

**Université de POITIERS**

**Faculté de Médecine et de Pharmacie**

**ANNEE 2021**

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

(arrêté du 17 juillet 1987)

présentée et soutenue publiquement  
le 13 Décembre 2021 à POITIERS  
par Monsieur SAUVÉ Mathieu  
né le 01 Juillet 1996

Décontamination au peroxyde d'hydrogène dans l'industrie pharmaceutique

Composition du jury :

Président : Monsieur OLIVIER Jean Christophe, Professeur  
Universitaire de Galénique

Directeur de thèse : Monsieur RENAULT Nicolas, Associate Manager –  
Novo Nordisk

Co-Directeur de thèse : Monsieur CARATO Pascal, Professeur Universitaire de  
Chimie Thérapeutique



**PHARMACIE**

**Professeurs**

- CARATO Pascal, PU, chimie thérapeutique
- COUET William, PU-PH, pharmacie clinique
- DUPUIS Antoine, PU-PH, pharmacie clinique
- FAUCONNEAU Bernard, PU, toxicologie
- GUILLARD Jérôme, PU, pharmacochimie
- IMBERT Christine, PU, parasitologie
- MARCHAND Sandrine, PU-PH, pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, PU, galénique
- PAGE Guylène, PU, biologie cellulaire
- RABOUAN Sylvie, PU, chimie physique, chimie analytique
- RAGOT Stéphanie, PU-PH, santé publique
- SARROUILHE Denis, PU, physiologie
- SEGUIN François, PU, biophysique, biomathématiques

**Maîtres de Conférences**

- BARRA Anne, MCU-PH, immunologie-hématologie
- BARRIER Laurence, MCU, biochimie
- BINSON Guillaume, MCU-PH, pharmacie clinique
- BODET Charles, MCU, bactériologie (HDR)
- BON Delphine, MCU, biophysique
- BRILLAULT Julien, MCU, pharmacocinétique, biopharmacie
- BUYCK Julien, MCU, microbiologie
- CHARVET Caroline, MCU, physiologie
- CHAUZY Alexia, MCU, pharmacologie fondamentale et thérapeutique
- DEBORDE-DELAGE Marie, MCU, sciences physico-chimiques
- DELAGE Jacques, MCU, biomathématiques, biophysique

- FAVOT-LAFORGE Laure, MCU, biologie cellulaire et moléculaire (HDR)
- GIRARDOT Marion, MCU, biologie végétale et pharmacognosie
- GREGOIRE Nicolas, MCU, pharmacologie (HDR)
- HUSSAIN Didja, MCU, pharmacie galénique (HDR)
- INGRAND Sabrina, MCU, toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile, MCU, pharmacochimie
- PAIN Stéphanie, MCU, toxicologie (HDR)
- RIOUX BILAN Agnès, MCU, biochimie
- THEVENOT Sarah, MCU-PH, hygiène et santé publique
- TEWES Frédéric, MCU, chimie et pharmacochimie
- THOREAU Vincent, MCU, biologie cellulaire
- WAHL Anne, MCU, chimie analytique

**Maîtres de Conférences Associés - officine**

- DELOFFRE Clément, pharmacien
- ELIOT Guillaume, pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwyn, pharmacien

**A.T.E.R. (attaché temporaire d'enseignement et de recherche)**

- MIANTEZILA BASILUA Joe, épidémiologie et santé publique

**Enseignant d'anglais**

- DEBAIL Didier

# Remerciements

*Aux membres du jury,*

## **Monsieur OLIVIER Jean-Christophe,**

Merci pour les enseignements que vous m'avez apportés pendant mes dernières années d'étude de Pharmacie. Vous avez accepté la Présidence de ce jury et j'en suis grandement honoré.

## **Monsieur RENAULT Nicolas,**

Tu m'as fait confiance pendant mon stage puis pendant mon alternance chez Novo Nordisk. Tu as su me guider dans mon évolution, mais aussi tout au long de ce travail qu'est la rédaction d'une thèse.

Merci pour ton implication, en prenant la Direction de cette thèse.

## **Monsieur CARATO Pascal,**

Merci pour tous les moments partagés à Poitiers lors de mes études, que ce soit dans le cadre de l'Université ou en dehors.

Soyez assuré de ma reconnaissance et je suis honoré que vous ayez accepté de Co-Diriger cette thèse sans même vous poser de question.

## **A ma famille,**

Pour votre soutien durant mes études ou mes projets. Je sais que vous avez parfois été inquiets, stressés... et pour certitude, bien plus que moi.

Il est vrai que pour vous rassurer, j'ai toujours dit : « Pas de stress, je suis allez en cours et j'ai très bien assimilé... je relirai une fois avant l'examen... le week-end, il faut savoir en profiter pour se détendre ! ».

Merci de votre confiance et de votre aide.

## **A mes amis,**

*Ceux de la fac* : Fadi, Thibault, Alban, Raphaël et Alexandre. Merci pour tous les moments partagés. C'est avec conviction que l'on en partagera encore de nombreux.

*Ceux d'ailleurs* : Alexandre, Jérôme. Merci pour cette amitié de toujours malgré la distance qui nous sépare.

**A mes collègues,**

Vous m'avez transmis toutes vos connaissances et vous m'avez profondément touché pour toute la bienveillance que vous avez eue à mon égard.

Merci pour ces moments authentiques dans le cadre professionnel, mais aussi dans le cadre privé.

**A toutes ces rencontres,**

Toutes ces personnes pour lesquelles j'ai éprouvé une grande sympathie et que le temps nous a malheureusement éloigné. Toutes les rencontres laissent des traces indélébiles et font aussi ce que je suis aujourd'hui.

# Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	<b>4</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>8</b>
<b>Table des figures</b> .....	<b>9</b>
<b>Table des tableaux</b> .....	<b>10</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>11</b>
<b>I. Contamination</b> .....	<b>12</b>
<b>I.A. Types de contamination</b> .....	<b>12</b>
I.A.1. Contamination croisée .....	13
I.A.2. Contamination microbiologique .....	14
I.A.3. Contamination particulaire .....	14
I.A.4. Contamination chimique.....	15
<b>I.B. Conséquence d'une contamination</b> .....	<b>15</b>
<b>I.C. Maitrise de la contamination</b> .....	<b>16</b>
I.C.1. Matière.....	18
I.C.1.1. Identification, traçabilité .....	18
I.C.1.2. Contrôle en cours de procédé .....	19
I.C.2. Matériel.....	19
I.C.3. Main d'œuvre.....	20
I.C.3.1. Règles d'hygiène et d'habillement .....	21
I.C.3.2. Flux personnel .....	22
I.C.3.3. Formation, qualification .....	22
I.C.4. Milieu .....	23
I.C.4.1. Locaux.....	23
I.C.4.2. L'air .....	24
I.C.5. Méthode.....	25
I.C.5.1. Nettoyage et décontamination .....	25
<b>II. Décontamination de surface par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène</b> .....	<b>28</b>
<b>II.A. Histoire</b> .....	<b>28</b>
<b>II.B. Peroxyde d'hydrogène</b> .....	<b>29</b>
II.B.1. Propriétés.....	29

II.B.2.	Mécanisme d'action .....	30
II.B.2.1.	Action bactéricide .....	30
II.B.2.2.	Action virucide .....	31
II.B.2.3.	Action sporicide .....	31
II.B.3.	Toxicité pour l'Homme .....	32
II.B.4.	Différentes utilisations .....	32
II.B.4.1.	Isolateurs .....	33
II.B.4.2.	Salles de production aseptique (salle propre) .....	33
II.B.4.3.	Chambres de transfert de matériel .....	34
<b>II.C.</b>	<b>Différentes technologies.....</b>	<b>35</b>
II.C.1.	Décontamination par micro-condensation .....	35
II.C.2.	Décontamination par vapeur sèche .....	36
II.C.3.	Décontamination par nébulisation .....	37
<b>II.D.</b>	<b>Avantages .....</b>	<b>38</b>
<b>II.E.</b>	<b>Limites du procédé de décontamination .....</b>	<b>39</b>
II.E.1.1.	Cas des matériaux poreux .....	39
II.E.1.2.	Cas des matériaux catalytiques .....	39
II.E.1.3.	Cas des milieux de culture .....	40
<b>III.</b>	<b>Validation du procédé de décontamination .....</b>	<b>41</b>
<b>III.A.</b>	<b>Cas du Steris VHP M100-SX.....</b>	<b>42</b>
<b>III.B.</b>	<b>Développement du procédé de décontamination.....</b>	<b>43</b>
III.B.1.	Conditions Worst Case .....	44
III.B.2.	Identification de la charge worst case.....	47
III.B.3.	Identification des surfaces à contrôler .....	47
III.B.4.	Identification des paramètres critiques et mise sous contrôle .....	48
<b>III.C.</b>	<b>Validation initiale.....</b>	<b>50</b>
III.C.1.	Choix de la charge à valider .....	52
III.C.2.	Définition du cycle de production .....	52
<b>III.D.</b>	<b>Mise en œuvre de la validation initiale .....</b>	<b>53</b>
<b>IV.</b>	<b>Réflexion personnelle.....</b>	<b>55</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>57</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>58</b>
	<b>Résumé et mots clés.....</b>	<b>61</b>

# Liste des abréviations

**ADC** : Article De Conditionnement

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**AFNOR** : Association Française de **NOR**malisation

**ANSM** : Agence National de **S**écurité du **M**édicament et des produits de santé

**BI** : Biological Indicator ; Indicateur biologique

**BPF** : Bonnes **P**ratiques de **F**abrication

**CMR** : **C**ancérogène, **M**utagène et **R**eprotoxique

**CIRC** : Centre International de **R**echerche sur le **C**ancer

**CPP** : **C**ritical **P**rocess **P**arameters ; Paramètres critiques du procédé

**D-value** : Temps nécessaire pour tuer 90% des micro-organismes pertinents

**DSVA** : **D**écontamination de **S**urface par **V**oie **A**érienne

**FDA** : **F**ood and **D**rug **A**dministration

**GMP** : **G**ood **M**anufacturing **P**ractices

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**HVAC** : **H**eating, **V**entilation and **A**ir-**C**onditioning

**INRS** : Institut National de **R**echerche et de **S**écurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles

**ISO** : International **O**rganization of **S**tandardization

**NF** : Norme Française

**O<sub>2</sub>** : Dioxygène

**PCD** : **P**rocess **C**ontrol **D**evice ; Dispositif de contrôle de processus

**pH** : potentiel **H**ydrogène

**ppm** : partie par million

**SOP** : **S**tandard **O**perating **P**rocedure ; Procédure opérationnelle normalisée

**UFC** : **U**nité **F**ormant **C**olonie

**VHP** : **V**apor **H**ydrogen **P**eroxide ; Vapeur de peroxyde d'hydrogène

**ZAC** : **Z**one à **A**tmosphère **C**ontrôlée

# Table des figures

FIGURE 1 - DIAGRAMME D'ISHIKAWA DES FACTEURS INFLUENÇANT LA PROPRETE DES SALLES DE PRODUCTION .	17
FIGURE 2 - MOLECULE DE PEROXYDE D'HYDROGENE .....	29
FIGURE 3 - ACTION BACTERICIDE DU PEROXYDE D'HYDROGENE .....	31
FIGURE 4 - DIAGRAMME THEORIQUE D'UN CYCLE DE DECONTAMINATION A LA VAPEUR SECHE.....	37
FIGURE 5 - SCHEMA DE FONCTIONNEMENT DU VHP M100-SX .....	42
FIGURE 6 – GENERATEUR DE VAPEUR DE PEROXYDE D'HYDROGENE (VHP M100-SX) .....	43
FIGURE 7 - PHOTO D'UN INDICATEUR BIOLOGIQUE .....	54
FIGURE 8 - ÉTAPES D'UTILISATION DES INDICATEURS BIOLOGIQUES .....	54

# Table des tableaux

TABLEAU 1 - CLASSE DE PROPRETE MICROBIOLOGIQUE .....	14
TABLEAU 2 - CLASSE DE PROPRETE PARTICULAIRE DE L'AIR .....	15
TABLEAU 3 - REGLE D'HABILLAGE EN ZAC POUR LA PROTECTION DU MEDICAMENT .....	21
TABLEAU 4 - COMPATIBILITE MATERIAUX ET H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> A 35% .....	38
TABLEAU 5 - EXEMPLE DE PARAMETRES POUR UN CYCLE DE DECONTAMINATION.....	52

# Introduction

La maîtrise de la contamination est la préoccupation majeure des établissements fabricant des médicaments stériles.

Dans l'industrie pharmaceutique, avant les années quatre-vingt, la maîtrise de la contamination s'effectuait par des méthodes de nettoyage manuelles ou par nébulisation.

Au-delà des années quatre-vingt, des méthodes automatiques de décontamination de surface par voie aérienne ont vu le jour.

L'objectif de ce procédé de décontamination de surface par voie aérienne est de réduire la biomasse présente à la surface des pièces traitées, de façon à les rendre compatibles avec les critères nécessaires.

Des générateurs de vapeur de peroxyde d'hydrogène ont donc été développés. Dans le cadre des Bonnes Pratiques de Fabrication, l'efficacité doit être démontrée au travers d'un processus de validation.

C'est dans ce contexte, que je vais partager mon expérience d'intégration d'un nouveau système de décontamination des surfaces par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène.

Ce travail sera présenté dans cette thèse, accompagné et illustré de toutes les recherches bibliographiques réalisées.

Pour bien comprendre les enjeux de ce sujet, il est nécessaire de discuter au préalable de quelques notions sur la contamination dans l'industrie pharmaceutique.

Également, un rappel théorique sur la décontamination de surface au peroxyde d'hydrogène sera présenté, ainsi que les différentes technologies existantes.

Et pour terminer, un chapitre sera dédié à la validation du procédé de décontamination des surfaces par voie aérienne.

# I. Contamination

Les référentiels Qualité encadrant les activités de production pharmaceutique : Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF)<sup>1</sup>, ou Good Manufacturing Practice (GMP)<sup>2</sup>, sont en constante évolution. La maîtrise des processus opérationnels prend une place de plus en plus importante, y compris pour les activités « autour » de la Fabrication, telles que la décontamination des locaux.

Un système d'autorisation de mise sur le marché garantit que tous les médicaments ont été évalués par une autorité compétente et ce, afin de s'assurer de leur conformité aux exigences actuelles de sécurité, de qualité et d'efficacité.

Les sources de contamination des produits sont multiples. Elles peuvent être liées à l'environnement et à l'équipement de production, au procédé de fabrication et aux différentes opérations manuelles réalisées sur l'intégralité des activités pharmaceutiques. En fonction de la nature des contaminants et de leur toxicité potentielle, les produits peuvent induire des effets secondaires indésirables voire, pour certains modes d'administration, mettre en cause le pronostic vital du patient. Il est donc essentiel de maîtriser ces risques pour garantir la qualité des médicaments.

La contamination est définie comme l'introduction non souhaitée d'impuretés de nature chimique ou microbiologique, ou de matières étrangères, dans ou sur une matière première, un intermédiaire ou une substance pharmaceutique active lors de la production, de l'échantillonnage, du conditionnement ou du reconditionnement, du stockage ou du transport.

## I.A. Types de contamination

Les contaminants peuvent être de nature chimique, biologique ou particulaire. Les risques inhérents à la production pharmaceutique peuvent être liés à :

- une contamination croisée entre deux substances, soit par une mauvaise élimination d'un résidu d'une production antérieure, soit par une confusion entre des composants du médicament.

- une contamination microbiologique apportée par l'environnement, les matières, les opérateurs de production, les équipements
- une contamination particulaire liée à la classe de la zone de production
- une contamination chimique par les substances actives, les excipients, les produits intermédiaires et les agents de nettoyage.

Pour les produits administrés par voie parentérale, les contaminations microbiologiques et particulaires sont particulièrement critiques pour la sûreté du médicament.

### **I.A.1. Contamination croisée**

La contamination croisée se définit comme étant l'introduction d'un produit (substance active, excipient, articles de conditionnements primaires et secondaires, produit semi-fini, etc.) dans une autre production pharmaceutique. Elle peut être retrouvée de la matière première réceptionnée jusqu'au produit fini conditionné.

Selon les BPF, la contamination croisée se définit comme :

- La « contamination d'un produit par un autre », ou encore
- La « contamination d'une matière ou d'un produit par une autre matière ou par un autre produit »

On peut distinguer deux types de contamination croisée :

- la contamination successive : lorsque les équipements ne sont pas dédiés ; c'est-à-dire qu'un équipement est utilisé pour fabriquer plusieurs produits différents. Un résidu du précédent produit reste dans l'équipement et vient contaminer la fabrication suivante.
- la contamination simultanée : lorsque plusieurs produits différents sont fabriqués de façon simultanée dans des zones proches. Le personnel et le matériel peuvent être à l'origine d'une telle contamination en transportant le produit d'une zone vers une autre, d'où l'intérêt de la maîtrise des flux.

## I.A.2. Contamination microbiologique

Selon la norme ISO 14698-1 : 2004<sup>3</sup>, la biocontamination est la « contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des particules viables ».

La contamination microbiologique a pour origine les organismes vivants tels que les levures, les moisissures, les bactéries et les virus. Soumis à certaines conditions de température, humidité, pH, apport nutritif, leur croissance y est favorable. Ils vont alors se développer et se multiplier colonisant ainsi les surfaces.

Ces micro-organismes se fixent sur des particules qui elles-mêmes se déposent sur les surfaces des équipements et locaux. Par conséquent, plus l'environnement a une contamination particulaire élevée et plus il présente un risque élevé de contamination microbiologique.

Tableau 1 - Classe de propreté microbiologique

LIMITES RECOMMANDÉES DE CONTAMINATION BIOLOGIQUE				
CLASSE	Échantillon d'air ufc/m <sup>3</sup>	Boîte de Pétri (Ø 90 mm) ufc/4 heures	Géloses de contact (Ø 55 mm) ufc/plaque	Empreintes de gants (5 doigts) ufc/gant
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	/
D	200	100	50	/

## I.A.3. Contamination particulaire

La contamination particulaire concerne à la fois les particules inertes (fibres de vêtements, particules de matières premières, de matériels...) et les particules biologiques (cheveux, peau, débris végétaux et animaux...).

La contamination particulaire est majoritairement véhiculée par l'air ambiant.

Les particules sont préalablement rejetées par le personnel et le matériel puis redistribuées dans l'environnement.

Ces contaminants en suspension dans l'air se déplacent plus ou moins librement et se retrouvent dans les matières de production ainsi que sur les surfaces.

Il est alors nécessaire de réaliser des comptages de particules dans l'air car, pour une taille de particules données, il existe un nombre maximal de particules par unité de volume en fonction du classement de la zone de travail. Ce comptage est réalisé par des compteurs particuliers conçus pour la détection de ce type de contaminants.

Tableau 2 - Classe de propreté particulaire de l'air

CLASSE	AU REPOS		EN ACTIVITE	
	Nombre maximal autorisé de particules par m <sup>3</sup> de taille ≥ à			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
<b>A</b> POSTE DE TRAVAIL SOUS FLUX LAMINAIRE	3.500	1	3.500	1
<b>B</b>	3 500	1	350 000	2 000
<b>C</b>	350 000	2 000	3 500 000	20 000
<b>D</b>	3 500 000	20 000	NON DEFINI	NON DEFINI

#### I.A.4. Contamination chimique

L'origine de la présence d'un contaminant chimique dans un produit pharmaceutique est variée. La contamination chimique peut se faire par les substances actives, les excipients, les produits intermédiaires et les agents de nettoyage. La plupart des contaminations chimiques ont pour origine une contamination croisée.

Pour espérer les détecter, des méthodes d'analyse sont utilisées en laboratoire de contrôle par le service contrôle qualité. Une grande quantité des méthodes d'analyse est retrouvée dans les différentes pharmacopées.

Ces contaminants font l'objet d'un suivi quantitatif car ils sont soumis à des critères d'acceptation. Néanmoins, tous les contaminants chimiques ne seront pas détectés.

#### I.B. Conséquence d'une contamination

Un médicament doit garantir pour le patient la qualité, la sécurité et l'efficacité promise dans son dossier d'autorisation de mise sur le marché.

Une contamination microbiologique ou particulaire dans un médicament stérile peut entraîner la mort du patient ou bien de graves conséquences pour sa santé.

En ce qui concerne une contamination croisée, il y aura une possible altération de l'effet pharmacologique.

L'effet pharmacologique recherché peut être augmenté ou bien diminué. Il est donc possible de retrouver des effets toxiques comme une sensibilisation.

Les médicaments injectables et les médicaments à marge thérapeutique étroite sont les deux types de médicaments les plus sensibles en cas de contamination. Une contamination de ces médicaments, qu'elle soit microbiologique, particulière ou croisée, peut entraîner les plus graves conséquences.

Pour les industriels, les retombées d'une contamination sont de type sanitaire et surtout économique. De plus, la réputation de l'entreprise sur sa compétence en gestion de la qualité est discréditée auprès des autorités compétentes tel que l'ANSM mais aussi auprès des patients.

L'industrie pharmaceutique doit donc prendre en compte dans son analyse de risque ces facteurs afin de ne jamais connaître de cas de contamination dans leurs médicaments mis sur le marché.

C'est pour cela qu'il est nécessaire de réaliser une gestion du risque qualité, c'est-à-dire dans ce cas présent, une gestion du risque de la contamination afin de maîtriser ce risque.

### **I.C. Maîtrise de la contamination**

Selon les BPF<sup>1</sup>, le risque est défini comme l'association de la probabilité d'apparition d'un incident ou accident et la gravité de ses conséquences sur une cible donnée. Dans une approche de gestion du risque, il est donc recommandé de considérer deux paramètres :

- La probabilité d'apparition du phénomène dangereux,
- La gravité des conséquences ou dommages potentiels.

La prévention est le meilleur moyen de maîtriser la contamination. Des analyses de risques sont alors réalisées en prenant en compte les deux paramètres précédents mais aussi le paramètre de détection. C'est-à-dire, s'il existe des moyens simple et régulier permettant la détection du risque de contamination.

La maîtrise globale du risque de contamination doit donc consister à rechercher l'origine des contaminations afin de limiter leurs dommages potentiels et de mettre en œuvre les mesures préventives et correctives nécessaires.

Dans l'industrie pharmaceutique, le diagramme d'Ishikawa est largement utilisé pour la résolution de problèmes, aussi appelé diagramme des « 5M ». Cette méthode s'applique également pour la prévention des risques et dans ce cas présente la maîtrise de la contamination. Cette maîtrise de la contamination consiste à être constamment à un niveau de propreté nécessaire pour la fabrication de médicaments stériles, mais aussi en la ségrégation de zones dédiées et en la définition de règles de comportement.

L'analyse des « 5M » des paramètres, à considérer pour fabriquer un médicament stérile et spécifique au procédé de décontamination de surface par voie aérienne est décrit ci-dessous :

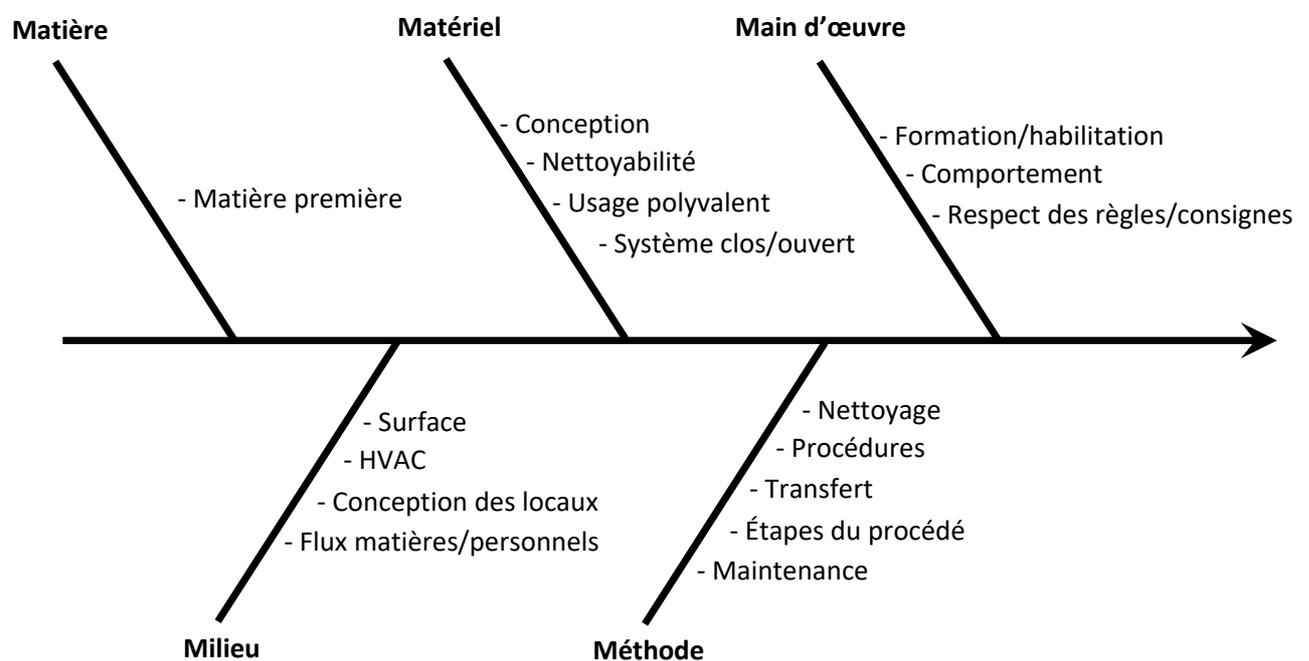


Figure 1 - Diagramme d'Ishikawa des facteurs influençant la propreté des salles de production

## **I.C.1. Matière**

L'agent décontaminant doit être stocké dans un lieu défini, dans des conditions de conservations appropriées (température, humidité, exposition) mais aussi clairement identifiées pour éviter tout risque de confusion et de contamination. Le statut de chaque lot doit être clairement apposé sur l'étiquette.

Les lots doivent être séparés et le contenant doit être inerte vis-à-vis du contenu et être exempt de tout dommage.

### **I.C.1.1. Identification, traçabilité**

Un contrôle à réception doit être effectué. Il peut être de nature administratif par contrôle des certificats matières et de conformité par le service assurance qualité, ou bien analytique par une analyse chimique par le service contrôle qualité.

Des procédures écrites et des registres sont requis pour la réception de chaque livraison de chaque matière première (y compris les produits en vrac, intermédiaires ou finis), des matériaux d'emballage primaire, secondaire et imprimé.

Les relevés des reçus comprennent :

- Le nom de la matière sur le bon de livraison et les contenants ;
- Le nom et/ou le code « interne » s'il est différent ;
- La date de réception ;
- Le nom du fournisseur et le nom de fabricant ;
- Le numéro de lot ou de référence du fabricant ;
- La quantité totale et le nombre de contenants reçus ;
- Le numéro de lot attribué après la réception ;
- Tout commentaire pertinent.

L'identification des matières doit être maintenue tout au long de leur mouvement. L'identification réalisée à l'aide d'un étiquetage doit être visible avec au minimum les mentions suivantes : code article, numéro de lot et libellé produit, son statut.

Le statut permet d'identifier en un coup d'œil si la matière est acceptée, libérée, en quarantaine ou refusée. Seuls les produits conformes peuvent être utilisés pour la fabrication des médicaments.

Un système de gestion de production informatisé permet de tracer en temps réel chaque matière et renseigne son statut ainsi que sa localisation.

### **I.C.1.2. Contrôle en cours de procédé**

La méthode de contrôle en cours de production est une méthode basée sur les contrôles statistiques. Ce contrôle via une fréquence donnée d'un faible pourcentage de produit en cours de production permet de s'assurer que le produit répond aux exigences définies.

Si les objectifs ne sont pas atteints, alors le produit est écarté. Toutes les étapes de fabrication en amont peuvent être mises en cause et ainsi révisées pour que les produits suivants reviennent dans l'état attendu.

Les contrôles en cours ont lieu à toutes les étapes du cycle de fabrication d'un médicament afin de remettre en cause le plus rapidement possible le système défaillant.

### **I.C.2. Matériel**

Le matériel utilisé pour la décontamination ou devant être décontaminé doit être inerte vis-à-vis de l'agent décontaminant. La nettoyabilité de chaque pièce doit être démontrée dans le cadre de validation de nettoyage mais aussi de stérilisation le cas échéant.

Le matériel doit être conçu afin de ne pas créer des zones de rétentions, zones propices à l'accumulation d'eau et in fine de possibles développements microbiens.

Dans le cas de matériel polyvalent, c'est-à-dire utilisable pour différentes préparations, l'efficacité de nettoyage et si nécessaire de stérilisation doit être démontrée dans des procédures de validation.

Des plans de maintenance doivent être établis pour chaque matériel et/ou équipement, pour que ces derniers restent dans un état approprié, à la fabrication et au fonctionnement, en conformité avec les validations initiales.

Utiliser du matériel dédié ou à usage unique permet de limiter les risques de contamination croisée, tout comme l'emploi de systèmes clos (pas de contact direct entre le produit et l'air).

En ce qui concerne le matériel de nettoyage et de désinfection, il ne doit pas être une source de contamination.

Le matériel de nettoyage doit être dédié à un seul service, sinon il est désinfecté avant utilisation.

L'ensemble du personnel doit être sensibilisé au risque de contamination, en effet, une intervention de maintenance dans une zone classée devra être réfléchie. L'outillage de maintenance doit être au préalable décontaminé avant d'entrer dans une zone propre.

Les équipements doivent être conçus pour pouvoir être nettoyés facilement, même s'ils sont dédiés à un seul produit. Cela signifie que l'équipement doit être facile à démonter. Toutes les crevasses doivent être conçues de manière à permettre un nettoyage facile et à simplifier l'inspection visuelle.

### **I.C.3. Main d'œuvre**

La main d'œuvre comprend l'ensemble du personnel interne, le personnel externe (prestataire de service d'utilité, de nettoyage) ou le personnel occasionnel (fournisseur, autorité par exemple).

L'Homme est vecteur de contamination. Pour minimiser ce risque, des règles d'hygiène, d'habillement doivent être procédurées pour chaque tâche. Un flux de personnes doit être clairement défini et le personnel doit être formé et qualifié aux tâches qui lui sont confiées.

La première chose à prendre en considération pour maîtriser le risque de contamination est les accès. C'est-à-dire que chaque personne entrant sur un site de fabrication doit être munie d'un badge nécessaire à l'identification et au passage d'un lieu à un autre. Les accès sont limités uniquement aux endroits nécessaires à chaque personnel.

La fabrication des médicaments stériles est réalisée en ZAC, un comportement spécifique doit être adopté par chaque personne entrant dans ces zones pour minimiser les potentielles contaminations. Des règles d'hygiène, d'habillement sont appliquées. Le personnel est au préalable formé puis habilité pour travailler dans ce milieu continuellement surveillé.

### I.C.3.1. Règles d'hygiène et d'habillement

Le port de vêtements de protection appropriés est essentiel. Le contrôle doit être exercé dans l'utilisation des vêtements et où/quand le changement sera fait. Certaines zones nécessiteront des vêtements dédiés. Il est donc nécessaire de mettre en place des procédures d'habillement en fonction des différentes zones de travail.

En revanche, les montres-bracelet, les bijoux et le maquillage doivent être exclus des zones à atmosphère contrôlée<sup>4</sup>.

Tableau 3 - Règle d'habillement en ZAC pour la protection du médicament

Classe	Tête	Corps	Mains	Pieds
<b>D</b>	Charlotte et couvre barbe si nécessaire	Vêtement propre (côte)		Chaussures dédiées ou couvre-chaussures
<b>C</b>	Charlotte et couvre barbe si nécessaire.  Masque lors de la manipulation d'équipement ou de matériaux	Vêtement propre (côte), serré au niveau des poignets, des chevilles et à col montant garantissant le non-rejet de fibre ou de particule	Gants lors de la manipulation d'équipement ou de matériaux	Chaussures dédiées ou couvre-chaussures
<b>A et B</b>	La totalité de la chevelure doit être couverte :  cagoule intégrée à la tenue stérile  Masque recouvrant l'intégralité du visage et couvre barbe si nécessaire	Vêtement propre et stérile garantissant le non-rejet de fibre ou de particule	Gants stériles recouvrant les manches de la tenue	Bottes stériles recouvrant le bas du pantalon

Pour le passage d'une zone classifiée à une zone plus hautement classifiée, l'ensemble des vêtements de protection doivent être conservés. Les nouveaux équipements de protection sont ajoutés par-dessus.

Les équipements décrits ci-dessus par zone sont le minimum nécessaire en ce qui concerne les règles d'habillement. Effectivement rien n'empêche que des règles d'habillement plus strictes soient adoptées si cela est considéré comme nécessaire.

En ce qui concerne l'hygiène, des procédures doivent être écrites puis respectées par l'ensemble du personnel. Ces règles d'hygiène s'étendent de l'étape d'habillement, jusqu'aux étapes de fabrication.

Le personnel présentant une maladie ou des lésions ouvertes susceptibles de présenter un risque pour le produit ne doit pas manipuler de matières premières, de produits intermédiaires ou des produits finis.

### **I.C.3.2. Flux personnel**

Le flux du personnel doit être mis en place de telle sorte à éviter les contaminations intra-humaines. Pour ce faire, des flux entrants et des flux sortants peuvent être définis dans l'objectif qu'une personne ayant réalisé des tâches de production ne puisse pas contaminer une personne n'ayant pas fait de tâche de production en ZAC.

Afin de faciliter ce flux, des marquages peuvent être mis en place mais aussi des mesures bien plus importantes comme la définition de zone particulière comme des couloirs de circulation, des sas et des vestiaires dédiés.

### **I.C.3.3. Formation, qualification**

Le travail en zone à atmosphère contrôlée doit être régi par des procédures. Le personnel ayant accès à ces zones doit être formé afin de respecter les flux de personnels, d'habillement et de travail. Autrement dit, chaque personne doit être formée aux tâches qui lui sont confiées et doit être qualifiée afin de minimiser le risque d'erreur ou de confusion entraînant des potentielles contaminations.

Un comportement spécifique, propre au travail en ZAC, doit être adopté par toutes les personnes entrant dans ces zones.

Des formations aux risques de contamination sont donc dispensées à tout le personnel. Elles sont centrées sur l'enjeu d'une contamination, sur la qualité du médicament et la sécurité du patient ; la transmission de contamination intra-humaine, les techniques de manipulation et d'intervention limitant les risques, l'importance des techniques de nettoyage et de décontamination et enfin sur les techniques d'habillement et de respect des flux.

#### **I.C.4. Milieu**

L'utilisation de sas, de différentiels de pression, de systèmes d'extraction de poussière et la filtration de l'air peut être d'une grande utilité.

L'élimination de la contamination en utilisant des filtres correctement conçus et entretenus aidera également à prévenir les risques de contamination.

Il peut aussi être essentiel de réaliser une ségrégation des zones avec des flux d'entrée et de sorties définis et distincts pour le matériel ainsi que pour le personnel.

La ségrégation des locaux est nécessaire dans certains cas pour limiter les contaminations croisées telles que la production sur un même site de deux antibiotiques.

##### **I.C.4.1. Locaux**

Toutes les zones doivent être conçues de manière à empêcher l'accumulation de saleté et de poussière. Cela inclut l'absence de rebords et de surfaces inutiles, l'étanchéité de tous les joints des plafonds, les moulures au sol et au plafond et l'installation d'un système de ventilation assurant un flux d'air adéquat.

De plus, les agents d'entretien pour la réalisation du nettoyage et de la décontamination doivent être compatibles avec les matières et l'environnement des zones.

Étant donné que différentes activités de production sont réalisées, les locaux sont conçus selon des niveaux de propreté différents.

Quatre classes de ZAC existent :

- Classes C et D : opérations les moins critiques (lavage de matériel pour le remplissage, préparation de solutions accessoires)
- Classe B : enceinte autour de la classe A
- Classe A : opérations à haut risque (préparation et remplissage aseptique)

Ces différentes classes se distinguent les unes des autres par la qualité de l'air dans les locaux.

#### **I.C.4.2. L'air**

La conception du système de ventilation est une mesure importante contre la contamination croisée. Tout l'air entrant doit être filtré selon une norme appropriée pour atteindre les degrés de propreté spécifiés pour la pièce à alimenter. L'utilisation de différentiels de pression et d'extraction d'air appropriés, ainsi que de sas, est l'un des principaux moyens de contrôler la contamination croisée.

Un système de gradients de pression croissants au fur et à mesure de l'approche des zones critiques de production (classe A) doit être mis en place pour protéger le produit de tout risque de contamination. Cette cascade permet la circulation de l'air de la classe A (la plus critique) vers la classe D (la moins critique).

De plus, la recirculation de l'air doit être soigneusement examinée. Si un système de ventilation fournit 100% d'air frais, différentes pièces peuvent être utilisées en même temps pour différents produits. Cependant, si un système inclut la recirculation, toutes les pièces fournies par ce système doivent traiter le même produit ou l'air doit être filtré selon un standard approprié. Si aucun filtre n'est installé, tous les conduits devront être nettoyés lors du changement de produit.

La qualité de l'air ainsi que les équipements et installation de traitement d'air sont surveillés par des contrôles réguliers. Lorsqu'un écart aux plages définies est observé, des mesures correctives sont entreprises avant la nécessité d'un nettoyage complet de la ZAC pour requalification.

## **I.C.5. Méthode**

Les méthodes, qu'elles soient de production, de maintenance, de nettoyage, de contrôle ou de transfert, peuvent être responsables de contaminations si elles ne sont pas adaptées et suivies.

Toutes les opérations de production, maintenance, nettoyage, contrôle, transfert sont décrites dans des documents qualifiés tels que les instructions, procédures ou modes opératoires.

Les SOPs sont des documents qui décrivent comment effectuer diverses opérations de routine des BPF. Elles doivent être écrites de façon à ce que l'utilisateur puisse facilement les comprendre. Dans la mesure du possible, elles doivent être rédigées par/ou avec les opérateurs, afin de s'assurer qu'elles reflètent fidèlement ce qui se passe dans la pratique.

Les documents qualité doivent être suivis tels que décrits afin de garantir la qualité adéquate et de rester conformes aux bonnes pratiques de fabrication.

### **I.C.5.1. Nettoyage et décontamination**

Le nettoyage et la décontamination font partie des opérations primordiales dans le processus de production d'un médicament.

Les opérations de nettoyage et de décontamination doivent être procédurées et planifiées.

La procédure de nettoyage et de décontamination doit définir le niveau de propreté à atteindre, aussi bien des locaux, que des équipements, en prenant en compte les contraintes d'exploitation et de sécurité. C'est pour cela qu'un planning doit être défini, avec un cahier des charges à respecter, tout en suivant les méthodes de nettoyage et de décontamination décrites dans la procédure.

Selon la définition de l'AFNOR<sup>5</sup>, le nettoyage est une « opération permettant d'assurer un niveau de propreté, d'aspect, de confort et d'hygiène et faisant appel, dans des proportions variables, aux facteurs combinés suivants: action chimique, action mécanique, température, temps d'action ».

L'objectif est d'éliminer toutes traces de souillures (salissures particulières, biologiques ou bien liquides) et par conséquent d'obtenir une propreté macroscopique.

Le nettoyage et la décontamination font partie intégrante de la maîtrise de la contamination.

Quatre facteurs sont indispensables pour l'exécution d'un nettoyage efficace :

- Action chimique
- Action mécanique
- Température
- Temps de contact

La procédure de nettoyage met en œuvre du matériel de nettoyage dédié à chaque zone et chaque service. Le matériel de nettoyage est lui-même nettoyé et désinfecté après chaque utilisation.

Les locaux de production sont nettoyés en routine et le processus de nettoyage doit respecter certains principes :

- Être compatible avec les activités réalisées dans la zone et la classe d'air
- Être respectueux des surfaces à nettoyer (aucune altération doit être observée pendant le processus de nettoyage)
- Il ne doit pas diluer ou étaler les souillures
- Il ne doit pas créer de nouvelles souillures, ni transférer des souillures d'une zone à une autre
- Il doit être organisé de façon à ce que le nettoyage s'orchestre de la zone la plus sensible, jusqu'à la zone la moins sensible
- Il doit se faire de la zone la plus propre vers la zone la plus sale. Néanmoins, si la zone la plus sale est la zone la plus critique alors, le principe de la zone de la plus critique vers la moins critique est choisi
- Il doit respecter le flux d'air de la pièce et aller dans son sens
- Il doit être procéduré dans un document qualité et validé. Le personnel réalisant le nettoyage doit être préalablement formé puis habilité.
- Il doit tenir compte de la sécurité des opérateurs, de l'environnement mais aussi des activités de production réalisées pendant le nettoyage

Des détergents sont nécessaires pour réaliser les activités de nettoyage. Par leur action d'agents tensio-actifs, ils vont décrocher les souillures par leur mise en suspension ou solution.

De ce fait, une étape de rinçage est nécessaire pour exécuter un nettoyage performant.

Les surfaces doivent par la suite être désinfectées ou décontaminées. Les deux termes sont volontairement utilisés dans les BPF. Toutefois, dans l'industrie pharmaceutique, il est bien plus largement utilisé le terme de décontamination ou même bio-décontamination.

Selon l'AFNOR<sup>5</sup> : la désinfection est une « opération au résultat momentané permettant d'éliminer, de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés, en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération. »

Afin d'éviter des phénomènes et des apparitions de résistance, les BPF recommandent d'utiliser des détergents et des désinfectants de formules différentes. Le spectre d'activité sera alors différent.

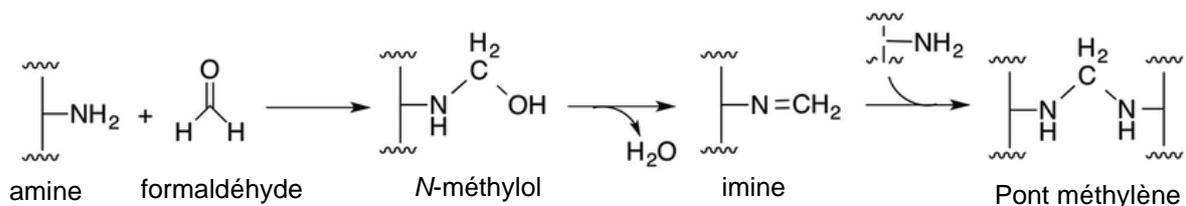
Le choix dépendra de la méthode utilisée. S'il s'agit d'une désinfection manuelle, un désinfectant aux ammoniums quaternaires sera utilisé, ou s'il s'agit d'une décontamination par voie aérienne, un agent oxydant comme le formaldéhyde ou le peroxyde d'hydrogène sera employé.

## II. Décontamination de surface par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène

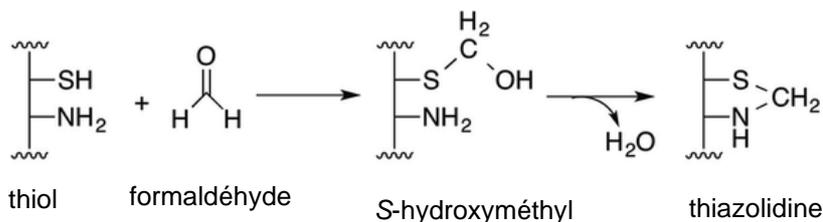
### II.A. Histoire

Ce début du XXI<sup>e</sup> siècle est marqué par une série d'évolutions très significatives impactant sur les choix et les conditions d'application des procédés de DSVA. La très longue utilisation de la décontamination au formaldéhyde trouve son origine dans la connaissance empirique de son efficacité depuis la fin du XIX<sup>e</sup> siècle. Cette substance active agit comme un agent alkylant des groupements amine et thiol des protéines, et des atomes d'azote des noyaux des bases puriques de l'ADN.

Réaction avec un groupement amine :



Réaction avec un groupement thiol :



En dépit de son usage très large, le formaldéhyde présente des dangers. Ainsi, le 15 juin 2004, le Centre International de Recherche contre le Cancer (CIRC) annonce dans un communiqué de presse qu'« il a été démontré une association entre l'exposition au formaldéhyde et le cancer du rhinopharynx chez l'homme, cancer rare dans les pays développés »<sup>6</sup>.

Une nouvelle substance active devait donc remplacer l'utilisation du formaldéhyde et l'a aujourd'hui supplantée<sup>7</sup>. Les procédés de décontamination des surfaces par voie

aérienne utilisant le peroxyde d'hydrogène sont des procédés performants et ayant fait leurs preuves.

Le processus de décontamination des surfaces par voie aérienne s'applique aux éléments introduits dans l'environnement de production mais sans impact direct sur la qualité du produit.

L'objectif du procédé consiste à réduire la biomasse présente à la surface des pièces traitées, de façon à les rendre compatibles avec les critères nécessaire<sup>8</sup>.

## II.B. Peroxyde d'hydrogène

### II.B.1. Propriétés

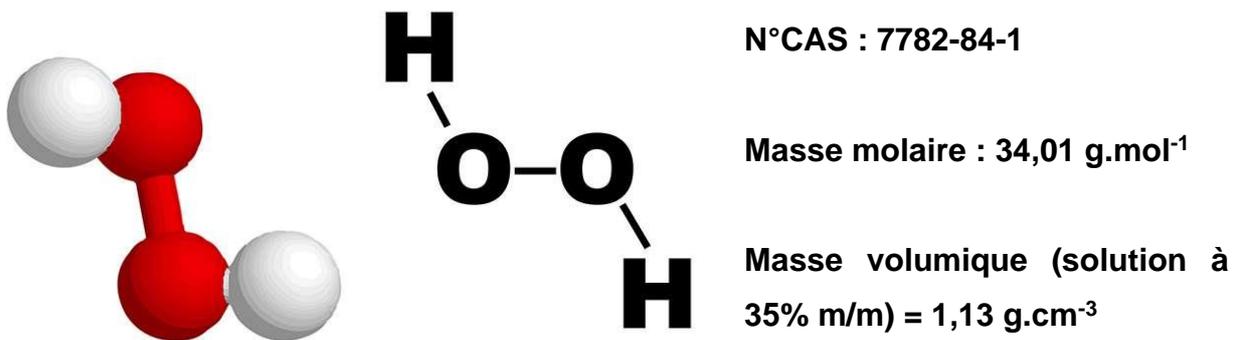


Figure 2 - Molécule de peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un composé chimique de formule H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Il se présente sous la forme d'un liquide incolore légèrement plus visqueux que l'eau.<sup>9</sup>

Le peroxyde d'hydrogène se décompose dans une réaction exothermique de dismutation en eau et dioxygène.

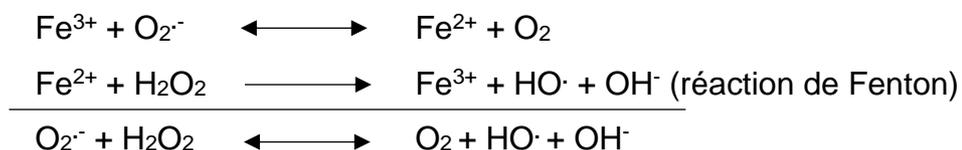
La réaction de dismutation :



Sa biodégradabilité est un argument de poids dans le choix de ce désinfectant.

## II.B.2. Mécanisme d'action

Le peroxyde d'hydrogène est capable de générer des radicaux libres (hydroxyles) en la présence de métaux de transition par la réaction dite d'Haber-Weiss :



En produisant des radicaux libres hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène va attaquer les lipides membranaires, l'ADN et d'autres composants cellulaires essentiels.

Le peroxyde d'hydrogène a donc un bon pouvoir bactéricide, virucide, et même sporicide. Les micro-organismes anaérobies sont même plus sensibles à l'action de ces produits, étant donné qu'ils ne sont pas capables de synthétiser la catalase, une enzyme qui peut décomposer le peroxyde.

Cette molécule possède quelques caractéristiques qui en font un bon désinfectant : c'est un produit à grand pouvoir oxydant, ce qui le rend très réactif face à la matière organique, et ce qui lui donne un vaste spectre d'activités vis à vis des micro-organismes.

De plus ce fort pouvoir oxydant, le confère une grande vitesse d'action.

### II.B.2.1. Action bactéricide

Au niveau des bactéries, son mécanisme d'action consiste en l'oxydation des groupes sulfhydriles et des doubles liaisons des enzymes des bactéries par la formation de radicaux libres hydroxyles.

Les radicaux libres hydroxyles vont entraîner :

- l'activation des cascades des kinases
- l'oxydation des protéines
- la peroxydation lipidique
- l'oxydation de l'ADN

Ces différentes actions vont provoquer des pertes de fonction ayant pour conséquence la mort cellulaire.

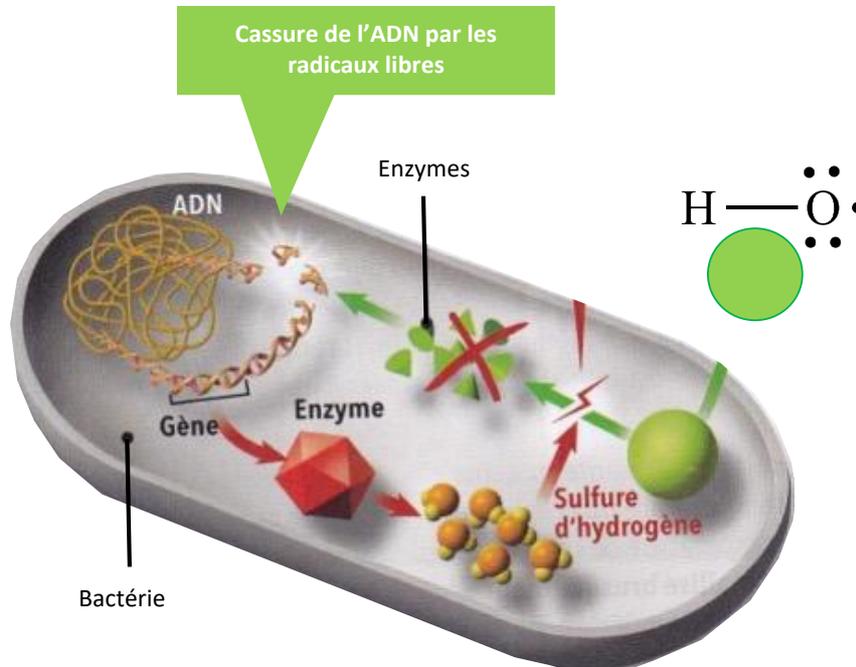


Figure 3 - Action bactéricide du peroxyde d'hydrogène

### II.B.2.2. Action virucide

Au niveau des virus, le peroxyde d'hydrogène va venir dénaturer des protéines constitutives de la capsid, afin de pouvoir agir par la suite sur le matériel génétique du virus.

### II.B.2.3. Action sporicide

Au niveau des spores et plus particulièrement les endospores, le peroxyde d'hydrogène va porter son pouvoir oxydant sur la désorganisation de l'acide dipicolinique avec les ions calcium, complexe responsable de la résistance des spores au stress. Cette désorganisation permet de donner accès au peroxyde d'hydrogène à la bactérie.

Deux genres de bactéries pathogènes sont connus pour produire des endospores : les *Bacillus* anaérobies et les *Clostridium* anaérobies.

On voit donc que l'action désinfectante du peroxyde d'hydrogène est basée sur le fait de rendre vulnérables les structures de protection de ces micro-organismes. Modifier la conformation des parois cellulaires ou des capsides permet l'accès à l'intérieur de ces organismes, pour que :

- Le peroxyde continue son pouvoir oxydant sur d'autres structures comme l'ADN
- D'autres molécules altèrent le fonctionnement normal de ces cellules
- Ou même que l'action mécanique de l'entrée d'eau au travers de la membrane cellulaire provoque la mort des bactéries<sup>10</sup>

### **II.B.3. Toxicité pour l'Homme**

L'effet du peroxyde d'hydrogène sur l'Homme peut varier en fonction du contact.

Pour une inhalation, il entrainera une irritation sévère pouvant aller jusqu'à la mort du sujet.

Il provoquera un blanchiment immédiat et une sensation de brûlure lors d'un contact cutané et enfin des lésions caustiques des muqueuses lors de son ingestion pouvant provoquer la mort.

D'un point de vue chronique, l'inhalation répétée induit une irritation bronchique ainsi qu'une irritation cutanée et un blanchiment des poils. Par ingestion, il provoque des troubles digestifs, hépatiques et rénaux.

Actuellement, selon l'INRS<sup>11</sup>, aucune donnée n'a été publiée quant aux effets CMR chez l'Homme.

### **II.B.4. Différentes utilisations**

Ce procédé est spécialement adapté pour la décontamination du matériel thermosensible non poreux utilisé au voisinage du produit mais sans contact direct avec celui-ci.

Dans l'industrie pharmaceutique, les DSVA sont principalement utilisés dans les isolateurs, les salles de production aseptique, ainsi que les sas de transfert de matériel.

#### **II.B.4.1. Isolateurs**

Dans l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement sur un site de production de médicaments stériles, un isolateur permet le confinement des procédés pharmaceutiques tels que la répartition aseptique.

Il permet et assure la séparation de la zone de production au personnel/environnement en offrant un isolement avec l'environnement extérieur.

L'isolateur permet donc un espace de confinement bactériologique étanche.

Les isolateurs sont décrits dans les BPF comme : « une unité décontaminée alimentée avec une qualité d'air de classe A ou supérieure, qui offre un isolement continu et sans faille de son environnement intérieur par rapport à l'environnement extérieur ».

Ils sont pourvus d'un système de décontamination intégré utilisant le peroxyde d'hydrogène. Cette décontamination des surfaces par voie aérienne vise à l'élimination de toutes les sources de contaminations possibles. Elle est opérée après la réalisation du vide de ligne et du nettoyage, selon la procédure en vigueur, et avant la production d'un nouveau lot de médicaments.

#### **II.B.4.2. Salles de production aseptique (salle propre)**

En ce qui concerne les zones à atmosphère contrôlée de classe A et B, une mise à blanc est nécessaire pour réaliser des étapes de production pharmaceutique en ces zones.

En classe A, des opérations à haut risque sont réalisées, telles que le remplissage aseptique, la mise en place et la fermeture du contenant par les articles de conditionnements primaires.

En classe B, des opérations de préparation et de remplissage aseptique peuvent être réalisées. Il s'agit d'une zone en environnement immédiat d'une zone de travail de classe A.

Lors de la mise en service de ces salles, ou bien à la suite d'un arrêt technique, une mise à blanc est nécessaire pour démarrer la production. La mise à blanc est une

étape critique de nettoyage et de qualification faisant partie intégrante du cycle de vie d'une salle propre.

Il s'agit de la dernière étape avant la mise en production de la salle.

Cette mise à blanc est réalisée selon les procédures internes en vigueur. Elle se compose d'une première étape pendant l'arrêt de la ventilation pour permettre la sédimentation des particules dans l'air. Un nettoyage des surfaces est opéré pour éliminer les souillures visibles et les particules de grandes tailles. La seconde étape se réalise après la remise en fonction du système de traitement d'air, il s'agit, dans la plupart des cas, d'une opération automatisée de décontamination des surfaces par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène.

#### **II.B.4.3. Chambres de transfert de matériel**

Le transfert de matériel aux zones de production est décrit dans les BPF<sup>1</sup> : « Les matériels, équipements et autres articles introduits dans une zone d'atmosphère contrôlée ne doivent pas être source de contamination. Il convient d'utiliser des stérilisateur à double portes, scellés dans un mur ou suivant une procédure garantissant l'absence de contamination (par exemple, des sas H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

La stérilisation des articles et matières dans un autre lieu est acceptable, à condition que le procédé de stérilisation soit validé, que ces articles et matières comportent des emballages multiples (si possible, en nombre égal, ou supérieur au nombre d'étapes d'entrée dans la zone d'atmosphère contrôlée), et qu'ils soient introduits par un sas ventilé avec des précautions de décontamination des surfaces appropriées. Il est recommandé de stériliser les milieux de culture in situ, sauf s'ils sont prêts à l'emploi (à savoir, déjà stérilisés par le fournisseur) ».

La chambre de transfert permet donc l'approvisionnement de matériels, consommables ne supportant pas la stérilisation par autoclave à la zone de production aseptique.

Pour réaliser la décontamination de surface, la chambre de transfert peut être équipée d'un générateur de vapeur de peroxyde d'hydrogène et d'une unité de traitement d'air, pour respecter les requis de température, pression et humidité au sein de cette chambre.

## **II.C. Différentes technologies**

Les équipements permettant la réalisation de la DSVA à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sont relativement simples de fonctionnement. Ils se composent généralement d'un réservoir, d'une pompe et d'un vaporiseur qui seront en fonction de la technologie, couplés avec un déshumidificateur, une ou des centrales de traitement d'air, des catalyseurs, des ventilateurs.

Les technologies proposées sur le marché se différencient majoritairement en technologies dites « sèches » et « humides »<sup>12</sup>.

### **II.C.1. Décontamination par micro-condensation**

Le processus de décontamination se déroule comme suit :

- Une phase de conditionnement permettant la stabilisation et l'homogénéisation des différentes conditions de température, de l'air et des surfaces, dans la chambre et les différentes conduites. L'humidité relative pourra être réduite afin d'augmenter la quantité de réactif pouvant être vaporisée à l'étape suivante dans l'air du système.
- Une phase de vaporisation où le peroxyde d'hydrogène liquide est évaporé de manière « flash », le peroxyde d'hydrogène subit un choc thermique dans la chambre, pièce ou isolateur qui est à température ambiante (25°C).
- Une saturation de la chambre en peroxyde d'hydrogène permettant d'atteindre le point de rosée entraînant un phénomène de micro-condensation à la surface du matériel. Le point de rosée est la température à laquelle l'air doit être refroidi pour que la vapeur d'eau et d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> contenu condense. Cette saturation en peroxyde d'hydrogène doit être maintenue pour réduire la biomasse microbienne souhaitée.
- Une phase d'aération où le peroxyde d'hydrogène présent dans l'enceinte est catalysé et réduit à une concentration égale ou inférieure à 1ppm pour permettre l'ouverture du sas en toute sûreté.

## II.C.2. Décontamination par vapeur sèche

Le processus de décontamination se déroule comme suit :

- Déshumidification :

Cette première étape permet la stabilisation et l'homogénéisation des différentes conditions de température de l'air et des surfaces, dans la chambre et/ou les différentes conduites.

Pendant cette phase, l'humidité relative est au-dessous du point de condensation, limitant ainsi l'effet de corrosion lié à une condensation forte et permettant d'augmenter la quantité de réactif pouvant être vaporisée à l'étape suivante dans l'air du système.

- Conditionnement :

Durant cette phase, le peroxyde d'hydrogène liquide est évaporé puis injecté dans la chambre par le biais d'une conduite de recirculation d'air jusqu'à obtention de la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nécessaire à la décontamination.

- Décontamination :

Pendant cette phase, le réactif est maintenu en contact le temps nécessaire pour obtenir la réduction de biomasse souhaitée, et donc un niveau de décontamination acceptable.

- Aération :

Durant la phase d'aération, la vapeur de peroxyde d'hydrogène présente dans l'enceinte est réduite à une concentration égale ou inférieure à 1ppm pour permettre l'ouverture du sas en toute sécurité.

La particularité de ce procédé de décontamination est de fonctionner en boucle ouverte se servant d'air conditionné pour acheminer le peroxyde d'hydrogène sous forme gazeuse vers les surfaces exposées à l'intérieur de l'enceinte pré-nettoyée, sèche et étanche pendant un temps défini.

L'effet biocide est revendiqué en injectant en continue une quantité définie d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sous forme gazeuse tout au long du processus. Pour cela, la condition

préalable sera de minimiser au maximum l'humidité présente dans l'enceinte à décontaminer.

Dans ces conditions, la quantité d' $H_2O_2$  injectée est reproductible d'un cycle à l'autre, sous réserve de maîtriser les conditions environnementales avant l'injection.

Ci-dessous, un diagramme théorique de l'évolution de la concentration d' $H_2O_2$  et de l'humidité ambiante est exposé :

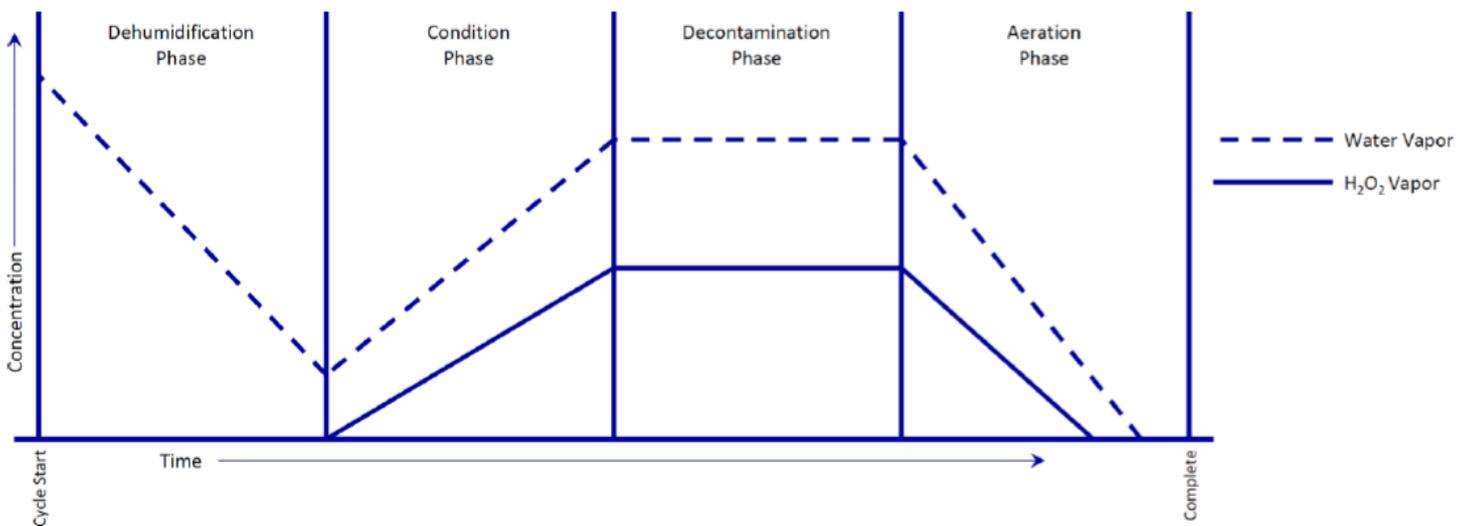


Figure 4 - Diagramme théorique d'un cycle de décontamination à la vapeur sèche

### II.C.3. Décontamination par nébulisation

Les étapes de ce procédé de décontamination sont semblables aux précédentes. Néanmoins la phase de déshumidification n'est pas obligatoire.

Ce procédé a pour particularité que le peroxyde d'hydrogène est propulsé dans le volume à grande vitesse au travers d'une buse permettant d'obtenir des gouttelettes de quelques micromètres à  $10\mu m$ .

Le volume est alors rapidement saturé par ce brouillard homogène permettant la sédimentation des gouttelettes sur les surfaces.

Avec ce procédé, la condensation est inexistante, permettant de limiter l'effet de corrosion que peut connaître le procédé de décontamination par micro-condensation.

## II.D. Avantages

En plus de son effet bactéricide, virucide, et sporicide, la décontamination au peroxyde d'hydrogène a l'avantage de ne pas créer de résidus sur les surfaces. Cet agent a peu d'effet chimique envers les différents matériaux existants dans l'industrie pharmaceutique lui conférant une excellente compatibilité avec les matériaux<sup>13</sup>.

Matériel	Compatibilité avec 35% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Matériel	Compatibilité avec 35% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
304 stainless steel	Bon	Hypalon®	Effet sévère
316 stainless steel	Bon	Hytrel®	N/A
ABS plastic	N/A	Kel-F®	Bon
Acetal (Delrin®)	Effet sévère	LDPE	Passable
Aluminum	Excellent	Natural rubber	Passable
Brass	N/A	Neoprene	Effet sévère
Bronze	Bon	NORYL®	Excellent
Buna N (Nitrile)	Effet sévère	Nylon	Effet sévère
Carbon graphite	Passable	Polycarbonate	Excellent
Carpenter 20	Bon	Polypropylene	Bon
Cast iron	Bon	PPS (Ryton®)	Excellent
Ceramic Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	N/A	PTFE (Teflon®)	Excellent
Ceramic magnet	Excellent	PVC	Excellent
Copper	Effet sévère	PVDF (Kynar®)	Excellent
CPVC	Excellent	Silicone	Bon
EPDM	Bon	Titanium	Bon
Epoxy	Bon	Tyvek®	Effet sévère
Hastelloy-C®	Excellent	Viton®	Excellent

Tableau 4 - Compatibilité matériaux et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 35%

Comme discuté précédemment, il s'agit d'un traitement gazeux à faible toxicité, avec un fonctionnement hautement automatisé, à haut rendement, constant et continu.

Son coût d'exploitation est très faible en raison de la minimisation de la main d'œuvre et de l'installation.

## **II.E. Limites du procédé de décontamination**

En dépit de ses qualités de désinfectant et de son faible risque pour les travailleurs, l'exposition au peroxyde d'hydrogène est susceptible de dégrader ou de pénétrer la surface des éléments présents. Il convient donc de s'assurer de la compatibilité des matériaux utilisés.

### **II.E.1.1. Cas des matériaux poreux**

Les surfaces présentant une forte porosité, telles que les textiles ou matériaux absorbants, comme le papier ou le Tyvek®, absorbent l' $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ce qui a un effet sur la concentration d' $\text{H}_2\text{O}_2$  pendant la phase de contact ainsi que sur la capacité du système à éliminer l' $\text{H}_2\text{O}_2$  pendant la phase d'aération.

Il convient donc de s'assurer de la compatibilité des matériaux utilisés. En cas de doute ou de sensibilité connue à l'exposition d' $\text{H}_2\text{O}_2$ , il convient de vérifier que le procédé, ou ses résidus éventuels n'aient pas d'influence négative sur les matériaux ou les procédés.

### **II.E.1.2. Cas des matériaux catalytiques**

Certains matériaux interagissent chimiquement avec le peroxyde d'hydrogène en catalysant la molécule plus rapidement en vapeur d'eau et hydrogène. Cette réaction catalytique a pour effet d'atténuer le pouvoir stérilisant du peroxyde d'hydrogène à la surface de ces matériaux.

Les matériaux reconnus pour avoir cet effet font partie de la famille des aciers inoxydables austénitiques (inox 304L, 316L).

Toutefois, ces matériaux ne sont pas incompatibles avec le procédé de fumigation. Ce phénomène peut être compensé par une injection plus importante de peroxyde d'hydrogène dans la charge à décontaminer.

### **II.E.1.3. Cas des milieux de culture**

Dans le cas des milieux de culture et des consommables de prélèvements (géloses et écouvillons), la réalisation de tests de fertilité est requise.

Les tests de fertilité doivent être réalisés sur la base du cycle de décontamination à la vapeur de peroxyde d'hydrogène validé et documenté à l'aide d'un protocole et d'un rapport approuvé. Chaque type de milieu de culture testé doit être évalué sur un minimum de trois lots différents exposés au peroxyde d'hydrogène, dans des conditions worst case pour déterminer la pénétration de l' $\text{H}_2\text{O}_2$  dans le conditionnement des milieux testés.

### **III. Validation du procédé de décontamination**

Pour donner une définition au terme validation, il pourrait lui être attribué comme étant l'établissement de la preuve, en conformité avec les principes de Bonnes Pratiques de Fabrication. Cela concerne la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système afin de s'assurer de l'obtention du résultat escompté.

La validation consiste à établir une preuve documentée qu'un système fait ce qu'il est censé faire. Le principe de validation est largement décrit dans l'annexe 15 des BPF<sup>1</sup>.

Dans ce cas présent, la validation du procédé de décontamination doit donner la preuve documentée que le processus, exploité selon les paramètres établis, peut fonctionner efficacement et de manière reproductible afin de produire une décontamination répondant aux spécifications et attributs qualités prédéterminés. La validation du processus nécessite l'identification d'éléments critiques et requiert la qualification préalable et la validation de l'équipement.

En considérant la validation comme étant une validation initiale de la décontamination des surfaces par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène, il est important de réaliser en amont un développement du procédé de fumigation<sup>14</sup>.

L'objectif est de démontrer que le développement du cycle de décontamination est capable d'obtenir une réduction minimale de population, de l'ordre de 6 log de la biomasse initiale. Cette réduction est le niveau de qualité souhaité pour l'introduction du matériel décontaminé dans un environnement de classe B.

Cette validation doit, de plus, démontrer une concentration résiduelle de peroxyde d'hydrogène de moins d'1 ppm à la fin du cycle : seuil nécessaire pour une ouverture de la chambre de transfert en toute sécurité pour les services utilisateurs.

Bien évidemment, la validation du procédé de décontamination au peroxyde d'hydrogène de la chambre de transfert doit démontrer une reproductibilité du procédé dans les conditions worst-case définies<sup>15</sup>.

Pour cette partie, il sera pris en exemple, le cas d'une décontamination par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène de matériel dans une chambre de transfert.

A titre d'exemple et d'expérience sur cet appareil, la partie suivante sera consacrée à la validation du procédé de décontamination à l'aide du générateur de vapeur de peroxyde d'hydrogène VHP M100-SX (Steris).

### III.A. Cas du Steris VHP M100-SX

Le système de décontamination est composé de trois équipements principaux :

- Le générateur de vapeur de peroxyde d'hydrogène. Il permet la vaporisation d' $H_2O_2$  dans le sas de transfert. Il s'agit d'un équipement autonome.
- Des unités de traitements d'air synchronisées avec le générateur de vapeur d' $H_2O_2$
- Un déshumidificateur permettant le traitement préalable de l'air présent dans le sas de transfert pour diminuer la concentration en eau et pouvoir augmenter la concentration en  $H_2O_2$  lors de la phase de conditionnement.

L'appareil permettant d'opérer la décontamination est le VHP M100-SX. C'est un générateur de vapeur d' $H_2O_2$  commercialisé par la marque Steris utilisant la technologie de vapeur sèche.<sup>16</sup>

Son fonctionnement est simple et est schématisé ci-dessous :

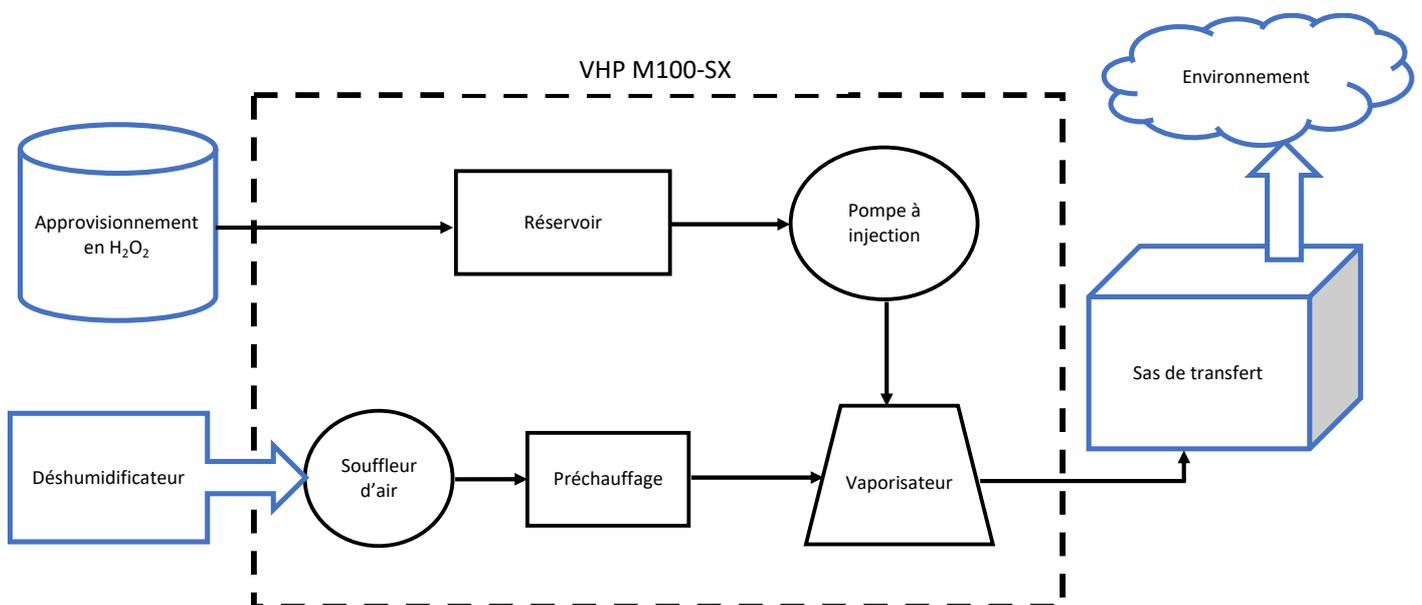


Figure 5 - Schéma de fonctionnement du VHP M100-SX

Le générateur est alimenté par du peroxyde d'hydrogène à 35%. Un réservoir est présent dans l'équipement. L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> va être injecté, par le biais d'une pompe, dans le vaporisateur. Ce dernier, est alimenté en air conditionné préchauffé afin de réaliser la vaporisation du peroxyde d'hydrogène. La vapeur de peroxyde d'hydrogène est alors distribuée via une buse dans l'environnement.



Figure 6 – Générateur de vapeur de peroxyde d'hydrogène (VHP M100-SX)

### III.B. Développement du procédé de décontamination

Cette étape consiste à identifier :

- La position worst case dans l'enceinte à décontaminer ;
- Les éléments avec les surfaces les plus difficiles à décontaminer ;
- La configuration des charges à décontaminer ;
- Les paramètres critiques pour le procédé de décontamination.

Le développement du procédé de fumigation consiste à identifier les paramètres critiques pour la performance, puis à en définir les niveaux nécessaires et suffisants permettant la destruction totale et reproductible des indicateurs biologiques choisis. L'acquisition de ces données est primordiale pour établir la stratégie de validation du procédé de fumigation<sup>17</sup>.

Les étapes suivantes sont recommandées si l'utilisation d'une charge worst case est utilisée pour valider l'ensemble des charges décontaminées en production :

- Cartographie de la chambre de transfert vide, pour vérifier que les conditions environnementales n'impactent pas la performance du procédé : cartographie de l'enceinte en température et humidité, tests de fumée et/ou utilisation d'indicateurs chimiques.
- Cartographie en charge des éléments worst case : utilisation d'indicateurs chimiques dans des conditions extrêmes (faible exposition à l' $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pour confirmer les positions worst case identifiées au préalable.
- Challenge de la charge worst case : Utilisation d'une charge représentative de la production en termes de densité couplée au dispositif de contrôle du procédé dans lesquels seront positionnés des indicateurs chimiques et biologiques.

### **III.B.1. Conditions Worst Case**

Le développement du procédé de fumigation doit employer des éléments représentatifs du matériel à décontaminer en production. Pour ce faire, il est important de considérer l'ensemble des charges de production afin d'identifier les configurations les plus critiques en termes d'encombrement et d'accessibilité au peroxyde d'hydrogène.

Le matériel à décontaminer, pris individuellement, ne représente pas réellement un challenge pour le procédé de décontamination par voie aérienne, dans la mesure où le réel challenge consiste à rendre accessible un maximum de surfaces à l'agent décontaminant.

Toutefois, certaines caractéristiques peuvent influencer le procédé de décontamination de surface par voie aérienne, notamment en termes de consommation de peroxyde d'hydrogène (phénomène d'absorption connu des polymères ou le phénomène de catalyse connu des matériaux en inox).

Les caractéristiques pouvant exercer une influence sont les suivantes :

- **La nature des matériaux à décontaminer**
- **La surface globale à décontaminer**
- **Le design des éléments à décontaminer**

Ces caractéristiques sont intégrées dans un système d'analyse de risques dans lequel le niveau de chaque chariot/étagère augmente la difficulté à désinfecter (plus le score de la charge est élevé, plus il sera difficile de la décontaminer).

Deux phénomènes peuvent impacter la distribution du peroxyde d'hydrogène dans la charge à bio-décontaminer (phénomène de catalyse de l' $\text{H}_2\text{O}_2$  et le phénomène d'absorption de l' $\text{H}_2\text{O}_2$ .)

Le phénomène de catalyse est propre aux surfaces métalliques, tandis que les phénomènes d'absorption concernent les polymères. Toutefois, les propriétés des matériaux de cette catégorie ne présentent pas d'incompatibilité avec le procédé de décontamination de surface par voie aérienne à l' $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Il faut donc porter une attention toute particulière aux éléments à base de :

- Polymères de type caoutchouc (ex : joints, silicone)
- Métaux non traités ou à base de peinture (risque de détérioration de la surface de l'élément)
- Nylon (Polyamide) ou cellulose ne sont pas recommandés pour ce type de procédé.

La résistance chimique doit aussi être prise en considération même si cette dernière n'impacte pas directement l'efficacité du procédé de fumigation. Effectivement, certains matériaux, comme exposé dans le Tableau 4, peuvent se dégrader à la suite de fortes expositions au peroxyde d'hydrogène.

L'évaluation des matériaux est réalisée sur la base des catégories suivantes :

### **La nature des matériaux à décontaminer :**

Le score augmente en fonction de la difficulté à la décontamination par l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en raison de son incompatibilité.

### **La surface globale à décontaminer :**

Plus la surface de matériel à décontaminer est importante, plus la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nécessaire est importante pour compenser les phénomènes d'absorption et de catalyse de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans la charge.

Toutefois, l'évaluation de la surface à décontaminer de chaque élément pris individuellement reste négligeable. La densité sera évaluée pour chaque chariot/étagère disposé dans chaque zone de la chambre de transfert.

Ainsi la cotation concernant la surface est minimisée par rapport aux autres composantes.

Plus l'élément sera grand (ne tenant pas sur un chariot/étagère), plus le score/la cotation sera important.

### **Le design des éléments à décontaminer :**

L'accessibilité des surfaces à décontaminer dépend essentiellement du design de l'élément et de son positionnement. A titre d'exemple, la présence de cavités ou de surfaces critiques mal exposées (présence de plis) peut rendre difficile l'accès de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sur les surfaces à désinfecter. Ainsi les éléments doivent toujours être positionnés de façon à faciliter l'accès du peroxyde d'hydrogène.

L'évaluation doit ainsi prendre en considération les aspects suivants :

Dans le cas d'éléments ensachés, les surfaces de l'emballage ne doivent pas présenter de plis empêchant la diffusion de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, lorsque ce dernier est placé sur son support.

Dans le cas des éléments non ensachés, les surfaces en contact avec les utilisateurs et/ou l'environnement de production doivent être facilement accessibles (absence de cavités, ou face cachée par un effet parapluie).

Plus l'élément aura un design critique pour la décontamination, plus le score/la cotation sera important.

Ce ranking permet d'établir un classement théorique des éléments à désinfecter.

### **III.B.2. Identification de la charge worst case**

L'utilisation d'une charge minimum et d'une charge maximum n'est pas employée lors de la validation du procédé du fait que la décontamination n'est pas une stérilisation. La charge minimum ne représente donc pas un challenge en termes de distribution d' $\text{H}_2\text{O}_2$  dans tout le volume de surface à décontaminer.

Une charge worst case est donc nécessaire dans le cadre de l'utilisation de l'approche bracketing pour couvrir l'ensemble des configurations rencontrées en production.

Il s'agit d'une méthode matricielle, prenant en compte des produits/équipements afin de limiter le nombre de tests. En effet, une chambre chargée influence directement le flux de distribution de l' $\text{H}_2\text{O}_2$ . Dans ce volume, les éléments peuvent eux-mêmes générer un trouble de la distribution.

La charge worst case doit être représentative des éléments les plus difficiles à désinfecter en production. Elle doit se composer des chariots/étagères ayant le score le plus important. Mais aussi des catégories différentes d'éléments à désinfecter en production, pour être à minima représentative de la charge de production.

### **III.B.3. Identification des surfaces à contrôler**

Des cycles de développements sont exécutés pour tester différentes configurations de charge en prenant en compte les challenges potentiels en termes de densité, d'accessibilité et du design des éléments.

La confirmation des zones worst case peut s'établir avec des indicateurs chimiques pour mieux percevoir les différences d'exposition entre les différents PCD, puisque des paramètres défavorables (paramètres de cycle) doivent être appliqués (faible exposition de l' $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pour mieux révéler les éléments worst case.

### **III.B.4. Identification des paramètres critiques et mise sous contrôle**

Les paramètres critiques à maîtriser pour garantir la performance du processus de fumigation sont les suivants :

- Température et humidité relative dans l'enceinte au début du procédé de bio-décontamination ;
- Concentration de la solution d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ;
- Quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injectée dans l'enceinte ;
- Durée d'exposition à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ;
- Duré d'aération ;
- Concentration finale d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (à la fin du cycle de décontamination) ;
- Condensation (détection visuelle à la fin du procédé).

Les conditions worst case de ces paramètres critiques peuvent dépendre du procédé de fumigation utilisé. Ces derniers doivent être définis avec le fabricant du générateur.

Tous les paramètres critiques pour la mise sous contrôle du procédé sont pris en compte de sorte qu'un cycle de décontamination non conforme ne puisse pas être accepté.

Ces paramètres critiques sont directement contrôlés par l'équipement ; tout évènement entraînant une perte de contrôle d'un CPP au-delà de la tolérance définie provoque une alarme.

Les alarmes liées aux paramètres critiques pour la performance du procédé sont bloquantes pour l'acceptation du cycle :

- Quantité de solution d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injectée par le générateur ;
- Débit d'air en sortie du générateur ;
- Température d'air en sortie du générateur ;
- Humidité relative de l'air entrant dans le générateur.

La durée des phases de conditionnement de la charge et d'exposition à l'agent biocide est également un paramètre critique pour le procédé mis sous contrôle par le pilotage de la phase par l'automate :

- Temps de conditionnement
- Temps d'exposition

La concentration et la formulation de la solution d' $H_2O_2$  :

Ces attributs qualité sont garantis par le fournisseur de matière première. La concentration est un attribut qualité contrôlé à réception dans le certificat d'analyse fourni par le fournisseur.

La température initiale de l'air et des surfaces :

La température initiale de l'air et des surfaces est considérée comme fixe et régulée par le système du traitement d'air de la zone.

La régulation de température du traitement d'air, liée au fort taux de brassage rencontré en zone à atmosphère contrôlée, permet d'avoir l'assurance d'une température homogène et reproductible en début de cycle.

L'humidité relative :

L'humidité relative influence le procédé en affectant l'équilibre entre la condensation et l'évaporation des quantités d'eau et d' $H_2O_2$  contenues dans l'air de la chambre de transfert.

L'humidité relative tend toujours vers 100% lors de l'injection du peroxyde d'hydrogène dans la mesure où le réactif est vaporisé dans l'air de la chambre.

Afin de maîtriser la quantité d' $H_2O_2$  à injecter, l'humidité relative devra être maîtrisée en amont. Pour ce faire, l'humidité relative initiale de l'air et des surfaces est considérée comme fixe et régulée par le système du traitement d'air de la zone. La régulation de l'humidité relative du traitement d'air, liée au fort taux de brassage rencontré en zone à atmosphère contrôlée, permet de mieux maîtriser la quantité d' $H_2O_2$  injectée dans l'état physique désiré. De plus, le générateur assèche l'air entrant jusqu'à un niveau prédéfini avant de vaporiser la solution d' $H_2O_2$ .

L'aéraulique du système en charge :

L'installation des dispositifs d'injection, de circulation ou de brassage et de reprise d'air, influe directement sur la capacité du réactif à se diffuser au sein de l'espace utile et de la charge. Un diagramme aéraulique peut permettre d'identifier les zones de moindre exposition aux vapeurs de peroxyde d'hydrogène au sein de la chambre de transfert, comme dans les différents éléments de la charge.

Les zones de l'espace utile, identifiées comme moins exposées au flux d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pour une charge donnée, doivent être monitorées par des indicateurs biologiques lors de la validation du procédé.

### **III.C. Validation initiale**

La stratégie de validation est basée sur le contrôle de paramètres identifiés comme critiques pour l'efficacité du procédé. La performance est démontrée lors de la validation par la destruction des indicateurs biologiques adaptés à la charge soumise à la validation (vérification de performance).

Ces indicateurs sont localisés aux emplacements définis pour démontrer :

- L'accès de la vapeur de peroxyde d'hydrogène à tout l'espace utile dans la chambre.
- L'accès de la vapeur de peroxyde d'hydrogène aux emplacements identifiés comme les plus contraignants au sein de la charge.

L'approche de validation des procédés de décontamination est directement liée aux spécifications des indicateurs biologiques et non pas à la biomasse observée sur le matériel. Ces spécifications doivent permettre de vérifier une diminution de 6 Log de la population initiale, pour un organisme particulièrement résistant.

En microbiologie, la D-value (valeur de D) ou temps de réduction décimale est le temps nécessaire, à une condition donnée, ou à un ensemble de conditions, pour atteindre une réduction logarithmique. C'est-à-dire, tuer 90% (1 log) des microorganismes initialement présents dans une colonie microbienne.

La spécification de la valeur stérilisatrice ou D-value doit être de :  $1,0 \text{ min} \leq \text{D-value} \leq 2,0 \text{ min}$ .

Les indicateurs biologiques à utiliser doivent respecter les exigences suivantes :

- Souche *Geobacillus stearothermophilus* ou autres germes adaptés et provenant d'un fournisseur approuvé.
- Population de germe :  $N \geq 1,0 \cdot 10^6$

*Geobacillus stearothermophilus* a montré une plus grande tolérance aux approches basées sur la vapeur. La FDA 510k (FDA 2007) dicte l'utilisation de « l'organisme le plus résistant » et va jusqu'à recommander *G. stearothermophilus* le cas échéant pour les applications de vapeur de peroxyde d'hydrogène. Cependant, l'ISO14937:2009, comme l'ISO11137 et l'ISO11135, exigent la prise en compte de la charge biologique du produit, des résistances standard et l'utilisation d'un BI de « haute résistance connue ». Le choix d'un BI, comme défi microbiologique dans le processus de validation, est important dans la mesure où il définit le processus de décontamination requis pour relever ce défi. Par conséquent, le choix de l'indicateur biologique mérite un examen attentif dans un processus de validation<sup>18</sup>.

La résistance aux indicateurs biologiques actuellement disponible dans le commerce, varie considérablement, ce qui peut entraîner des incertitudes lors de la validation, en raison de résultats faussement positifs et faussement négatifs. Un résultat de validation faussement positif indique, à tort, la réduction de 6 log de la biomasse microbienne, ce qui, en production, entraîne une proportion élevée de surfaces non décontaminées<sup>19</sup>.

D'une part, l'origine de la variabilité de la résistance peut vraisemblablement être trouvée dans le processus de fabrication car, très probablement, chaque fabricant produisant des indicateurs biologiques, utilise des milieux et conditions de sporulation différents, ce qui entraîne des spores avec une résistance différente. D'un autre côté, des utilisateurs de BI ont régulièrement constaté que la résistance des spores d'un même fabricant peut également différer selon les lots<sup>20</sup>.

Une étude de compatibilité peut donc être requise en cas de changement d'indicateur biologique, de procédé de décontamination ou de marque.

### III.C.1. Choix de la charge à valider

Dans le cas de charges multiples décontaminées par le même procédé (sous-entendu même recette, même cycle de décontamination), seule la charge identifiée comme présentant le plus fort challenge vis-à-vis du procédé de décontamination est soumise aux trois runs de validation.

Cette stratégie repose sur l'approche bracketing, à savoir constituer une charge worst case qui permette de couvrir l'ensemble des configurations rencontrées en production. Cette approche est possible, et seulement si, des données récoltées pendant les cycles de développement démontrent une distribution homogène d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans l'enceinte à décontaminer et s'il est démontré que la charge worst case est constituée des éléments les plus difficiles à décontaminer.

### III.C.2. Définition du cycle de production

Dans le but de garantir l'efficacité du procédé de décontamination en production, une marge de sécurité doit être appliquée. Cette marge consiste à augmenter le temps de la phase de décontamination pendant laquelle l'injection d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est continuellement administrée. Ainsi, le temps d'exposition et la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sera majorée, ce qui augmentera significativement l'effet biocide du procédé.

D'après la documentation technique du fournisseur, il convient de prendre en compte les incertitudes en lien avec la régulation de l'injection d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pendant les phases de conditionnement et de décontamination, soit une erreur maximale tolérée de 15% pour une durée totale comprise entre 15 et 45 minutes.

A titre d'exemple, considérons les paramètres suivants validés :

*Tableau 5 - Exemple de paramètres pour un cycle de décontamination*

Phase	Durée (min)	Taux d'injection d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g/min)	Quantité d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> injectée (g)
Conditionnement	10	18	180
Décontamination	10	10	100

Ainsi la quantité d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> injectée sur le cycle est de 280 grammes.

En appliquant une marge de 15%, cela revient à définir un cycle de production avec une injection totale de 330 grammes. Ainsi, la durée de la phase de décontamination majorée peut être identifiée :

$$\text{Durée de phase [décontamination]} = \text{Durée fixée pendant le cycle de validation} + \frac{330 - 280}{10}$$

Cela représenterait ainsi une marge de 50% de la durée de la phase de décontamination suffisante à couvrir la variabilité potentielle du procédé de fumigation.

### **III.D. Mise en œuvre de la validation initiale**

Afin de réaliser et documenter les cycles de validation, un protocole est établi dictant toutes les actions à réaliser pour valider le procédé de décontamination.

Plusieurs points sont à prendre en compte :

- La recette utilisée pendant la validation doit être celle inscrite dans le protocole et être identique pour chaque cycle de validation.
- Le placement des indicateurs biologiques a été défini pendant les cycles de développement et doivent être positionnés comme écrit dans le protocole de validation et cela pour les trois cycles de validation.
- Comme expliqué précédemment, les indicateurs biologiques peuvent révéler des résultats faussement positifs ou faussement négatifs. Pour limiter ce risque, les indicateurs biologiques sont doublés à chaque emplacement défini dans le protocole.

Les indicateurs biologiques se présentent comme la photo ci-dessous :



Figure 7 - Photo d'un indicateur biologique

6 log de *Geobacillus stearothermophilus* est déposé sur un disque porteur en acier inoxydable de grade 316L. Ce disque est lui-même enfermé dans du Tyvek® à haute porosité permettant la pénétration rapide de la vapeur de peroxyde d'hydrogène jusqu'au disque.

L'utilisation des indicateurs biologiques peut être décrite en 6 étapes :

1. Placer les BI aux endroits prévus en faisant attention à ce que la partie imprimée (face inoculée) soit placée face vers le haut et placée de telle sorte que toutes les surfaces sont exposées à la vapeur de peroxyde d'hydrogène pour éviter les faux positifs
2. Lancer le cycle de décontamination puis, une fois le cycle terminé, récupérer les indicateurs biologiques
3. Placer les indicateurs biologiques dans le milieu de culture (bouillon tryptone caséine soja) en veillant à ne pas toucher le disque inoculé
4. Sceller le flacon contenant le milieu de culture et l'indicateur biologique
5. Incuber pendant 7 jours à  $57,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$
6. Lire les résultats : Si le bouillon reste clair, la destruction de 6 log a eu lieu ; si le bouillon devient trouble, alors la destruction n'est pas de l'ordre de 6 log<sup>21</sup>.

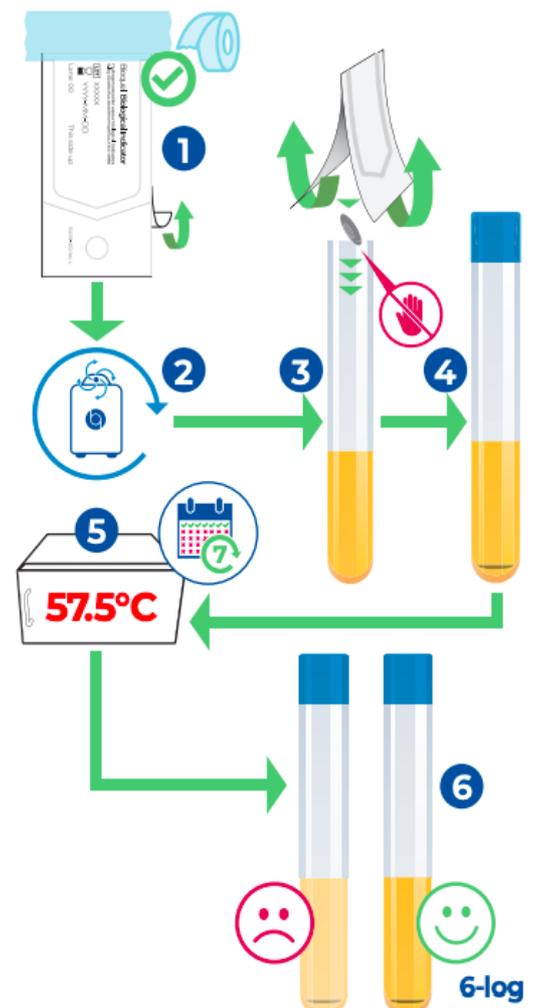


Figure 8 - Étapes d'utilisation des indicateurs biologiques

## IV. Réflexion personnelle

La décontamination des surfaces par voie aérienne au peroxyde d'hydrogène est un procédé simple à mettre en œuvre et qui est fortement reproductible.

Cette reproductibilité fait de cette décontamination un procédé extrêmement fiable vis-à-vis des procédés de décontamination manuels.

Ce procédé ne peut pas garantir une stérilité. Néanmoins, cela reste la méthode de référence pour la décontamination des pièces et des consommables thermosensibles ou des pièces dans un environnement clos.

Dans cette thèse, plusieurs technologies réalisant la DSVA ont été présentés mais aucune technologie n'est à considérer comme plus efficace.

Le choix est à considérer en fonction du but recherché :

- Décontamination de locaux
- Décontamination d'un isolateur
- Décontamination de matériel au travers un sas de transfert

Car différents phénomènes peuvent diminuer l'efficacité de décontamination.

L'effet parapluie, présent sur la technologie de décontamination par micro-condensation, est un phénomène de masquage de surface par la présence d'un volume.

La micro-condensation est à imaginer comme une pluie, si un parapluie (volume) est au-dessus d'une pièce à décontaminer, alors cette pièce ne sera pas décontaminée.

Cette technologie est donc plus appropriée à la décontamination de locaux.

D'autres aspects sont importants dans le choix de l'équipement réalisant la décontamination. La faculté à produire un audit trail doit être considérée, exigence réglementaire dans la fabrication pharmaceutique ; mais aussi la gestion des utilisateurs par l'automate ; et enfin la compatibilité de connexion avec les systèmes informatiques propriétaires.

Pour un projet de mise en place d'un équipement réalisant la DSVA, il est primordial de considérer l'utilisation pour choisir la meilleure technologie de décontamination mais aussi tous les critères vus précédemment propre à l'industrie pharmaceutique n'influant pas sur son efficacité ni sur son temps de cycle.

A ce jour, la plus grande problématique mais qui est aussi le plus grand axe de travail est le temps de cycle de décontamination.

Le temps de cycle est dicté avant tout par le temps de la phase d'aération pour rendre l'environnement compatible avec les exigences de travail.

Le peroxyde d'hydrogène est une molécule biodégradable par la réaction de dismutation ayant pour produit de l'eau et du dioxygène.

Il serait donc intéressant d'introduire pendant la phase d'aération un catalyseur pour augmenter le phénomène de dismutation pour diminuer le temps d'aération et donc le temps de cycle.

## V. CONCLUSION

Dans l'industrie pharmaceutique, la maîtrise de la contamination est le point essentiel pour la sécurité du patient.

Les BPF émettent des directives afin de réduire les risques de contamination. Elles distinguent les mesures techniques des mesures organisationnelles, mais il faut bien considérer les deux.

La maîtrise de la contamination nécessite la mise en œuvre de mesures préventives concernant les matières, le matériel, la main d'œuvre, le milieu, ainsi que des méthodes clairement définies dont l'efficacité est prouvée.

La décontamination de surface par voie aérienne joue un rôle clé dans la maîtrise du risque de contamination. La DSVa peut être employée pour la décontamination de surface des locaux lors d'une classification des zones ; pour la décontamination de surface du matériel par le biais d'un sas de transfert ; et pour la décontamination de surface au sein d'un isolateur lors d'un changement de lot ou de produit.

Cette méthode doit garantir son effet biocide, afin d'assurer un environnement dépourvu de contaminants pendant les phases de production aseptique. C'est pourquoi, la validation du procédé de décontamination est un requis avant la mise en production.

Cette thèse fait état de l'importance d'un tel processus dans la maîtrise de la contamination au sein d'une production pharmaceutique, mais aussi de l'enjeu, de la validation, en prenant exemple le cas d'un sas de transfert de matériel.

Cet exemple de validation est toutefois transposable pour un autre emploi du procédé de décontamination de surface par voie aérienne.

# Références bibliographiques

1. ANSM - Bonnes pratiques de fabrication de médicaments à usage humain, version du 08/04/2021. <<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guideo-bpf.pdf>>, consultation le 09/09/2021.
2. Research, C. for D. E. and. Current Good Manufacturing Practice (CGMP) Regulations. FDA (2020). <<https://www.fda.gov/drugs/pharmaceutical-quality-resources/current-good-manufacturing-practice-cgmp-regulations>>, consultation le 09/09/2021
3. AFNOR - NF EN 17141. Salles propres et environnement maîtrisés apparentés - Maitrise de la biocontamination., (2020). <<https://www.boutique.afnor.org/fr/norme/nf-en-17141/salles-propres-et-environnements-maitrises-apparentes-maitrise-de-la-biocon/fa187568/86055>>, consultation le 12/09/2021
4. Nande, P. Approche formative des comportements et de la gestuelle en Z.A.C. *La Vague* **33**, 12–14 (2012).
5. AFNOR - NF EN 14885. Antiseptiques et désinfectants chimiques - Application des Normes européennes sur les antiseptiques et désinfectants chimiques., (2018). <<https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-en-14885/antiseptiques-et-desinfectants-chimiques-application-des-normes-europeennes/fa189006/82145>>, consultation le 12/09/2021
6. CANCER ET ENVIRONNEMENT - Formaldéhyde et risque de cancer. <<https://www.cancer-environnement.fr/302-Formaldehyde.ce.aspx>>, consultation le 12/09/2021.
7. Otter, J. and Jarman-Smith, R. Hydrogen Peroxide Vapour (HPV): The new Gold Standard for Biodecontamination in the Bio Pharmaceutical and Pharmaceutical Industries, Bioquell (2005).

8. Klostermyer, J., Garcia, A., and Eddington, D. L. Integrated Vapor-Phase Hydrogen Peroxide (VPHP) Decontamination Systems. *Pharmaceutical Engineering*, 52–56 (2017).
9. PubChem - Hydrogen peroxide. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/784>>, consultation le 10/09/2021.
10. Heckert, R. A., Best, M., Jordan, L. T., Dulac, G. C., Eddington, D. L. and Sterritt, G. Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses. *Applied and Environmental Microbiology* **63**, 3916–3918 (1997).
11. INRS - Formaldéhyde. Réglementation - Risques. <<https://www.inrs.fr/risques/formaldehyde/reglementation.html>>, consultation le 12/09/2021.
12. Maris, P. Les méthodes de désinfection des surfaces par voie aérienne (DSVA) au peroxyde d'hydrogène sont-elles des alternatives au formaldéhyde?. *Euroréférence*, 19–23 (2011).
13. OZONELAB - Material Compatibility with Hydrogen Peroxide. <<http://www.ozoneservices.com/articles/004.htm>>, consultation le 20/09/2021.
14. Rickloff, J. R. Key Aspects of Validating Hydrogen Peroxide Gas Cycles in Isolator Systems, *Journal of Validation Technology* **5**, 61–71 (1998).
15. Ruiz Vargas, J. J. and Pabón González, M. Development of Vaporized Hydrogen Peroxide (VHP) Decontamination Cycle for a Syringe Isolator, *Manufacturing Competitiveness*, (2009).
16. STERIS Life Sciences - VHP M100 Biodecontamination Systems Closed Loop. <<https://www.sterislifesciences.com/products/equipment/vhp-sterilization-and-biodecontamination/vhp-m100-biodecontamination-systems-closed-loop>>, consultation le 12/08/2021.

17. Genty, G. Traitement par le peroxyde d'hydrogène vaporisé: de la décontamination à la Stérilisation ?. *La Vague* **55**, 27–31 (2017).
18. McEvoy, B. and Rowan, N. J.. Terminal sterilization of medical devices using vaporized hydrogen peroxide: a review of current methods and emerging opportunities. *Journal of Applied Microbiology* **127**, 1403–1420 (2019).
19. Rogers, J. V., Sabourin, C. L. K., Choi, Y. W., Richter, W. R., Rudnicki, D. C., Riggs, K. B., Taylor, M. L. and Chang, J. Decontamination assessment of *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, and *Geobacillus stearothermophilus* spores on indoor surfaces using a hydrogen peroxide gas generator. *Journal of Applied Microbiology* **99**, 739–748 (2005).
20. Stier, P., Maul, S., and Kulozik, U. Effect of sporulation conditions following solid-state cultivation on the resistance of *Geobacillus stearothermophilus* spores for use as bioindicators testing inactivation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *LWT Food Science and Technology* **151**, 112078 (2021).
21. BIOQUELL - Biological Indicator. <<http://bioquell.tecture.net/wp-content/uploads/2021/05/Bioquell-BI-product-sheet-CRP001-MKT-036-Rev-4.pdf>>, consultation le 16/08/2021.

## Résumé et mots clés

Dans le but de maîtriser la contamination dans les établissements fabricant des médicaments stériles, des procédés de décontamination des surfaces par voie aérienne se sont développés.

Une nouvelle substance, le peroxyde d'hydrogène, vient supplanter le marché de la décontamination de par son activité bactéricide, virucide, sporicide et de par sa sécurité d'utilisation.

Cette décontamination au peroxyde d'hydrogène peut être utilisée pour différents objectifs en utilisant des technologies toutes aussi différentes. Néanmoins, comme tout procédé, la méthode de décontamination des surfaces par voie aérienne doit garantir son effet biocide par l'intermédiaire d'une validation initiale. Un exemple de validation initiale est proposé dans la troisième partie de cette thèse démontrant l'efficacité de la méthode dans la maîtrise du risque de contamination.

**Mots clés :** contamination, décontamination, peroxyde d'hydrogène, validation



## 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,

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.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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.

Signature de l'étudiant

Nom :

Prénom :

62 du Président du jury

Nom :

Prénom :