ces flacons peuvent être en plastique ou en verre (verre de type I, neutre dans la masse) (22).

Le flacon est bouché par un bouchon en caoutchouc qui est maintenu sur le col à l'aide d'une bague en aluminium (capsule). Cette bague est ensuite recouverte d'une capsule de protection munie d'un flip off de couleur (figure 16). Pour l'injection, le flip off est retiré, puis le bouchon sera transpercé par l'aiguille servant à l'administration de la solution (38).

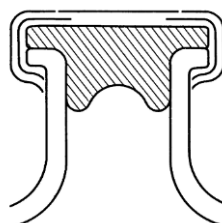


Figure 16: Système de bouchage des flacons (38)

La gamme de volume des flacons peut aller de petits volumes (ex :5mL) à de gros volume (ex : 1L ou plus). Les grands flacons sont surtout retrouvés pour des solutions pour perfusion ou des dérivées du sang.

Le remplissage de flacons se réalise selon la chronologie suivante :

- 1) Lavage/ dépyrogénéation des flacons (élimination des pyrogènes grâce à l'action de la chaleur sèche)
- 2) Remplissage des unités
- 3) Bouchage des unités
- 4) Capsulage/ sertissage des unités

4.1.2 Seringues

Les **seringues** peuvent être en verre ou en polyéthylène, elles contiennent des préparations prêtes à l'emploi (22) dans un emballage étanche stérile (38).

Une seringue préremplie va comporter un corps de seringue, une aiguille (facultatif), un joint de piston (figure 17) (38). Au moment de l'administration, le piston sert à pousser le joint de piston et à injecter le liquide. Afin de faciliter la poussée du joint de piston dans la seringue, le joint de piston et le corps de la seringue peuvent être siliconés.

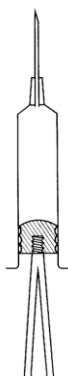


Figure 17: Seringue préremplie en verre (38)

4.1.3 Autres formes

Ampoules : les ampoules sont des récipients constitués de verre qui sont cylindriques, ils peuvent comporter une ou deux pointes (22).

La répartition des ampoules peut se faire via la méthode de remplissage collectif au vide (pour les ampoules à deux pointes) ou par remplissage unitaire. Les étapes d'une méthode de remplissage unitaire pour des ampoules à col fermé (prêtes à l'emploi) sont les suivantes (38):

- 1) Ouverture de l'ampoule à la flamme (ou en coupant le col de l'ampoule) ;
- 2) Pré-inertage (facultatif) ;
- 3) Remplissage à l'aide de seringues de dosage ;
- 4) Post-inertage (facultatif) ;
- 5) Fermeture par scellage par rotation au chalumeau : l'extrémité est étirée par une pince au cours de la fusion du verre par le chalumeau

Un exemple de machine de remplissage unitaire pour des ampoules à col ouvert est présenté en figure 18.

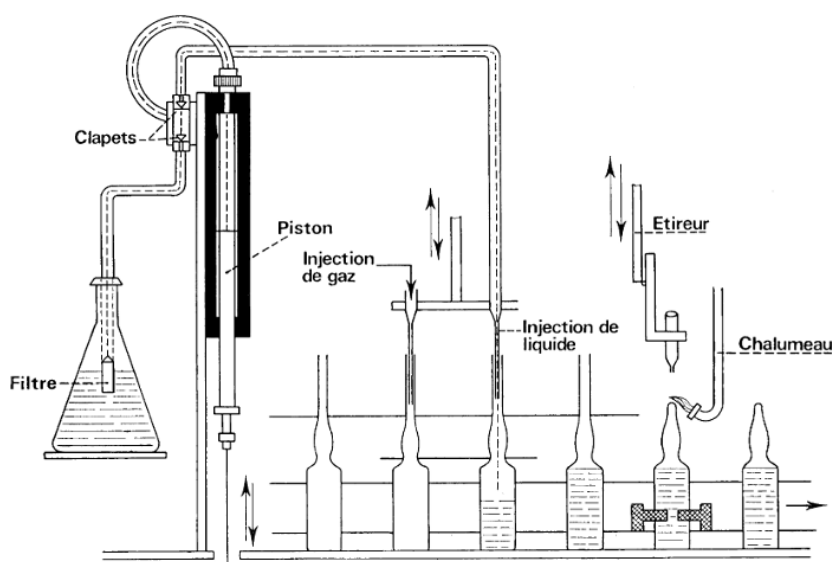


Figure 18: Machine pour le remplissage unitaire d'ampoules (38)

Bottelpacks® : cette forme de conditionnement est constituée en plastique (polyéthylène, polypropylène ou copolymères polyéthylène/polypropylène). Ce conditionnement est fabriqué et rempli en continu au cours d'une même opération de production. La technique de fabrication de ces unités est appelée Blow Fill Seal (BFS).

Cette technologie (figure 19) va permettre de constituer le contenant par extrusion et façonnage de granulés thermoplastiques qui sont **soufflés** (« Blow ») pour obtenir la forme souhaitée en s'adaptant à la forme du moule. L'unité est ensuite **remplie** (« Fill ») avec la solution. L'unité est ensuite **scellée** (« Seal ») ce qui permet d'obtenir le produit fini. L'avantage de cette technique est une maîtrise accrue de l'asepsie au cours de la répartition des unités (22).

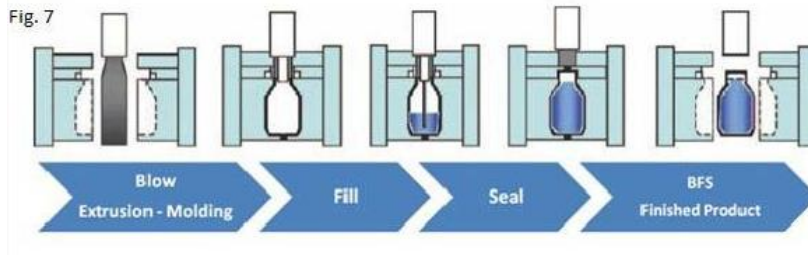


Figure 19: Principe technique du procédé "blow-fill-seal" (41)

Carpules ou **cartouches** : les carpules sont des petits tubes de verres qui sont bouchés à une extrémité et comportent un joint de piston à l'autre (22). La carpule est insérée dans un porte cartouche (figure 20). Ils sont essentiellement utilisés pour des applications dentaires.

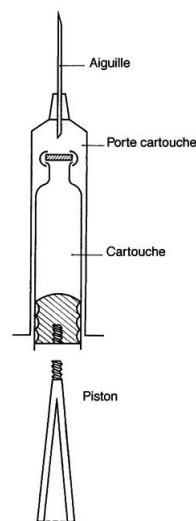


Figure 20: Cartouche et porte cartouche (38)

Poches : les poches sont des enveloppes en matière plastique (polychlorure de vinyle (PVC), polymère multicouche, ...). Cette forme est utilisée pour réaliser des perfusions ou des transfusions.

4.2 Forme poudre

Les formes poudre sont adaptées aux produits qui sont instables en solution. Lors de leur remplissage, les unités vont subir une étape supplémentaire par rapport aux formes solution classique :

- 1) Lavage/ dépyrogénéation des flacons
- 2) Remplissage des unités
- 3) Pré-bouchage des unités
- 4) Lyophilisation
- 5) Bouchage des unités
- 6) Capsulage/ sertissage des unités

Afin d'obtenir la forme de poudre, les flacons subissent une étape de lyophilisation qui est un procédé de séchage sous vide, à basse température d'un produit liquide qui a été congelé au préalable. La lyophilisation va permettre de retirer l'eau du produit pour le rendre stable et permettre sa conservation.

La lyophilisation comporte trois étapes :

- b) La **congélation** : le produit est congelé pour que le solvant contenu dans la solution soit sous la forme de glace
- c) La **dessiccation primaire** : environ 90% de l'eau contenue dans le produit est éliminée par sublimation, passage direct de l'eau de l'état solide à l'état gazeux. La vapeur d'eau est condensée sous forme de glace sur un piège à froid.
- d) La **dessiccation secondaire** : les 10% restant d'eau captive du produit vont être éliminés par une désorption qui suit directement l'étape de sublimation (22).

Afin de permettre les échanges entre l'intérieur et l'extérieur des flacons au cours de leur lyophilisation, des bouchons spécifiques à la lyophilisation comportant une encoche sont employés (figure 21). Les unités ne sont que pré-bouchées lors du remplissage et seront bouchées en fin de lyophilisation.



Figure 21: Bouchons pour lyophilisation (42)

Le résultat de la lyophilisation se présente sous la forme d'un gâteau poudreux (figure 22). Lors de son utilisation, un solvant est injecté à l'aide d'une aiguille et d'une seringue à travers le bouchon préalablement aseptisé. Après dissolution, le prélèvement de liquide se fait de la même façon pour récupérer le liquide à injecter (38).



Figure 22: Flacons lyophilisés (43)

4.3 Formes semi-solides

Dans certaines applications spécifiques, il est possible de trouver des préparations sous la forme de gels stériles injectable. Un gel est une solution ou une dispersion gélifiée par l'ajout d'un agent gélifiant (22). Ils peuvent se présenter sous la forme de seringues préremplies ou de flacons pour injection.

La viscosité du gel peut permettre de garantir une libération modifiée des substances actives sur le lieu d'injection (38).

4.4 Formes solides

L'implant est une préparation solide stérile qui a une taille et une forme qui est adaptée à l'implantation parentérale. Ils permettent une libération de principe actif sur une période étendue. Leur conditionnement se réalise sous la forme d'un conditionnement stérile individuel (38).

Afin de garantir l'exigence de stérilité requise pour la répartition des formes injectables, les différentes méthodologies de stérilisations disponibles pour les formes pharmaceutiques vont être détaillées dans la partie suivante.

5. Stérilisation des formes pharmaceutiques

Il est impératif de stériliser les formes pharmaceutiques injectables afin de respecter l'exigence de stérilité qui demande une absence totale de micro-organismes viables dans les préparations.

« La filtration seule n'est pas considérée comme suffisante lorsqu'il est possible d'effectuer une stérilisation dans le récipient final. Parmi les méthodes actuellement disponibles, c'est la stérilisation à la chaleur humide qui doit être préférée. Si le produit ne peut pas être stérilisé dans son récipient final, les solutions ou les liquides peuvent être filtrés sur un filtre stérile à pores de diamètre nominal de 0,22 microns (ou moins) ou sur un filtre possédant des propriétés de rétention microbienne au moins équivalentes, puis, recueillis dans un récipient stérilisé. Ces filtres peuvent retenir les bactéries et les moisissures, mais pas tous les virus ni les mycoplasmes. Il convient d'envisager de compléter la filtration par un traitement ultérieur à la chaleur. » BPF, Ligne Directrice 1 (LD1), point 110 (6)

La production par **stérilisation terminale** est la plus sécuritaire, en effet, les pratiques aseptiques sont mises en œuvre mais une sécurité supplémentaire est apportée par la stérilisation terminale. Les produits seront en effet stérilisés dans leur récipient final après la fin du remplissage. Ce procédé, bien que privilégié, a cependant ses limites. En effet, il ne peut s'effectuer que pour des substances actives non thermosensibles et uniquement pour des formes liquides. Lorsqu'elle n'est pas réalisable (substance thermosensible, forme lyophilisée, ...), c'est la méthodologie de la **répartition aseptique** qui va être utilisée.

La stérilisation des produits n'affranchit pas d'une maîtrise de la contamination en amont de celle-ci. En effet, plus le nombre de microorganismes présents dans les produits avant stérilisation (biocharge) sera faible, plus le procédé de stérilisation sera efficace, l'objectif est donc de réduire au maximum la biocharge en amont de la filtration stérilisante pour garantir son efficacité (44).

L'assurance de la stérilité est un point fondamental de la réglementation afin d'assurer la qualité et la sécurité du patient lors de l'administration des préparations injectables.

5.1 Stérilisation terminale

L'ensemble des produits qui peuvent le supporter doivent être stérilisés par stérilisation terminale. Une impossibilité de procéder de cette façon du fait de la sensibilité du produit aux processus proposés doit être justifiée lors du dépôt d'AMM.

Il existe différentes méthodes possibles pour procéder à la stérilisation terminale des produits :

- Stérilisation par **traitement thermique** (chaleur sèche, chaleur humide) ;
- Stérilisation par **voie chimique** (gaz alkylant, peroxyde d'hydrogène, acide acétique) ;
- Stérilisation par **irradiation ionisante** (rayonnements bêta, gamma, X) (22).

Lors de la stérilisation, les microorganismes peuvent être détruits par différents mécanismes : **l'hydrolyse** et la **dénaturation protéiques** (dans le cas de la chaleur humide sous pression), **l'oxydation** (dans le cas des rayonnements), **l'alkylation** (dans le cas de la stérilisation par les gaz) (44).

Le choix de la méthodologie se fait en fonction de l'efficacité attendue et de l'adéquation avec le produit à stériliser (22). La méthode de stérilisation choisie devra faire l'objet d'un processus de validation (44).

5.1.1 Stérilisation par la chaleur

La capacité de destruction des microorganismes par la chaleur lors du cycle de stérilisation va dépendre des paramètres suivants :

- Type de microorganisme : espèce, forme (spore, végétative) ;
- Nombre de microorganisme présent avant le cycle ;
- Durée du cycle ;
- Température du cycle ;
- Milieu dans lequel se trouvent les microorganismes.

Une relation logarithmique relie le taux de décroissance des microorganismes au temps de stérilisation. Il est important de noter que la destruction des microorganismes n'est jamais garantie à 100%, elle s'appuie sur une probabilité de destruction acceptable de 10^{-6} microorganismes ce qui veut dire qu'on a une probabilité résiduelle de contamination d'1 unité sur 1 million d'unités. C'est le niveau d'assurance de la stérilité (NAS) de 10^{-6} . La courbe logarithmique tend vers 0 mais ne l'atteint jamais. Il est donc indispensable de diminuer au maximum les germes initiaux pour atteindre la meilleure efficacité possible de la stérilisation.

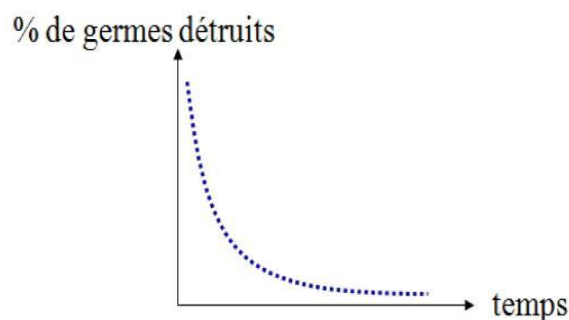


Figure 23: Pourcentage de microorganismes détruits en fonction du temps (45)

La validation du procédé va passer par la vérification de la valeur stérilisatrice dite F0 qui correspond au temps nécessaire à une température donnée pour atteindre la réduction logarithmique de 10^{-6} préconisée.

Les microorganismes de référence pour la validation de la stérilisation par chaleur ont été sélectionnés pour leur résistance aux traitements thermiques, on retrouve *Bacillus subtilis* pour le traitement par chaleur sèche et *Geobacillus stearothermophilus* pour le traitement par chaleur humide (44).

Chaleur sèche :

La stérilisation par chaleur sèche est réalisée dans un four, une étuve ou dans un tunnel de dépyrogénéation. Ces équipements sont munis d'un filtre HEPA afin de filtrer l'air circulant et d'éviter l'entrée d'air non stérile. Ils comportent également un ventilateur qui va permettre de pallier la mauvaise conductivité de l'air et favoriser la convection thermique, phénomène sur lequel repose la stérilisation par chaleur sèche. Ce mode de stérilisation fait uniquement appel au phénomène d'oxydation pour détruire les microorganismes, il est moins efficace que la stérilisation par chaleur humide, il demande donc une température plus importante pour un même temps d'action pour arriver à une efficacité similaire (44). La Pharmacopée européenne préconise un minimum de 160°C pendant 2h30 (22).

Du fait de la contrainte de forte élévation de température, cette méthode n'est que très peu utilisée pour la stérilisation terminale des produits dans leurs récipients finaux. Les tunnels de dépyrogénéation sont cependant très utilisés pour acheminer des ampoules et des flacons dans la zone de remplissage aseptique exempts de pyrogènes. La température de stérilisation en continu des conditionnements aseptiques est de l'ordre de 250 à 350°C. Leur refroidissement est assuré dans une enceinte stérile avant sortie des flacons dans l'environnement de remplissage aseptique (44).

Chaleur humide :

La stérilisation par chaleur humide est la méthode de préférence pour la stérilisation terminale. Les équipements permettant ce type de stérilisation sont les autoclaves et les stérilisateur à la vapeur sous pression en continue.

C'est la mise sous pression de la vapeur d'eau qui va permettre la stérilisation des charges au sein de l'autoclave. La stérilisation est conséquente d'une réaction entre le microorganisme et la chaleur humide à son contact. Les complexes hydro-énergétiques (vapeur saturée) vont transférer leurs calories en présence de surfaces plus froides ce qui va permettre de dégrader les structures chromosomiques des noyaux des microorganismes.

Un cycle d'autoclavage se décompose selon les phases suivantes :

- 1) **Pré-traitement ou chauffage de la charge** : échanges thermiques assurés par la condensation de la vapeur sur les éléments à stériliser.
- 2) **Purge de l'air** : phase au cours de laquelle l'air va être éliminé de la chambre de stérilisation à l'aide d'une pompe à vide.
- 3) **Chauffage et stérilisation de la charge** : enchaînement de phases de mise sous vide/ injection de vapeur, aussi appelées pulses, qui vont permettre une répartition homogène de la vapeur en évitant la présence résiduelle de poche d'air. Au cours de cette phase, le palier de stérilisation est atteint.
- 4) **Séchage**
- 5) **Refroidissement**

La durée minimale du palier de stérilisation préconisé par la Pharmacopée européenne est de 15 min à 121 °C.

Au cours de la phase post-stérilisation, il est essentiel de maîtriser la pression dans la chambre. La porte de l'enceinte ne doit pas être ouverte tant que la charge n'a pas atteint une température inférieure à 90°C sous peine de risquer l'explosion de la charge liée à la suppression et au choc thermique au moment de l'ouverture (22).

La validation d'un cycle de stérilisation par la chaleur va se réaliser par l'utilisation de sondes pour étudier :

- La **distribution** à vide et à pleine charge de la chaleur ;
- La **pénétration** de la chaleur dans les unités à stériliser en s'assurant que toutes les unités sont bien soumises à la valeur stérilisatrice choisie ;
- La **reproductibilité** du procédé.

En routine, les cycles de stérilisation doivent être joints à chaque dossier de lot (44).

5.1.2 Stérilisation par irradiation

La stérilisation par irradiation est effectuée sur l'emballage étanche définitif du produit. Comme de nombreux produits et articles de conditionnements subissent des détériorations à la suite des radiations, il est indispensable de prouver l'absence d'effets nuisibles pour la stérilisation du produit avant l'utilisation de cette méthode.

L'irradiation est réalisée par rayonnement gamma ou rayonnement beta :

- Les **rayonnements gamma** peuvent être obtenus à partir de cobalt 60 et sont très pénétrants ;
- Les **rayonnements bêta** sont obtenus à l'aide d'accélérateurs d'électrons, ils s'obtiennent à des prix intéressants mais sont moins pénétrants (44).

Le rayonnement va traverser la matière et ioniser les atomes ce qui permet de former des radicaux libres qui ont un effet germicide. Chaque germe a sa sensibilité propre aux rayonnements et a besoin de plus ou moins de quanta pour être détruit. Les laboratoires doivent réaliser une mesure quantitative et qualitative de la contamination avant l'irradiation.

Comme pour la stérilisation par chaleur, une diminution de 10^{-6} microorganismes est attendue.

L'énergie qui est émise par le rayonnement est exprimée en grays. La dose minimale efficace est de 25 kGy. Des dosimètres placés dans les charges permettent de mesurer la dose minimale et la dose maximale reçue par la charge. Leur positionnement est déterminé au cours des validations (22).

Un indicateur d'irradiation présent sur le conditionnement permet de prouver l'irradiation. Un exemple d'indicateur est un morceau de PVC comportant un peu d'hélianthine. L'exposition du PVC au rayonnement libère de l'acide chlorhydrique ce qui fait virer l'hélianthine au rouge (44).

5.1.3 Stérilisation à l'oxyde d'éthylène

Cette méthodologie de stérilisation permet de stériliser des produits dans leur emballage définitif. Il permet de stériliser des produits ne supportant pas de hautes températures (produit thermosensible) ou des conditionnements incompatibles avec l'irradiation (PVC, polyéthylène, certains caoutchouc) (44). Cette technique tend cependant à être restreinte au maximum (22), ce gaz mutagène et cancérigène pour l'homme peut être explosif, sa manipulation peut être dangereuse et doit s'effectuer avec de grandes précautions.

L'oxyde d'éthylène est un agent alkylant, il va produire des réactions d'alkylation des acides nucléiques des cellules et des protéines et empêche donc la réplication des microorganismes. C'est une technique très efficace contre les germes aussi bien sous forme végétative que sporulée car son action s'effectue indifféremment sur ces deux formes.

La réaction d'alkylation s'effectue en présence de vapeur d'eau, avec une humidité relative de l'ordre de 40-50% dans l'enceinte de stérilisation et une concentration d'oxyde d'éthylène entre 300 et 1200mg/L.

L'efficacité va dépendre du **nombre** et de la **nature** des germes à détruire, de la **concentration en gaz** d'oxyde d'éthylène, de la **température** et de la **durée** du traitement, de l'**humidité relative**, de la **nature** des articles et emballages (44).

Les phases d'un cycle de stérilisation à l'oxyde d'éthylène sont les suivantes :

- 1) **Phase de vide** prolongée ;
- 2) **Conditionnement** en température et en humidité relative ;
- 3) **Injection** de l'agent stérilisant ;
- 4) **Stérilisation** : Maintien des condition spécifiées pendant le temps retenu d'exposition ;
- 5) **Evacuation** de l'agent stérilisant ;
- 6) « **Rinçage** » le cas échéant ;
- 7) **Aération** : Admission d'air jusqu'au retour à la pression atmosphérique (22).

La **désorption** qui correspond à l'élimination des résidus oxyde éthylène peut être très longue, jusqu'à 8 à 15 jours à température ambiante. Pour faciliter l'élimination, il est possible d'utiliser l'action conjuguée de température et du vide dans des chambres étuves avec un taux de renouvellement d'air élevé pour réduire la durée de la phase de désorption (22) (44).

Les contrôles de la stérilité comportent :

- Un essai de **stérilité** ;
- Une confirmation de l'**efficacité** avec l'utilisation d'un indicateur biologique (*Bacillus subtilis*, variété la plus résistante à l'oxyde d'éthylène) ;
- Un **dosage de l'oxyde éthylène résiduel** (la teneur résiduelle ne doit pas dépasser 2ppm) (44).

5.2 Répartition aseptique

La filtration stérilisante permet de stériliser les solutions qui contiennent des principes actifs sensibles à la chaleur (de plus en plus de principes actifs sont fragiles). Les filtres ne retiennent cependant pas tous les virus ou les mycoplasmes (44).

La rétention des particules lors de la filtration peut se faire selon plusieurs mécanismes :

- **Interception directe** : particule retenue si elle est de taille supérieure à la taille des pores de la membrane filtrante ;
- **Impact inertiel** : particules sont impactées sur le média filtrant ;
- **Adsorption** sur le média filtrant.

Le média filtrant doit être adapté à la filtration stérilisante : compatibilité avec les éléments constitutifs de la solution, faible taux de rétention, diamètre des pores adéquat (0,22µm ou 0,1µm).

Après avoir traversé le filtre, la solution doit être stockée et répartie de manière aseptique. L'installation en aval du filtre doit être stérile (stérilisation en place, stérilisation à l'autoclave) : le matériel de filtration, de stockage de la solution et de répartition doit être stérilisé au préalable de la répartition aseptique.

Un test d'intégrité du filtre avant et après filtration doit être réalisé pour valider l'efficacité de la filtration.

La limite de biocharge de la solution à stériliser en amont du filtre est établie lors de la validation. Elle doit être la plus faible possible pour avoir la meilleure efficacité possible. Afin de limiter cette biocharge, il est intéressant d'avoir une première étape de filtration le plus rapidement possible après la préparation de la solution, puis une deuxième filtration peut avoir lieu au plus près de la répartition de la solution (22).

La validation du procédé de fabrication aseptique comprend une simulation de procédé aseptique (APS) qui consiste à répartir un milieu de culture dans un contenant (flacon, seringue, ...). Cette simulation « *doit se rapprocher le plus possible des procédés de fabrication aseptique habituels et en comprendre les étapes critiques* » (6) du procédé pour permettre de vérifier leur contrôle en termes d'asepsie. Les unités sont ensuite incubées et l'attendu est de 0 unités contaminées après mirage. La réalisation de l'APS a notamment pour objectif d'évaluer la performance d'un procédé aseptique et de qualifier les opérateurs. Ce test de simulation doit imiter le plus étroitement que possible, le procédé de fabrication aseptique de routine. La validation initiale comporte trois simulations consécutives conformes et doivent être répétées deux fois par an en routine(22).

Les aspects spécifiques liés à la filtration stérilisante vont être détaillés dans la partie suivante.

6. Filtration stérilisante

Il existe plusieurs types de filtres. Dans le cadre de cette thèse nous allons nous intéresser plus précisément aux filtres qui sont utilisés pour réaliser la filtration stérilisante lors du remplissage aseptique des médicaments injectables.

6.1 Généralités sur les filtres

La norme ISO 13408-2 :2018 définit un filtre comme étant « un matériaux poreux au travers duquel passe un fluide afin d'en éliminer les particules viables et/ou non viables » (46).

Les filtres peuvent se présenter sous la forme de **disques** (forme la plus ancienne constitué d'un empilement de disques membranaires), de filtres à **cartouche** (augmentation de la surface d'échange avec l'utilisation de membranes plissées, le filtre à cartouche est installée dans un boîtier de filtre réutilisable), de **capsules** (le filtre est livré dans son boîtier plastique à usage unique), de filtre **lenticulaire** (souvent utilisé comme préfiltre ou en filtration clarifiante du fait de sa grande capacité d'adsorption et de rétention) (47).

La membrane filtrante peut être considérée comme un tamis, que l'on peut aussi appeler média filtrant.

Les mécanismes de fonctionnement des filtres sont :

- **L'exclusion par la taille** : le filtre laisse passer le liquide à travers ses pores en retenant les particules qui sont trop grosse pour passer. Les particules plus grosses que la taille des pores vont être retenues. Par exemple 0,01 μm pour les gaz et en général 0,2 μm pour les filtres hydrophiles.
- **La séquestration par adsorption** : des particules assez petites pour passer dans les pores vont quand même être capturées par le filtre via un mécanisme d'adsorption. Cette rétention dépend cependant de beaucoup de facteurs :
 - Propriétés chimiques de la surface du filtre ;
 - Type de particules ou microorganismes ;
 - Conditions opératoires : pression différentielle, débit, nombre de particules ;
 - Propriétés du liquide à filtrer : tension de surface, pH, force ionique.

La filtration va permettre d'obtenir un niveau de propreté et de qualité du fluide filtré. Le niveau de propreté et de qualité va être prédéfini par la taille des pores (0,2 μm , 2,5 μm , 10 μm) (48). Il est nécessaire que la membrane du filtre soit stable de manière à garantir que les pores ne vont pas s'agrandir sous l'effet de la pression (22).

6.1.1 Principaux filtres retrouvés dans l'industrie pharmaceutique

Les filtres retrouvés couramment dans l'industrie pharmaceutique peuvent être de deux types :

- Les **filtres hydrophobes** : ce sont les filtres qui vont être utilisés pour la filtration de gaz, notamment pour l'air ou l'azote. Ces filtres peuvent être retrouvés sur un équipement process (laveuse, autoclave, cuve, lyophilisateur, ...). Ils peuvent être mis en place de manière à protéger le produit en filtrant l'air qui arrive sur la surface et ainsi éviter les contaminations ou bien pour filtrer l'arrivée d'utilités qui vont être utilisées dans le process (par exemple l'azote utilisé pour le post-azotage des flacons des produits sensibles à l'oxydation).
- Les **filtres hydrophiles** : ces filtres vont servir à filtrer des liquides, ils peuvent permettre de filtrer du produit ou bien de l'eau. Dans le cadre du transfert entre la cuve de préparation et la cuve à niveau constant sur la ligne de remplissage, on retrouve un filtre que l'on va appeler le filtre stérilisant. C'est ce filtre qui va garantir la filtration stérilisante du produit, c'est la dernière barrière avant le remplissage des flacons.

En production, les filtres sont retrouvés principalement :

- Sur les lignes process :
 - Filtres hydrophiles sur les lignes de remplissage (filtration clarifiante, filtration stérilisante) ;
 - Filtres hydrophobes des cuves (cuve de préparation de la solution, Cuve à Niveau Constant (CNC), ...). Ces filtres sont aussi appelés filtres événements, ils servent à la mise à l'air de la cuve pour éviter la montée en pression.
- Sur les machines :
 - Laveuse : filtration de l'eau (EPPI, eau recyclée), filtration air (air comprimé, ...)
 - Autoclave (événement) ;
 - Lyophilisateur (événement, filtre panoplie azote, ...).

Filtre stérilisant :

Dans le cas de solutions comprenant un principe actif qui ne supporte pas la stérilisation par la chaleur, la solution va être répartie de façon aseptique avec l'utilisation d'une filtration stérilisante, avec un filtre dont les pores ont une taille de 0,22 µm de diamètre.

La filtration stérilisante va se dérouler selon la démarche suivante :

- Le matériel utilisé pour la filtration et la répartition doit être stérile ;
- La solution à filtrer doit être la moins contaminée possible ;
- La filtration de la solution se réalise sous pression : la cuve de préparation ou la cuve de transfert est mise sous pression pour permettre un acheminement de la solution jusqu'au filtre stérilisant ;
- Le filtrat va être réparti dans des récipients (flacons, seringues, ...) stériles, c'est la dernière étape qui se déroule directement après la filtration.

6.1.2 Historique de la filtration stérilisante

L'histoire de la filtration stérilisante commence en 1845 avec le développement de la première membrane synthétique en nitrocellulose par la société Fick. Néanmoins, le manque de reproductibilité de la membrane la voue à un quasi-abandon sans utilisation à l'échelle industrielle.

Des années plus tard, en 1918, le détenteur du prix Nobel Richard Zsigmondy invente une membrane de filtre dotée d'une taille de pore reproductible. C'est l'utilisation commerciale dès les années 30 de cette membrane plate qui permet de garantir la stérilité au sein de l'industrie pharmaceutique. Elle laissera progressivement sa place aux membranes plissées dans les années 70.

La définition d'un standard de filtration stérilisante (taille de microorganisme) a également évolué au cours des années. De *Pseudomonas diminuta* à la fin des années 60 qui permet de s'assurer d'une rétention de 0,45 µm, le standard est devenu *Brevundimonas diminuta* de nos jours avec un critère de rétention de 0,2 µm.

Les premiers filtres plissés étaient soudés à l'aide de résine. Dans les années 80, la résine sera remplacée par une soudure par polymère fondu et enfin par une soudure par ultrason ce qui permet d'augmenter la solidité de la soudure et de diminuer le stress thermique subi par la membrane. La soudure par ultrason est maintenant la procédure standard et assure une très bonne fiabilité.

Au début de l'utilisation des filtres à membrane plissée, les membranes comportaient une unique couche. Depuis les années 80, des modèles à doubles couche avec des tailles de pores supérieures pour la couche externe ont fait leur apparition et ont permis une meilleure performance de rétention particulière. Des modèles de membranes asymétriques ont fait leur apparition pour encore améliorer les capacités filtrantes.

Depuis les années 90, les capacités filtrantes ont triplé et les débits de filtration ont quadruplé avec les innovations sur la surface de filtration et l'intégration de technologie de préfiltration des membranes filtrantes. De nouveaux design et technologies dans la fabrication des filtres dans les années 2000 ont créé les standards actuels en matière de filtre.

Les progrès liés aux traitements des surfaces des filtres en polymères ont également permis de réduire la quantité d'extractibles et relargables des filtres (49).

6.1.3 Fabrication des filtres

Les filtres à cartouches ou filtres à capsules sont parmi les filtres les plus utilisés pour la filtration stérilisante dans le milieu industriel.

Les éléments constitutifs d'un filtre à cartouche (figure 24) sont : une **cartouche** filtrante composée d'un cœur, d'une membrane plissée et d'une cage protectrice, un **boîtier** de protection. Un filtre à capsule est un filtre dont la cartouche et le boîtier de protection forment un seul tenant à usage unique. Les boîtiers en acier inoxydable sont réutilisables. L'avantage des formes en capsule est que l'on s'affranchi de l'étape de montage pour utiliser le filtre.

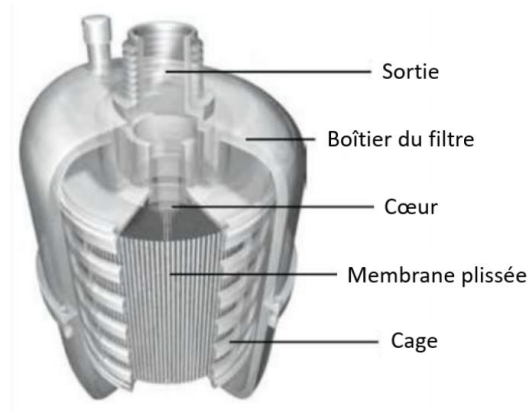


Figure 24: Eléments constitutifs d'un filtre à cartouche (50)

Quelques matériaux communément utilisés pour la fabrication des membranes des filtres sont des polymères d'origine synthétique : polyfluorure de vinylidène (PVDF) polysulfone, polyethersulfone (PES), nylon, cellulose esters, polytétrafluoroéthylène (PTFE), polyester et polypropylène (50).

La fabrication de membrane peut se faire selon plusieurs méthodes : **l'inversion de phase, l'extrusion, l'irradiation**. Ces méthodes peuvent être utilisées pour l'obtention des deux formes initiales de matériaux retrouvés dans le cadre de la fabrication des filtres : les membranes planes ou les fibres creuses.

L'inversion de phase est cependant la méthode la plus utilisée pour la production de membrane. La formation de la membrane a lieu lorsque les deux phases sont formées. Une phase se présente sous forme solide et comporte une forte concentration du polymère choisi et une faible concentration de solvant. L'autre phase est à l'état liquide et comporte une plus faible concentration de polymère et une plus forte concentration de solvant et va permettre de former les pores de la membrane.

La phase enrichie en polymère va précipiter (par exemple par évaporation du solvant ou refroidissement du polymère) ce qui va permettre de former la membrane.

Une caractérisation de la membrane après sa fabrication permet de s'assurer que l'ensemble des paramètres de fabrications appliqués ont permis d'obtenir les caractéristiques souhaitées. Le moindre changement de paramètre peut complètement changer les caractéristiques de la membrane. La reproductibilité de la méthode de fabrication est donc particulièrement importante (51).

6.2 Validation des filtres stérilisants

Comme spécifié dans la norme ISO 13408-2 : 2018 au §9.1 :

« L'objet de la validation est de démontrer que le processus de filtration spécifié dans la définition du processus peut être appliqué de manière efficace et reproductible pour obtenir un filtrat stérile. La validation consiste en un certain nombre d'étapes identifiées.

Pour la validation de la stérilisation des liquides par filtration, ces étapes sont :

- a) *Rétention microbienne spécifique au fluide (c'est-à-dire capacité de stérilisation du matériau filtrant) ;*
- b) *Détermination des paramètres d'essai spécifiques au fluide en tenant compte de la rétention microbienne spécifique au fluide ;*
- c) *Interactions du matériau filtrant ;*
- d) *Stérilisation du système de filtration ;*

Pour la validation de la stérilisation des gaz, ces étapes sont :

- e) *Démonstration de la rétention d'un aérosol d'essai standard dans des conditions d'épreuve spécifiées ;*
- f) *Détermination des paramètres d'essai d'intégrité ;*
- g) *Stérilisation du système de filtration. » (46)*

Dans la suite de cette partie ne seront développés que les aspects ayant trait à la stérilisation des liquides par filtration.

6.2.1 Validation de la rétention microbienne

La validation de la filtration stérilisante est réalisée lors de la qualification initiale du procédé. Le test utilisé pour valider la rétention microbienne du filtre est appelé essai d'épreuve bactérienne ou encore challenge bactérien. Ce test se définit comme étant une « *opération technique destinée à évaluer l'aptitude d'un filtre à retenir les organismes d'une suspension bactérienne liquide dans des conditions définies* ». Ce test va permettre de valider la classification de la membrane et de démontrer une absence totale de microorganisme dans le filtrat avec un microorganisme de référence (50).

Un essai d'épreuve bactérienne peut être effectué avec le fluide à filtrer ou un fluide de simulation si le fluide a des propriétés antimicrobiennes. L'objectif est de s'assurer que la membrane du filtre permet une rétention d'un minimum de 1×10^7 UFC/cm² de surface utile de filtre. L'organisme pénétrant de référence pour un filtre stérilisant de 0,2 µm doit être *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146) (46).

Cette validation peut être réalisée par un laboratoire extérieur ou le fournisseur du filtre. Cependant, l'utilisateur du filtre doit valider les conditions les plus défavorables, dites « worst case », inhérentes à son procédé de filtration (par exemple pression maximum, débit de filtration maximum).

Le fabricant du filtre sera responsable de la mise à disposition des données de test en laboratoire.

L'utilisateur du filtre lui, aura la charge de :

- Contrôler le niveau de contamination bactérienne du produit à stériliser par filtration et d'assurer un maintien d'un bas niveau de contamination (<10UFC/100mL par exemple) ;
- Adapter au type de contamination particulier du produit, le système de filtration approprié pour obtenir un filtrat stérile ;
- Utiliser des éléments filtrants et corps de filtre conformes (22).

6.2.2 Validation de l'essai d'intégrité

Les essais d'intégrité du filtre peuvent être réalisés en utilisant comme liquide de mouillage :

- Les **fluides de mouillage standards** recommandés par le fabricant : eau, alcool isopropylique ;
- Le **fluide à filtrer** : produit médicamenteux, produits intermédiaires, solutions tampons (46).

Le fabricant du filtre aura la responsabilité de :

- Fournir la preuve de la corrélation entre la valeur de test d'intégrité et la rétention bactérienne en utilisant un microorganisme approprié (comme *Brevundimonas diminuta* par exemple) ;
- Fournir des instructions écrites et des spécifications pour réaliser les tests d'intégrité ;
- Recommander des équipements de test appropriés.

L'utilisateur du filtre aura la responsabilité de :

- Respecter les spécifications du fabricant lors de la réalisation des tests d'intégrité ;
- Joindre les résultats de test d'intégrité au dossier de lot de fabrication (22).

Les valeurs de test avec les fluides de mouillage standard ne demandent pas de démarche particulière de la part de l'utilisateur du filtre. Cependant, s'il souhaite utiliser le fluide à filtrer, il lui sera nécessaire de procéder à la validation des paramètres d'intégrité à appliquer auprès du fournisseur qui réalisera une validation à partir d'un échantillon de solution à filtrer fourni par l'utilisateur à partir d'un protocole de validation interne.

6.2.3 Validation des interactions filtre/fluide

Les **relargables**, **extractibles** et **fluide éliminés par adsorption** lors de l'interaction entre le filtre et le fluide à stériliser doivent être qualifiés (46). Il convient de mener des études qui permettent d'évaluer les risques de migration des substances d'un contenant à un contenu. Aucun composé étranger ne doit être présent dans le produit.

Un **relargable** se définit comme une « *substance qui peut être libérée d'un filtre ou d'un filtre complet en condition normales d'utilisation* ». La qualification des relargables permet d'identifier l'identité et la quantité de matières relargables par le filtre (46).

Un **extractible** se définit comme une « *substance qui peut être libérée d'un filtre ou d'un matériau en utilisant des solvants d'extraction et/ ou des conditions d'extractions qui sont supposées être au moins aussi agressifs que les conditions normales d'utilisation* ». Les études des extractibles sont menées pour démontrer l'absence de toute toxicité pertinente dans les substances extractibles provenant du filtre (46). La détermination des substances extractibles permet d'établir le volume minimal nécessaire au rinçage du filtre avant utilisation (22).

Un dernier point de qualification consiste à évaluer l'effet de **l'adsorption** sur la composition et la concentration en composants du fluide traité par le média filtrant (46).

L'utilisateur doit s'assurer que les interactions entre le filtre et le fluide sont validées. Il a la possibilité de sous-traiter la validation des interactions par le fournisseur de filtre.

6.2.4 Validation de la stérilisation du système

Le fabricant du filtre va établir des recommandations sur la stérilisation du filtre, notamment en donnant des limites de temps et de température d'exposition ainsi qu'un nombre de cycles de stérilisation maximal à respecter (22).

L'utilisateur du filtre doit démontrer que le processus de stérilisation est efficace dans des conditions d'exposition minimale et que les conditions d'expositions maximale ne nuisent pas au système de filtration (46). Il est à sa charge de valider le processus de stérilisation en utilisant des thermocouples et/ou spores pour les systèmes de filtration et les équipements positionnés en aval de la filtration stérilisante. Il doit également établir le nombre de cycles de stérilisation à ne pas dépasser dans les conditions réelles de stérilisation.

L'ensemble de ces validations et qualifications vont constituer ce que l'on appelle le package de validation des filtres. Le test qui sera pratiqué en routine pour contrôler les caractéristiques des filtres est le test d'intégrité qui sera développé dans la prochaine partie (22).

6.3 Intégrité des filtres

La vérification de l'intégrité d'un filtre va permettre de s'assurer de l'absence de défaut qui pourrait compromettre les capacités de rétention du filtre et donc la stérilité de la solution filtrée (50).

6.3.1 Tests d'intégrité

Tester l'intégrité des filtres stérilisants est une exigence fondamentale pour la réalisation des étapes de filtration critiques dans les procédés pharmaceutiques. La réalisation d'un test d'intégrité va nous permettre de garantir la qualité du produit, de confirmer la performance du filtre, de respecter les recommandations réglementaires.

Un test d'intégrité est un test qui va permettre de répondre aux questions suivantes :

- Le filtre est-il installé correctement dans le carter ?
- Le filtre qui a été pris est-il bien celui indiqué dans le dossier de lot ?
- Le filtre est-il endommagé ?

Dans les directives de la FDA, de l'union européenne et des BPF, il est indiqué qu'il faut réaliser un test d'intégrité du filtre stérilisant avant et après son utilisation pour stériliser des solutions et des solutés à usage parentéral de grand (LVP) ou faible (SVP) volume. (52)

Ainsi, l'absence de test est une absence de justification de la conformité du produit fini et peut impliquer un potentiel rejet de lot. La documentation relative aux tests doit être jointe au dossier de lot de fabrication du produit.

Il existe différents types de tests d'intégrité : les tests destructifs et les tests non destructifs. (53)

- Les **tests destructifs** sont des tests qui sont réalisés par les fournisseurs de filtres et qui servent de critère de libération du lot de filtre sur un échantillon statistique de cartouches de filtration de grade stérilisant de chaque lot de fabrication
 - Exemple : test microbiologique ou de « challenge bactérien » (selon méthodologie ASTM F838-83) : test qui permet de tester la capacité de rétention bactérienne d'un filtre stérilisant et de garantir que la membrane et la cartouche possèdent les critères de performance d'un filtre stérilisant. C'est le critère de libération du lot sur des échantillons de chaque lot de fabrication de toutes les cartouches de filtration de grade stérilisant. Pour ce test, un milieu de culture contenant des bactéries *Brevundimonas diminuta* (concentration de minimum 10^7 germes/cm²) est utilisé pour tester les filtres avec un diamètre de pore de 0,22µm. Le filtrat est ensuite testé par filtration sur une membrane disque de 0,45µm et une incubation sur une gélose nutritive.

- Les **tests non destructifs** sont des tests qui peuvent être effectués sur les filtres avant et après leur utilisation. La réalisation d'un test sur le filtre stérilisant avant le début de la filtration d'un lot permet d'éviter d'utiliser un filtre non-intègre. Le test d'intégrité après la filtration permet de s'assurer que l'intégrité du filtre n'a pas été altérée lors de la filtration. Le recours aux tests non-destructifs est imposé par les exigences pharmaceutiques pour chaque application de filtration stérilisante.
 - Exemple : test d'intégrité (sur filtre seul ou en place) effectué sur chaque filtre de grade stérilisant avant commercialisation afin de garantir leur intégrité et chez l'utilisateur

Les principaux tests non-destructifs qui sont utilisés en routine sont mentionnés dans le tableau 5. Pour être considérée valide au moment de la filtration, la spécification du test d'intégrité non-destructif doit être corrélée au test de challenge bactérien.

Tableau 5: Différents types de tests d'intégrité

Filtre hydrophile		Filtre hydrophobe	
Test de point de bulle (Bubble Point = BP)		Test d'intrusion d'eau (Water Injection Test = WIT)	
Test de diffusion (Forward Flow = FF)			

6.3.1.1 Test de point de bulle

Le **test de point de bulle (BP)** est le test d'intégrité qui est le plus fréquemment utilisé. Lors de l'étape de mouillage d'un filtre, une quantité de liquide est retenue dans les pores du filtre par les forces de tension de surface et par capillarité (53). L'étape de mouillage est particulièrement importante (figure 25). En l'absence d'un mouillage suffisant, la pression nécessaire pour pousser le liquide hors des pores ne sera pas conforme.

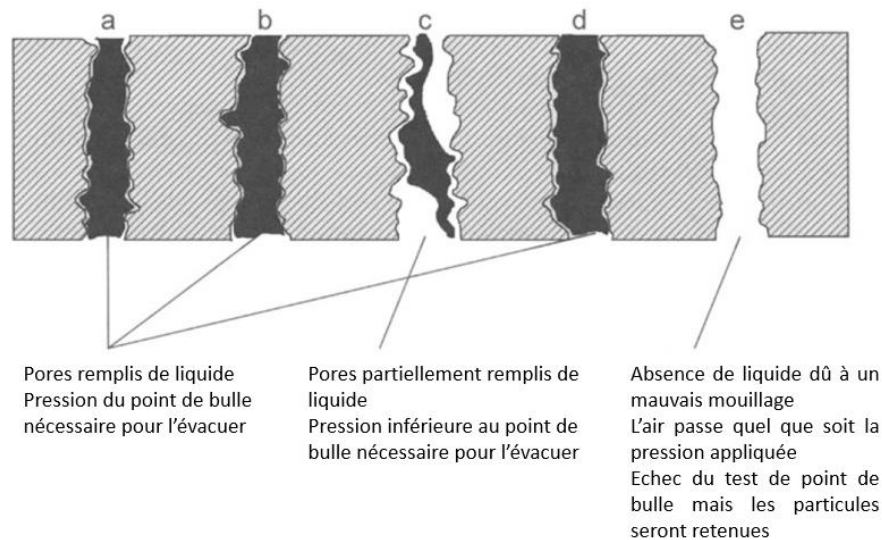


Figure 25: Mouillage du filtre (54)

Au début du test, l'ensemble des pores de la membrane sont obstrués par le liquide. Une pression est appliquée en amont du filtre par paliers successifs de pression jusqu'à atteindre la pression qui chassera le liquide de mouillage des pores les plus larges de la membrane. Cette pression est appelée point de bulle. La pression de point de bulle s'exprime en mbar et correspond à la pression de gaz minimale requise pour évacuer le liquide des pores. Elle va dépendre notamment du diamètre des pores et se calcule par la relation ci-dessous :

$$BP = \frac{4 \cdot k \cdot \gamma \cdot \cos \theta}{d}$$

Avec :

BP = Pression du point de bulle

d = Diamètre des pores du filtre

k = Facteur de correction

γ = tension de surface

$\cos \theta$ = Angle de contact liquide-solide

6.3.1.2 Test de diffusion

Le **test de diffusion** est basé sur l'effet de la tension de surface et est exprimé en ml/min. Il est basé sur la relation débit/pression comme représenté sur le graphique de la figure 26. Ce test va mesurer le débit de diffusion d'air (ou gaz de test) au travers d'un film liquide à la surface d'une membrane mouillée à une pression d'air amont inférieure au point de bulle (communément à 80% du BP). Lorsque la pression est élevée, l'ensemble des pores (petits et gros) sont ouverts et donc le débit direct augmente. Le débit est dû à la diffusion du gaz dans le liquide contenu dans les pores de la membrane (22).

En pratique, une pression est appliquée en amont du filtre (à l'aide du gaz de test) et la diffusion de ce gaz à travers le film liquide à la surface de la membrane est mesurée. Comme la pression de test est inférieure au point de bulle, le liquide n'est pas chassé des pores et seule sera mesurée la diffusion de gaz à travers le film. Le résultat de ce test est appelé débit de diffusion et s'exprime en ml/min.

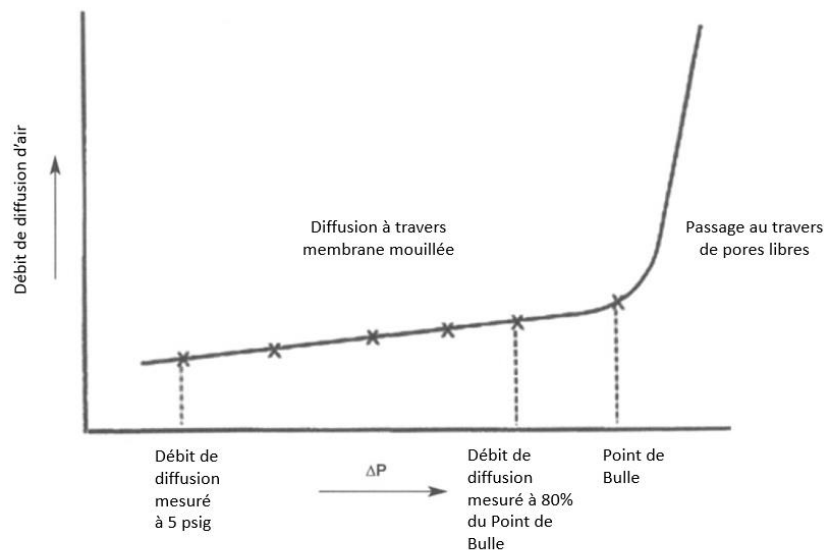


Figure 26: Relation débit/ pression du test de diffusion (54)

Une variante du test de diffusion est le test de maintien en pression ou de chute de pression (pressure hold test).

6.3.1.3 Test d'intrusion d'eau

Le **test d'intrusion d'eau** ou *Water Intrusion Test (WIT)* est un test qui est basé sur l'hydrophobicité de la membrane. Le filtre est immergé pour que l'eau recouvre la surface de sa membrane.

Au cours du test, le gaz est utilisé pour comprimer un volume d'eau contre la membrane filtrante. Avec l'application de cette pression, les molécules d'eau plaquées contre la membrane vont s'échauffer et passer sous la forme de vapeur d'eau à travers la membrane filtrante. C'est cette évaporation qui sera mesurée.

Lorsque le filtre est intègre, le débit se fait par évaporation, il y a un phénomène de stabilisation lors de la réalisation du test (figure 27).

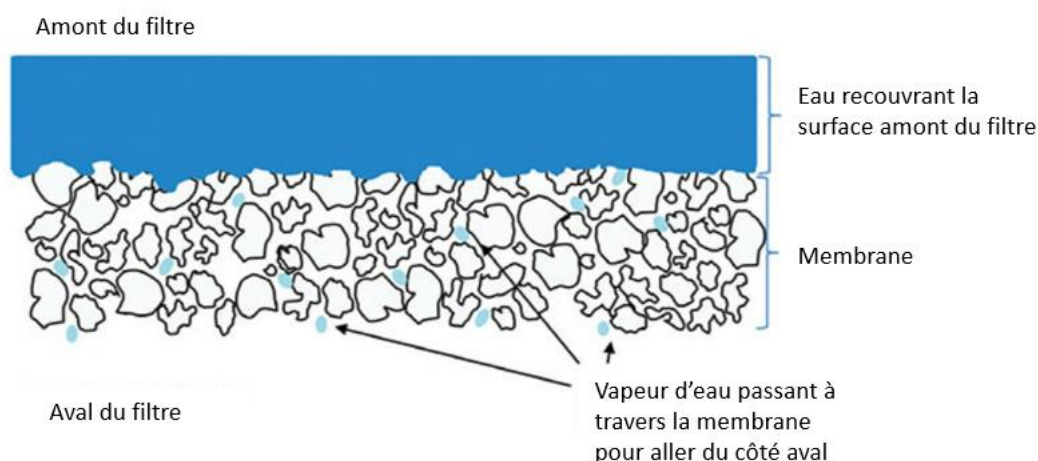


Figure 27: Intrusion d'eau (55)

Lorsque le filtre est défectueux, le débit de transfert est direct, il n'y a pas de stabilisation et l'eau passe à travers la membrane.

En cas de non-conformité du test, il est nécessaire de vérifier que le filtre est bien introduit dans le carter et est bien connecté au système, que le bon programme de test a été utilisé et que les paramètres de tests sont conformes. L'établissement d'une politique de retest est à la charge de l'utilisateur du filtre qui définit les modalités et le nombre de retests possibles.

Si la non-conformité persiste, le filtre peut être envoyé chez le fournisseur pour qu'il réalise une expertise complémentaire.

6.3.2 Testeurs d'intégrité

Un testeur d'intégrité est un équipement qui va permettre de réaliser les tests d'intégrité non-destructifs de manière automatique. Plusieurs fournisseurs proposent des équipements qui permettent de réaliser ces tests. Des exemples sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6: Présentation de différents testeurs d'intégrité

Testeur d'intégrité	 Integritest® 4 (56)	 Palltronic® Flowstar IV (57)	 Sartocheck® 5 Plus Filter Test (58)
Fournisseur	Merck	Pall	Sartorius
Tests réalisables	Diffusion (standard et accéléré) Point de bulle (standard, asymétrique, accéléré) Test d'intrusion d'eau Diffusion virale Maintien en pression	Diffusion Point de bulle Test intrusion d'eau	Diffusion Point de bulle Test intrusion d'eau (59)

Le gaz de test utilisé peut notamment être de l'air comprimé ou de l'azote. Les tests peuvent être effectués après un mouillage du filtre à l'eau, au produit ou à l'alcool isopropylique (IPA) notamment. L'intérêt d'utiliser l'IPA comme agent mouillant est qu'il possède une tension de surface plus faible que l'eau et il permet de supprimer les défauts de mouillabilité de certaines zones du filtre. C'est une des raisons pour lesquelles il est intéressant de l'utiliser dans le cadre des politiques de retest des filtres.

Le testeur d'intégrité est un équipement qui est qualifié par la démarche QI, QO, QP. Les opérateurs qui l'utilisent sont formés à son utilisation.

Il faut être vigilant aux conditions environnementales lors de la réalisation du test, en effet, les paramètres de température ou taux d'humidité, peuvent entraîner une variabilité des résultats.

Des programmes de test prédéfinis en fonction du filtre, de l'atelier, du produit, de l'équipement sont enregistrés sur l'appareil, il suffit de sélectionner le bon programme pour réaliser le test.

A l'issu du test, son résultat peut être enregistré électroniquement ou sorti sous la forme d'un ticket de test sur papier thermique. C'est ce résultat qui sera joint au dossier ou archivé.

La répartition des produits pharmaceutiques sensibles à la stérilisation terminale impose donc un remplissage aseptique et une filtration stérilisante. L'évolution de la réglementation pharmaceutique, notamment via la mise à jour de l'annexe 1 des BPF en 2022, contraint désormais les utilisateurs de filtre stérilisant à tester les filtres, plus seulement à réception et après utilisation, mais également après stérilisation et avant utilisation. Il s'agit du PUPSIT (*Pre-Use Post-Sterilization Integrity Testing*). Un cas pratique de la mise en place du PUPSIT sur un atelier de production aseptique conventionnelle est présentée dans la partie suivante.

Partie 2 : Cas pratique de la mise en place du PUPSIT sur un atelier de production aseptique conventionnelle

1. Contexte

Nous allons maintenant nous intéresser aux évolutions de la réglementation spécifiques à la filtration stérilisante de manière à replacer la mise en place du PUPSIT dans son contexte.

1.1 Evolution de la réglementation

Un chapitre spécifique de l'annexe 1 des BPF européennes est dédié à la gestion de la filtration.

Dans la version de 2008, le chapitre spécifique : « *Filtration des médicaments qui ne peuvent pas être stérilisés dans leur récipient final* » (0,5 pages – 6 paragraphes), détaille les modalités de gestion des différents filtres.

Pour les filtres de grade stérilisant (concernés par le PUPSIT) :

« 113. *L'intégrité des filtres stérilisés doit être contrôlée avant usage et confirmée immédiatement après usage par une méthode appropriée telle que les tests de point de bulle, de diffusion ou de maintien en pression...* »

Pour les filtres événements critiques et non critiques :

« 113. ... *L'intégrité des filtres événements et des filtres à gaz situés aux points critiques doit être confirmée après usage. L'intégrité des autres filtres doit être confirmée à intervalles de temps appropriés* ». (12)

Dans la nouvelle version de l'annexe 1 applicable en août 2023, le chapitre spécifique : « *Stérilisation par filtre des produits non stérilisables dans leur contenant final* » (3 pages – 17 paragraphes), détaille avec plus de précisions les modalités de gestion des filtres.

Pour les filtres de grade stérilisant, les exigences sont détaillées pour : la réduction de la charge microbienne, le processus et les paramètres de filtration stérile, le système de filtration, la validation de la filtration stérile et le PUPSIT.

« 8.87 L'intégrité de l'ensemble du filtre stérilisé doit être vérifié par des tests d'intégrité avant utilisation (test d'intégrité avant-utilisation après stérilisation ou PUPSIT), pour vérifier les dommages et la perte d'intégrité causés par la préparation du filtre avant utilisation. Un filtre de qualité stérilisante qui est utilisé pour stériliser un fluide doit être soumis à un test d'intégrité non destructif après utilisation avant de retirer le filtre de son boîtier. Le procédé de test d'intégrité doit être validé et les résultats des tests doivent être corrélés avec la capacité de rétention microbienne du filtre établie lors de la validation. Des exemples de test qui sont utilisés comprennent le test de point de bulle, de débit de diffusion, d'intrusion d'eau ou de maintien de la pression. Il est reconnu que le PUPSIT peut ne pas toujours être possible après stérilisation en raison de contraintes du procédé (par exemple la filtration solutions de très petits volumes). Dans ces cas, une approche alternative peut être adoptée à condition qu'une évaluation approfondie des risques ait été réalisée et que la conformité soit atteinte par la mise en œuvre de contrôles appropriés pour atténuer le risque d'un système de filtration non intègre. Les points à considérer pour réaliser une telle analyse de risque comportent mais ne sont pas limités à :

i. Une connaissance et des contrôles approfondis du procédé de filtration stérilisante pour garantir que le potentiel de dégradation du filtre soit minimisé.

ii. Une connaissance et des contrôles approfondis de la chaîne d'approvisionnement comportant :

- Contrat avec les installations de stérilisation.
- Mécanisme de transport défini.
- Conditionnement du filtre stérilisant, pour prévenir de dégradation des filtres au cours de leur transport ou stockage.

iii. Connaissance approfondie du procédé comme :

- Spécifications du produit, notamment la charge particulière et s'il existe un risque d'avoir un impact sur la valeur du test d'intégrité, comme le potentiel d'altérer les valeurs de test d'intégrité et qui pourrait empêcher la détection d'un filtre non intègre au cours de son test d'intégrité après utilisation
- Etapes de préfiltration et de traitement, au préalable de la filtration finale avec un filtre de grade stérilisant, qui pourrait éliminer la charge de particules et clarifier le produit au préalable de sa filtration stérilisante. » (13)

Pour les filtres événements critiques et non-critiques, 3 paragraphes sont dédiés à la filtration des gaz (§8.88, 8.89 et 8.90).

1.2 Exigences réglementaires sur la filtration

L'utilisation du PUPSIT est recommandée en Europe depuis une vingtaine d'années. Comme vu dans la partie précédente, cette exigence est à nouveau présente dans la version de 2022 de l'annexe 1 des BPF européennes. Mais qu'en est-il dans les autres recommandations mondiales ? C'est ce que nous allons étudier maintenant.

- **Etats-Unis d'Amérique**

Dans ses BPF, la FDA ne spécifie pas de requis en ce qui concerne la réalisation d'un test d'intégrité des filtres avant leur utilisation ni avant et après leur stérilisation.

Cependant, la version actuelle du guide pour l'industrie de la FDA précise dans la partie Produits médicamenteux stériles produits par procédé aseptique (cGMP, Chapitre IX, Section B « Efficacité filtration » (2004)) :

« Le test de l'intégrité du (des) filtre(s) peut être réalisé avant utilisation, et doit être réalisé en routine après leur utilisation. Il est important que le test de l'intégrité soit réalisé après la filtration de manière à détecter tout fuite ou perforation du filtre qui aurait pu survenir au cours de la filtration. Les tests de débit de diffusion et de point de bulle, s'ils sont utilisés de manière appropriée, sont deux tests qui peuvent être utilisés pour tester l'intégrité des filtres. Les spécifications de test d'intégrité du filtre de production doivent être cohérentes avec les valeurs générées lors des études de rétention bactériennes de la validation. » (60)

Le test de l'intégrité avant utilisation est donc recommandé mais n'est pas requis. Le test après utilisation est cependant obligatoire et suppose que cette pratique permet de détecter toute fuite ou perforation résultante de l'opération de filtration.

- **Japon**

L'autorité réglementaire japonaise, la PMDA, précise les contraintes liées au test de l'intégrité de ses filtres dans leur guide des pratiques relatives à la production de produits pharmaceutiques stériles par procédé aseptique (chapitre 17.1.4 Procédures de routine, section 3 (2011)) :

« 3) Test d'intégrité des filtres – L'intégrité des filtres devrait être vérifiée après l'opération de filtration (après utilisation des filtres) sans démontage du filtre entier. L'intégrité doit également être confirmée avant l'opération de filtration (avant utilisation des filtres), le cas échéant, selon une évaluation des risques inhérent au procédé. » (61)

Bien que ce ne soit pas un requis réglementaire, il est recommandé de tester les filtres après utilisation dans leur boîtier. Les filtres doivent également être testés avant utilisation si l'analyse de la balance bénéfice risque entre les risques générés par des installations de filtration complexes et les bénéfices qui peuvent être apportés par la réalisation du test sont en faveur de la réalisation du test et d'une augmentation de la fiabilité du procédé de filtration.

- **Chine**

L'autorité réglementaire chinoise, la NMPA, anciennement appelée FDA chinoise, a publié un guide d'application sur les technologies de stérilisation et de filtration en 2018 avec une mise à jour dans les requis concernant le PUPSIT. Le chapitre 6 sur l'utilisation de filtres et systèmes stériles, précise dans sa section 6.3 sur les tests d'intégrité :

« Après l'utilisation d'un filtre stérilisant, son intégrité doit être testée et enregistrée directement avec des méthodes appropriées. Avant utilisation d'un filtre stérilisant, une analyse de risque doit être menée afin de déterminer si un test d'intégrité doit être réalisé et si ce test doit être réalisé avant ou après stérilisation. Lors de la réalisation d'un test d'intégrité après stérilisation et avant stérilisation, des mesures doivent être prises afin d'assurer la stérilité en aval du filtre. »

De plus, dans le chapitre 4 sur le procédé de filtration et la conception du système, il est précisé en section 4.2 sur la conception de systèmes de filtration :

« Si un système de filtration à usage unique est utilisé et qu'un test d'intégrité ou un prélavage avant utilisation est nécessaire, les facteurs suivants doivent être étudiés dans la conception : résistance à la pression en amont des connections, la stérilité de l'aval, et l'aval doit fournir assez d'espace (comme un filtre barrière stérilisant ou une poche stérile du volume correspondant) pour l'évacuation et la purge. Si un dispositif de connexion stérile est utilisé, il devra être prouvé qu'il n'y a aucun risque de contamination microbiologique. »

Et le chapitre 6 sur l'utilisation de filtres et systèmes stériles, précise en section 6.6 les systèmes de filtration jetables :

« Lorsqu'il est décidé de réaliser un test d'intégrité avant utilisation d'un système de filtration jetable, une analyse de risque doit être menée sur la base des facteurs suivants (mais ne se limite pas aux facteurs suivants) :

- Evaluer l'impact de l'échec du test d'intégrité, en incluant la possibilité d'introduire des produits non stériles dans une zone stérile.*
- Evaluer le risque de pollution provoqué par l'ajout de composants et d'opérations.*
- Les potentiels dommages détectés.*
- La possibilité de compromettre la stérilité en aval du filtre lors de la réalisation d'un test d'intégrité avant utilisation et après stérilisation.*
- Si le liquide de mouillage va diluer le produit ou affecter les attributs qualité du produit.*
- L'impact de l'ajout de temps sur un procédé sensible au temps. » (62)*

La réglementation chinoise axe donc ses requis en insistant sur la nécessité de réaliser des analyses d'impact de l'implémentation du PUPSIT sur les lignes et n'oblige pas à la mise en place de ce test (63)

Les réglementations internationales font donc état de positions différentes sur les attendus en matière de filtration stérilisante (figure 28). La réglementation européenne est la seule à prôner une obligation de la mise en place du PUPSIT, les autres réglementations sont plus ouvertes sur le sujet ou même incitent à la vigilance concernant l'implémentation de ce test.

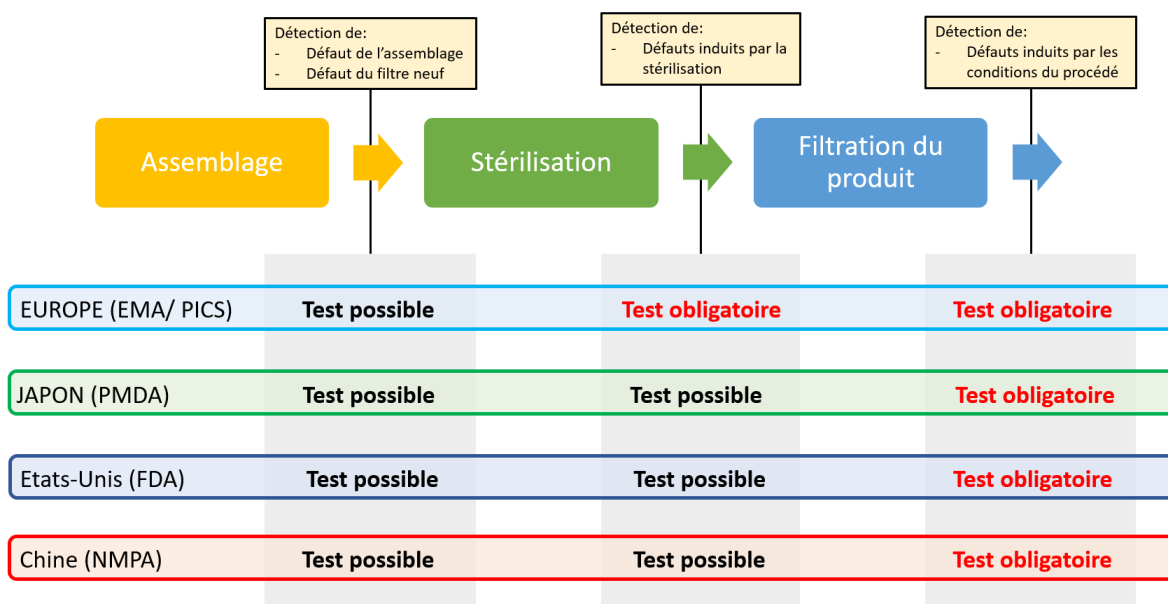


Figure 28: Position des différentes réglementations internationales sur les tests d'intégrité du filtre stérilisant

Le contrôle de l'intégrité des filtres stérilisants dans le cadre de la répartition aseptique de solutions est au cœur d'évolutions de la réglementation qui ont fait l'objet d'une controverse pendant plusieurs années. Dans la prochaine partie seront évoqués la définition du PUPSIT, les contraintes liées à son implémentation et les aspects de sa mise en place ayant suscité la controverse entre les inspecteurs réglementaires et les industriels.

2. PUPSIT

2.1. Une exigence réglementaire

La mise en place du PUPSIT est un projet qui a été initié et piloté par le service Production. C'est un projet transversal qui implique une grande partie des services de l'entreprise, en particulier les services Production, Validation, Assurance Qualité, Contrôle Qualité, Introduction des Nouveaux Produits et Procédés (P&P).

Il a été initié à la suite d'une observation mineure relevée sur le site lors de l'inspection pharmaceutique de mars 2021 :

« L'établissement ne réalise pas de test en ligne des filtres produits après stérilisation et avant utilisation, ni de test en ligne à la fin de la production sans que cela ne soit justifié. Il est noté qu'une analyse de risque a été réalisée et qu'un projet pour la remise en conformité est en cours (BPF LD 1.113 ; EMA Q&A Annex 1 de Juin 2007). »

A la suite de cette observation, des engagements ont été pris par le site de manière à mettre en conformité la méthodologie de test d'intégrité des filtres stérilisants. Pour ce faire, il est prévu de mettre en place le PUPSIT en priorité pour des produits faisant l'objet d'une répartition aseptique.

- **Situation initiale**

Actuellement sur l'atelier faisant l'objet de la mise en place du PUPSIT, la gestion des tests des filtres stérilisant se fait de la manière suivante (figure 29) :

- Le filtre neuf est monté dans un carter inox (étape facultative pour certaines références de filtre qui ne requièrent pas de montage dans un carter inox) ;
- Un test d'intégrité est réalisé de manière à challenger l'ensemble filtre et carter ;
- Les éléments formant la ligne sont assemblés, gainés et stérilisés dans l'autoclave ;
- Les éléments sont mis en place sur la ligne de production, le remplissage est effectué ;
- Le filtre est testé après la fin du remplissage à l'aide d'un testeur d'intégrité.



Figure 29: Flowchart du procédé de filtration sans PUPSIT

- **Situation attendue**

De manière à répondre aux problématiques soulevées ci-dessus, les solutions suivantes sont proposées (figure 30) :

- Le filtre neuf est monté dans un carter inox (étape facultative pour certaines références de filtre qui ne requièrent pas de montage dans un carter inox) ;
- Un test d'intégrité est réalisé de manière à challenger l'ensemble filtre et carter ;
- Les éléments formant la ligne sont assemblés, gainés et stérilisés dans l'autoclave ;
- Les éléments sont mis en place sur la ligne de production ;
- Un test d'intégrité du filtre stérilisant est effectué en ligne au plus près du remplissage ;
- Le remplissage est effectué ;
- Le filtre est testé après la fin du remplissage.



Figure 30: Flowchart du procédé de filtration avec PUPSIT

2.2 Enjeux

2.2.1 Pourquoi réaliser le PUPSIT ?

Le PUPSIT (*Pre Use Post Sterilization Integrity Testing*) est un test d'intégrité qui est effectué après stérilisation, une fois que le filtre stérilisant est installé de manière à s'assurer que le processus de stérilisation et d'installation n'a pas endommagé le filtre stérilisant avant la filtration du produit.

La réalisation de ce test permet de démontrer l'absence d'impact de la stérilisation de la ligne et du filtre et de lutter contre un phénomène appelé « filter flaw masking » ou « masquage des défauts du filtre ». Selon ce phénomène, le processus de stérilisation ou d'installation du filtre pourrait provoquer des défauts mineurs dans la membrane filtrante. Ces défauts peuvent se boucher pendant le processus de filtration au cours du traitement du lot.

Le résultat de ce phénomène de masquage est que l'on pourrait être en présence d'un test d'intégrité après filtration qui est bon car le colmatage naturel de la membrane en fin de production permet un résultat conforme alors que le filtre est non intègre en réalité.

Selon ce principe, la stérilité d'une partie du lot pourrait donc être affectée (64).

La réalisation du PUPSIT permet donc de limiter le **risque patient** mais également de diminuer le **risque industriel**. En effet, si le test d'intégrité après utilisation du filtre est non conforme, il y a un risque de devoir jeter une partie ou l'intégralité du lot si la non-intégrité du filtre est confirmée après investigation.

Dans ce cas, la notion de risque patient n'est pas présente (le lot ne sera pas libéré et le patient ne sera pas impacté par un défaut de stérilité), cependant, c'est bien la notion de rejet de lot et donc de risque industriel qui est concernée. La maîtrise de ces risques patient et industriel peut être mitigée par l'utilisation du PUPSIT mais il est nécessaire que le PUPSIT puisse être réalisé de la manière la plus simple, la plus robuste possible avec un nombre de manipulation réduit au maximum pour ne pas affecter la stérilité de l'environnement en aval du filtre stérilisant. (65)

2.2.2 Comment le PUPSIT est-il exécuté ?

Le test PUPSIT est effectué une fois que le filtre stérilisant est en place sur la ligne de filtration. Il utilise les mêmes méthodes que celles qui sont utilisées pour les tests post-utilisation. Afin d'exécuter ce test, il est nécessaire d'ajouter des composants supplémentaires, notamment :

- Un filtre hydrophobe pour un mouillage stérile du filtre ;
- Un filtre à gaz ;
- Un collecteur de purge ;
- Un filtre de ventilation hydrophobe (pour boîtier de filtre et réservoir de rinçage).

Les montages PUPSIT peuvent être installés sur des composants de filtre à usage unique ou en acier inoxydable. Pour des filtres en série, il est nécessaire d'avoir un assemblage pour chaque filtre. (64)

Lorsqu'il y a un filtre de sécurité redondant au plus près des aiguilles de remplissage, le PUPSIT et le bioburden ne s'effectuent que sur le filtre au plus près des aiguilles. Le filtre redondant doit subir un test d'intégrité post utilisation uniquement si le test du filtre de sécurité est non conforme. Cependant, si les deux filtres sont déclarés stérilisants, il est nécessaire de réaliser le PUPSIT sur les deux filtres (figure 31).



Figure 31: Système de filtration redondant à usage unique - Source Merck Millipore (66)

2.2. Contraintes

Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, la mise en place du PUPSIT va demander un montage particulier qui s'ajoute à une ligne de filtration classique afin de permettre la réalisation du test.

L'implémentation du test d'intégrité en ligne peut se réaliser dans deux cas :

- **Nouvelle ligne** : le PUPSIT est intégré dès l'étape de conception de la ligne de remplissage aseptique qui sera validée directement avec cette configuration.
- **Ligne existante** : la ligne existante et validée doit être modifiée afin d'intégrer le système permettant la réalisation du test.

C'est essentiellement dans le second cas que les contraintes liées à l'implémentation du PUPSIT vont apparaître. Tout d'abord, ce changement va nécessiter un investissement financier, l'intégration sur une ligne isolateur déjà existante apporte notamment des contraintes particulièrement importantes notamment sur la méthodologie d'intégration du système et de l'appareil de test tout en conservant la stérilité de l'enceinte de production, notamment du fait de l'encombrement et de la dimension de la ligne de filtration avec les filtres et les purges. Il est nécessaire d'accorder un raccordement à un gaz permettant le test d'intégrité (air comprimé, azote, ...) ce qui peut générer un coût lors de l'implémentation.

De plus, l'ajout de cette étape peut impacter le temps de cycle du remplissage aseptique qui s'allongera de la durée de manipulation et de test de la ligne. Il est nécessaire d'évaluer les risques associés à l'ajout de manipulations opérationnelles au sein d'une zone classée avec une évaluation des pratiques aseptiques lors de la réalisation de ce test. Une contrainte peut également apparaître lorsque le choix de réalisation du test se fait par un mouillage du filtre à l'eau (dilution du produit, risque de contamination de la zone en cas de perte d'intégrité du montage).

Ces différents aspects seront développés dans la partie détaillant la mise en place du PUPSIT.

2.3 Limites

Comme vu précédemment, le requis réglementaire de la réalisation du PUPSIT en section 113 de l'Annexe 1 du volume 4 des BPF européenne est présent depuis 2008. Historiquement, beaucoup de producteurs de médicaments stériles ne pouvant être stérilisés dans leur contenant final, ont justifié la non-réalisation du PUPSIT sur le filtre stérilisant en se basant sur une analyse de risque orientée patient. Dans le cadre de ces analyses, il était mis en avant que les risques d'impact sur la stérilité en aval du filtre stérilisant lors de la manipulation étaient plus grands que les risques associés à la non-réalisation du PUPSIT. Les contraintes d'un mouillage à l'eau ou à la solution ainsi que la perte de solution plus ou moins importante selon la taille du filtre étaient également mis en avant.

Depuis quelques années, cette approche basée sur une analyse des risques est de moins en moins acceptée par les inspecteurs et de plus en plus d'industriels doivent considérer la mise en place du PUPSIT (67).

Le débat historique sur l'implémentation du PUPSIT oppose :

- **Les industriels** : de leur point de vue le PUPSIT ajoute peu de valeur, le phénomène de masquage de défaut est peu courant ; selon eux la réalisation du PUPSIT ajoute des risques. Ils mettent en avant un potentiel impact sur la stérilité par l'ajout de complexité et d'interventions et pourrait stresser le filtre.
- **Les autorités européennes** : de leur point de vue le PUPSIT est essentiel car la filtration est une étape risquée et le masquage de défaut est un risque lié à cette étape ; selon eux les industriels ne veulent pas faire le PUPSIT et les analyses de risque sont biaisées. (68)

Afin d'apporter des données scientifiques au débat, un groupe de travail a été initié par la PDA en 2017 et a notamment permis la réalisation d'un sondage auprès des industriels pour faire un état des lieux de leurs pratiques et de mettre en œuvre un protocole de test en collaboration avec les fournisseurs de filtres afin de déterminer le risque d'occurrence du phénomène de masquage de défaut.

Le test de l'intégrité des filtres permet de protéger les patients en garantissant la stérilité des produits. Le test d'intégrité des filtres après utilisation est suffisant pour détecter des défaillances du filtre et assurer la sécurité du patient à moins qu'il y ait une possibilité qu'un filtre conforme au test après utilisation ait pu permettre un passage bactérien au cours de la filtration. Cette possibilité est appelée hypothèse de « *blinding* » (aveuglement) ou « *flaw masking* » (masquage de défaut). Cette hypothèse se caractérise par les éléments suivants :

- Un filtre présentant un **défaut** est utilisé au cours de la filtration stérilisante ;
- Les défauts peuvent permettre un passage de **contamination microbiologique** au cours de la filtration, ce qui peut engendrer un filtrat non stérile ;
- Les défauts peuvent être **obturés** ou **colmatés** par des déchets du produit ;
- Un défaut obturé peut **ne pas être détecté** lors du test après utilisation : test conforme.

La réalisation du PUPSIT permet donc d'atténuer le risque associé à l'hypothèse de masquage de défauts. Il permet de confirmer l'intégrité du filtre après sa stérilisation mais avant son exposition au produit qui pourrait masquer le défaut. Ce test est utilisé en complément du test d'intégrité après utilisation.

Pour que le phénomène de masquage de défaut se manifeste :

- Le défaut doit être **présent** au cours de la filtration, malgré le fait que le test d'intégrité avant utilisation et le procédé de stérilisation soient validées pour ne pas endommager le filtre ;
- Le défaut doit être **assez large** pour permettre le passage d'une contamination microbiologique ;
- Le défaut doit être **assez petit** pour être obturé par colmatage ;
- Le produit doit comporter des substances ayant la capacité de boucher le défaut à un tel point que ce n'est **pas détectable** lors du test d'intégrité après utilisation (68).

Afin de faire évoluer les connaissances et d'avoir des données concrètes sur le phénomène de masquage des filtres, des essais de masquage ont été menés en collaboration entre des producteurs, des fournisseurs de filtres, des représentants de la PDA et des représentants de différents groupes de travail. Ces différents acteurs réunis en 2017 par la PDA et Biophorum constitue le consortium de Gestion des Risques Qualité de la Filtration Stérilisante ou « *Sterile Filtration Quality Risk Management (SFQRM) Consortium* ». Le protocole d'essai a été revu par les autorités réglementaires avant réalisation et publication des résultats des essais.

Le principal mécanisme pouvant entraîner l'encrassement des filtres est l'agrégation de molécules de produit et leur adsorption physique ou chimique sur la membrane du filtre. (69)

En conclusion des essais, il est établi que le masquage des défauts de filtre peut arriver dans des conditions extrêmes d'encrassement et de blocage pour un filtre de grade stérilisant. Les possibilités de masquage dépendent du procédé, du produit, des capacités du filtre et des conditions :

- Concentration de l'agent d'encrassement ;
- Combinaison de filtre et composition de la membrane ;
- Conditions de pression (compactage du gâteau en amont de la membrane filtrante). (70)

Dans un second temps, une revue des résultats obtenus par les fournisseurs de filtre lors de la validation par le test de challenge bactérien a été réalisée. Le challenge test est un test destructif dont les conditions opératoires vont comporter un test d'intégrité avant challenge test et après challenge test. Les filtres inclus dans l'étude ont été mouillés à l'aide de 518 liquides de mouillages différents (71).

La conclusion générale basée sur l'ensemble des essais de masquage et des résultats de l'exploration des données a montré que dans des conditions extrêmes, un défaut de filtre peut être masqué ou un résultat de point de bulle peut être décalé.

Ces conditions sont rares et peuvent être testées pour déterminer leur probabilité d'occurrence. Si l'évaluation de risque, comportant les tests de filtrabilité, montre un risque d'encrassement du filtre, des mesures peuvent être prises pour prévenir de l'encrassement, par exemple par des mesures de pré filtration ou une augmentation de l'aire de surface filtrante.

Le masquage de défaut par colmatage est un risque mesurable que l'on peut implémenter dans le processus de validation des filtres stérilisants (70) (71).

Les résultats du groupe de travail ont permis d'établir les bonnes pratiques pour traiter la gestion des risques qualité de la filtration stérilisante, le contrôle du procédé de filtration, et le PUPSIT (65). Ils ont également donné des éléments aux industriels lors de la revue de l'annexe 1 des BPF européennes pour supporter la présence d'exceptions à l'exigence notamment pour les systèmes avec trop peu de volume de remplissage.

Nous avons vu les motivations sous-jacentes à l'implémentation du PUPSIT ainsi que les contraintes et limites de son implémentation. Nous allons nous intéresser, dans la partie suivante, aux modalités de la mise en place du PUPSIT sur une ligne de production conventionnelle pour faire suite à la remarque d'inspection évoquée plus haut sur le PUPSIT comme une exigence réglementaire.

3. Mise en place du PUPSIT

Dans le cadre de cette thèse, nous allons étudier l'exemple de la mise en place du PUPSIT sur une ligne conventionnelle de remplissage aseptique.

3.1. Analyse de risque

3.1.1 Stratégie de déploiement et analyse de risque

Un rapport détaillant la stratégie de contrôle d'intégrité des filtres dans le cadre du déploiement du PUPSIT a été réalisé avant de démarrer le projet.

Ce rapport présente la stratégie de déploiement des tests d'intégrité en ligne des filtres hydrophiles qui sont utilisés pour la filtration stérilisante des produits remplis sur le site. La stratégie de déploiement est mise en œuvre selon le niveau de risque évalué.

Le risque est évalué pour chaque étape de la vie du filtre :

- Filtre neuf – réception ;
- Montage dans le carter ;
- Stérilisation autoclave ;
- Montage sur ligne ;
- Filtration stérilisante.

Pour chacune de ces étapes, sont analysées les défaillances potentielles, le moyen de prévention et/ou contrôle, le contrôle réalisé sur le filtre, les modalités de détection d'une défaillance.

Ce risque est évalué pour la situation actuelle sans PUPSIT (figure 29) et pour la situation souhaitée après le déploiement du PUPSIT (figure 30).

Sur cette base, une analyse de criticité détaillée par ligne de production et par produit a été menée selon les critères ci-dessous :

- **Nature de la solution** : solution aqueuse, micellaire, huileuse/gel
- **Type de filtre** : filtre près à l'emploi dans un carter à usage unique (manipulation limitée) ou filtre monté manuellement dans un carter (risque lors du montage)
- **Caractéristiques du produit** : selon les données de validation pour évaluer le risque de masquage de défaut (densité, cristallisation, viscosité, colmatage)
- **Nombre de filtre** : simple filtration ou réduction du risque par double filtration 0,22µm.

La cotation a été réalisée à l'aide du système de notation présenté à la figure 32.

Critère		SCORE
Nature de la solution	Solution aqueuse	1
	Solution micellaire	2
	Solution huileuse, gel	3
Type de filtre	Single use system ready to use	1
	Montage manuel en carter	2
Caractéristique du produit	Densité proche de 1	1
	Non visqueux	1
	Ne colmate pas	1
	Cristallise dans certaines conditions	2
	Densité non proche de 1	3
	Visqueux	3
	Colmate	3
Nombre de filtres	Double filtration 0,22µm	1
	Simple filtration	3

SCORE	Evaluation du risque
1 -6	Faible
6 - 12	Moyen
>12	Elevé

Figure 32: Cotation analyse de criticité

Le score final est obtenu par une multiplication du score obtenu pour chaque critère ce qui nous donne un score qui permet de quantifier le risque :

- **Risque faible** : score 1-6
- **Risque moyen** : 6-12
- **Risque élevé** : >12

L'analyse de criticité par atelier et par produit a permis d'établir une date de déploiement prévisionnelle. C'est à partir de cette analyse qu'il a été décidé de prioriser l'atelier de production conventionnel pour deux produits ne subissant pas de stérilisation terminale.

Une des étapes essentielles de la mise en place du PUPSIT est la détermination du liquide de mouillage à utiliser pour le mouillage du filtre avant le test d'intégrité en ligne. Ce liquide peut être de l'eau ou le produit à filtrer. Les principes de fonctionnement pour chaque liquide de mouillage seront présentés dans la partie suivante.

3.1.2 PUPSIT avec un mouillage à l'eau

La réalisation du PUPSIT à l'eau comprend les étapes suivantes que l'on peut suivre à l'aide de la schématisation d'un système PUPSIT avec mouillage à l'eau à la figure 33 :

- 1) Mise en place du montage et connexion des flexibles ;
- 2) Fermeture des vannes V1, V2 et V5 ;
- 3) Ouverture des vannes V3 et V4 ;
- 4) Mouillage du filtre à l'eau avec le volume prédéfini : l'eau qui sert pour le mouillage est collectée dans un récipient ou une poche de récupération à usage unique ;
- 5) Fermeture de la vanne d'arrivée d'eau V3 ;
- 6) Ouverture de la vanne d'arrivée de gaz (azote ou air comprimé) V1 ;
- 7) Réalisation du test d'intégrité ;
- 8) Si le test est conforme, le système est purgé de manière à éliminer l'eau de la ligne de filtration ;
- 9) Fermeture des vannes V1 et V4 ;
- 10) Ouverture de la vanne d'arrivée produit V2 et de la vanne V5 d'accès à la partie aval de la ligne de filtration ;
- 11) Purge du système ;
- 12) Démarrage du remplissage.

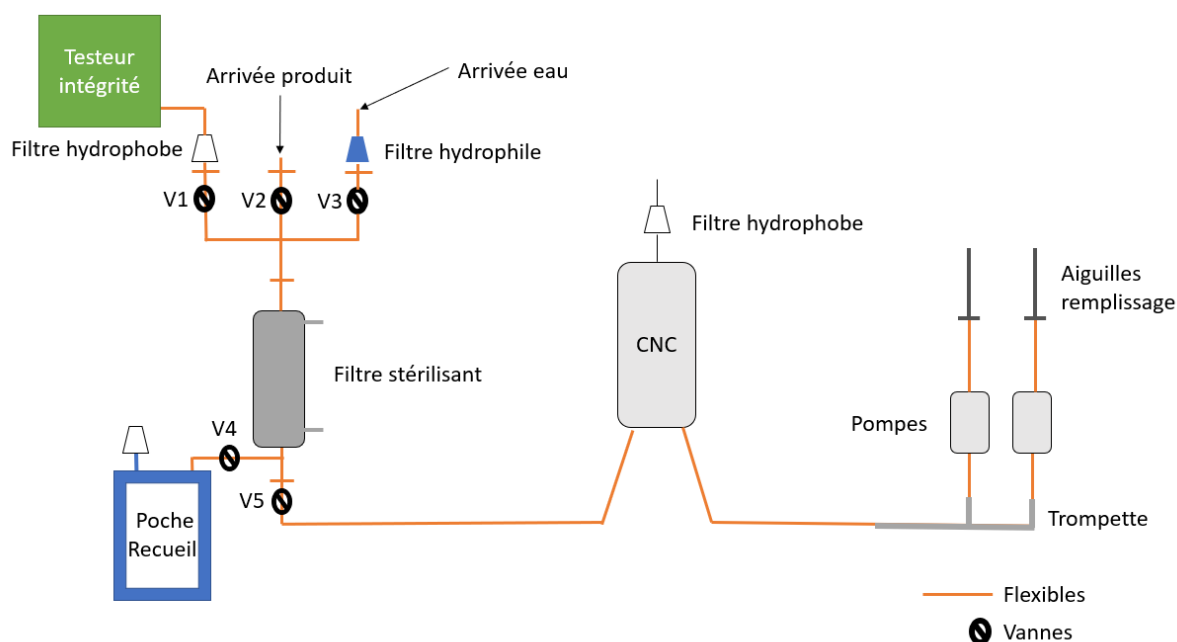


Figure 33: Représentation schématique du PUPSIT à l'eau

Les avantages et inconvénients de la réalisation d'un PUPSIT à l'eau sont présentés dans le tableau 7 (65).

Tableau 7: Avantages et inconvénients du PUPSIT à l'eau

Avantages	Inconvénients
• Colle parfaitement à la philosophie de « flaw masking » de l'annexe 1 des BPF européennes. • Valeurs de test d'intégrité standard fournies par le fournisseur de filtre • Faible coût lié au rejet du liquide de mouillage (eau stérile peu chère comparativement au produit) • Résultat du test d'intégrité connu avant la mise en contact du filtre stérilisant avec le produit (possibilité de changer le système de filtration en cas de test non conforme) • Pas de propriétés de masquage du filtre de l'eau	• Système plus complexe : beaucoup de matériel à stériliser et à assembler, plus de vannes = plus d'erreurs opérateurs possibles • Plus de filtres à tester • Coût plus élevé (filtres supplémentaires, sac de rejet gamma stérilisé) • Augmentation du temps opérateur pour réaliser les tests d'intégrité • Potentiel phénomène de dilution par la présence d'eau résiduelle dans les montages : élimination de cette eau résiduelle par purge au produit (perte potentielle de produit) ou par séchage du système

Plusieurs contraintes sont associées à l'utilisation d'eau pour le mouillage du filtre :

- **L'apport d'eau** dans un environnement stérile est contraignant : l'eau doit être stérilisée ou filtrée sur un filtre hydrophile de 0,22µm avant d'arriver sur le filtre stérilisant.
- Il est nécessaire de prendre en compte la contrainte de l'**évacuation de l'eau** après son utilisation pour le mouillage. Il est possible d'utiliser un contenant réutilisable pour collecter cette eau ou bien d'avoir recours à des poches de recueil à usage unique. Les poches de recueil engendrent un surcout mais sont une option plus sécuritaire, il n'y a pas de risque d'épandage d'eau dans le bloc stérile et elles sont munies d'un filtre évent pour filtrer l'air extérieur.
- Après la purge des montages, il reste un **volume résiduel** au niveau du filtre qui ne peut pas être évacué. Ce volume d'eau peut engendrer une **dilution** du produit lorsque celui-ci est introduit dans la ligne de filtration. Il est nécessaire de prendre en compte cet élément lors du calcul du volume de purge nécessaire au démarrage du remplissage. Une autre solution pour évacuer cette eau résiduelle est la réalisation d'un **séchage** du montage, il faut cependant être vigilant aux tolérances du système à la pression. En effet, afin de sécher le système, il faut appliquer une pression de séchage supérieure à la pression de point de bulle afin de libérer le liquide retenu dans les pores de la membrane mouillée. Cette augmentation de la pression doit être compatible avec les contraintes applicables au filtre et aux tuyaux du système de filtration (en particulier si ce sont des tuyaux flexibles) (65).

- Un plus grand **nombre de filtres** est nécessaire que lors d'un mouillage avec le produit, ces filtres doivent être gérés et contrôlés avant et après leur utilisation de manière à garantir leur intégrité.
- Le **nombre de manipulations** nécessaire à la réalisation du test après un mouillage à l'eau est plus important que pour un mouillage au produit, la durée de l'opération est donc plus importante et à prendre en compte dans le nouveau temps de mise en place des montages avant le début de la production.

3.1.3 PUPSIT avec un mouillage au produit

La réalisation du PUPSIT au produit comprend les étapes suivantes que l'on peut suivre à l'aide de la schématisation d'un système PUPSIT avec mouillage au produit à la figure 34 :

- 1) Mise en place du montage et connexion des flexibles ;
- 2) Fermeture de la vanne V1 ;
- 3) Ouverture de la vanne d'arrivée de produit V2 ;
- 4) Mouillage du filtre au produit avec le volume de mouillage prédéfini ;
- 5) Fermeture de la vanne d'arrivée de produit V2 ;
- 6) Ouverture de la vanne d'arrivée de gaz (air comprimé ou azote) V1 ;
- 7) Réalisation du test d'intégrité ;
- 8) Si le test est conforme, fermeture de la vanne V1 ;
- 9) Purge du système ;
- 10) Démarrage du remplissage.

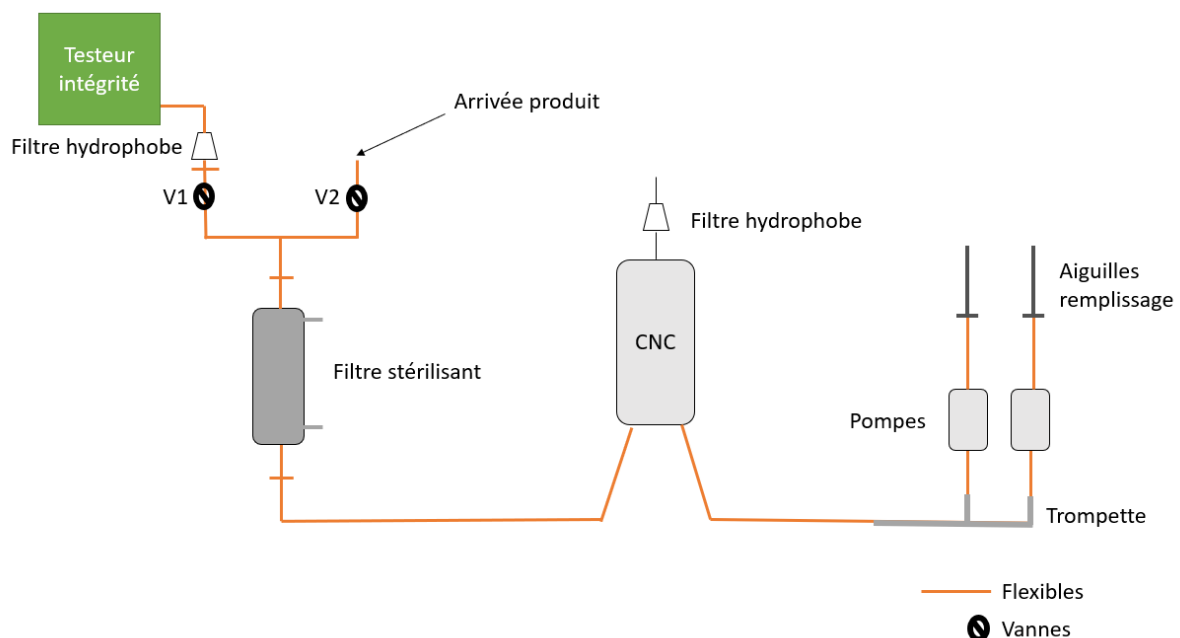


Figure 34: Représentation schématique du PUPSIT au produit

Les avantages et inconvénients de la réalisation d'un PUPSIT au produit sont présentés dans le tableau 8 (65).

Tableau 8: Avantages et inconvénients du PUPSIT au produit

Avantages	Inconvénients
• Peu de matériel à stériliser et à assembler • Coûts réduits (moins de filtres, pas de poche) • Moins de manipulations = moins de risques • Impact minimisé sur l'opération de production, temps opérateur très court (20 min pour un filtre produit hydrophile) • Pas de phénomène de dilution : peu ou pas de pertes de produit, pas de purge additionnelle à prévoir	• Ne colle pas parfaitement à la philosophie de « flaw masking » de l'annexe 1 des BPF puisque l'on fait passer du produit mais autorisé par la réglementation comme les quantités de produit utilisées pour le mouillage sont faibles (la probabilité de provoquer un masquage pour ces quantités est très faible). • Nécessité de développer valeurs de test au produit si non développé sur le procédé existant • Mise en contact de la solution avec le système, changement complexe à réaliser en cas de non-conformité du filtre.

Afin de déterminer le choix du liquide de mouillage, nous avons réalisé une analyse d'impact pour chacune des options afin de faire une balance bénéfice risque pour chacune des solutions. Cette analyse sera présentée dans la partie suivante.

3.2. Analyse d'impact

La sélection d'un fluide pour réaliser le mouillage de la membrane du filtre avant la réalisation du PUPSIT aura un impact significatif sur la conception et les opérations à réaliser (comme présenté sur la partie précédente avec les différences entre les méthodologies de mouillage à l'eau ou au produit). Les liquides de mouillage couramment utilisés pour le mouillage du filtre en amont de la réalisation du PUPSIT peuvent être l'eau ou le produit. Dans la plupart des cas, le choix de ce liquide de mouillage est une décision complexe pour laquelle de nombreux éléments doivent être considérés, cependant, dans certains cas, le choix de l'eau comme liquide de mouillage s'impose comme la seule solution possible :

- 1) Lorsqu'un mouillage ou une purge à l'eau est **déjà nécessaire** dans le procédé (réduction de relargables par exemple) ;
- 2) Lorsque certains composants du produit possèdent des propriétés **surfactantes** qui pourrait compliquer le test d'intégrité du filtre et influencer sur les valeurs de test d'intégrité en fonction du volume de solution mis en œuvre ;
- 3) Lorsque le procédé est encore en cours de **développement** et que la composition et les propriétés de la solution à stériliser peuvent être amenées à changer ;
- 4) Lorsqu'il y a un risque **d'impact néfaste** sur la solution par application des conditions de test ou du gaz de test. (65)

L'atelier concerné par la mise en place du PUPSIT permet de produire deux produits par remplissage aseptique que nous nommerons produit A et produit B dont les caractéristiques de procédé de filtration stérilisante, comme le nombre de filtres stérilisants et les tests (FF ou BP) utilisés pour déterminer l'intégrité avant ou après utilisation, sont présentées dans le tableau 9.

Il est à noter que pour ces deux produits, les caractéristiques de la solution ne sont pas discriminantes pour déterminer l'utilisation de l'eau ou du produit comme liquide de mouillage.

Tableau 9: Caractéristiques procédé filtration produit A et produit B

	Produit A	Produit B
Nombre de filtres stérilisants	1	2
Test d'intégrité avant utilisation	FF + BP Liquide de mouillage : eau	BP Liquide de mouillage : eau
Test d'intégrité après utilisation	FF + BP Liquide de mouillage : eau	BP Liquide de mouillage : produit

Par soucis de respect du délai imparti pour mise en place du PUPSIT à la suite de la remarque d'inspection ANSM et afin de limiter l'impact en termes de validation du procédé et de coût de mise en place, il a été décidé de partir sur la réalisation d'un PUPSIT manuel. La réalisation d'un PUPSIT manuel apporte des contraintes mais limite l'impact et la complexité de mise en place sur un procédé déjà existant.

Afin de prendre une décision sur le liquide de mouillage à utiliser pour chacun des produits, une analyse d'impact a été menée. L'objectif de cette évaluation est d'analyser les risques d'altération ou de contamination de la production, en lien avec l'intégration du PUPSIT. Cette analyse a été menée pour chaque option de mouillage de la membrane, à l'eau ou au produit. Le risque résiduel pour chaque étape identifiée est comparé.

Le périmètre de cette analyse de risque comporte toutes les étapes du procédé allant de l'assemblage de la ligne de filtration et la mise en place des montages sur la ligne au test d'intégrité après utilisation (en fin de filtration).

Une équipe pluridisciplinaire composée d'un représentant du service validation, assurance qualité opérationnelle, support production et des consultants externes, ont procédé à l'évaluation des risques de contamination physique, chimique ou microbiologique du produit.

3.2.1 Identification des risques

L'analyse de risque a été menée selon la méthode d'Analyse des Modes de Défaillance, de leur Effets et Criticité (AMDEC) ou *Failure Mode Effects Analysis (FMEA)*.

Cette méthode attribue un score à chaque mode de défaillance identifié en fonction de sa conséquence sur le procédé ou le produit. Elle permet de prendre en compte les actions pour réduire le risque ou mettre sous contrôle les défaillances potentielles. La méthode AMDEC permet de décomposer des procédés complexes en étapes gérables pour procéder à leur analyse. C'est un outil puissant pour synthétiser les modes de défaillance, leurs causes et leurs effets probables. (72)

Pour chaque étape du procédé, l'action associée est décrite, puis le risque de défaillance est identifié.

3.2.2 Cotation des risques

La cotation du risque se fait ensuite selon trois facteurs : la gravité (tableau 10), la probabilité (tableau 11) et la détectabilité (tableau 12).

Tableau 10: Echelle d'évaluation de la gravité

1 Non signification	2 Significatif	3 Majeur	4 Critique
Pas d'impact sur le produit : pas d'altération du produit/ pas de contamination croisée/ pas de contamination microbiologique/ pas de contamination par endotoxines Pas d'impact sur le patient : efficacité optimale du produit pour le patient Pas d'impact industriel : pas de problème de production pour le site	Impact significatif sur le produit : Contamination microbiologique du produit par un agent filtrable	Impact majeur sur le produit : Altération du produit (réduction ou inactivation de l'efficacité du produit) Impact majeur sur le patient : Inefficacité du produit pour le patient Impact industriel majeur : retard du planning de production	Impact critique sur le produit : contamination par un agent non filtrable/ contamination par endotoxine/ contamination croisée Impact critique sur le patient : contamination par un agent microbiologique après la stérilisation du filtre/ risque infectieux/ risque d'effet indésirable

Tableau 11: Echelle d'évaluation de la probabilité

1 Extrêmement rare	2 Rare	3 Possible	4 Presque certain ou inconnu
Il est difficile d'imaginer que ce risque pourrait arriver	La probabilité que ce risque apparaisse est très faible	La probabilité que ce risque survienne est significative	Ce risque surviendra de manière systématique

Les facteurs de Gravité (G), Probabilité (P) sont nécessaires pour calculer le Risque Initial (R.I.) obtenu par la formule suivante : $G \times P = R.I.$

Plus le R.I. est élevé, plus le risque est élevé. La valeur limite du R.I. est fixée à 12. Si $R.I. \geq 12$, des actions sont obligatoirement à mettre en place pour diminuer le risque.

Le critère de détectabilité peut également être évalué dans certains cas pour diminuer le risque.

Tableau 12: Echelle d'évaluation de la détectabilité

1 Aisée	2 Probable	3 Certaine	4 Impossible
Méthode de contrôle (automatique ou humaine) permet de découvrir la défaillance dans 100% des cas	Grande probabilité de détection de la défaillance par la méthode de contrôle en place (automatique ou humaine)	Possible que la méthode de contrôle (automatique ou humaine) ne permette pas de détecter la défaillance	Aucune méthode de contrôle (automatique ou humaine) ne permet de détecter la défaillance

Les facteurs de Gravité (G), Probabilité (P) et Détectabilité (D) sont alors nécessaires pour le calcul du Nombre de Priorisation du Risque ou *Risk Priority Number* (R.P.N.) obtenu par la formule suivante : $G \times P \times D = R.P.N.$

La valeur limite du R.P.N est fixée à 12. Si $R.P.N. \geq 12$, des actions sont obligatoires pour diminuer le risque.

3.2.3 Conclusion de l'analyse

Afin de comparer les deux méthodologies, seules les étapes différenciantes sont prises en compte. Les étapes présentant un niveau de risque similaire sont exclues de l'analyse.

La complexité d'un système de PUPSIT à l'eau va impliquer des étapes nouvelles qui sont spécifiques à cette méthode. Le système comporte des éléments constitutifs supplémentaires par rapport à un système au produit qui nécessitent d'être assemblées et/ ou testés avant et après la production (pour les filtres hydrophiles ou hydrophobes permettant l'approvisionnement en utilités – gaz ou liquide de mouillage).

En conclusion de cette analyse d'impact, la comparaison des scores montre un niveau résiduel de risque de contamination du produit plus important lors de la réalisation d'un mouillage de la membrane du filtre avec de l'eau comme liquide de mouillage. Les risques d'un mouillage à l'eau comportent :

- Une potentielle contamination de l'environnement par de l'eau la préparation de son transfert depuis son contenant de stockage et le filtre sous flux laminaire ;
- Une dilution du produit lors du remplissage de la cuve à niveau constant des suites de la présence d'eau résiduelle dans le boîtier ou la membrane du filtre.

Au vu de cette analyse, il a été décidé de réaliser une mise en place du PUPSIT avec un mouillage au produit pour cette ligne de remplissage aseptique. A noter que comme précisé sur le tableau 9, le filtre stérilisant du produit A ne subissait pas de mouillage au produit au cours du contrôle de son intégrité avant mise en place du PUPSIT, le développement de valeurs de test d'intégrité de la membrane au produit est donc un aspect à prendre en compte dans la gestion du changement qualité.

3.3. Gestion du changement dans le système qualité

Tout changement au niveau d'un atelier doit faire l'objet d'une demande au Service Qualité qui sera ensuite étudiée lors d'un comité de change control constitué d'un collège multi compétences, puis approuvée.

Un changement se définit comme tout évènement, modifiant durablement l'environnement du produit, du système de l'organisation et/ ou constituant une évolution vis-à-vis d'un référentiel approuvé susceptible d'influencer :

- La qualité, la sécurité ou l'efficacité d'un ou plusieurs produits,
- L'information produit (Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP), notice, étiquetage ou équivalent),
- Un processus réglementé,
- L'organisation.

Le change control est le système de gestion des changements qui permet d'évaluer les changements et les impacts et de tracer les actions nécessaires à la mise en œuvre des changements pour le maintien des états validés du personnel, des installations, des systèmes, des équipements ou des procédés.

L'objectif de la maîtrise des changements (change control ou CC) est d'avoir une approche structurée pour :

- Identifier les demandes de changement ;
- Evaluer les impacts direct ou indirect sur la qualité des produits, l'aspect réglementaire, la reproductibilité des procédés, l'environnement, l'hygiène, la sécurité ;
- Assurer la traçabilité de ces changements et du plan d'action défini ;
- S'assurer que les actions nécessaires à la mise en œuvre de ces changements ont été réalisées.

Cette approche est une obligation réglementaire, le processus fait l'objet d'inspections par les autorités (ANSM, FDA, etc.). Les différentes étapes du processus sont détaillées sur la figure 35.

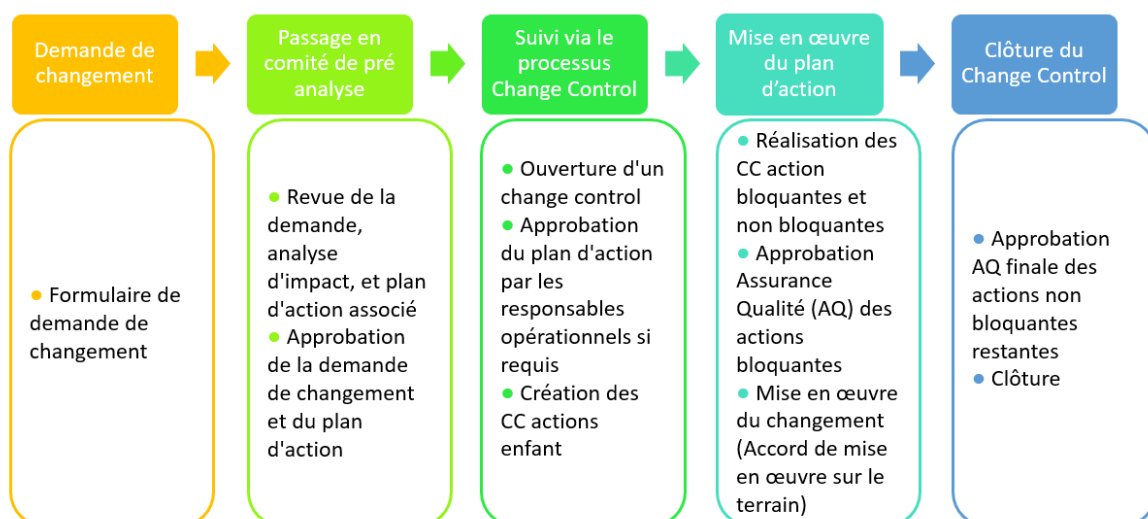


Figure 35: Etapes du processus de change control

Le formulaire de demande de change control comporte 2 volets :

- Volet n°1 : Demande de changement et analyse d'impact :
 - Description du changement :
 - Site/atelier concerné ;
 - Titre ;
 - Date de mise en œuvre ;
 - Equipement/ procédé/ composant/ produit ;
 - Etat initial/ Etat souhaité ;
 - Raison de la demande et objectifs ;
 - Date de mise en œuvre et identification claire de la contrainte associée : engagements inspections – audits/ production/ production après arrêt technique... ;
 - Liste des documents attachés.
 - Analyse d'impact :
 - Identification des impacts potentiels tous périmètres confondus et effets délétères potentiels avec les actions à mettre en place ;
 - Justification de la non mise en place d'actions si nécessaire.
- Volet n°2 : Conclusion du comité d'évaluation des demandes de changements et définition du plan d'action.

Tous les impacts identifiés doivent être couverts par une action sauf si une justification est apportée.

Le change control est enregistré selon une codification particulière, chacun fait l'objet de l'attribution d'une référence unique.

CC-XX-0000

CCA-XX-0000

AVE-XX-0000

Avec :

- CC : Acronyme « change control »
- CCA : Acronyme « change control action »
- AVE : Avenant
- XX : Année
- 0000 : Numéro chronologique

La demande de changement est préparée par le demandeur puis dans un second temps, elle passe en comité hebdomadaire pour évaluer la demande.

Le suivi est assuré via le processus de change control, puis le plan d'action (tableau 13) est mis en œuvre. Lorsque l'ensemble des actions bloquantes ont été effectuées, le change control peut être implémenté. La réalisation de l'ensemble des actions bloquantes et non bloquantes est requise pour procéder à la clôture du change control.

Tableau 13: Plan d'action pour le produit A

N° action	CC action	Type de CC action	Service responsable de l'action
1	Validation paramètres d'intégrité au produit A	Bloquante	Projet et procédé/ Fournisseur de filtre
2	QI QO montage PUPSIT	Bloquante	Validation
3	QP stérilisation charge matériel remplissage/PUPSIT	Bloquante	Validation
4	Réalisation de test de fumée (smoke studies) pour évaluer l'impact sur l'aéraulique de l'atelier	Bloquante	Validation
5	Validation paramètres d'intégrité au milieu de culture pour simulation de procédé aseptiques	Bloquant	Projet et procédé/ Fournisseur de filtre
6	Mise à jour du dossier de lot de simulation de procédé aseptique	Bloquante	Validation
7	Réalisation de simulation de procédé aseptique	Bloquante	Validation
8	Mise à jour documentation production	Bloquante	Production
9	Mise à jour du dossier de lot de production	Bloquante	Production
10	Intégration des éléments du PUPSIT soumis à la maintenance préventive dans le planning de maintenance préventive et dans le logiciel de gestion de la maintenance	Bloquant	Maintenance
11	Mise à jour du plan directeur de validation	Non bloquante	Validation
12	Validation nettoyage matériel PUPSIT	Non bloquante	Validation
13	Mise à jour du Document Unique d'Evaluation des Risques sécurité (DUEP sécurité)	Non bloquant	Sécurité Santé Environnement (SSE)
14	Mise en stock des consommables nécessaires à la réalisation du PUPSIT	Non bloquant	Achats
15	Evaluation de l'impact sur le temps de cycle et la capacité de l'atelier	Non bloquant	Supply
16	Mise à jour des gammes opératoires et de la nomenclature des produits	Non bloquant	Méthode
17	Analyse de l'impact financier de la mise en place du PUPSIT	Non bloquant	Finance

3.4. Technologies

Afin d'élaborer la meilleure stratégie possible qui s'adapte aux contraintes de design d'atelier et de praticité face aux produits concerné par l'implémentation du PUPSIT il a été indispensable de prendre contact avec les opérateurs qui seront en charge de la réalisation du PUPSIT. La conception du système s'est réalisée en collaboration étroite avec les équipes opérationnelles de production : chefs d'équipes d'atelier, opérateurs, conducteurs de ligne, préparateurs, autoclaveurs, de manière à élaborer une solution qui puisse être le meilleur compromis entre un requis réglementaire et une utilisation au quotidien. Le concept de ce montage est ensuite validé par l'assurance qualité du site.

Nous allons maintenant voir les différents types de montages envisageables pour réaliser le PUPSIT.

3.4.1 Système à usage unique

Le montage du PUPSIT peut se présenter sous la forme d'un montage prêt à l'emploi, fourni préassemblé et stérile (stérilisé par gamma irradiation). L'ensemble des éléments constitutifs de ce montage (filtres, connexions, vannes, poches de recueil) sont à usage unique (figure 36).



Figure 36: Ligne de transfert à usage unique - Source Sartorius (73)

Un exemple de système PUPSIT à usage unique est présenté en figure 37. Ce système permet la réalisation d'un PUPSIT manuel et comporte les éléments suivants :

- Un **connecteur stérile** : pour réaliser la connexion du système de filtration avec la ligne de remplissage ;
- Des **tuyaux flexibles et connexions** : ces tuyaux et connecteurs doivent être compatibles avec le produit et supporter la pression du test d'intégrité ;
- Des **vannes à manchon** : vannes dans lesquelles sont insérés les tuyaux flexibles, pour contrôler la fermeture de ces vannes, elles vont pincer les flexibles (HV-01 à HV-06) ;
- Des **filtres** :
 - FLT-01 : le filtre stérilisant faisant l'objet du PUPSIT ;
 - FLT-02 : un filtre hybride qui a des propriétés à la fois hydrophobes et hydrophiles ;
 - FLT-03 : un filtre hydrophobe (de grade stérilisant) qui va permettre de filtrer l'aération du liquide dans le boîtier du filtre ;
 - FLT-04 : un filtre hydrophobe (de grade stérilisant) qui va permettre d'assurer la stérilité du gaz de test.

Dans cette configuration, les étapes de test sont les suivantes :

- 1) **Purge** de l'air du système (par le filtre FLT-03 et la poche d'aération) ;
- 2) **Mouillage** de la membrane du filtre avec le produit, dans cet exemple le liquide de mouillage est rejeté en passant par le filtre hybride FLT-02 ;
- 3) Réalisation du **test PUPSIT** ;
- 4) **Evacuation du gaz de test** du système (par le filtre hybride FLT-02) ;
- 5) En fin de production, test de l'ensemble des filtres associés à la réalisation du PUPSIT. (65)

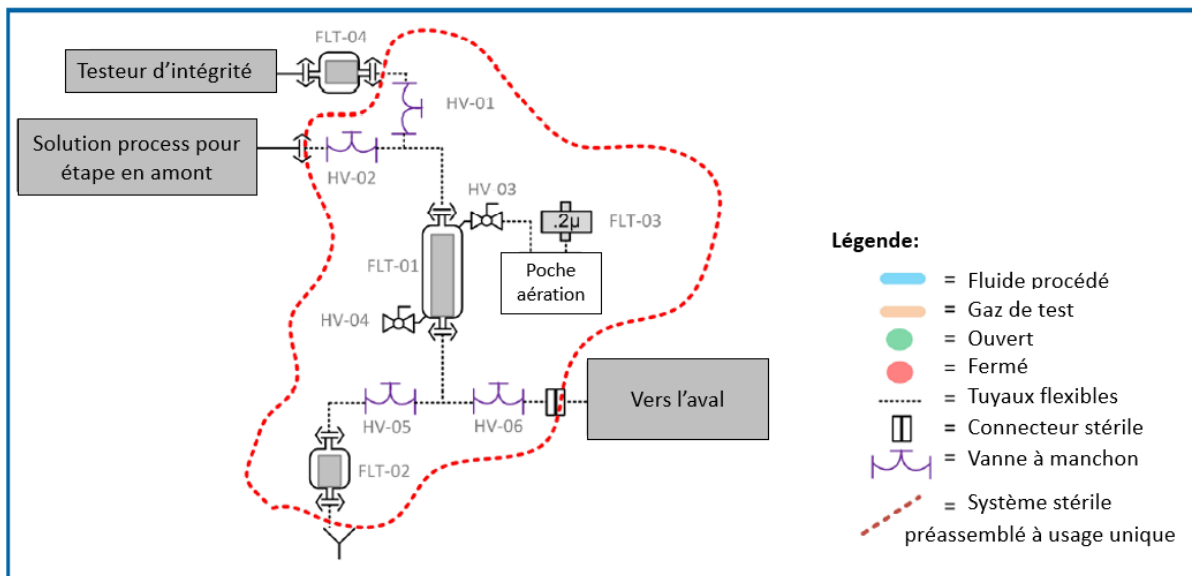


Figure 37: Schématisation d'un exemple de système à usage unique (65)

- Avantages :
 - Facilité d'utilisation ;
 - Pas de nécessité de stérilisation du système par le site ;
 - Conception en collaboration avec le fournisseur de filtre, solution pouvant comporter des détrompeurs ;
 - Connecteurs stériles pour assurer une connexion aseptique entre la ligne de filtration et la ligne de remplissage ;
 - Compatible avec les ports à Double Porte pour Transfert Etanche (DPTE) des RABS ou isolateur.
- Inconvénients :
 - Surcoût : nécessité d'achat d'un système neuf pour chaque remplissage ;
 - Nécessité d'acheminer le système par les sas matériel, demande une bonne maîtrise des entrants pour garantir le maintien de la stérilité du montage.

Du fait du fort impact sur le coût de fabrication du produit, la solution d'un système à usage unique n'a pas été retenue dans notre cas.

3.4.2 Système stérilisable

Dans notre cas, la ligne de filtration avant implémentation du PUPSIT était stérilisée par autoclavage, nous avons donc souhaité respecter cette approche lors de la conception du montage PUPSIT.

Deux produits et donc deux lignes de production sont concernés par l'ajout d'un système permettant de tester l'intégrité du filtre stérilisant en ligne au sein de l'atelier de production conventionnelle.

La figure 38 montre la disposition d'une ligne de filtration classique avant l'ajout des pièces qui permettent la réalisation du PUPSIT.

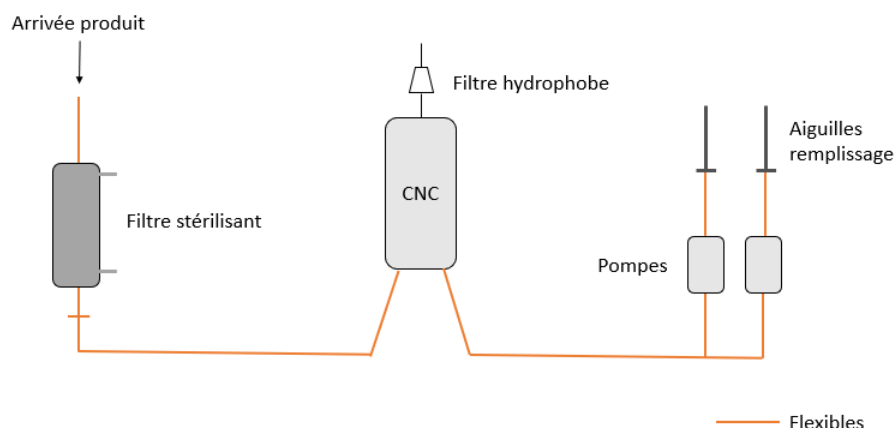


Figure 38: Représentation d'une ligne de filtration

Une ligne de filtration classique comprend les éléments suivants :

- Un **flexible** entre la cuve de préparation et le filtre stérilisant ;
- Un ou deux **filtres stérilisants** ;
- Une **cuve à niveau constant** (qui a un rôle de cuve tampon) munie d'un **filtre hydrophobe de grade stérilisant** (0,22 μm) ;
- Une **trompette de répartition** qui permet de séparer le flexible d'arrivée en plusieurs flexibles pour alimenter les pompes de remplissage ;
- Les **flexibles** trompette/pompes ;
- Les **pompes** ;
- Les **flexibles** pompes/ aiguilles ;
- Les **aiguilles de remplissage**.

Les filtres et les flexibles sont des éléments à usage unique. Les éléments réutilisables feront l'objet d'une validation de leur nettoyage et de leur stérilisation.

La connexion de ces différents éléments va se faire via l'utilisation de connexions raccords Clamp qui sont très utilisées dans l'industrie pharmaceutique et permettent d'assurer une parfaite étanchéité entre les tuyauteries. (74)

Un raccord clamp inox (figure 39) se compose de 2 ferrules identiques, d'un joint (en éthylène-propylène-diène monomère (EPDM), Viton, PTFE ou silicone) et d'un collier de serrage (tableau 14). L'étanchéité du raccord est obtenue par compression du joint entre les 2 ferrules (75).

Lors de la conception du montage, il est indispensable de s'assurer que l'ensemble des éléments respecte les **contraintes** de l'industrie pharmaceutique, sont compatibles avec le **procédé** (résistance aux contraintes des pression notamment) et sont compatibles avec le **produit** (pas d'extractibles ou relargables incompatibles avec le déroulement du procédé).



Figure 39: Raccord clamp (75)

Tableau 14: Eléments constitutifs d'un raccord Clamp



Ferrule clamp (74)



Joint clamp (75)



Collier clamp (75)

- **Conception du montage pour le produit A**

Le **produit A** a une ligne de filtration qui comporte un filtre stérilisant. Le test du filtre stérilisant après le remplissage constitue en une association d'un test de débit de diffusion et d'un test de point de bulle après un mouillage à l'eau. Afin de réaliser le PUPSIT au produit, une validation de paramètres de test au produit est donc nécessaire.

Afin de réaliser le PUPSIT, il est nécessaire de prévoir l'ajout de différents éléments (figure 40) :

- Une **pièce inox** comportant deux **vannes** qui sert de jonction entre l'arrivée du produit et du gaz de test et le filtre stérilisant ;
- Une **pièce inox munie d'une vanne** en aval du filtre stérilisant pour créer une contre pression lors de la réalisation du mouillage du filtre
- Un **flexible** pour relier l'azote du testeur d'intégrité à la pièce inox ;
- Un **filtre hydrophobe** pour filtrer l'azote sur un filtre 0,22µm au préalable de sa mise en contact avec le filtre stérilisant.
- Les éléments sont connectés via l'utilisation de **raccords clamp**.

Les autres éléments de la ligne de filtration restent les mêmes que ceux de la ligne de filtration classique.

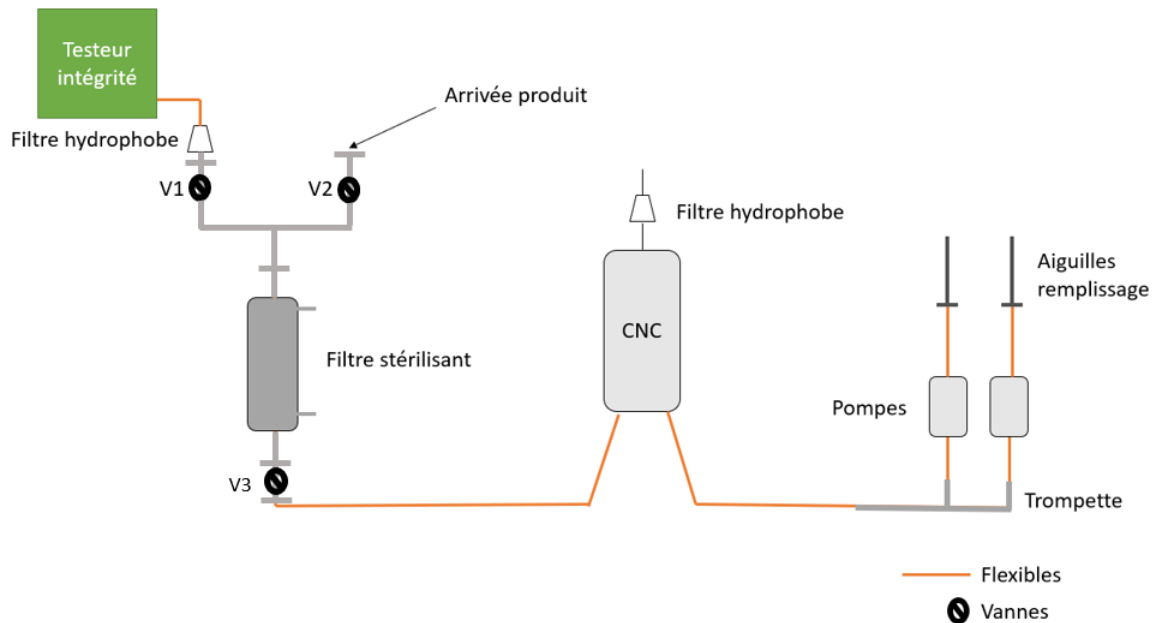


Figure 40: Montage PUPSIT du produit A

Dans cette configuration, les étapes de test sont les suivantes (toutes les vannes sont fermées en position de départ) :

- 1) **Mise en place** du montage et **connexion** des flexibles ;
- 2) **Purge des filtres** : l'air du filtre stérilisant (*ouverture V2*) est chassé par la purge haute des filtres stérilisants ;
- 3) **Mouillage des filtres** au produit avec le volume de mouillage prédéfini (*ouverture V3, V2 reste ouverte*), le liquide de mouillage est acheminé vers la CNC ;
- 4) **Réalisation du PUPSIT** (*fermeture de l'arrivée produit V2 et ouverture de l'arrivée de gaz de test V1 ; V3 reste ouverte pour prise à l'air dans la CNC*)
- 5) **Démarrage du remplissage** (*fermeture de V1, ouverture de V2 ; V3 reste ouverte*) ;
- 6) En fin de production, test de l'ensemble des filtres associés à la réalisation du PUPSIT.

- **Conception du montage pour le produit B**

Le **produit B** a une ligne de filtration qui comporte 2 filtres en série qui sont tous les deux déclarés stérilisants dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché (AMM). Le test du filtre stérilisant après le remplissage consiste en un point de bulle après un mouillage au produit. Le PUPSIT sera réalisé au produit sur les deux filtres sans nécessiter une nouvelle validation des paramètres de test.

Afin de réaliser le PUPSIT, il est nécessaire de prévoir l'ajout de différents éléments (figure 41) :

- Une **pièce inox** comportant **deux vannes** pour permettre l'arrivée du produit et du gaz de test sur le premier filtre stérilisant ;
- Un **flexible** pour relier l'azote du testeur d'intégrité à la pièce inox ;
- Un **filtre hydrophobe** pour filtrer l'azote sur un filtre 0,22µm au préalable de sa mise en contact avec le filtre stérilisant.
- Un **flexible** pour relier l'azote du testeur d'intégrité à la pièce inox ;
- Un **filtre hydrophobe** pour filtrer l'azote sur un filtre 0,22µm au préalable de sa mise en contact avec le filtre stérilisant.
- Une seconde **pièce inox** munie de **trois vannes** de pour permettre de réaliser le test du deuxième filtre avec une vanne pour l'arrivée de produit entre les deux filtres, une vanne pour l'arrivée du gaz de test et une vanne pour permettre le rejet de produit dans une poche de rejet lors de la réalisation du test du premier filtre ;
- Une **poche de rejet** de petit volume pour permettre une aération du système lors de la réalisation du test du premier filtre stérilisant, cette poche est munie d'un filtre hydrophobe.
- Une **pièce inox** comportant **une vanne** pour relier le deuxième filtre stérilisant au flexible allant vers la cuve à niveau constant.
- Les éléments sont connectés via l'utilisation de **raccords clamp**.

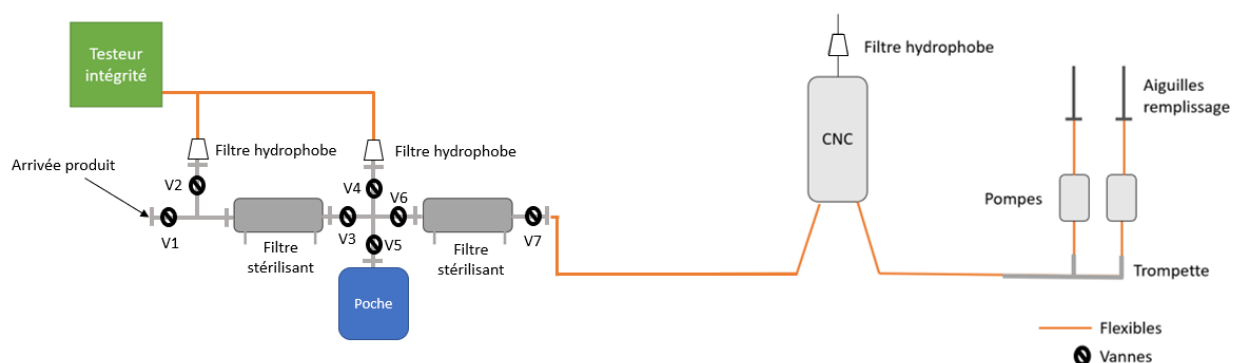


Figure 41: Montage PUPSIT du produit B

Le montage pour réaliser le test PUPSIT de deux filtres stérilisants est plus complexe et comporte plus d'éléments que le montage présenté pour le produit A. De par l'encombrement représenté par un système à deux filtres et afin d'optimiser l'ergonomie de manipulation pour les opérateurs, les filtres sont disposés à l'horizontale tout en respectant une pente descendante pour favoriser le mouillage.

Dans cette configuration, les étapes de test sont les suivantes (toutes les vannes sont fermées en position de départ) :

- 1) **Mise en place** du montage et **connexion** des flexibles ;
- 2) **Purge des filtres** : l'air des filtre 1 (*ouverture V1*) et filtre 2 (*ouverture V1, V3 et V6*) est chassé par la purge haute des filtres stérilisants ;

- 3) **Mouillage des filtres** au produit avec le volume de mouillage prédéfini (*ouverture V1, V3, V6 et V7*), le liquide de mouillage est acheminé vers la CNC ;
- 4) **Réalisation du PUPSIT** sur le filtre le plus proche du remplissage (*V1 et V3 fermées, ouverture de V4 ; V6 et V7 restent ouvertes*) ;
- 5) **Réalisation du PUPSIT** sur le deuxième filtre (*fermeture V4, ouverture de V2 et V5 ; V3, V6 et V7 restent ouvertes*), le reliquat de mouillage du filtre est évacué dans la poche de recueil ;
- 6) **Démarrage du remplissage** (*fermeture V2 et V5, ouverture de V1 ; V3, V6 et V7 restent ouvertes*) ;
- 7) En fin de production, test de l'ensemble des filtres associés à la réalisation du PUPSIT.

3.4.3 Système en place

Un système en place va comporter une tuyauterie en dur en acier inoxydable qui devra faire l'objet d'un nettoyage en place et une stérilisation en place. Ces systèmes sont à prévoir lors de la conception d'une ligne et représentent un investissement très important pour une ligne déjà en place ne comportant pas déjà des systèmes validés de nettoyage et de stérilisation en place.

Un exemple de système PUPSIT en place est présenté en figure 42.

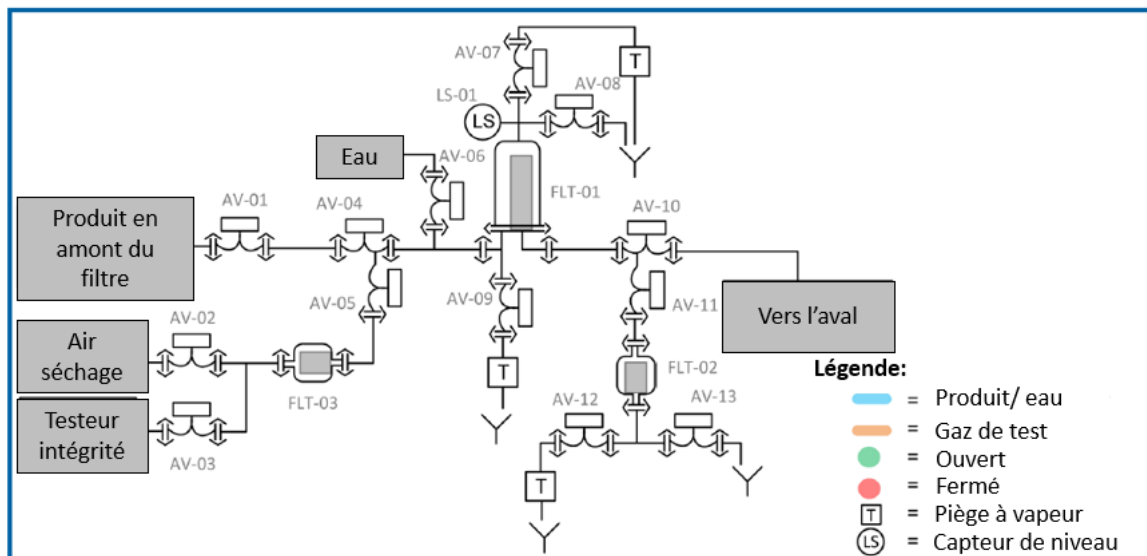


Figure 42: Schématisation d'un exemple de système en dur automatisé (65)

Il s'agit d'un système automatisé permettant de réaliser un mouillage à l'eau du filtre stérilisant qui comporte les éléments suivants :

- Des **tuyaux et connexions en dur** : ces tuyaux et connecteurs sont constitués d'inox 316L et sont compatibles avec un nettoyage et un séchage en place ;
- Des **vannes automatiques à membrane** : la membrane est en contact direct avec le produit ;

- **Des filtres :**

- FLT-01 : le filtre stérilisant faisant l'objet du PUPSIT intégré dans son boîtier inox réutilisable (AV-01 à AV-013) ;
- FLT-02 : un filtre hybride qui a des propriétés à la fois hydrophobes et hydrophiles ;
- FLT-03 : un filtre hydrophobe (de grade stérilisant) qui va permettre de filtrer l'aération du liquide dans le boîtier du filtre ;
- FLT-04 : un filtre hydrophobe (de grade stérilisant) qui va permettre d'assurer la stérilité du gaz de test.

Dans cette configuration, les étapes de test sont les suivantes :

- 1) **Purge de l'air du système** : alimentation en eau (AV-06) pour remplacer l'air dans le filtre), le capteur de niveau détecte lorsque l'eau quitte le boîtier du filtre, une petite quantité d'eau est mise en rejet (AV-08) ;
- 2) **Mouillage de la membrane du filtre** : eau utilisée pour réaliser le mouillage du filtre FLT-01 (AV-06), elle est ensuite rejetée après filtration par le filtre hybride FLT-02 (AV-11 et AV-13) ;
- 3) **Réalisation du test PUPSIT** : arrivée du gaz de test filtré par le filtre hydrophobe FLT-03 (AV-03 et AV-05), le système est aéré par le filtre FLT-02 (AV-11 et AV-13) ;
- 4) **Séchage du système** : pour éliminer les résidus d'eau, l'air de séchage est filtré par FLT-03 (AV-02 et AV-05) puis acheminé à travers le filtre stérilisant FLT-01 puis le filtre hybride FLT-02 (AV-11 et AV-13)
- 5) **Purge du système** : alimentation en produit (AV-01 et AV-04) pour remplacer le gaz de test, détection par capteur de pression lorsque le produit quitte le boîtier du filtre, une petite quantité de produit est mise en rejet (AV-08) ;
- 6) **Début du remplissage** : alimentation de la ligne de remplissage pour démarrer la production (AV-10) ;
- 7) En fin de production, test de l'ensemble des filtres associés à la réalisation du PUPSIT. (65)

• Avantages :

- L'automatisation du système permet une très bonne fiabilité et reproductibilité de la réalisation du test car on s'affranchit de manipulations manuelles par les opérateurs et donc d'erreurs humaines potentielles ;
- Système envisageable pour la mise en place du PUPSIT en isolateur ;

• Inconvénients :

- Forte complexité du système ;
- Changement du filtre stérilisant très complexe en cas de non-conformité détectée lors d'un test PUPSIT non conforme (nécessité de réaliser un nouveau nettoyage et une nouvelle stérilisation du système) ;
- Forte complexité de validation ;
- Investissement important pour une ligne déjà en place.

3.4.4 Contraintes techniques du secteur pharmaceutique

La conception de pièces à usage multiple dans l'industrie pharmaceutique doit prendre en compte plusieurs contraintes, notamment les matériaux utilisés, les techniques de traitement à appliquer et les considérations de drainabilité du système lors de sa conception.

Pour procéder au façonnage des pièces du système PUPSIT, les contraintes et exigences sont détaillées dans le cahier des charges fourni au fournisseur pour leur réalisation.

- **Matériaux**

Les aciers inoxydables sont très fréquemment utilisés dans l'industrie pharmaceutique en raison de leur forte résistance à la corrosion et de leurs propriétés mécaniques. Les aciers inoxydables forment une classe d'alliages contenant différents éléments tel que le chrome, le nickel, le molybdène, le manganèse, l'azote, ... (76)

Le standard européen EN 10088-1 décrit l'acier comme étant inoxydable s'il contient « *au moins 10,5% de chrome et un maximum de 1,2% de carbone.* » (77) Ces aciers inoxydables peuvent ensuite être séparés en sous-groupes en fonctions de leur structure : **ferritiques**, **austénitiques**, **martensitiques** et **asténo-ferritiques** (ou duplex). (78)

Cependant les environnements industriels servant à la production de médicaments impliquent des environnements **oxydants**. Chacune des étapes de fabrication peut être hautement **corrosive** pour les matériaux constitutifs des équipements de production, notamment les procédés de nettoyage et de stérilisation, qui utilisent de l'eau hautement purifiée et de la vapeur, sont indispensables pour éliminer le moindre résidu de microorganismes qui pourrait favoriser la formation de biofilm.

Le choix du matériau pour les équipements et pièces utilisés dans la production est donc particulièrement important. Les matériaux doivent être facilement nettoyables, résistants à la corrosion, rentables et ne pas être dangereux pour les opérateurs. L'acier inoxydable est donc un matériau de choix notamment pour ses capacités à résister à de fortes variations de température, à la pression et aux phénomènes de corrosion.

Pour ces raisons, les aciers inoxydables sont largement utilisés dans les industries pharmaceutiques car ils permettent de satisfaire les standards très stricts et de garantir un haut niveau de qualité et de sécurité du produit final.

Malgré ce haut niveau de qualité, ces matériaux ne sont pas complètement immunisés contre les phénomènes de corrosion du fait de l'exposition prolongée aux procédés typiques de ces industries. (76)

Le standard est l'utilisation d'inox **austénitiques AISI 316L** (76) lorsque c'est une pièce en contact direct avec le produit. Il est également possible de trouver de l'inox 304 ou 304L pour un équipement ou une pièce qui n'est pas en contact direct avec le produit (79).

Les différents aciers inoxydables sont obtenus par une variation de la composition chimique du matériau, les principaux types d'acier retrouvés dans l'industrie pharmaceutique sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15: Différents types d'aciers inoxydables et leur composition (79)

Type d'acier inoxydable	Composition chimique de l'acier inoxydable (%)								
	C	Mn	Si	P	S	Cr	Ni	Mo	N
304	0,08	2,0	0,75	0,045	0,03	18-20	8,0-10,5	-	-
304L	0,03	2,0	0,75	0,045	0,03	18-20	9,0-13,0	-	-
316	0,08	2,0	1,0	0,045	0,03	16-18	10,0-14,0	2,0-3,0	0,1
316L	0,03	2,0	1,0	0,045	0,03	16-18	12,5-15,0	2,0-3,0	0,1

La lettre « L » dans la dénomination du type d'acier inoxydable est l'abréviation de « *Low carbon* » et va correspondre à une faible teneur en carbone de l'acier ($\leq 0,3\%$). Les éléments qui composent l'acier inoxydable vont lui donner ses propriétés. Le **chrome** (Cr) va apporter une résistance de la surface du matériau à la corrosion, à l'oxydation et la résistance à la traction. Le **manganèse** (Mn) va améliorer la résistance du matériau à haute température. Le **silicone** (Si) donne une résistance à des acides forts comme l'acide sulfurique. Le **nickel** (Ni) va améliorer la résistance aux conditions environnementales de chaleur et d'humidité. (79)

Un traitement de surface par **passivation** permet de créer un film fin (1-3 nm) d'oxyde de chrome et d'oxyde de fer qui va protéger la surface et donc de diminuer le risque de corrosion et d'apparition du phénomène de **rouging**.

Le **rouging** est un phénomène qui se manifeste par la formation d'un fin film jaune à la surface de la matière et peut évoluer en dépôts de couleur violette ou noire. Il se forme en présence d'eau liquide ou gazeuse à une température supérieure à 60°C. Il en existe de plusieurs types :

- **Type I** : c'est un produit de corrosion constitué d'oxyde de fer provenant de l'environnement qui peut être de jaune ou orange. Il n'affecte pas la couche de passive et est essuyable ;
- **Type II** : c'est un produit de corrosion constitué d'oxyde de fer sous sa forme d'hématite qui présente une couleur orange, rouge, bleu ou mauve foncé. Il dégrade la couche passive et est adhérent à la surface, il ne peut donc pas être essuyable ;
- **Type III** : c'est un produit de corrosion constitué d'oxyde de fer sous sa forme de magnétite qui peut être de couleur bleue ou noire. Il fait partie du matériau et est non migrant, il ne peut être essuyé. Il se rencontre sur des équipements qui sont soumis à de hautes températures et en contact avec de la vapeur. (80,81)

Sans traitement, le rouging peut modifier la rugosité de surface des pièces en inox et favoriser la création de biofilms et la prolifération de microorganismes. (76)

• Certificat matière

Afin de respecter la norme EN 10204 :2004 (82), les fournisseurs doivent inclure dans leur envoi les certificats matière suivants :

- **Certificat matière 2.1** pour les élastomères (joints et membranes de vannes) : document dans lequel le fournisseur déclare la conformité des éléments reçus avec la commande, sans inclure de résultats de test. Les prescriptions techniques et spécificités du produit sont référencées dans ce document.

- **Certificat matière 3.1** pour l'inox (pièces du système) : document émis par le fournisseur dans lequel il déclare la conformité des éléments reçus avec la commande et indique les résultats de certains tests spécifiques. L'unité de contrôle réalise les essais selon la spécification du produit, la réglementation et les exigences de la commande. Les caractéristiques mécaniques et l'analyse chimique du matériau utilisé apparaissent également sur le document. (83)

- **Traitement de l'inox**

Une des étapes clés de la fabrication de pièces en inox est la **soudure**, en effet, les pièces sont constituées d'un assemblage de tuyaux préfabriqués. Afin de conserver les critères de qualité attendus pour de l'inox 316L, la soudure se fait le plus souvent par soudage à l'électrode (TIG ou *tungsten inert gas*) orbital (84). Le procédé TIG correspond à un soudage à l'arc avec électrode réfractaire dans lequel un gaz inerte (Argon ou Hélium) protège l'électrode, le bain de fusion, le métal d'apport et la pièce. La soudure se réalise par la création d'un arc électrique entre l'électrode en tungstène et la pièce. (85)

Cette soudure doit respecter les recommandations pour le soudage à l'arc des aciers inoxydables détaillées dans le rapport technique ISO/TR 17671-3 : 2002 (86) et doit être réalisée par des soudeurs agréés selon des modes opératoires de soudage détaillés en conformité avec la norme ISO 15609-1 :2019 (87).

Le contrôle de la qualité des soudures peut être réalisé par endoscopie.

La pièce soudée sera ensuite polie par **électro polissage** qui est un polissage électrochimique par dissolution anodique qui permet de réduire la rugosité du métal et de donner à la pièce traitée un aspect lisse et brillant. (88)

Les étapes de fabrication de la pièce vont compromettre l'intégrité du film passif de la surface. Une étape de **passivation** est donc nécessaire afin de reconstituer le film d'oxyde de chrome et de fer à la surface de l'acier inoxydable et de rétablir sa protection aux phénomènes de corrosion. La passivation est un procédé chimique contrôlé qui consiste à immerger des pièces dans de l'acide phosphorique, nitrique ou citrique afin de former une couche superficielle d'oxyde par réaction chimique, couche friable et homogène à la surface du métal (89). Ce procédé suit des paramètres de température, temps et concentrations selon les spécifications décrites dans la norme ASTM A967M (90).

- **Tests de vérification**

La conception de tuyaux en inox doit prendre en compte l'absence de bras morts qui pourraient favoriser le développement de biofilms. Le **dimensionnement** de la tuyauterie, notamment le diamètre, la longueur, le rayon de courbure, dépendent des conditions d'utilisation de débit et de pression. Les normes ASME B31.3 (91) et ASME BPE (92) détaillent les spécificités propres de ce dimensionnement ainsi que les tests à réaliser afin de contrôler la conformité des tuyauteries fabriquées.

- **Contrôle des pentes** : ce contrôle réglementaire permet de valider la drainabilité des lignes process réalisées de manière à s'assurer de l'absence de risque d'obtenir une zone de rétention de produit (bras mort, $L < 3D$, avec L la longueur et D le diamètre (93)) qui pourrait aboutir à la formation d'un biofilm.
- **Epreuve hydraulique/ pneumatique** : cette épreuve permet de valider l'étanchéité des pièces réalisées. (91)

Lors de la fourniture des pièces finalisées, le fournisseur doit transmettre au client un dossier technique qui comporte l'ensemble des documents nécessaires à la traçabilité de la conception de la pièce (plans, certificats matière, certificats des soudeurs, ...) et de la réalisation des tests de fabrication. Ce dossier technique servira de support à la qualification du système.

3.4.5 Emplacement et aménagement

Comme vu précédemment, le choix pour la mise en place du PUPSIT s'est porté sur un système stérilisable, manuel et réutilisable. Nous allons maintenant nous intéresser aux modalités de son implantation au sein d'un atelier déjà en fonctionnement.

L'atelier concerné par la mise en place du PUPSIT comporte un préparatoire qui se trouve directement accolé au bloc de remplissage. Un mousehole est une ouverture de petite taille dans la paroi, ne perturbant pas le flux, et qui permet de communiquer entre la zone sous flux du préparatoire où sont stockées les cuves de préparation et le bloc de remplissage en classe A comme schématisé sur la figure 43.

Le préparatoire comporte un testeur d'intégrité fonctionnel qui est déjà utilisé à l'heure actuelle pour réaliser des tests de filtre et notamment les tests avant autoclavage et après production du filtre stérilisant.

Il est donc possible d'utiliser l'installation en place pour uniquement ajouter une connexion appropriée pour apporter l'arrivée d'azote pour réaliser le test (les flexibles sont acheminés via le mousehole comme représentés par les flèches noires sur la figure).

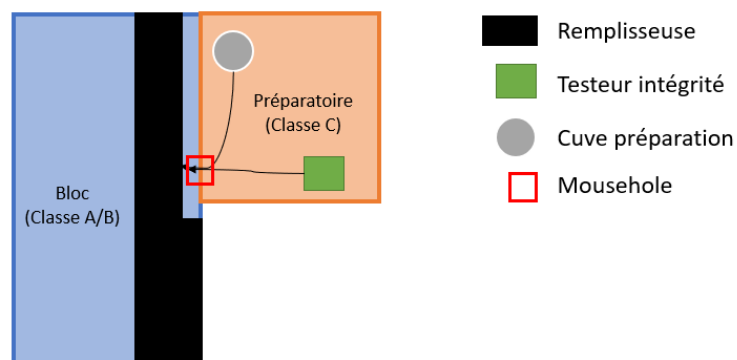


Figure 43: Représentation schématique de l'emplacement du testeur d'intégrité

Les flexibles seront stérilisés à l'autoclave et arriveront depuis le bloc stérile puis seront passés vers le préparatoire pour être connectés au système de test.

L'arrivée d'azote est déjà existante au niveau du préparatoire, il y a uniquement une nécessité à raccorder la sortie d'azote du testeur d'intégrité à un flexible stérile qui passe par le mousehole et sera relié au montage PUPSIT au-dessus du ou des filtres stérilisants. Un filtre hydrophobe disposé au-dessus de la pièce inox du PUPSIT permet de filtrer l'azote qui va être envoyé sur le filtre.

3.4.6 *Considérations sur les aspects ergonomie et sécurité*

- **Ergonomie**

Les aspects **d'ergonomie** sont pris en considération dès la phase de conception du système PUPSIT. Les opérationnels qui vont être amenés à utiliser le système sont impliqués à chaque étape afin de valider la facilité de manipulation du système (prise en compte de la taille, hauteur du système, de la possibilité de manipulation à la fois pour des gauchers ou des droitiers, des modalités d'accès, ...)

L'évaluation de l'ergonomie de la manipulation est un aspect qui est réalisé par le service Sécurité Santé Environnement (SSE) du site qui mettra à jour le **Document Unique d'Evaluation des Risques (DUER)**.

Le DUER est une obligation légale prévue par **l'article R4121-1** du code du travail. Ce document réglementaire d'évaluation des risques liés à l'activité de l'entreprise pour la sécurité et la santé des salariés comporte un inventaire des risques identifiés dans chaque unité de travail de l'entreprise. (94)

- **Sécurité**

Sur le site, les tests d'intégrité sont réalisés avec de l'azote comme gaz de test. En cas de survenue d'une fuite d'azote, l'environnement peut être appauvri en oxygène et provoquer des risques d'anoxie (95). De manière à garantir la sécurité du personnel, un système de détection O₂ est en place.

Ce système de détection comporte :

- Un **détecteur d'O₂ fixe** qui surveille en continu les taux d'oxygène et des gaz toxiques de l'air ambiant ;
- Un ensemble de **lampes flash** dans la zone de travail rouge et orange qui permet d'avertir en cas de fuite d'azote.

Ce système est situé au plus près du point de puisage, et répond aux normes EN 50021.(96)

3.5. Essais

Il est toujours nécessaire de procéder à une phase de mouillage du filtre au préalable de la réalisation d'un test d'intégrité. Le mouillage peut être réalisé avec une méthodologie **dynamique** qui consiste à faire passer un volume défini de liquide de mouillage sur le filtre afin d'en assurer le mouillage, cette technique peut être accompagnée d'un mouillage **statique** qui consiste à apporter du liquide de mouillage sur le filtre pendant un temps défini tout en appliquant un différentiel de pression avec une pression amont supérieure à la pression en aval du filtre pour pousser le liquide dans les pores du filtres et favoriser un mouillage approprié.

Il existe des recommandations fournisseur sur le volume de mouillage nécessaire à la réalisation du test, cependant, ce volume comporte une importante marge de sécurité et il est laissé à la charge de l'industriel d'optimiser le volume de mouillage nécessaire pour chaque filtre. Ainsi, de manière à limiter les pertes de produit nous avons décidé de mener des essais de mouillage du filtre.

Ces essais sont encadrés par un protocole d'essai qui détaille :

I/Objectif :

L'objectif de ces essais est de définir le volume de mouillage minimum et les paramètres de mouillage optimaux afin de s'assurer d'obtenir un résultat de 100% des tests de filtre conformes pour un volume de mouillage donnée lors de l'utilisation en routine. Ils permettent également de déterminer les pertes de matière au cours du test.

II/Prérequis :

- Filtres neufs testés conformes avec de l'EPPI avant le cycle autoclave, gainés et stérilisés à l'autoclave : pour chaque test, trois filtres neufs de numéros de lots différents sont utilisés afin de garantir la reproductibilité de l'essai et de s'affranchir d'une variabilité interlot des membranes de filtre ;
- Le mouillage est réalisé via l'utilisation d'une cuve pressurisée à la pression de remplissage utilisée en routine lors de la production ;
- Les essais sont réalisés en respectant la configuration de routine, notamment les longueurs de tuyaux ;
- Le montage est celui présenté dans la partie précédente.

III/ Méthodologie :

La partie méthodologie détaille le matériel à utiliser pour réaliser les essais et le plan d'essai détaillé. Pour chaque essai, trois tests sont réalisés dans un souci d'évaluation de la reproductibilité.

- **Phase 1 :** la première phase d'essai permet de déterminer le volume de mouillage minimal nécessaire au mouillage du filtre stérilisant pour obtenir 100% de test d'intégrité conforme. Le plan d'essai est détaillé dans le tableau 16.

Tableau 16: Plan d'essai de mouillage

Stérilisation autoclave carter avec filtre	Mouillage
	Volume du carter
	1L
	2L
	3L
	4L
	5L
	6L
	7L
	8L
	9L
	10L

Le test d'intégrité attendu est réalisé après chaque mouillage. Les essais sont réalisés pour des volumes de mouillage dynamiques progressifs et sont arrêtés après obtention de 3 essais conformes pour un même volume de mouillage.

- **Phase 2 :** optimiser les paramètres de mouillage du filtre

Cette deuxième phase d'essai permet de déterminer les paramètres de mouillage du filtre à appliquer afin d'optimiser le mouillage du filtre. Au cours de cette phase, le volume de mouillage déterminé en fin de phase 1 est affiné. A ce paramètre est ajouté un mouillage statique avec application d'une contrepression en aval du filtre stérilisant. Une variation du temps de mouillage statique est appliquée pour la réalisation du plan d'essai.

IV/ Résultats

Les résultats sont consignés dans une annexe d'enregistrement des résultats qui comporte les éléments suivants :

- N° du test
- N° de série du filtre
- Résultat du test d'intégrité avant autoclavage
- N° de cycle autoclave

- Température de la solution
- Volume de mouillage
- Temps de mouillage statique
- Résultat du test d'intégrité PUPSIT
- Volume de produit rejeté lors du test
- Conformité du test : conforme ou non conforme

Les tickets de résultats sont à archiver avec les annexes d'enregistrement des résultats.

Une analyse des résultats permet de déterminer les paramètres de volume de mouillage dynamique et de temps de mouillage statique optimaux à appliquer pour obtenir un résultat de 100% de conformité du test d'intégrité. Un facteur de sécurité sera appliqué pour le passage en qualification du système et l'utilisation du système PUPSIT en routine.

3.5 Qualification et validation

Le système PUPSIT permet de tester en ligne des filtres stérilisants d'une ligne produit après stérilisation à l'autoclave et juste avant les opérations de remplissage. Les tests s'effectuent après un mouillage des filtres au produit selon les paramètres déterminés lors des phases d'essai.

Un ensemble de vannes permet le mouillage des filtres, le rejet du mouillage vers des poches radiostérilisées (dans le cas de la ligne de filtration comportant deux filtres stérilisants), le test d'intégrité des filtres en place et le passage de la solution vers la remplisseuse.

Le PUPSIT doit être monté de façon à ne pas casser la stérilité de la ligne produit lors des différentes manipulations en accord avec la procédure d'assemblage.

Les montages seront assemblés en accord avec les procédures.

3.5.1 Généralités

Le glossaire des BPF décrit la **qualification** comme une « opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus. Le concept de validation est parfois élargi pour comprendre celui de qualification. » (6)

Il définit la **validation** comme étant un « établissement de la preuve, en conformité avec les principes de bonnes pratiques de fabrication, que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés. » (6)

Le processus de qualification appliqué sur le site conformément aux textes réglementaires en vigueur se déroule selon le schéma en figure 44. Il sert à prouver et documenter la capacité à produire de manière reproductible. (93)

Le processus de qualification est sous la responsabilité du responsable validation.

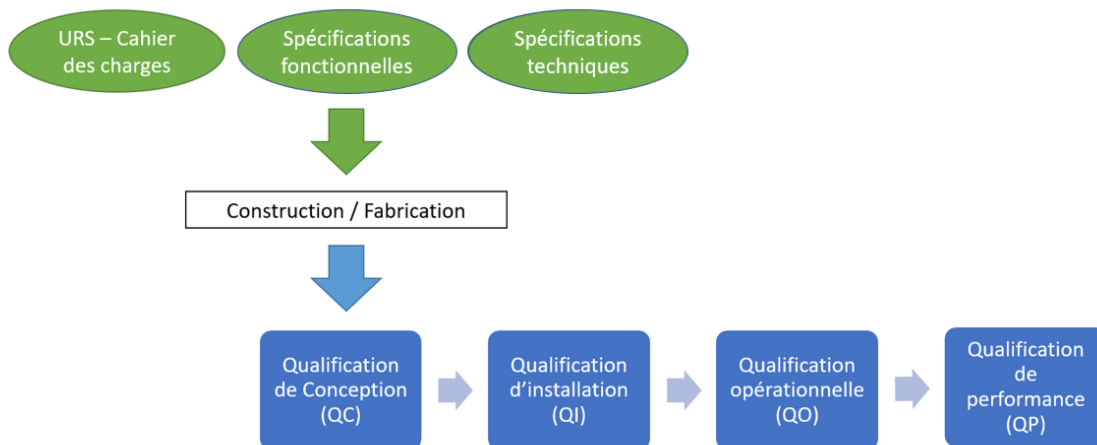


Figure 44: Processus de qualification

Dans le cas d'une modification d'un équipement ou d'un procédé, la qualification de conception n'est pas requise.

Afin de mesurer l'impact du changement, la première étape est l'ouverture d'un change control. En fonction du changement, les impacts sur les activités de qualification et validation peuvent être complètement différents. (93)

La qualification du montage PUPSIT va faire l'objet de la rédaction d'un dossier de QI/QO/QP.

3.5.2 Cahier des charges de l'utilisateur

❖ Principe

Définition BPF – Annexe 15 : « Ensemble de critères relatifs au propriétaire, à l'utilisateur et à l'application technique nécessaires et suffisants pour créer une conception faisable répondant à l'objectif visé du système. » (6)

Le cahier des charges de l'utilisateur (CCU), plus couramment nommé *User Requirement Specifications* (URS), détaille les spécifications de l'équipement et comporte une description fonctionnelle. Les éléments relatifs à la qualité sont intégrés à cette étape. L'URS va servir de référence tout au long du cycle de validation.

La trame du cahier des charges est propre à chaque établissement mais reprend les éléments suivants :

- **Définition du besoin ;**
- **Spécifications techniques :** description de l'aspect technique à différent niveaux de la prestation :
 - Liées à l'équipement : pièces, matériaux, ...
 - Liées à la documentation : plans, certificats, instruction d'utilisation, instruction de maintenance, ...

- Liées à l'organisation du projet : réception, livraison, ...
- **Spécifications qualité** : description du matériel et des exigences de conception et d'utilisation :
 - Performances techniques à garantir (ex : nettoyabilité) ;
 - Qualité des matériaux : inox 316L, finition de surface, soudures, ...
 - Spécifications techniques : certificats à joindre ;
 - Sécurité au poste de travail : conformité de l'équipement aux normes de sécurité et du code du travail ;
 - Respect des BPF pour les documentations mises à disposition. (93)

❖ URS du projet

La rédaction de l'URS permet de définir le besoin pour réalisation du changement qui a été évalué lors du processus de change control. L'URS indique au fournisseur les spécifications techniques et exigences nécessaires à la réalisation des pièces du système PUPSIT.

3.5.3 Qualification de Conception

❖ Principe

Définition BPF – Annexe 15 : « Vérification documentée que la conception proposée des installations, systèmes et équipements convient pour l'objet visé. » (6)

La QC va permettre de s'assurer que le projet de construction/ de fabrication d'un nouvel équipement ou atelier a bien suivi les étapes inhérentes au processus de qualification et répond aux exigences et besoin de fonctionnement attendues : élaboration des besoins, commande, mise en œuvre des tests de réception *Factory Acceptance Test* (FAT) et/ou *Site Acceptance Test* (SAT) si applicable. Les FAT et SAT sont optionnelles et réalisées uniquement sur de nouvelles installations. La FAT consiste en une validation de l'équipement chez le fournisseur. La SAT à une validation de l'équipement lors de son installation sur le site.

Lors de cette étape, il faudra s'assurer que l'ensemble des documents décrits ci-dessous sont présents avant de pouvoir passer aux étapes de QI, QO et QP :

- *User Requirement Specification* (URS) ;
- Cahier des Clauses Techniques Particulières (CCTP) ;
- Spécifications fonctionnelles (analyse fonctionnelle) ;
- Spécifications matérielles (dossier technique équipement) ;
- Plans ;
- Dossier réglementaire ;
- Certificats de matières ;
- Dossier de soudures ;
- Dossier de FAT (optionnel) ;
- Dossier de SAT (optionnel).

3.5.4 Qualification d'Installation

❖ Principe

Définition BPF : « Vérification documentée attestant que les installations, les systèmes et les équipements, tels qu'ils sont installés ou modifiés sont conformes à la conception approuvée et aux recommandations du fabricant ». (6)

La QI doit être réalisée sur des installations, équipements, systèmes et équipements neufs ou ayant subi des modifications (93) et va consister à :

- Examiner et évaluer une **documentation** complète de l'équipement telle que construit et délivré par le fournisseur et utilisable par l'utilisateur (plans, liste et données techniques des matériels installés, certificats matières, dossiers de soudure, schéma électrique/pneumatique/ hydraulique, etc...)
- Effectuer les vérifications **visuelles** et les tests statiques sur l'équipement installé et tracer les résultats des tests effectués.
- Permettre la prise en main de l'équipement sous ses aspects exploitation, maintenance, sécurité, validation, métrologie, formation et réglementation.

❖ QI du système

La QI du système PUPSIT va comprendre les éléments suivants :

- **Vérification documentation techniques et caractéristiques techniques** du montage PUPSIT
- **Plan du montage PUPSIT** : ce test permet de vérifier la conformité du montage PUPSIT conformément au plan fourni pour la configuration du produit
 - Vérification de la présence et de l'emplacement des éléments conformément au plan de la procédure ;
 - Joindre un rapport de qualification avec les éléments conformes surlignés d'une couleur et les éléments non conformes surlignés d'une autre couleur (avec la légende à détailler sur le plan) ;
 - Critère d'acceptation : chaque élément requis pour le montage doit être présent au bon emplacement, observé et repéré.

3.5.5 Qualification opérationnelle

❖ Principe

Définition BPF – Annexe 15 : « Vérification documentée attestant que les installations, les systèmes et les équipements, tels qu'ils sont installés ou modifiés, fonctionnent comme prévu dans les gammes de fonctionnement escomptées. » (6)

Il est également précisé que « La QO est normalement effectuée après la QI, mais selon la complexité de l'équipement, l'une et l'autre peuvent être effectuées simultanément dans le cadre d'une qualification de l'installation/ des opérations (QIO). » (6)

La QO va consister à vérifier la conformité fonctionnelle de base d'une installation dans son environnement en détaillant les différentes fonctions en mode normal et dégradé (test d'alarmes) par rapport aux spécifications validées (analyse fonctionnelles, instructions, ...).

La QO comporte au minimum les éléments suivants :

- Des tests qui sont développés à partir de la connaissance des procédés, des systèmes, des équipements pour s'assurer qu'ils fonctionnent bien comme prévu ;
- Des tests qui confirment les limites supérieures et inférieures d'utilisation, et/ou les conditions qui définissent le pire cas (« worst case »). (6)

❖ QO du système

Dans le cas de la réalisation de la QO du système PUPSIT, c'est la réalisation d'essais suivant l'approche worst case qui est retenue :

- **Vérification du volume minimum worst case de liquide de mouillage nécessaire au « mouillage »** : ce test permet d'évaluer la conformité du déroulement du test d'intégrité des filtres à l'aide du montage PUPSIT après une étape de mouillage utilisant une quantité de liquide de mouillage inférieure à celle utilisée en routine
 - Le filtre testé doit avoir été stérilisé à l'autoclave au préalable ;
 - Le mouillage du filtre à tester doit être réalisé avec une quantité définie de liquide de mouillage. Pour ce test, cette quantité sera réduite avant de lancer un test d'intégrité du filtre ;
 - Joindre le rapport du cycle ;
 - Critères d'acceptation : bon déroulement du test d'intégrité avec la conformité du filtre.

3.5.6 Qualification de performance/ validation

❖ Principe

Définition BPF – Annexe 15 : « Vérification documentée attestant que les systèmes et les équipements sont capables de fonctionner efficacement et de manière reproductible d'après la méthode du procédé approuvée et les spécifications du produit. » (6)

La QP va consister à vérifier la conformité des performances paramétrées en prenant en compte les conditions d'utilisation et les procédures établies par rapport aux spécifications d'utilisateur.

Il faut donc vérifier que le procédé donne un résultat conforme en appliquant des paramètres identiques voire plus critiques que ceux qui seront utilisés lors des productions de routine. Dans la mesure du possible, les paramètres « worst case » seront appliqués en qualification de performance.

Pour prouver la **reproductibilité**, la QP est généralement réalisée sur trois tests consécutifs. **L'efficacité** est prouvée par l'obtention de résultats concrets. (93)

❖ QP du système

La QP du système PUPSIT va être réalisée de la manière suivante :

- **Vérification de la reproductibilité du process PUPSIT sur 3 runs** : le but de ce test est d'évaluer la reproductibilité du test d'intégrité des filtres stérilisants réalisés à l'aide du montage PUPSIT
 - La qualification de performance est réalisée sur 3 runs qui seront réalisés avec 3 filtres différents préalablement stérilisés à l'aide des paramètres de routine.
 - Pour chacun des runs, le numéro de cycle de stérilisation et du cycle PUPSIT devra être renseigné. Les rapports de test d'intégrité et des cycles autoclave devront être conservés en annexe.
 - Critère acceptation : conformité des tests d'intégrité du filtre (selon le test demandé, point de bulle, débit de diffusion ou les deux).

Pour un équipement, la QP tient lieu d'étape de validation.

Cette qualification sera effectuée pour chacun des montages nécessaires à la mise en place du PUPSIT sur l'atelier. Pour chacune des étapes du dossier de qualification du système, un protocole est rédigé qui va permettre de décrire les tests à réaliser et mentionne les critères d'acceptation relatifs à chacun des tests. Un rapport est ensuite rédigé, qui va recenser les données brutes et apporter une décision finale de conformité de la qualification au regard des résultats de contrôles effectués.

En complément de la qualification du système PUPSIT, l'impact de l'ajout du montage PUPSIT sur l'aéraulique du bloc de remplissage sera évalué par des **smoke studies** qui consistent à visualiser le flux d'air et donc l'aéraulique par ajout de fumée dans la zone.(97)

3.6 Impact sur les nomenclatures et les gammes opératoires

❖ Nomenclature

La **nomenclature** ou *Bill of Material* (BOM) est un document qui spécifie les composants nécessaires à la réalisation d'un produit. Il liste l'ensemble des éléments, matières premières, sous-ensembles, et intermédiaires nécessaires à la réalisation d'un produit. La nomenclature spécifie la quantité nécessaire de chaque élément. (98)

L'ajout de nouveaux consommables a un impact sur la nomenclature du produit. Il est nécessaire de répertorier l'ensemble des consommables ajoutés pour pouvoir mettre à jour la gamme et analyser les impacts en termes de coût de fabrication.

❖ Gamme opératoire

Avec la mise en place du PUPSIT, il est nécessaire d'évaluer l'impact sur le temps de cycle de fabrication. En effet, les étapes de préparation du matériel, de montage de la ligne, de réalisation de l'opération avec la phase de mouillage et de démontage de la ligne peuvent être impactés par l'ajout de l'opération.

Il faut donc déterminer pour chaque étape :

- Le **temps main d'œuvre** ;
- Le **temps machine** ;
- Le **nombre de personnes** nécessaire.

Le recueil de ces informations pour chaque produit permet d'estimer le nouveau temps de cycle et de mettre à jour la gamme opératoire. Ces estimations sont importantes, en effet, ces modifications peuvent augmenter la durée de remplissage ou encore augmenter le temps d'occupation de l'atelier.

L'action de mise à jour de ces éléments est non bloquante pour la mise en œuvre du changement et est réalisée en collaboration avec le service méthodes.

Nous avons vu les aspects spécifiques de la mise en place du PUPSIT avec les analyses de risque, d'impact, la gestion du changement, les technologies, les essais et la qualification du système et l'impact sur les nomenclatures et gammes opératoires. Nous allons maintenant nous intéresser aux aspects documentaires et à la formation liés à la mise en place du PUPSIT.

4. Documentation et formation

La documentation est un élément essentiel au système d'assurance de la qualité. Une bonne documentation est essentielle pour s'assurer que les opérations sont réalisées en conformité avec les exigences des BPF. (6)

Les différents éléments d'un système documentaire peuvent être présentés sous la forme d'une pyramide comme présenté en figure 45.

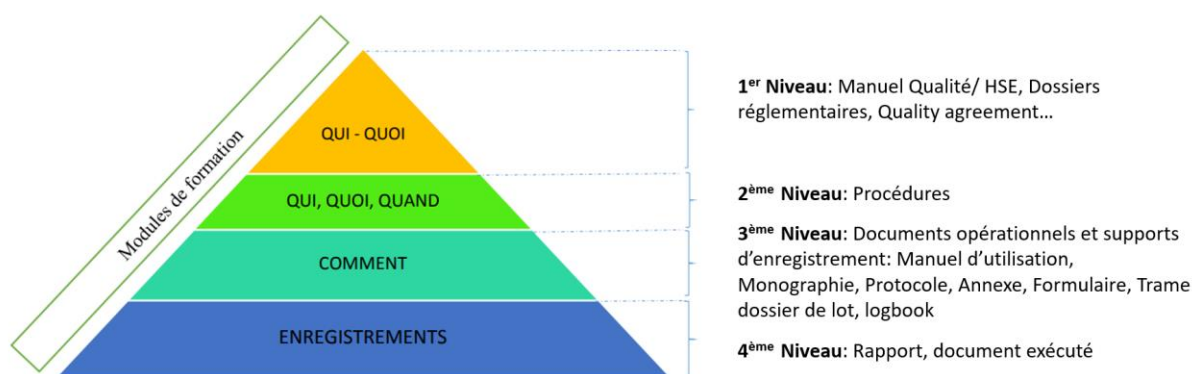


Figure 45: Exemple de pyramide documentaire

La description des documents correspondants à chaque niveau sont retrouvés dans le tableau 17.

Tableau 17: Description des types de documents

Niveau	Description
QUI fait QUOI ?	Document apportant une vision d'ensemble, décrivant les règles et responsabilités
QUI fait QUOI QUAND ?	Document décrivant l'enchaînement des activités d'un processus, les acteurs et les responsabilités associées conformément aux réglementations externes et internes applicables
COMMENT ?	Document décrivant comment réaliser une ou des activités liées à un processus, un matériel, une matière première ou un support permettant sa réalisation
ENREGISTREMENTS	Document faisant état de résultats obtenus ou apportant la preuve de la réalisation d'une activité
SUPPORTS DE FORMATION	Tout document permettant la formation à tous niveaux de l'architecture documentaire

La rédaction et la mise à jour de documents sont à réaliser tout au long du processus de mise en place du PUPSIT en respectant les jalons documentaires requis dans le change control. La rédaction d'instructions claires pour les opérationnels est indispensables à une bonne utilisation du système PUPSIT. Les documents faisant l'objet de création ou de mise à jour sont de plusieurs types : protocoles, rapports, modes opératoires et dossier de lot.

4.1. Protocole

Selon les BPF, les protocoles : « *donnent des instructions pour exécuter et enregistrer certaines opérations particulières* ». (6)

Dans le cadre de la mise en place du PUPSIT sur l'atelier, plusieurs protocoles ont dû être créés ou modifiés :

- **Protocoles d'essai** : création de protocoles décrivant les modalités de réalisation des essais de mouillage ;
- **Protocoles de validation** : création de protocoles de QI et QO du système PUPSIT, mise à jour du protocole de QP de validation de la stérilisation du matériel

4.2. Rapport

Selon les BPF, les rapports « *documentent la réalisation d'exercices particuliers, de projets ou d'investigations, ainsi que leurs résultats, conclusions et recommandations.* » (6)

Pour faire suite à l'exécution des protocoles, les rapports suivants ont été rédigés :

- **Rapport d'essai** : rédaction d'un rapport à la suite de la réalisation des essais de mouillage du filtre pour consigner les résultats ;
- **Rapport de validation** : rédaction d'un rapport de qualification du système PUPSIT, rédaction d'un rapport de validation à la suite de la réalisation de la QP de stérilisation du matériel à l'autoclave

4.3. Mode opératoire

Les modes opératoires sont les documents qui vont servir de support aux opérateurs pour la réalisation des actions. Il est important que ces documents décrivent les étapes à réaliser de manière claire pour éviter tout risque d'erreur. Des photos et des schémas sont utilisés pour clarifier la compréhension des modes opératoires. Dans le cadre de la mise en place du PUPSIT, les documents suivants ont été mis à jour :

- Mise à jour du document décrivant les **plans de charge** pour stérilisation à l'autoclave ;
- Création d'un **mode opératoire décrivant l'utilisation du système PUPSIT** pour chaque atelier : ce mode opératoire va décrire les différentes étapes allant du nettoyage du montage, à son assemblage, sa stérilisation et enfin les modalités de son utilisation ;
- Mise à jour **du mode opératoire décrivant les opérations effectuées lors des productions de routine sur l'atelier** : mise à jour de la mise en place de la ligne de filtration et ajout de la réalisation du test d'intégrité avant le démarrage de la production.

4.4. Dossier de lot

Un dossier de lot est constitué pour chaque lot fabriqué. Il comporte les éléments relatifs à la formule de fabrication du produit mais également les instructions de fabrication approuvées.
(6)

Il est nécessaire de réaliser la mise à jour des **dossiers de lot** des deux produits concernés ainsi que le dossier de lot pour la réalisation de la simulation aseptique de procédé (APS) pour chacune des configurations sur l'atelier.

Cette mise à jour consiste en l'ajout de l'étape de réalisation du PUPSIT ainsi que d'un emplacement dédié pour joindre le cycle de test d'intégrité réalisé après stérilisation et avant démarrage.

Le processus de mise à jour des dossiers de lot est très long et soumis à l'approbation de plusieurs services, il est donc nécessaire de bien anticiper les modifications à effectuer.

4.5. Formation des opérateurs

La mise en place du PUPSIT fera l'objet d'une formation des opérateurs de production qui se déroule selon quatre axes :

- La **formation documentaire** : les procédures approuvées sont retrouvées dans le système de gestion documentaire du site (GED). Chaque opérateur concerné par la procédure doit donc lire la procédure et attester de sa lecture et de sa compréhension « lu et compris » avec son visa.
- La **formation théorique** au principe de test de filtre et de réalisation du PUPSIT qui se base sur un support de formation.
- La **formation à l'utilisation** du testeur d'intégrité et à la réalisation du test d'intégrité.
- La **formation à la réalisation de l'opération** : cette phase va comporter partie de présentation et une partie de réalisation pratique avec une supervision à trois reprises qui est qualifiante pour l'activité.

La réalisation de cette formation sera tracée sur une fiche de formation qui reprend la date de la formation, l'objet de la formation et son contenu et l'identification des participants (nom, service, date de fin de formation, visa).

5. Validation de nettoyage et stérilisation

Dans un souci de maîtrise de la stérilité des entrants dans le bloc de remplissage aseptique, les éléments constitutifs du PUPSIT doivent être acheminés propres et stériles, au même titre que la ligne de remplissage. Nous allons maintenant nous concentrer sur les modalités de réalisation et de validation des procédés de nettoyage et de stérilisation du matériel de remplissage.

5.1. Méthodologie de nettoyage

La maîtrise des procédés de nettoyage des équipements de fabrication est nécessaire pour maîtriser le risque patient. En effet, trois cas peuvent être observés : cas des **contaminations croisées** (autre produit ou agent de nettoyage), cas du **surdosage** (résidus d'un même produit fabriqué précédemment), cas des **contaminations microbiologiques** (endotoxines ou germes).

La propreté d'un équipement de production pharmaceutique se caractérise par les paramètres suivants :

- L'absence de résidus **du produit** précédemment fabriqué et de produit de dégradation ;
- L'absence de **traces de l'agent de nettoyage** qui a servi pour le nettoyage ;
- L'absence de **contaminants microbiologiques** ;
- L'absence de toutes **particules visibles**.

Ces paramètres sont liés aux **caractéristiques** de l'équipement à nettoyer (nettoyabilité, zones critiques difficiles d'accès) et à la mise en place de **procédures** et **procédés** auxquels sont formés le personnel.

Dans le cas des pièces du système PUPSIT, leur nettoyage est réalisé selon une méthodologie manuelle avec des paramètres de **débit, temps, température**, fixés afin d'assurer la reproductibilité du nettoyage. Les étapes de cette méthodologie sont décrites précisément et procédurées.

Le nettoyage manuel du matériel est réalisé dans un **évier** ou un **bac à ultrason**. L'utilisation du bac permet de faciliter le décrochage des particules.

Méthodologie :

- 1) Disposer le matériel à nettoyer dans bac évier ou bac à ultrason.
- 2) Remplir le bac d'EPPI chaude à une température prédéfinie de manière à recouvrir le matériel. Un temps de trempage défini est appliqué ;
- 3) Vidanger l'évier ou du bac lorsque le temps de trempage est respecté ;
- 4) Réitérer l'opération de trempage selon le temps et le nombre d'occurrence définies dans la procédure de nettoyage.

La fréquence de renouvellement de l'eau des bacs de rinçage doit être validée au cours de la validation du nettoyage (93). Un procédé de nettoyage plus défavorable qu'en routine sera utilisé pour la validation de nettoyage.

5.2. Validation du nettoyage

Selon les BPF : *« la validation du nettoyage est une information documentée qu'une procédure de nettoyage approuvée élimine le produit ou les agents utilisés préalablement pour nettoyer l'équipement, de manière reproductible, en dessous du niveau de contamination résiduelle maximale autorisée déterminé scientifiquement. »* (6)

Plusieurs objectifs sont recherchés à travers une validation de nettoyage :

- Valider le **procédé** de nettoyage et les **procédures** utilisées ;
- Démontrer que le procédé de nettoyage est **fiable** et **reproductible** ;
- Fixer la teneur limite en **résidus** de produit et en **contamination** microbienne ;
- Atteindre le niveau souhaité de propreté.

Plusieurs types de contaminants sont recherchés :

- **Physico-chimiques** : résidus de produit et résidus d'agent de nettoyage ;
- **Microbiologiques** : endotoxines et évaluation de la biocharge.

Trois niveaux de contrôles doivent être réalisés lors de la validation du nettoyage.

- **Vérification visuelle**

Son objectif est de réaliser un contrôle visuel des surfaces nettoyées de manière à vérifier l'absence de résidus de produit.

➔ Immédiatement après le nettoyage, l'absence de tout type de résidus sur les parois internes ou externes du matériel nettoyé est vérifiée visuellement.

- **Prélèvement direct en surface par échantillonnage (Swab)**

Ce test consiste à rechercher des traces de produit sur la surface du matériel nettoyé.

Le choix des éléments de la charge de matériels à échantillonner par swabbing repose sur une cotation pour l'évaluation du risque lié au nettoyage de chaque pièce par la multiplication de trois facteurs :

- Le **contact produit** (contact direct du matériel avec le produit) ;
- L'**accessibilité** (complexité du design de l'élément à nettoyer) ;
- La **nature du matériau** de construction de l'élément à nettoyer.

Les critères d'acceptation pour cette étape sont déterminés selon des calculs prédéfinis de la procédure de validation interne et vont dépendre du produit fabriqué. (93)

- **Prélèvement de l'eau de rinçage**

Ce test consiste à rechercher dans la dernière eau de rinçage des équipements nettoyés :

- Des traces de **produit** ;
- La présence **d'endotoxines** (test de Lysat d'Améboocytes de Limulus (LAL)) ;
- La présence de **germes** (test de bioburden).

Le prélèvement d'un flacon d'EPPI au point d'eau où le nettoyage est effectué sert de « blanc » lors des tests.

Les critères d'acceptation vont comporter la conformité aux spécifications de la dernière eau qui a servi au nettoyage de l'équipement.

Les prélèvements réalisés et l'annexe de résultat sont transmis au laboratoire de Contrôle Qualité qui communique les résultats après analyse.

La validation initiale du nettoyage du matériel de remplissage doit être réalisée sur la base de trois essais consécutifs conformes. Par la suite, la revalidation doit être réalisée tous les 12 mois.

La validation de nettoyage permet également de déterminer le **dirty hold time** (DHT) du matériel. Le DHT correspond à la durée maximale comprise entre le moment où le matériel n'est plus en contact avec le produit et le début de son nettoyage. Le DHT validé correspond à la durée la plus faible obtenue parmi les 3 runs de validation de nettoyage réalisés et obtenus conformes. Cette valeur est mentionnée dans le rapport final de validation du nettoyage du matériel.

5.3. Méthodologie de stérilisation

Le matériel de remplissage qui doit rentrer dans le bloc stérile doit être nettoyé, assemblé, puis mis sous gaine et disposé sur un chariot avant d'être stérilisé à l'autoclave.

La disposition des éléments sur le chariot autoclave est appelée un **plan de charge**.

A partir de la réception des nouvelles pièces du système, la réalisation du montage avec l'ensemble des éléments de la ligne de filtration, les nouveaux flexibles et les nouveaux filtres permettent de se représenter l'encombrement du matériel sur le chariot autoclave. Le travail d'élaboration du nouveau plan de charge a été réalisé avec les opérateurs pour intégrer l'ensemble des pièces de la charge, la disposition du matériel ainsi que la documentation associée (procédure, mode opératoire, ...).

Des essais sont réalisés au préalable de la validation de la charge de matériel.

5.4. Validation de la charge de matériel

L'objectif de la validation de la charge matériel comportant le PUPSIT est de s'assurer que le procédé de stérilisation en autoclave est conforme en termes de pénétration de la chaleur et de challenge bactérien.

La validation de la stérilisation de la charge est réalisée dans des conditions qui sont plus défavorables qu'en routine (temps et température plus faibles qu'en routine).

Les paramètres critiques de la validation sont la température et la durée du plateau de stérilisation au cours de la phase de stérilisation.

Des sondes de température et de pression sont disposées dans l'autoclave au cours du cycle de validation. (99)

Les sondes de température et les indicateurs biologiques sont disposés de manière à couvrir la totalité de la charge disposée sur le chariot. Les emplacements choisis tiennent compte :

- De la **nature des matériaux** constitutifs des éléments à stériliser ;
- De la **complexité de design** des éléments à stériliser ;
- De la **position spatiale** des éléments à stériliser.

Pour chaque position, un indicateur biologique est couplé à une sonde de température et à un indicateur biologique « témoin positif ».

A la fin de chaque cycle de stérilisation, les indicateurs biologiques sont transmis au service contrôle qualité pour leur mise en incubation et analyse.

A l'issue de la validation, un rapport est rédigé et apporte la preuve que les phases du cycle se sont correctement déroulées (temps, température, pression) et qu'aucun condensat n'est visible en fin de stérilisation.

Critère d'acceptation :

- Aucune présence de condensat observée visuellement en fin de chaque cycle de stérilisation ;
- Pour chaque capteur de validation :
 - o La température doit être $\geq 121,1^{\circ}\text{C}$ pendant au moins 15 minutes ;
 - o La valeur de F0 doit être ≥ 15 minutes pour l'ensemble des sondes ;
- Réduction minimum de 6 log pour chaque indicateur biologique.

La validation initiale comporte trois essais consécutifs conformes. Une revalidation annuelle est à réaliser. (100)

Nous avons vu la validation du nettoyage et de la stérilisation du matériel nécessaire à la réalisation du PUPSIT, nous allons maintenant nous intéresser à l'évaluation de l'impact de la mise en place de ce système lors de la réalisation d'une simulation aseptique des procédés.

6. Validation de la mise en place par simulation aseptique des procédés

La Simulation des Procédés Aseptiques ou *Aseptic Process Simulation* (APS), est une simulation dont l'objectif est de valider les conditions et les opérations relatives au remplissage aseptique en utilisant un milieu nutritif qui va favoriser la croissance microbienne.

Le milieu de culture sélectionné doit être capable de faire croître les microorganismes des conditions environnementales de répartition aseptique (le plus souvent milieu aérobique). Des tests de fertilité du milieu vont être réalisés afin de valider la capacité de croissance de microorganismes sur le milieu. (101)

L'APS permet deux types de validations dont les modalités sont détaillées dans le tableau 18 :

- La **validation initiale** ;
- La **validation périodique**.

Tableau 18: Comparaison validation initiale et périodique

Validation initiale	Validation périodique
Fait partie de la validation du procédé de remplissage aseptique Permet la validation des pratiques aseptiques des opérateurs de production et techniciens d'assurance qualité	
3 APS consécutifs et conformes à effectuer	1 seul APS conforme doit être répété au moins tous les 6 mois (tolérance de « +1 mois » maximum)

Les APS essayent de simuler au plus près les opérations de fabrication aseptiques de routine. Ils se basent sur les principes de gestion de risque Qualité et permettent de prouver la répétabilité et la robustesse des procédés aseptiques.

Il est intéressant de remarquer que le remplissage de produits par stérilisation terminale n'est pas assujéti à la réalisation d'APS.

L'APS inclut toutes les étapes du procédé aseptique : des opérations de montage de la ligne de filtration stérilisante, remplissage, lyophilisation jusqu'au capsulage des unités remplies et bouchées.

Les étapes du déroulement d'une APS, sont les suivantes :

- Etapes de préparation et de stérilisation du matériel ;
- Etapes de fabrication (préparation, répartition aseptique, bouchage) ;
- Etape de mirage avant incubation ;
- Etape d'incubation : selon la norme ISO 13408-1 :2008, les unités doivent être incubées au moins 14 jours à des températures d'incubation entre 20°C et 35°C (101) ;
- Etape de mirage après incubation.

La taille de lot à simuler en APS (nombre d'unités remplies) est définie en accord avec les textes réglementaires en vigueur et doit également être suffisante pour permettre d'évaluer la contamination potentielle induite par les différents types d'interventions normales et non validées en APS effectuées pendant un lot commercial.

Deux cas se présentent en fonction de la taille de lot commerciale d'un produit :

- Cas 1 : si la taille de lot en routine est < 5000 unités, alors la taille de lot de l'APS doit être supérieure ou égale à la taille de lot commercial ;
- Cas 2 : si la taille de lot en routine est ≥ 5000 unités, alors la taille de lot de l'APS doit être supérieure ou égale à 10% de la taille de lot commercial à valider, avec un minimum de 5000 unités.

Cette taille de lot est déterminée car elle permet de couvrir l'intégralité des opérations normales et non validées à simuler en APS. (13)

L'ensemble des données de fabrication, d'incubation, d'inspection visuelle et de contrôle qualité sont rassemblées dans un **dossier de lot APS**.

L'objectif d'une simulation doit être de zéro unité contaminée (13). Une unité contaminée est détectée lors du mirage par l'apparition d'un trouble dans le flacon.

Les personnes qui sont amenées à participer à une APS doivent avoir au préalable suivi une formation appropriée : aux BPF, une qualification au poste de travail, une qualification à l'habillage.

Dans le cadre de l'ajout du PUPSIT, une APS de validation périodique a été effectué avant le redémarrage de l'atelier afin de garantir l'absence d'impact de la manipulation sur l'asepsie du procédé.

Nous allons maintenant nous concentrer sur les problématiques rencontrées à la suite de la mise en place du PUPSIT et les points d'amélioration à envisager pour optimiser la réalisation de ce test d'intégrité en ligne.

7. Problématiques rencontrées et points d'amélioration

Après réalisation de l'ensemble des actions bloquantes du change control, le PUPSIT a pu être déployé lors des productions de routine sur des produits A et B de l'atelier. Des suites de cette implémentation, un retour d'expérience sur les problématiques rencontrées et les améliorations possibles du système vont être proposées dans cette partie.

7.1. Variabilité opérationnelle

Comme évoqué précédemment, le choix de système PUPSIT s'est porté sur un système autoclavable et piloté en manuel.

Avec un système manuel, les contraintes de variabilité opérationnelles apparaissent à plusieurs étapes.

- **L'assemblage de la ligne** de remplissage avant autoclavage

Une des étapes clés de l'assemblage de la ligne est la réalisation des connexions clamp entre les différents éléments du montage.

Il est indispensable que lors de l'assemblage, un souci particulier soit apporté à ce que le joint et les deux ferrules clamps soit mises en place sans possibilité de pincement du joint, les connexions doivent être bien droites. En effet, afin de faciliter la stérilisation, les colliers clamps ne sont pas serrés au maximum de leur capacité lors de l'autoclavage et sont resserrés après stérilisation lors de la mise en place des montages dans le bloc de remplissage. Lorsque les opérateurs du bloc stérile resserrent les colliers de serrage, ils ne peuvent plus remettre en place un joint mal positionné, leur bon positionnement avant autoclavage est donc particulièrement important. Pour assurer la bonne réalisation de ce montage, il est intéressant d'avoir une documentation (mode opératoire et procédure) avec une description précise des opérations à réalisées illustrée de photos pour apporter plus de clarté.

Par son fonctionnement, le test PUPSIT ne permet pas uniquement de vérifier l'intégrité du filtre stérilisant mais il va également permettre de vérifier l'intégrité du montage. Toute fuite présente en amont du filtre stérilisant peut induire un résultat non conforme.

En cas de non-conformité observée lors de la réalisation du test PUPSIT, une des premières vérifications consiste à s'assurer que les connexions sont bien serrées, que toutes les vannes devant être fermées le sont.

L'absence de fuite (liée à un problème de montage par exemple) est démontrée par un **test de fuite** réalisé avant de lancer le test PUPSIT.

- **La réalisation du test PUPSIT**

Les étapes et manipulations à effectuer dans le cadre de la réalisation du test PUPSIT sont procédurées et le personnel amené le réaliser est formé et qualifié à cette opération.

Cependant, l'ordre des séquences de mouillage, d'ouverture et fermeture des vannes est complexe et doit impérativement être respecté. Avec un procédé dépendant de l'humain, la possibilité d'erreur, de confusion ou d'oubli existe.

De manière à éviter au maximum le risque d'erreur, plusieurs possibilités peuvent être mises en œuvre :

- Réaliser un **document support** consultable au moment de la réalisation de l'opération qui détaille les étapes à réaliser ;
- Favoriser des **détrompeurs visuels** au niveau des vannes qui indiquent d'une couleur différente la position ouverte ou fermée ;
- Mettre en place un système de **shadow board** : c'est une plaque support au système qui permet de faire un contrôle visuel du positionnement de chaque élément, pour chaque élément sont présents, une étiquette d'identification, un code couleur, l'ombre de l'élément. (102)

7.2. Problématiques liées aux filtres

Une des premières problématiques qui est apparue a été l'occurrence de tests PUPSIT non conformes qui, à la suite d'investigations, ont pu être attribués à une problématique récurrente de fuite du montage en amont du filtre stérilisant.

Le modèle de filtre qui avait été choisi initialement était un filtre dans un matériau plastique compatible à l'autoclave, cependant, par des phénomènes de restitution de chaleur de l'inox lors de la stérilisation, la ferrule clamp plastique avait une tendance à se déformer et donc à créer des micro-fuites non compensées par le joint du raccord clamp.

A la suite de ces observations, un change control a été ouvert de manière à changer la référence du filtre hydrophobe pour une autre référence de capacité filtrante équivalente et plus résistante aux variations de températures subies lors de l'autoclavage.

Cette problématique a soulevé l'importance fondamentale de s'assurer que les matériaux utilisés sont bien compatibles à l'ensemble des conditions auxquelles vont être soumis les éléments constitutifs du montage.

7.3. Automatisation du système

Afin de s'affranchir des problématiques de variation opérationnelle, une des possibilités est de réaliser une **automatisation** du système, en effet, l'ensemble des séquences de mouillage, d'ouverture et de fermeture des vannes sont gérées automatiquement et ne sont donc pas soumises à l'erreur humaine.

Conclusion

Cette thèse a permis de s'intéresser aux exigences réglementaires qui encadrent la production de médicaments injectables dans un souci de garantir leur sécurité, efficacité et qualité. Nous nous sommes plus particulièrement attardés sur les exigences spécifiques à la filtration stérilisante, étape clé de la répartition aseptique des médicaments injectables ne pouvant pas être stérilisés dans leur contenant terminal.

Dans ce cadre, les modalités de la mise en place du PUPSIT dans un atelier de production conventionnelle a permis de détailler la complexité et les enjeux de la mise en place de ce type de système pour une mise en conformité avec les exigences réglementaires. Nous avons détaillé les principales étapes nécessaires à la mise en place du PUPSIT avec les analyses de risque et d'impact liées à la mise en place, la sélection de la technologie, la validation du système, l'impact sur la documentation et la formation du personnel mais également la validation du nettoyage du système et enfin la simulation du procédé aseptique.

La période écoulée entre la mise en place du système sur la ligne de remplissage et la rédaction de cette thèse ont permis de considérer les problématiques et les améliorations pouvant être considérées dans le cadre d'une mise en place d'un système PUPSIT sur d'autres lignes de remplissage.

La réglementation étant en perpétuelle évolution pour s'adapter au mieux aux innovations technologiques et garantir un niveau de qualité toujours plus important, les industriels du secteurs pharmaceutiques continueront à devoir se mettre en conformité avec les exigences dans le respect des contraintes techniques et opérationnelles de leurs sites d'exploitation.

Bibliographie

1. Article L5111-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 7 déc 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000006689866/2022-12-07/
2. EMA. European Medicines Agency. 2018 [cité 7 déc 2022]. Good manufacturing practice. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice>
3. Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé [Internet]. [cité 7 déc 2022]. La Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) 10e Édition - Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé - EDQM. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition->
4. ISO [Internet]. [cité 7 déc 2022]. ISO - Normes. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standards.html>
5. ICH Official web site : ICH [Internet]. [cité 7 déc 2022]. Disponible sur: <https://www.ich.org/page/mission>
6. Bonnes pratiques de fabrication de médicaments à usage humain - ANSM [Internet]. [cité 23 janv 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/reference/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>
7. EudraLex - Volume 4 [Internet]. [cité 23 janv 2023]. Disponible sur: https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4_en
8. About PIC/S [Internet]. [cité 18 févr 2023]. Disponible sur: <https://picscheme.org/en/about>
9. GMP/GDP Inspectors Working Group, Pharmaceutical Inspection Co Operation Scheme. Concept paper on the revision of annex 1 of the guidelines on good manufacturing practice – manufacture of sterile medicinal products [Internet]. 2015 [cité 18 févr 2023]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/concept-paper-revision-annex-1-guidelines-good-manufacturing-practice-manufacture-sterile-medicinal_en.pdf
10. Finalised: The revised EU Annex 1 is published - ECA Academy [Internet]. [cité 18 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.gmp-compliance.org/gmp-news/finalised-the-revised-eu-annex-1-is-published>
11. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 2022 [cité 18 févr 2023]. assurance-qualite-production-impacts-de-la-nouvelle-annexe-1-des-bpf. Disponible sur: <https://www.a3p.org/assurance-qualite-production-impacts-de-la-nouvelle-annexe-1-des-bpf/>
12. 2008 version of Annex 1 [Internet]. 2008 [cité 18 févr 2023]. Disponible sur: https://health.ec.europa.eu/system/files/2016-11/2008_11_25_gmp-an1_en_0.pdf
13. 2022 version of Annex 1 [Internet]. 2022 [cité 18 févr 2023]. Disponible sur: https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/20220825_gmp-an1_en_0.pdf

14. Global Regulatory Authority Websites [Internet]. [cité 19 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.pda.org/scientific-and-regulatory-affairs/regulatory-resources/global-regulatory-authority-websites>
15. History | Pharmaceuticals and Medical Devices Agency [Internet]. [cité 21 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.pmda.go.jp/english/about-pmda/outline/0002.html>
16. Research C for DE and. FDA. FDA; 2023 [cité 21 févr 2023]. Guidances | Drugs. Disponible sur: <https://www.fda.gov/drugs/guidance-compliance-regulatory-information/guidances-drugs>
17. Nick. Drug Registration in the Eurasian Economic Union (EAEU) [Internet]. Biomapas. 2021 [cité 21 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.biomapas.com/drug-registration-in-the-eurasian-economic-union-eaeu/>
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa [Internet]. 2022 [cité 21 févr 2023]. Brazilian Health Regulatory Agency (Anvisa). Disponible sur: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/english/brazilian-health-regulatory-agency-anvisa>
19. Good Manufacturing Practice for Drugs (2010 Revision) [Internet]. [cité 21 févr 2023]. Disponible sur: http://english.nmpa.gov.cn/2019-07/25/c_390613.htm
20. EMA. European Medicines Agency. 2018 [cité 21 févr 2023]. Mutual recognition agreements (MRA). Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/compliance/good-manufacturing-practice/mutual-recognition-agreements-mra>
21. ISO 14644-1:2015 Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - Partie 1: Classification de la propreté particulière de l'air. 2015.
22. Levacher É, coordination technique et rédactionnelle Eric Levacher, ouvrage rédigé en groupement d'auteurs des Industries Pharmaceutiques & Cosmétologiques, conçu et réalisé par le Groupe IMT, avec la participation du GREPIC, Institut du médicament, et al. [Phi] 41: Pharmacotechnie industrielle. 3e édition. Tours;Saint-Jean-de-la-Ruelle; GREPIC; 2016.
23. SIERAKOWSKI D, JEROME P. Répartition aseptique sous Isolateur ou open RABS? La Vague [Internet]. [cité 12 mars 2023]; Disponible sur: [extension://elhekieabhbkmcefcobjdjgcaadp/https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2012/02/article_scientifique_vague33_0pdf_articles_33pdf5.pdf](https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2012/02/article_scientifique_vague33_0pdf_articles_33pdf5.pdf)
24. STERIGENE [Internet]. [cité 12 mars 2023]. Technologies barrières : Isolateurs et RABS. Disponible sur: <https://sterigene.com/expertises-normes-et-referentiels/infos-techniques/technologies-barrieres-isolateurs-et-rabs/>
25. Les centrales de traitement d'air pour salles propres [Internet]. [cité 15 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.ultraproprete.com/dossiers-techniques/technologies/centrales-de-traitement-air-pour-salles-propres.html>
26. Centrale de ventilation | OPLUSR SALLE BLANCHE [Internet]. [cité 15 mars 2023]. Disponible sur: <https://oplusr-salle-blanche.com/salle-blanche/centrale-de-ventilation/>
27. Norme ISO 16890 classification des filtres G3, G4, F7, H14 [Internet]. Isofilter. 2016 [cité 17 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.isofilter.fr/normes/>

28. 14:00-17:00. ISO. 2020 [cité 17 juill 2023]. ISO 16890-1:2016. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/57864.html>
29. EMA. European Medicines Agency. 2018 [cité 15 mars 2023]. Quality of water for pharmaceutical use - Scientific guideline. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/quality-water-pharmaceutical-use-scientific-guideline>
30. 2015 version of Annex 15 [Internet]. 2015 [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: [extension://elhekieabhbkmcefcobjddigjcaadp/https://health.ec.europa.eu/system/files/2016-11/2015-10_annex15_0.pdf](https://health.ec.europa.eu/system/files/2016-11/2015-10_annex15_0.pdf)
31. DESJONQUERES Q, VEYRARD M. Contrôle de la qualité de l'air en salles propres. La Vague [Internet]. Disponible sur: [extension://elhekieabhbkmcefcobjddigjcaadp/https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2009/06/article_scientifique_vague28_0pdf_articles_La-Vague-28-VF-23-26.pdf](https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2009/06/article_scientifique_vague28_0pdf_articles_La-Vague-28-VF-23-26.pdf)
32. PDA. Points to Consider for Aseptic Processing: Part 1. United States: Parenteral Drug Association; 2015. 65 p.
33. Sandle T. People in Cleanrooms: Understanding and Monitoring the Personnel Factor. Journal of GXP Compliance. 1 déc 2014;18:1-5.
34. Hayes B. Managing Aseptic Gowning Within Classified Environments. Cleanroom Technology (13655531). avr 2015;23(4):22-4.
35. Larkin D. Donning by Design: Sterile Cleanroom Gowning Evolves to Help Minimize Contamination Risk. Pharmaceutical Technology [Internet]. 1 mai 2009;33(6). Disponible sur: [extension://elhekieabhbkmcefcobjddigjcaadp/https://www.areyoudressedforsuccessjapan.com/media/10870812/Donning-By-Design.pdf](https://www.areyoudressedforsuccessjapan.com/media/10870812/Donning-By-Design.pdf)
36. Cleanroom Gowning Compliant With EU GMP Annex 1: An Overview [Internet]. [cité 20 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.pharmaceuticalonline.com/doc/cleanroom-gowning-compliant-with-eu-gmp-annex-an-overview-0001>
37. Hu SC, Shiue A. Validation and Application of the Personnel Factor for the garment used in Cleanrooms. Building and Environment. 1 déc 2015;97.
38. Le Hir A, Chaumeil JC, Brossard D. Chapitre 4 - Formes pharmaceutiques. In: Le Hir A, Chaumeil JC, Brossard D, éditeurs. Pharmacie galénique (Neuvième Édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2009 [cité 13 avr 2023]. p. 226-375. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294612046000040>
39. ANGELINI JP. Décryptage : l'administration Per Os d'un médicament [Internet]. 2020 [cité 13 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.ambulancier-lesite.fr/administration-per-os-ambulancier/>
40. Khaloughui S. Cours Formes Pharmaceutiques injectables [Internet]. Disponible sur: [extension://elhekieabhbkmcefcobjddigjcaadp/https://ifsiduchudenice20122015.files.wordpress.com/2013/08/formes-pharmaceutiques-injectables-de-mr-khaloughi-part-1.pdf](https://ifsiduchudenice20122015.files.wordpress.com/2013/08/formes-pharmaceutiques-injectables-de-mr-khaloughi-part-1.pdf)

41. Pareek V, Khunteta A. Pharmaceutical packaging: Current trends and future. 1 janv 2014;6:480-5.
42. Freeze drying stoppers / Lyo stoppers from West Pharmaceutical Services [Internet]. [cité 15 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.dedecke-gmbh.de/en/freeze-drying-stoppers-lyo-stoppers-from-west-pharmaceutical-services>
43. GEA engineering for a better world [Internet]. [cité 15 avr 2023]. Les principes de la lyophilisation pharmaceutique. Disponible sur: <https://www.gea.com/fr/customer-cases/freeze-drying-fundamentals.jsp>
44. Le Hir A, Chaumeil JC, Brossard D. Chapitre 3 - Opérations pharmaceutiques. In: Le Hir A, Chaumeil JC, Brossard D, éditeurs. Pharmacie galénique (Neuvième Édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2009 [cité 13 avr 2023]. p. 118-225. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294612046000039>
45. La stérilisation - La stérilisation par la chaleur [Internet]. [cité 15 avr 2023]. Disponible sur: http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2009_Lille_Odou_Sterilisation/co/Cours2_3.html
46. 14:00-17:00. ISO. [cité 16 avr 2023]. ISO 13408-2:2018. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/66452.html>
47. Jornitz MW. Filter Construction and Design. In: Jornitz MW, éditeur. Sterile Filtration [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2006 [cité 16 avr 2023]. p. 105-23. (Advances in Biochemical Engineering). Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/b104244>
48. Meltzer TH, Jornitz M. Pharmaceutical Filtration - The Management of Organism Removal. In 2006.
49. Jornitz M, Soelkner P, Meltzer T. Sterile filtration - A review of the past and present technologies. PDA journal of pharmaceutical science and technology / PDA. 1 juill 2002;56:192-5.
50. PDA Technical Report No. 26, (TR 26) Revised 2008, Sterilizing Filtration of Liquids (single user digital version) [Internet]. 2008 [cité 16 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.pda.org/bookstore/product-detail/1184-tr-26-sterilizing-filtration-of-liquids>
51. Reif OWW. Microfiltration Membranes: Characteristics and Manufacturing. In: Jornitz MW, éditeur. Sterile Filtration [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2006 [cité 16 avr 2023]. p. 73-103. (Advances in Biochemical Engineering). Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/b104245>
52. La stérilisation - La filtration stérilisante [Internet]. [cité 31 août 2021]. Disponible sur: http://unt-ori2.crihan.fr/unspf/2009_Lille_Odou_Sterilisation/co/Cours2_4.html
53. Les méthodes de test d'intégrité - Integrity Testing [Internet]. [cité 3 sept 2021]. Disponible sur: https://www.merckmillipore.com/FR/fr/product/Integrity-Testing-Methods,MM_NF-C537?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.qwant.com%2F
54. Jornitz MW. Integrity Testing. In: Jornitz MW, éditeur. Sterile Filtration [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2006 [cité 16 avr 2023]. p. 143-80. (Advances in Biochemical Engineering). Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/b104248>

55. Best Practices For Successful Filter Integrity Testing Using Water Intrusion Test (WIT) Method [Internet]. Biopharma Asia. [cité 18 avr 2023]. Disponible sur: <https://biopharma-asia.com/magazine-articles/successful-filter-integrity-testing-using-water-intrusion-test/>
56. Appareil pour le contrôle de l'intégrité des filtres Integritest® 4 - Tests d'intégrité [Internet]. [cité 3 sept 2021]. Disponible sur: https://www.merckmillipore.com/FR/fr/product/Integritest-4-Series-Automated-Filter-Integrity-Test-Instruments,MM_NF-C9870#specifications
57. Palltronic® Flowstar IV Integrity Test Instrument | Pall Shop [Internet]. [cité 3 sept 2021]. Disponible sur: <https://shop.pall.com/us/en/biotech/filtration/filter-integrity-testers/zidgri78lev>
58. sartocheck-5-plus-brochure-en-b-spi1510-sartorius-data.pdf [Internet]. [cité 3 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.sartorius.com/download/502560/sartocheck-5-plus-brochure-en-b-spi1510-sartorius-data.pdf>
59. iF WORLD DESIGN GUIDE [Internet]. [cité 3 sept 2021]. Sartocheck® 5. Disponible sur: <https://ifworlddesignguide.com/entry/237334-sartocheck-5>
60. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. Guidance for Industry - Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing - Current Good Manufacturing Practice [Internet]. 2004. Disponible sur: <https://www.fda.gov/media/71026/download>
61. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. Guidance on the Manufacture of Sterile Pharmaceutical Products by Aseptic Processing [Internet]. Disponible sur: <https://www.pmda.go.jp/files/000160794.pdf>
62. National Medical Products Administration. Sterilization and Filtration Technology Application Guide [Internet]. 2018. Disponible sur: <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20180911170301439.html>
63. What is the Position of the Regulatory Authorities on PUPSIT? [Internet]. [cité 11 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.pall.com/en/biotech/regulatory/sme/what-is-position-of-regulatory-authorities-on-pupsit.html>
64. Richard. Pre-use Post Sterilisation Integrity Testing - PUPSIT [Internet]. PharmOut. 2020 [cité 15 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.pharmout.net/pre-use-post-sterilisation-integrity-testing-pupsit/>
65. Points to Consider for Implementation of Pre-Use Post-Sterilization Integrity Testing (PUPSIT) (single user digital version) [Internet]. 2020 [cité 29 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.pda.org/bookstore/product-detail/5790-points-to-consider-pupsit2>
66. millipak-millidisk-barrier-techbrief-tb6352en-mk.pdf [Internet]. [cité 27 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/168/986/millipak-millidisk-barrier-techbrief-tb6352en-mk.pdf>
67. PDA Research: 2017 PDA PUPSIT Survey. 2018. 24 p.
68. Peterson W. The role of PUPSIT for sterility assurance during sterilising filtration.

69. Anderson S, Sharma A, Rathore A. Filter Clogging Issues in Sterile Filtration. BioPharm International [Internet]. 1 avr 2008 [cité 21 avr 2023];21(4). Disponible sur: <https://www.biopharminternational.com/view/filter-clogging-issues-sterile-filtration>
70. Ferrante S, McBurnie L, Dixit M, Joseph B, Jornitz M. Test Process and Results of Potential Masking of Sterilizing-Grade Filters. PDA J Pharm Sci Technol. 2020;74(5):509-23.
71. Thome B, Joseph B, Dassu D, Gaerke J, McBurnie L, Dixit M, et al. Data Mining to Determine the Influence of Fluid Properties on the Integrity Test Values. PDA J Pharm Sci Technol. 2020;74(5):524-62.
72. EMA. European Medicines Agency. 2018 [cité 30 avr 2023]. ICH Q9 Quality risk management - Scientific guideline. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q9-quality-risk-management-scientific-guideline>
73. Sartorius [Internet]. 2021 [cité 30 avr 2023]. Single-use filter transfer sets for final filling filtration I Sartorius. Disponible sur: <https://www.sartorius.com/en/products/process-filtration/sterile-filtration/filter-transfer-sets/fts-final-filling>
74. Ferrule clamp longue ISO 50mm en inox 316L : SOFRA INOX [Internet]. [cité 5 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.sofra-inox.fr/fr/ferrules-clamp-iso/151-ferrule-clamp-longue-iso-50mm-inox-316l.html>
75. Raccords CLAMP inox et accessoires de tuyauterie pour l'industrie pharmaceutique - SOFRA INOX [Internet]. [cité 5 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.sofra-inox.fr/fr/89-clamp>
76. Zaffora A, Di Franco F, Santamaria M. Corrosion of stainless steel in food and pharmaceutical industry. Current Opinion in Electrochemistry. 1 oct 2021;29:100760.
77. Afnor EDITIONS [Internet]. [cité 8 mai 2023]. NF EN 10088-1. Disponible sur: <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-en-100881/aciers-inoxydables-partie-1-liste-des-aciers-inoxydables/fa173619/44456>
78. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 8 mai 2023]. Aciers inoxydables. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/materiaux-th11/aciers-inoxydables-aciers-refractaires-et-aciers-resistant-au-fluage-42346210/aciers-inoxydables-m4540/>
79. Different Types of Stainless Steel for Pharmaceuticals : Pharmaguideline [Internet]. [cité 4 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.pharmaguideline.com/2015/02/different-types-of-stainless-steels-in-pharma.html>
80. contact@audouin-realisations.com. STERIGENE. 2019 [cité 9 mai 2023]. EXPERTISE METIER : zoom sur le rouging dans l'industrie pharmaceutique. Disponible sur: <https://sterigene.com/expertise-metier-zoom-sur-le-rouging-dans-lindustrie-pharmaceutique/>
81. A3P - Industrie Pharmaceutique & Biotechnologie [Internet]. 2021 [cité 9 mai 2023]. Rouging derouging industrie pharma La Vague 71 A3P. Disponible sur: <https://www.a3p.org/point-sur-le-rouging/>

82. Afnor EDITIONS [Internet]. [cité 9 mai 2023]. NF EN 10204. Disponible sur: <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-en-10204/produits-metalliques-types-de-documents-de-contrôle/fa111300/24547>
83. Guide utilisation produits gamme pharmaceutique & biotech [Internet]. [cité 4 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.bene-inox.com/fr/guide-sur-selection-produit-pharmaceutique-biotechnologie/>
84. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 10 mai 2023]. Soudage à l'arc. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mecanique-th7/assemblage-des-materiaux-par-soudage-42512210/soudage-a-l-arc-b7730/>
85. Le soudage TIG de métaux | Air Liquide France Industrie - Fournisseur de gaz industriels [Internet]. [cité 10 mai 2023]. Disponible sur: <https://fr.airliquide.com/solutions/soudage-industriel/le-soudage-tig-de-metaux>
86. 14:00-17:00. ISO. [cité 9 mai 2023]. ISO/TR 17671-3:2002. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/30009.html>
87. 14:00-17:00. ISO. [cité 10 mai 2023]. ISO 15609-1:2019. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/75556.html>
88. Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 9 mai 2023]. Électropolissage. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mecanique-th7/chaine-de-valeur-et-mise-en-uvre-42687210/electropolissage-m1635/>
89. Gander M. NGL. 2022 [cité 9 mai 2023]. Passivation des aciers Inox austénitiques et martensitiques. Disponible sur: <https://www.ngl-group.com/passivation-des-aciers-inox-austenitiques-et-martensitiques/>
90. Standard Specification for Chemical Passivation Treatments for Stainless Steel Parts [Internet]. [cité 9 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.astm.org/a0967-05e02.html>
91. B31.3 - Process Piping - ASME [Internet]. [cité 10 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.asme.org/codes-standards/find-codes-standards/b31-3-process-piping>
92. ASME BPE Bioprocessing Equipment - ASME [Internet]. [cité 10 mai 2023]. Disponible sur: [https://www.asme.org/codes-standards/find-codes-standards/bpe-bioprocessing-equipment-\(1\)](https://www.asme.org/codes-standards/find-codes-standards/bpe-bioprocessing-equipment-(1))
93. Levacher É. Qualification & Validation dans l'industrie pharmaceutique [Internet]. 2e édition. IMT Editions; 2017 [cité 11 mai 2023]. 136 p. (Cahiers techniques de l'IMT). Disponible sur: <https://www.groupe-imt.com/produit/cahier-technique-qualification-validation-dans-lindustrie-pharmaceutique/>
94. Article R4121-1 - Code du travail - Légifrance [Internet]. [cité 11 mai 2023]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000023795562?isSuggest=true
95. Quels sont les dangers de l'azote ? | Air Liquide France Industrie - Fournisseur de gaz industriels [Internet]. [cité 11 mai 2023]. Disponible sur: <https://fr.airliquide.com/solutions/circuits-integres-et-composants-electroniques/quels-sont-les-dangers-de-lazote>

96. Détecteur de gaz fixe POLYTRON 3000 [Internet]. [cité 5 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.be-atex.com/detecteurs-de-gaz/detecteurs-de-gaz-fixes/16-detecteur-de-gaz-fixe-polytron-3000>
97. Klingenberg S. Smoke Studies: Clearing the Mystery of Air Flow Visualization. :7.
98. APICS Operations Management Body of Knowledge Framework [Internet]. 3e édition. APICS The Association for Operations Management; 2011. Disponible sur: http://www.apics.org/docs/default-source/industry-content/apics-ombok-framework.pdf?sfvrsn=c5fce1ba_2
99. 14:00-17:00. ISO. [cité 12 mai 2023]. ISO 17665-1:2006. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/43187.html>
100. PDA Technical Report No. 1, Revised 2007, (TR 1) Validation of Moist Heat Sterilization Processes Cycle Design, Development, Qualification and Ongoing Control [Internet]. 2007 [cité 12 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.pda.org/bookstore/product-detail/4880-tr-1-validation-of-moist-heat-sterilization>
101. 14:00-17:00. ISO. [cité 13 mai 2023]. ISO 13408-1:2008. Disponible sur: <https://www.iso.org/fr/standard/37842.html>
102. Comment les shadow boards permettent d’être plus compétitifs [Internet]. Flexpipe. 2021 [cité 13 mai 2023]. Disponible sur: https://www.flexpipeinc.com/ca_fr/shadow-boards/

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné (e) LAURENT Candice

Déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. (Décret n°92-657 du 13 juillet 1992)

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce mémoire.

Signature : Candice Laurent



SIGNATURES DU DIRECTEUR DE THESE ET DU DOYEN

N° Étudiant : **21304865**

N° Thèse : **60**

Nom et Prénom : **LAURENT Candice**

Sujet : **Nouvelles exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante des médicaments injectables - Exemple de la mise en place du PUPSIT sur une ligne de remplissage aseptique conventionnelle**

Tours, le : **07/09/2023**

Le(s) Directeur(s) de Thèse :

Philippe SCODET

S. David

Vu et Transmis :
Le Doyen

Le directeur de la Faculté
des Sciences Pharmaceutiques

Pr Denys BRAND

[Signature]

NOM, PRÉNOM de l'étudiant : LAURENT, CANDICE	N°60
TITRE DE LA THÈSE Nouvelles exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante des médicaments injectables – Exemple de la mise en place du PUPSIT sur une ligne de remplissage aseptique conventionnelle	
RÉSUMÉ DE LA THÈSE La production de médicaments injectables est une activité fortement réglementée et soumise aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). La filtration stérilisante est une étape clé de la répartition aseptique de solutions car elle permet de garantir la sécurité pour le patient et la qualité du médicament. La réalisation d'un test d'intégrité du filtre stérilisant permet de s'assurer qu'il conserve son pouvoir de rétention et va générer un filtrat exempt de microorganismes. Le cadre réglementaire est en constante évolution. Le requis en termes de vérification de l'intégrité du filtre est passé d'un test avant et après utilisation à un attendu de la nouvelle annexe 1 des BPF qui se concentre sur l'ajout de la réalisation d'un test de l'intégrité du filtre stérilisant directement sur la ligne après stérilisation et avant son utilisation (PUPSIT), au plus près du remplissage. Ce PUPSIT a fait l'objet d'une controverse pendant plusieurs années. En effet, son objectif est de réduire le risque associé à l'apparition du phénomène de masquage de défaut lors de la filtration du produit, ce qui est un phénomène considéré comme marginal par de nombreux industriels. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette thèse qui s'intéressera aux nouvelles exigences réglementaires liées à la filtration stérilisante des médicaments injectables. L'exemple de la mise en place du PUPSIT sur une ligne de remplissage aseptique conventionnelle sera présentée avec notamment les analyses de risque et d'impact liées à la mise en place, la documentation et la formation du personnel mais également la validation du nettoyage du système et enfin la simulation aseptique du procédé. Une réflexion sur les problématiques rencontrées lors de la mise en place permettra de mettre en avant des pistes d'amélioration à considérer lors de la mise en place d'un système PUPSIT.	
MOTS-CLÉS SIGNIFICATIFS DE SON CONTENU, ATTRIBUÉS PAR LE CANDIDAT EN LIAISON AVEC LA BIBLIOTHÈQUE UNIVERSITAIRE ET LES MEMBRES DU JURY Annexe 1 des BPF, Préparation injectable, Répartition aseptique, Ligne conventionnelle, Filtre stérilisant, Test d'intégrité	
<u>JURY</u> PRÉSIDENT : Mme DOUZIECH EYROLLES Laurence, Pharmacien, Maître de conférences, Faculté de Pharmacie – TOURS MEMBRES : M. SCOTET Philippe, Pharmacien, Responsable MSAT, Fareva PAU – IDRON Mme DAVID Stéphanie, Pharmacien, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie – TOURS	
DATE ET LIEU DE SOUTENANCE : Le 30/08/2023 à l'Université de Tours, UFR Pharmacie	