

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**UNIVERSITE BLIDA 1**

**Faculté Des Technologies**

Département de Génie des Procédés



**MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL**

Spécialité : Pharmacie Industrielle

**Etude sur les produits stériles liquides injectables**

Par

**BOUDOUH CHARIFA**

Dirigé par : m<sup>e</sup> CHERIET NABIL

Promotion 2013/14

## Résumé

Ce travail à pour but de faire une étude sur la production des médicaments liquide injectables. Le procédé aseptique, est l'un des méthodes de fabrication. notre études consiste a étudier les paramètres qui garantissent la production des médicament dans un milieu aseptique, ainsi, de mètre en place une approche et une méthodologie qui permet la stérilité des solution et avoir des médicament de qualité requise.

## Summary

This work aimed to make a study on the production of liquid injectable drugs.

The aseptic processing is one of manufacturing methods. Our research is to study the parameters that ensure the production of the drug in an aseptic environment, so meter up an approach and methodology for the sterility of solution and have medication required quality.

## ملخص

هذا العمل يهدف إجراء دراسة حول إنتاج الأدوية التي تحقن من بين طرق تصنيعها التعقيم  
بحثنا هذا يتمحور حول التطرق إلى جميع النقاط الخاصة بهذا المنهج المتبع لتصنيع الأدوية و دراسة المعايير التي تضمن  
إنتاج أدوية في بيئة معقمة إضافة إلى وضع منهجية و حلول إضافية تضمن الحصول على أدوية معقمة و ذات جودة  
المطلوبة



# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## CHAPITRE I : généralités

<b>I. LES MEDICAMENTS STERILES INJECTABLES.....</b>	<b>3</b>
1- Définition.....	3
2- Qualités requises des préparations parentérales.....	3
3- Intérêt des voies parentérales.....	3
4- Principales voies d'administration.....	4
5- Classification des préparations parentérales.....	4
<b>II. PRODUCTION DES MEDICAMENTS INJECTABLES.....</b>	<b>4</b>
1- Environnement de fabrication.....	4
2- Méthodes de fabrication.....	5
<b>III. REGLES GENERALES DES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION.....</b>	<b>7</b>
1- Le personnel.....	7
2- Bâtiments et installations.....	8
3- L'air fournis.....	8
4- Contrôle de l'environnement.....	9
5- Les équipements.....	9
6- Eau pour préparation injectable.....	9
7- Les contenants et le scellage.....	9
8- La stérilisation.....	10
9- Le personnel impliqué dans les zones critique.....	10

## CHAPITRE II : la production aseptique

<b>I. PROCEDE DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE.....</b>	<b>11</b>
1- Définition.....	11
2- Locaux et installations.....	12
3- formation du Personnel, la qualification, et la surveillance.....	16
4- Les composants, les contenants et le scellage.....	18
5- Contrôle d'endotoxines .....	19
6- Stérilisation et Dépyrogénéation.....	19
7- Surveillance et Contrôle.....	20
8- La désinfection.....	20
9- Le monitoring .....	21

## CHAPITRE III : méthodologie et approche

<b>I.</b>	<b>VALIDATION DES PROCEDES.....</b>	<b>24</b>
1-	Validation de procédé de fabrication.....	24
2-	Validation du procédé de nettoyage.....	28
3-	Validation du procédé analytique.....	30
4-	Autres procédés à validés.....	30
<b>II.</b>	<b>LA QUALIFICATION.....</b>	<b>31</b>
1-	qualification du système CVC.....	31
2-	la Qualification de l'autoclave.....	32
3-	l'intégrité des filtres.....	33
4-	qualification du l'incubateur.....	34
<b>III-</b>	<b>APPROCHE ET METHODOLOGIE.....</b>	<b>35</b>
1-	Limitation du temps.....	35
2-	Contrôle environnemental .....	36
3-	Flux personnel.....	37
4-	La simulation du remplissage aseptique .....	37
5-	Annexe.....	39
6-	Technique de remplissage aseptique avancée.....	46
<b>IV-</b>	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>48</b>

## INTRODUCTION GENERALE

La sécurité est un aspect très important de la fabrication des médicaments. Les opérations de productions doivent suivre des instructions et des procédures bien définies; elle doivent répondre aux principes de bonnes pratiques de fabrication en vue d'obtenir de produits de qualité requise et correspondant a leur autorisations de fabrication et de mise sur le marché. [1]

Les médicaments injectables sont des préparations stériles destinées à être injectées dans le corps humain, ils sont fabriqués par des méthodes visant à assurer leur stérilité et à empêcher l'introduction des contaminants, [2]. Et leurs sécurité est très important considérant l'impact qu'elles peuvent avoir sur la santé humain.

La fabrication de ce genre des médicaments impose des exigences particulières en vue de réduire au minimum les risques de contamination microbienne, particulaire et pyrogène. La qualité dépend dans une grande mesure du savoir-faire, de la formation et du comportement du personnel impliqué. L'assurance de la qualité revêt ici une importance particulière et ce type de fabrication doit strictement suivre des méthodes de fabrication et des procédures soigneusement mises au point et validées [1].

Les médicaments stériles sont généralement fabriqués par deux procédés, la stérilisation en phase terminale ou bien par procédé aseptique.

La stérilisation terminale implique le Remplissage du produit dans un environnement à air contrôlé avec des composantes pratiquement stériles. Le produit fini, complètement assemblé et scellé, est soumis à un procédé de stérilisation par la chaleur ou par l'irradiation.

Alors que le traitement aseptique, pour certains produits spécifique, la fabrication devrait être dans un milieu complètement stérile et aseptique, les composantes, les flacons, les bouchons, l'équipement, etc..., soient assujettis à un procédé de stérilisation indépendant, ce qui entraîne des difficultés du maintien de leurs stérilité mais aussi celle produits finis.

Dans ce contexte et dans cette optique, nous nous sommes intéressés à étudier et mettre en place tous les paramètres critiques assurant et garantissant l'asepsie de l'environnement et la stérilité des produits lors de la fabrication de ces médicaments stériles.

Le travail présenté dans ce mémoire est structuré selon trois chapitres, le premier chapitre sera des généralités sur la fabrication et les différentes formes des produits injectables, le deuxième concerne le procédé aseptique, le troisième sera consacré pour la qualification et la validation, et l'approche et la procédure à mettre en place pour garantir la stérilité des médicaments.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**ZAC** : zone à atmosphère contrôlé

**MF**: media fill

**Filter HEPA**: High Efficiency Particulate Air. Ou bien, filtre à particule aériennes à haute efficacité

**BPF** : les bonnes pratiques de fabrication

**OMS** : organisation mondiale de santé

**ISO** : organisation internationale de normalisation

**FDA**: Food and drag administration

**USP**: united state pharmacopoeia

**ND** : non défini

**UFC** : unité formant colonie

**Diam** : diamètre

**Eau PPI** : eau pour préparation injectables.

**Système CVC** : système climatisation, ventilation, chauffage

**HVAC**: Heating, ventilation, and air conditioning.

**TS**: tryptocaséine de soja



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau n<sup>0</sup></b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Zone d'atmosphère contrôlée : nombre maximale de particules autorisées	<b>5</b>
<b>Tableau 2</b>	Zone d'atmosphère contrôlée : limite de contamination bactérienne	<b>5</b>
<b>Tableau 3</b>	l'interprétation et les exigences des résultats du reste media fill	<b>28</b>
<b>Tableau 4</b>	les différents paramètres de l'air	<b>30</b>
<b>Tableau5</b>	les différents paramètres de l'air	<b>36</b>
<b>Tableau6</b>	Les annexes	<b>39</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure n<sup>0</sup></b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	produits stérilisés dans leur récipient final exemples des solutions	<b>6</b>
<b>Figure 2</b>	préparation aseptique exemples des ampoules	<b>6</b>
<b>Figure 3</b>	les différentes formes des médicaments injectables	<b>7</b>
<b>Figure 4</b>	Classification des zones de fabrication des médicaments injectables.	<b>13</b>
<b>Figure 5</b>	la structure d'un filtre HEPA	<b>15</b>
<b>Figure 6</b>	matrice de fibres aléatoire d'un filtre en profondeur	<b>16</b>
<b>Figure 7</b>	Elément 6,10 pouces de filtre standard avec membrane et protection des voiles plissés	<b>18</b>
<b>Figure 8</b>	l'habillement d'une personne qui travail dans le secteur aseptique	<b>17</b>
<b>Figure 9</b>	l'échantillonnage sur la tenue du l'opérateur	<b>23</b>
<b>Figure 10</b>	Compteur des particules	<b>10</b>
<b>Figure 11</b>	autoclave industriel	<b>33</b>
<b>Figure 12</b>	diagramme de teste d'intégrité du filtre d'azote pour la remplisseuse	<b>34</b>
<b>Figure 13</b>	la technique de remplissage BFS	<b>47</b>

CHAPITRE I  
GENIRALITES

Typiquement, un médicament stérile ne contient aucun micro-organisme viable et doit être apyrogène. La présence de pyrogènes peut provoquer une réaction fébrile chez l'homme. Toute condition qui permet la croissance bactérienne devrait être évitée dans le procédé de fabrication.

Ce système comprend des mesures qui réduisent au minimum le risque de contamination par des microorganismes et des particules.

Ce chapitre contient un aperçu sur la production des médicaments injectables, et les exigences générales BPF sur la fabrication des médicaments à administration parentérale [3]

## I. LES MEDICAMENTS STERILES INJECTABLES

### 1- Définition:

D'après la pharmacopée européenne, les préparations parentérales sont stériles, destinées à être injectées, perfusées ou implantées dans le corps humain ou animal.

### 2- Qualités requises des préparations parentérales:

Les modes et les voies d'administration des préparations parentérales sont à l'origine des qualités requises par la pharmacopée.

\* pour toutes les préparations: la stérilité et l'absence de toute substances pyrogènes et/ou d'endotoxines bactériennes.

\*pour les solutions: la limpidité c'est-à-dire l'absence des particules viables, soit à l'œil nue, soit au moyen de systèmes de grossissement courants.

\*d'autres qualités doivent être obtenues: pour toutes les préparations, l'isotonie au sang et un pH voisin du pH plasmatique.

### 3- Intérêt des voies parentérales:

Les voies parentérales permettent:

- la rapidité d'action et d'absorption du principe actif,
- l'administration de produits non absorbables par d'autres voies,
- l'obtention de la biodisponibilité maximale,
- l'administration des substances à faible durée d'action et faible marge de sécurité,
- l'apport massif de liquides [4]

#### 4- Principales voies d'administration:

Les principales voies d'administration de ces types de médicaments:

- la voie hypodermique
- Intradermique ;
- Intramusculaire ;
- Intraveineuse ;
- Intraartérielle ;
- Intrarachidienne et, Intracardiaque ;[2].

#### 5- Classification des préparations parentérales

Les classes de préparation parentérales sont définies dans la pharmacopée européenne comme suite:

\*les préparations unidoses, les préparations multidoses,[5]., les préparations pour perfusion, les préparations à diluer pour injection ou pour perfusion, les poudres pour injection ou pour perfusion: substances, les gels injectables, les implants [4].

## II. PRODUCTION DES MEDICAMENTS INJECTABLES

Les médicaments injectables sont préparés par méthodes visant à assurer leur stérilité et à empêcher l'introduction de contaminants, la présence de pyrogènes et la croissance de microorganismes [5].

Leurs sécurité est très importante considérant l'impact qu'elles peuvent avoir sur la santé publique, donc Leurs production exigent un haut niveau en matière de qualité.

Tous les procédés de fabrication des médicaments stériles injectables sont organisés pour obtenir et maintenir leur stérilité avec une garantie maximale [4]. Les produits doivent être protégés de la contamination extérieure (environnement et opérateurs) et de la contamination croisée. Pour parer à la contamination des produits dans les unités pharmaceutiques on a recours aux salles propres [6].

#### 1- Environnement de fabrication

La production des médicaments stériles doit se faire dans un environnement approprié, Les salles propres (blanches) sont des locaux où les produits sont protégés de la contamination grâce à la combinaison d'une distribution intérieure appropriée et d'un

contrôle de la contamination particulaire dans l'air. A l'intérieur de ces salles, appelées aussi (ZAC), des environnements maîtrisés peuvent fournir une protection additionnelle [6]. Les bonnes pratiques de fabrication définissent les (ZAC) selon le nombre maximal de particules autorisé et suivant des limites de contamination bactérienne. L'utilisation des (ZAC) est dépendante des conditions de préparation et de risque de contamination microbiologique.

Tableau1 : Zone d'atmosphère contrôlée : nombre maximale de particules autorisées[5]

nombre maximal autorisé de particules par m <sup>3</sup> , de taille égale ou supérieur à :				
Classe	Au repos		En activité	
	0.5um	5um	0.5um	5um
A	3500	0	3500	0
B	3500	0	350000	2000
C	350000	2000	3500000	20000
D	3500000	20000	ND	ND

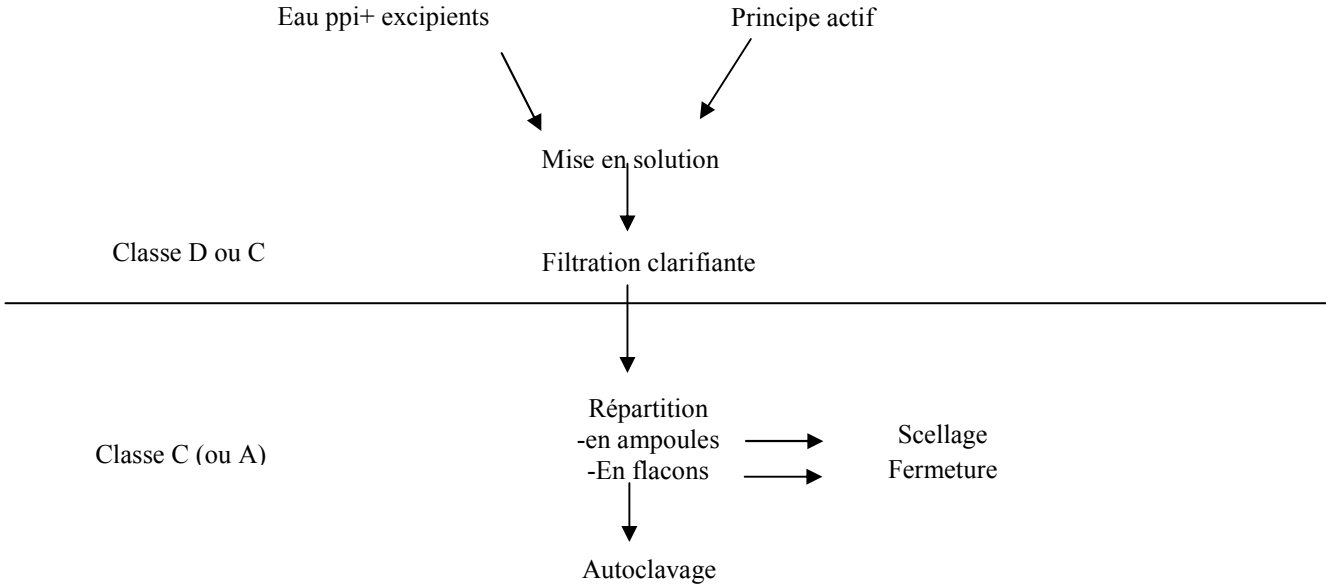
Tableau2 : Zone d'atmosphère contrôlée : limite de contamination bactérienne [4]

Limites recommandées de la contamination microbiologique				
Classe	Echantillon d'air UFC/m <sup>3</sup>	Boite de pétri (diam 90mm) UFC/ 4h	Gélose de contact (diam 55mm) UFC/plaque	Empreintes de gant (5 doigts) UFC/gant
<b>A</b>	<1	<1	<1	<1
<b>B</b>	10	5	5	5
<b>C</b>	100	50	25	-
<b>D</b>	200	100	50	-

## 2- Méthodes de fabrication

### a- Stérilisation dans le récipient final

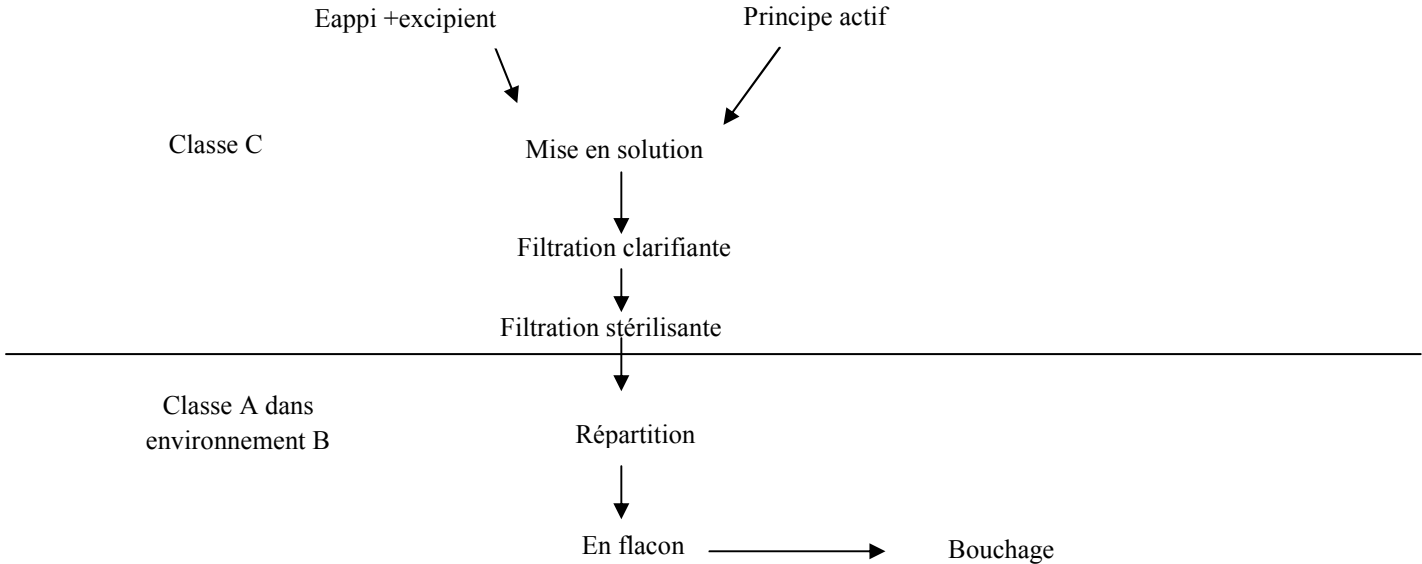
C'est le procédé le plus couramment employé pour les solutions, chaque fois que la ou les substances actives sont stable en solution et à la chaleur.



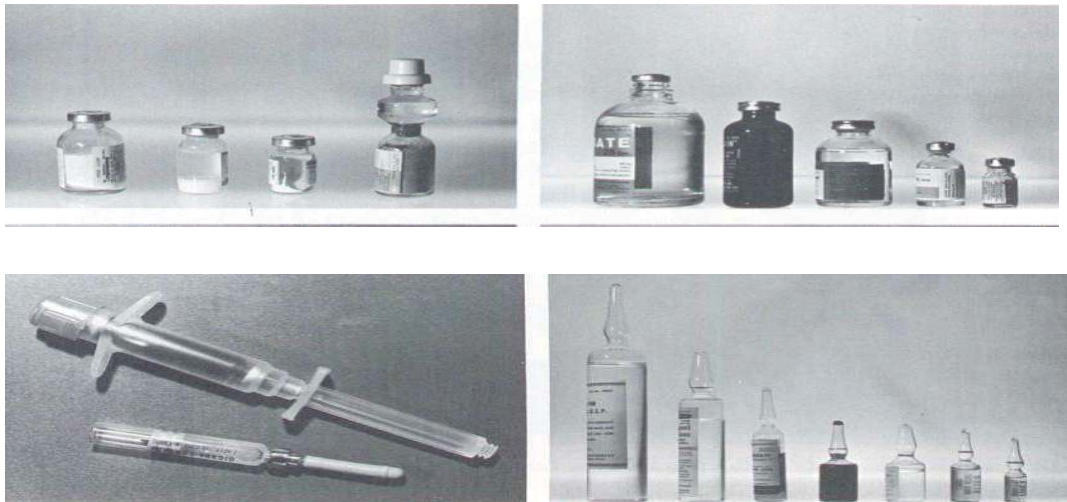
**Fig1:** produits stérilisés dans leur récipient final : exemples des solutions [4]

b- Préparation aseptique

Les préparations dans des conditions aseptiques sont mises en œuvre chaque fois que la ou les substances actives sont instables en solution et à la chaleur.



**Fig2:** préparation aseptique exemples des ampoules [4]



**Fig3** : les différentes formes des médicaments injectables

### III. REGLES GENERALES DES BONNES PRATIQUES DE FABRICATION

L'OMS définit les (BPF) comme étant «un des éléments de l'assurance de la qualité; elles garantissent que les produits sont fabriqués et contrôlés de façon uniforme et selon des normes de qualité adaptées à leur utilisation et spécifiées dans l'autorisation de mise sur le marché».

Les BPF couvrent l'ensemble du procédé de fabrication: définition de celui-ci; validation des étapes critiques de la fabrication; locaux, stockage, transport ; qualification et formation appropriées du personnel pour la production et le contrôle de la qualité ; services de laboratoires suffisants ; un relevés établissant que toutes les étapes requises pour les procédures et les instructions ont bien été suivies; dossiers de fabrication et de distribution des lots permettant de retracer l'historique complet des produits ; systèmes de rappel des lots et enquêtes sur les réclamations [7].

#### 1- Le personnel

L'entreprise doit toujours s'assurer que le programme de formation assure que le personnel effectuant les procédures de production et de contrôle a de l'expérience et de la formation en rapport avec leurs fonctions prévues. Il est important que le personnel soit formé dans les procédures aseptiques. Les opérateurs doivent être correctement habillés et utilisent de bonnes techniques d'asepsie [3].



## 2- Bâtiments et installations

La fabrication des médicaments stériles doit s'effectuer dans des zones d'atmosphère contrôlée; l'entrée dans ces zones doit se faire par des sas réservés au personnel et/ou au matériel et aux substances. Les zones d'atmosphère contrôlée doivent être maintenues à un niveau de propreté approprié et alimentées en air filtré sur des filtres d'efficacité correspondant au niveau de propreté requis.

Les différentes opérations de préparation des accessoires de produit et de remplissage doivent être effectuées dans des locaux séparés au sein de la zone d'atmosphère contrôlée.

Ces zones destinées à la fabrication des produits stériles sont classées selon les qualités requises pour leur environnement. Chaque opération de fabrication requiert un niveau approprié de propreté de l'environnement « en activité » de façon à réduire au minimum le risque de contamination particulaire ou microbienne des produits ou des substances manipulés.

Afin de satisfaire aux conditions requises " en activité ", ces zones doivent être conçues de manière à atteindre des niveaux définis de propreté de l'air "au repos ". L'état au repos, est l'état où les locaux sont opérationnels avec le matériel de production en place, sans que les opérateurs soient à leur poste. L'état "en activité", est l'état où les locaux et les équipements fonctionnent selon le mode opératoire défini et en présence du nombre prévu d'opérateurs.

Les états « en activité » et « au repos » doivent être définis pour chaque zone d'atmosphère contrôlée.

## 3- L'air fournis

L'air fourni aux zones de préparation ou de formulation (zone non stérile) doit être filtré pour contrôler le nombre de particules présentent dans cette zone.

Contrairement aux zones où le produit stérile est manipulé, L'air fourni devrait être ultrafiltré en utilisant des filtres (HEPA) sous pression positive. Les documents qui décrivent le système des filtres HEPA doivent comprendre la certification, indiquant la fréquence des tests d'intégrité. Le système d'air comprimé nécessite que l'air soit filtré au niveau du point d'utilisation pour le contrôle particulaire.

Les Schémas des systèmes d'air comprimés et filtres HEPA doivent être pris et être facilement disponibles pour l'inspection [3].

#### 4- Contrôle de l'environnement

Le contrôle environnemental doit établir des spécifications pour les particules viables et non-viables. Les Spécifications pour les particules viables doivent inclure des dispositions pour l'échantillonnage de l'air, des surfaces et de l'équipement de traitement aseptique. Ainsi qu'un programme complet sur le contrôle de l'environnement, les spécifications et les données sur les essais et les tests devraient être disponibles.

#### 5- Les équipements

Les instructions doivent être disponibles sur la façon dont fonctionne le matériel, y compris les opérations de nettoyage et d'entretien.

L'équipement utilisé dans la chambre de remplissage est stérilisé, ainsi que le cycle de stérilisation est validé, ces instructions doivent être correctement documentées [3].

L'ensemble du matériel tel que le stérilisateur et les systèmes de conditionnement et de filtration d'air, les filtres éventes et les filtres à gaz, les systèmes de traitements, de production, de stockage et de distribution d'eau, doit être validé et entretenu de façon planifiée. Leur remise en service doit être approuvée [8].

#### 6- Eau pour préparation injectable

L'eau PPI est une eau destinée soit à la préparation des médicaments pour administration parentérale à véhicule aqueux, soit à la dissolution ou la dilution de substances pour administration parentérales [5].

L'eau utilisée dans la production des médicaments stériles doit être contrôlée afin de s'assurer qu'elle répond aux spécifications. La description du système utilisé pour la production, le stockage et le système de distribution d'eau pour injection doit être présentée sous une forme écrite et avec suffisamment de détails pour que les opérateurs comprennent. Les alambics, les filtres, les réservoirs de stockage, et les tuyaux doivent être installés et utilisés de manière à ne pas contaminer l'eau. Les procédures et les spécifications qui assurent la qualité de l'eau pour injection devraient être vérifiées périodiquement [3].

#### 7- Les contenants et le scellage

Les récipients destinés aux préparations pour usage parentérale doivent être fabriqués dans une matière :

- Suffisamment transparente pour permettre à tout moment la vérification visuelle de l'aspect primitif de la préparation ;
- Inactive sur la préparation avec laquelle elle est en contact ;
- Dont la nature ne permet ni la diffusion à travers la matière du récipient, ni l'introduction de matières étrangères dans la préparation.

Les fermetures doivent être telles qu'elles assurent l'étanchéité, et empêchent la pénétration des micro-organismes et tout autre agent de contamination et permettent, sans être déplacées, le prélèvement de toute partie du contenu [5].

#### 8- La stérilisation

Toutes les méthodes de stérilisation doivent être validées, et est conforme à l'autorisation d'ouverture de l'établissement et à l'autorisation de mise sur le marché.

Pour qu'une stérilisation soit efficace, la totalité des produits doivent être soumise au traitement requis. La conception du procédé doit garantir une bonne exposition au traitement.

Les indicateurs biologiques ne doivent pas être considérés comme un moyen supplémentaire de contrôler la stérilisation. Ils doivent être stockés et utilisés conformément aux instructions du fabricant. Leur qualité doit être vérifiée à l'aide de témoins positifs. Si des indicateurs biologiques sont utilisés, il convient de prendre toutes les précautions en vue d'éviter qu'ils soient à l'origine de contaminations microbiennes [3].

#### 9- Le personnel impliqué dans les zones critique

Le personnel technique et d'entretien devrait posséder la formation et la compétence nécessaires pour faire fonctionner et entretenir les machines et tout équipement auxiliaire. Il devrait aussi avoir reçu une formation de base sur les exigences des BPF qui s'appliquent à la production des produits stériles, notamment en ce qui concerne l'habillement et les manipulations.

Les employés sont correctement habillés de tenues stériles, masques, casquettes et couvre-chaussures.

Le contrôle qualité doit Établir les procédures de port de la tenue, et de déterminer si une bonne technique aseptique est maintenue dans les vestiaires et des zones de remplissage [3].

## CHAPITRE II

# LA PRODUCTION ASEPTIQUE

Il existe des différences fondamentales entre la production des médicaments stériles par procédé aseptique, et procédé par stérilisation terminale. La stérilisation terminale implique généralement le remplissage et le scellage des récipients et de produits dans des conditions environnemental de grande qualité; le produit, le récipient et le scellage, dans la plupart des cas, ont une faible charge microbienne, mais ne sont pas stériles. L'environnement dans lequel le remplissage et le scellage est effectué est de grande qualité afin de minimiser le contenu microbien du produit en cours de fabrication et à faire en sorte que le processus de stérilisation ultérieure est réussie. Le produit dans son récipient final est ensuite soumis à un procédé de stérilisation tel que la chaleur ou le rayonnement.

En raison de leur nature, certains produits sont préparés aseptiquement. Exemple, Des produits de thérapie à base de cellules. Tous les composants et excipients pour ces produits sont stérilisés, et la libération du produit fini est subordonnée à la détermination de la stérilité [3]

Dans ce chapitre nous allons aborder les principes du remplissage aseptique.

## I. PROCEDE DE REMPLISSAGE ASEPTIQUE

### 1- Définition

C'est un mode de traitement (processing) des produits pharmaceutiques qui implique une stérilisation séparée des produits et des emballages primaires. Le transfert des composants stériles du produit dans le contenant final et la fermeture de ce dernier doit se faire dans une classe 5 « ISO » (Classe A « BPf»). La préparation finale est stérile. [8]

Autre définition, l'asepsie est exempte des microorganismes produisant des maladies ; le processus aseptique est la manipulation du matériel stérile dans un environnement contrôlé, dans le quel la fourniture d'air, le transfert du matériel et d'équipement ainsi que la présence du personnel sont régules de façon à contrôler la contamination microbienne et particulaire [9], Le produit fini est stérile et nécessite pas un traitement thermique après embouteillage.

Le procédé aseptique évite toute contamination via l'air, l'emballage ou le matériel par des microorganismes d'altération ou des pathogènes, des bactéries des levures et autres moisissures.

Toute manipulation manuelle ou mécanique du produit stérilisé, les composants, les contenants, et le scellage, avant ou pendant l'assemblage aseptique pose un risque de contamination et nécessite un contrôle minutieux.

a- Les avantages :

- la conservation longue durée (plus de 6 mois) à température ambiante sans l'ajout de conservateurs
- Les qualités organoleptiques du produit sont préservées grâce au remplissage à froid
- Le risque microbiologique est maîtrisé avec un taux de stérilité équivalent au soutirage à chaud [11].

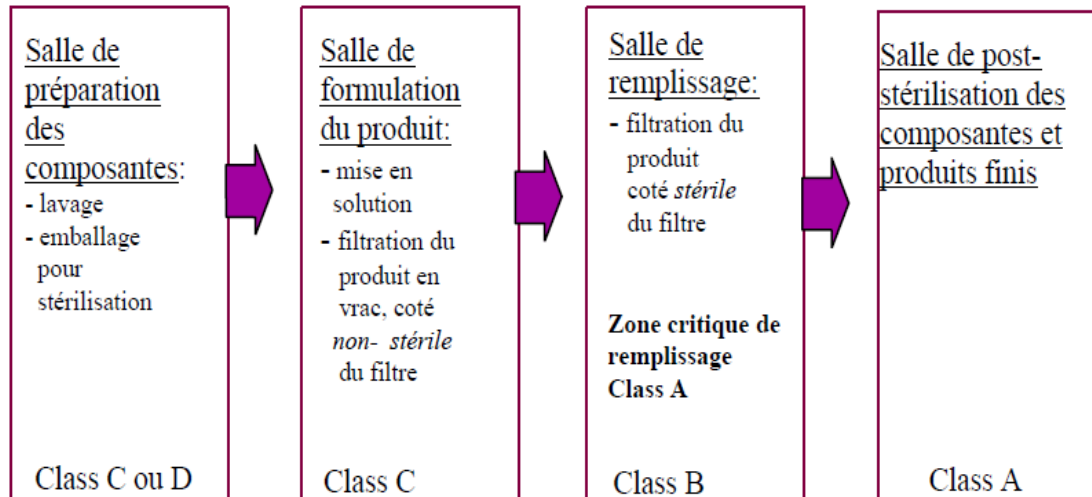
2- Locaux et installations

a- conception

La conception des locaux participe à l'assurance de la stérilité. Dans les (ZAC), les surfaces doivent être lisses, imperméables, sans fissures, avec un minimum d'anfractuosités pour réduire l'accumulation des micro-organismes. Le matériel, les appareils et les installations techniques dans les zones de production stériles doivent être conçus et installés pour qu'un maximum de maintenance et de réparations puissent s'effectuer hors de la zone à atmosphère contrôlée [12].

Les différentes zones de fonctionnement nécessitent la séparation et le contrôle à chaque zone ayant différents degrés de qualité de l'air en fonction de la nature de l'opération. La conception de la Réserve est basée sur les normes microbiologiques et particulières définies par l'équipement.

Les opérations de traitement aseptique doivent être effectuées dans des zones spécifiquement définies, Il doit y avoir des zones distinctes pour les opérations pour éviter la contamination [3]



**Fig4 :** Classification des zones de fabrication des médicaments injectables.

#### b- Suivi environnementale des ZAC

Le suivi des ZAC consiste à surveiller des paramètres physiques et microbiologiques afin d'assurer que l'environnement de fabrication des produits est maîtrisé et conformes aux spécifications attendues, les paramètres sont :

Physiques : -détermination qualitative de la contamination particulaire de l'air.

- mesure de la température dans les locaux
- mesure de différentiel de pression entre les locaux
- l'humidité relative.

Biologique : -bio contamination de l'air

- bio contamination des surfaces.
- bio contamination du personnel (tenues et gants). [9]

#### c- Traitement d'air

L'air contient naturellement des particules (contamination particulaire) et des micro-organismes (aérobiocontamination). Les micro-organismes dans l'air sont des bactéries, des levures, des spores (champignons), des virus, d'où l'importance de filtrer rigoureusement l'air dans les ZAC et d'en contrôler les volumes-cibles de contaminants.

Cette filtration ne se suffit pas en elle-même. Il faut également contrôler la circulation de cet air dans les ZAC selon les exigences de l'aérodynamique : le flux d'air unidirectionnel

dont le cheminement est notamment vérifié par des tests aérauliques, doit provoquer un effet de balayage des biocontaminants éventuels vers l'extérieur pour protéger la zone la plus critique. La pression de l'air, est plus élevée dans les salles de classe A, diminue en Classe B, C et D, pour rejoindre la pression atmosphérique. C'est cette « cascade de pression » qui fait circuler l'air de la partie la plus contrôlée vers la moins contrôlée, de l'intérieur vers l'extérieur.

Pour maintenir les degrés de pression d'air dans les salles selon leur classe, des sas fonctionnent comme des écluses, une porte ne s'ouvrant que si l'autre est refermée.

Un contrôle est aussi exercé sur les paramètres physiques du système de traitement d'air : pression, débit, température, hygrométrie [12].

#### d- filtration d'air

Les Opérations de traitement aseptiques doivent aussi inclure une alimentation en air filtré à haute efficacité (HEPA) des filtres sous pression positive, ainsi que des systèmes de surveillance des conditions environnementales et le maintien de tout le matériel utilisé pour contrôler les conditions d'asepsie [3].

L'intégrité des filtres HEPA doit être maintenue pour assurer des conditions aseptiques. Un Test d'étanchéité doit être effectué à l'installation pour détecter les violations de l'intégrité dans les joints d'étanchéité, à travers les cadres, ou à travers différents points sur le support du filtre. Par la suite, des essais d'étanchéité doivent être effectués à des intervalles de temps appropriés. Par exemple, un tel test doit être effectué deux fois par an.

Il existe une différence importante entre les tests d'étanchéité de filtre et le test d'efficacité. Un test d'efficacité est un test général utilisé pour déterminer l'estimation de la filtration. Un filtre HEPA intacte doit être capable de retenir au moins 99,97 % des particules supérieures à 0,3 µm de diamètre.

Le but d'effectuer des tests d'étanchéité réguliers, d'autre part, est de détecter les fuites dans les médias de filtre, et le cadre de filtre [11].

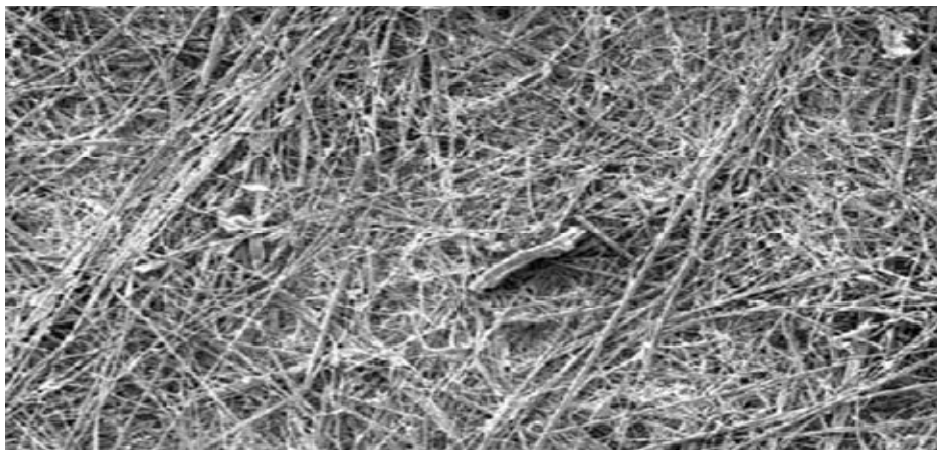




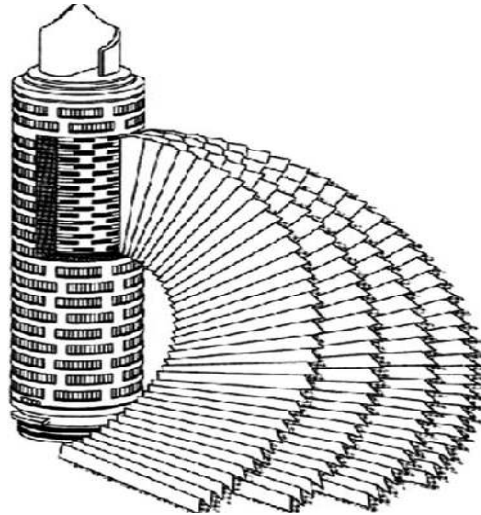
**Fig5 :** la structure d'un filtre HEPA

On peut distinguer différents types de filtres hydrophiles souvent dans la membrane et de la profondeur des filtres. La Profondeur des filtres retienne les contaminants à l'intérieur de la matrice de filtre. Les contaminants doivent se déplacer à travers le trajet tortueux de la matrice des fibres et, éventuellement, vont entrer en collision avec les fibres. En raison de la conservation de la profondeur, ces filtres ont une capacité de séparer une charge élevée de contaminants de différentes tailles.

Les filtres en profondeur sont utilisés pour l'élimination des particules grossières, la filtration de finition, et en particulier pour protéger les membranes filtrantes finales osmose inverse. Les filtres en profondeur peuvent grandement améliorer la capacité de débit total du filtre à membrane. [12]



**Fig 6:** matrice de fibres aléatoire d'un filtre en profondeur[12]



**Fig7:** Elément 6,10 pouces de filtre standard avec membrane et protection des voiles plissés [12]

### 3- formation du Personnel, la qualification, et la surveillance

Le programme exige :

- \*La formation, la qualification du personnel
- \*L'implication annuelle de toutes les personnes autorisées à entrer en zone aseptique pendant la fabrication
- \*Le nombre de personnes présentes dans les zones d'atmosphère contrôlée doit être réduit au minimum
- \*Une propreté et une hygiène personnelle de haut niveau sont essentielles.
- \* d'assurer leur formation initiale et continue et notamment de donner les instructions d'hygiène [13]
- \*Les vêtements de travail portés par les opérateurs de production participent au dispositif de contrôle des particules dans les locaux classés. Les tenues, elles-mêmes stériles, sont donc conçues pour ne libérer ni fibres ni particules et doivent retenir les particules émises par l'opérateur. Enfilée selon une gestuelle stricte, cette tenue comprend une cagoule qui enferme totalement les cheveux, un masque couvrant le bas du visage et des lunettes raccordant cagoule et masque. Une combinaison serrée aux poignets avec un col montant est complétée par des bottes qui enserrant le bas du pantalon et des gants qui enserrant les poignets.[14]



**fig 8:** l'habillage d'une personne qui travail dans le secteur aseptique

a- Programme de surveillance

Le personnel peut affecter de manière significative la qualité de l'environnement dans lequel le produit stérile est traité. Un programme de surveillance du personnel doit être établi. Le suivi doit être réalisé par l'obtention d'échantillons de surface des gants de chaque opérateur sur une base quotidienne, ou en association avec chaque lot. Cet échantillonnage doit être accompagné d'une fréquence d'échantillonnage appropriée pour d'autres endroits stratégiques de la tenue.

L'unité de contrôle de qualité devrait établir un programme de surveillance plus complet pour les opérateurs impliqués dans ces opérations c'est-à-dire ceux qui applique des manipulations aseptiques répétées.

L'objectif permanent pour le personnel dans la salle de classe A est de maintenir des gants et des tenues sans contamination tout au long des opérations.

La Désinfection des gants juste avant l'échantillonnage est inappropriée car il peut empêcher la récupération des micro-organismes qui étaient présents lors d'une manipulation aseptique. Lorsque les opérateurs dépassent les niveaux établis ou montrent une tendance négative, une enquête doit être menée rapidement. Les actions de suivi peuvent inclure un échantillonnage, plus, l'observation intensive, le recyclage, la requalification d'habillage, et dans certains cas, la réaffectation de l'individu à des opérations en dehors de la zone de fabrication aseptique [11]

#### 4- Les composants, les contenants et le scellage

##### a- les composants

Un produit pharmaceutique produit par procédé aseptique peut être contaminé par l'utilisation d'un ou plusieurs composants qui sont contaminés par des microorganismes ou des endotoxines. Exemples, de l'eau pour injection, et d'autres excipients. Il est important de caractériser le contenu microbien (la charge microbienne, les endotoxines) de chaque composant qui pourrait être contaminée, et établir des limites d'acceptation appropriée.

Les Données de charge d'endotoxine sont importantes parce que les produits parentéraux sont destinés à être apyrogène. Il devrait y avoir des procédures écrites et des spécifications pour l'acceptation ou le rejet de chaque lot de composants qui pourraient contenir des endotoxines. Tous les éléments qui ne respectent pas les limites d'endotoxines définies doivent être rejetés.

En traitement aseptique, chaque composant est stérilisé individuellement, la connaissance de la charge microbienne est importante pour déterminer si un processus de stérilisation est adéquat. Plusieurs méthodes peuvent être adaptées à la stérilisation des composants. Un procédé largement utilisé est la filtration stérilisante, La solution est passée à travers une membrane stérilisante ou le filtre à cartouche. La Filtration stérilisante est utilisée lorsque le composant est soluble et est susceptible d'être affecté par la chaleur [11].

Un programme de tests de la charge microbienne pour chaque produit à divers stades de fabrication doit être établi et documenté. Cela dépendra lors du processus de fabrication, mais, un minimum devrait inclure une analyse de la charge microbienne des solutions en vrac avant toute filtration stérilisante.

A cette étape du processus, la matière première formulée est remplie dans les contenants. Cette opération est souvent qualifiée de “répartition” dans le langage pharmaceutique. Elle s'effectue à l'intérieur d'un isolateur ou sous hotte à flux unidirectionnel dans un local de classe A. Le contenant est immédiatement fermé de manière hermétique, ce qui permet de le sortir de la zone stérile de classe A, puisque le médicament qu'il contient est maintenant protégé de toute contamination [14]

##### b- contenants et scellage

Les récipients et leurs fermeture doivent être stérilisés et apyrogènes. Le type de processus utilisé dépendra principalement de la nature du matériau constituant le récipient ou la

fermeture, ou les deux. L'étude de validation pour un tel processus devrait être suffisante pour démontrer sa capacité à rendre les matériaux stériles et apyrogènes.

La pré-stérilisation des récipients en verre implique généralement une série de cycles de lavage et de rinçage. Ces cycles jouent un rôle important dans l'élimination des matières étrangères. L'eau de rinçage doit être de haute pureté afin de ne pas contaminer les contenants. Cette eau de rinçage final doit répondre aux spécifications de l'eau pour préparation injectables. Les contenants en verre sont généralement soumis à la chaleur sèche pour la stérilisation et la dépyrogénéation.

Au minimum, les rinçages initiales pour le processus de lavage devraient utiliser de l'eau purifiée dont la teneur en endotoxines est minimale, suivie par un rinçage final avec de l'eau PPI. Normalement, la dépyrogénéation est atteinte par plusieurs rinçages de l'eau PPI chaude. Le temps entre le lavage et la stérilisation doit être minimisée, car l'humidité sur les bouchons peut soutenir la croissance microbienne et la production d'endotoxines [3]

#### 5- Contrôle d'endotoxines

Les Composants du médicament, les récipients, le scellage, les limites de temps de stockage et le matériel de fabrication sont parmi les parties à traiter pour le contrôle des endotoxines. Le Nettoyage adéquat, le séchage et le stockage de l'équipement vont contrôler la charge microbienne et empêcher la contribution des charges d'endotoxines.

L'équipement doit être conçu pour être facilement monté et démonté, nettoyé, désinfecté et / ou stérilisé. Si les procédures adéquates ne sont pas utilisées, les endotoxines peuvent être contribuées par l'équipement en amont et en aval du traitement. [3]

#### 6- Stérilisation et Dépyrogénéation

Les médicaments, les composants et les équipements entraîne l'utilisation de divers traitements de stérilisation et dépyrogénéation pour contrôler la charge microbienne et éviter les Pyrogènes excessifs. Le choix de la procédure spécifique doit toujours prendre pleinement en considération l'impact du traitement sur le matériel à stériliser et dépyrogéniser, parmi ces procédés :

##### a- stérilisation Par la chaleur sèche

L'utilisation de la chaleur sèche pour la dépyrogénéation et la stérilisation est presque universelle pour les récipients en verre. Des températures de 250 ° C ou plus sont utilisées

pour rendre le verre exempté d'endotoxines. La dépyrogénéation est nécessaire parce que le lavage du verre réduire les particules qui peuvent présenter des niveaux de contamination par des micro-organismes dont la présence pourrait provoquer la formation des pyrogènes. Le processus de dépyrogénéation peut aider dans le traitement de surface de la pièce et aussi rendre le verre stérile. Ces procédés sont réalisés dans des fours continus, qui sont également installés entre les préparations et les zones de traitement aseptique.

#### b- Stérilisation par filtration

Les filtres sont utilisés pour stériliser des liquides et des gaz par passage à travers des membranes qui retiennent les micro-organismes grâce à une combinaison de rétention tamis, impaction, et mécanismes attractant. Les filtres reposent sur la séparation des éléments indésirables (micro-organismes ainsi que des particules non viables) du fluide.

À côté du filtre, la tuyauterie et l'équipement doivent être à la fois propre et stérile avant le début du processus de filtration [15].

#### 7- Surveillance et Contrôle

La réglementation exige la confirmation des conditions appropriées, et les activités du traitement aseptique. Dans le contexte le plus élevé de qualité de l'air utilisé pour le traitement aseptique, ISO 5, il y a une attente générale que l'air et les surfaces soit en grande partie exemptés de contamination microbienne et le nombre de particules soit à l'intérieur des limites définies (moins de 3500 particules de plus de  $0,5 \mu m / m^3$ ).

Prouver la complète absence de quelque chose est une exigence impossible, si l'attente habituelle est que 99% de tous les échantillons prélevés dans cet environnement plus critique soit libre des micro-organismes. Les attentes minimales de surveillance pour ces environnements définie par la réglementation sont toujours réalisables dans presque tous les cas, en particulier ceux avec des attentes moindres. [15]

#### 8- La désinfection

L'efficacité des agents désinfectants et les procédures établies doivent être mesurée par leur capacité à faire en sorte que les contaminants potentiels sont suffisamment retirés des surfaces. Pour éviter toute contamination, les désinfectants doivent être stériles, convenablement manipulés dans des récipients adaptés. Ils doivent être efficaces contre la flore microbienne.

De nombreux désinfectants usuels sont inefficaces contre les spores. Par conséquent, un programme de désinfection solide comprend également un agent sporicide, utilisé selon un programme écrit et lorsque les données d'environnement indiquent la présence d'organismes sporogènes [11]

#### 9- Le monitoring

Les Environnements aseptiques sont soumises à une variété de systèmes de surveillance, y compris l'air, les surfaces, et le personnel des micro-organismes et les particules viables et non viables, en générale, la fréquence et l'intensité de la surveillance et le souci de la propreté augmente à mesure que le produit progresse dans les étapes de préparation (généralement en ISO 7/8 environnements) jusque les activités les plus critiques (composition non stérile dans la norme ISO 6) et en fin de compte dans le noyau aseptique (de mélange et remplissage aseptique en ISO 5). La sélection des sites et le temps d'échantillonnage devraient avoir un équilibre entre la nécessité de recueillir des données significative et d'éviter les interventions d'échantillonnage pouvant porter d'effet sur la qualité du produit. L'Échantillonnage microbiologique doit toujours être fait par des personnels qualifiés utilisant une technique aseptique. Ce sera à la fois de réduire les risques de contamination et également d'améliorer la fiabilité des données en réduisant la probabilité de faux résultats [15].

##### a- Les méthodes de contrôle

Les Méthodes de suivi de la qualité microbiologique de l'environnement comprennent:

##### - L'échantillonnage des surfaces

La Surveillance de l'environnement implique d'échantillonnage des différentes surfaces de qualité microbiologique. Par exemple, les surfaces de contact avec le produit, les planchers, les murs et les équipements doivent être testées sur une base régulière. Des Plaques tactiles, des tampons, et des plaques de contact peuvent être utilisés pour ces tests [11]

Ces Surfaces sont surveillées par plusieurs méthodes, mais le plus souvent avec des plaques de contact (sur des surfaces lisses) ou écouvillons (pour les surfaces irrégulières). L'échantillonnage de surface dans les environnements aseptiques (ISO 5/6) est généralement effectué après l'achèvement du processus pour éviter le risque de contamination accidentelle.



L'échantillonnage de ces matériaux peut laisser une trace de médias ou de l'eau sur l'échantillon de surface.

L'Échantillonnage des surfaces en contact avec le produit ne devrait être effectué après l'achèvement du processus, et les résultats de ce test ne doivent pas être considérés comme un test de stérilité supplémentaire sur les produits. Comme dans toute forme d'échantillonnage de l'environnement d'emploi, le risque de contamination par des échantillonneurs au cours du traitement d'un échantillon rend les données moins totalement fiables [15].

- Suivi de l'air actif

L'Évaluation de la qualité microbienne de l'air devrait impliquer l'utilisation de dispositifs actifs, Nous recommandons que ces dispositifs soient utilisés au cours de chaque cycle de production pour évaluer les zones de traitement aseptique à des endroits soigneusement choisis. Les fabricants devraient être conscients des capacités de surveillance de l'air d'un périphérique, et l'échantillonneur d'air doit être évalué pour son aptitude à l'emploi dans un environnement aseptique basée sur l'efficacité de la collecte, la propreté et la capacité à être stérilisés [11].

- L'échantillonnage des tenues du personnel

La surveillance des surfaces de la tenue du personnel est une adaptation d'échantillonnage de surface dans laquelle les échantillons sont prélevés à partir des surfaces de l'opérateur. Dans environnements ISO5, cela implique habituellement les mains gantées. Comme avec tout autre échantillonnage d'une surface critique (la main gantée est souvent plus proche à proximité des surfaces de contact du produit stériles et des composants stérilisés), l'échantillonnage doit être effectué à la fin et en cour de l'activité aseptique.





**Fig9** : l'échantillonnage sur la tenue de l'opérateur

- Contrôle particulaire

La Surveillance des particules totales Confirme, la ventilation, et de système d'air conditionné (HVAC) afin de maintenir les conditions appropriées partout (dans la mesure pratiques). La classification des environnements est plus facile a réalisée en utilisant des compteurs de particules totales électroniques qui peuvent fournir près immédiat les informations sur les conditions pendant les opérations de production. L'échantillon d'air peut être pris automatiquement, en utilisant des sondes installées en permanence orientées dans le flux d'air unidirectionnel [15].

Le principe directeur des BPF, c'est que la qualité doit être un élément intrinsèque du produit et non une simple caractéristique révélée par des tests. Il en résulte que le produit doit non seulement répondre aux spécifications finales, mais également être fabriqué dans les mêmes conditions et en suivant les mêmes procédures à chaque fois. Il y a de nombreux moyens de contrôler ce point. La validation dans le cadre des BPF consiste à s'assurer que les établissements, leurs systèmes, leur matériel, les procédés et les méthodes d'essai sont bien contrôlés pour pouvoir fabriquer uniformément des produits de qualité.

Ainsi que la qualification qui permet de démontrer que le matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus [7].

Dans ce chapitre nous allons étudier et savoir la procédure à mettre en place, les méthodes et les techniques supplémentaires pouvant aider à paraître contre la contamination de ces produits.

## I. VALIDATION DES PROCÉDES

### 1- Validation du procédé de fabrication

Communément appelé dans l'industrie: "media fills" ou "broth trials, C'est un moyen indirect d'évaluer une performance de l'installation de traitement aseptique, Pour assurer la stérilité des produits prétendant être stérile. Les opérations de stérilisation, le remplissage aseptique et le scellage doivent être validées de manière adéquate.

Une opération de traitement aseptique doit être validée à l'aide d'un milieu de croissance microbiologique à la place du produit. Cette simulation du processus, également connu en tant que remplissage de support, comprend normalement l'exposition du milieu de croissance microbienne sur les surfaces de contact du produit avec l'équipement, les systèmes de fermeture des récipients, les environnements critiques, et les manipulations de processus pour simuler étroitement la même exposition que le produit lui-même va subir.

Les récipients scellés remplis avec le fluide sont ensuite incubés pour détecter une contamination microbienne. Les résultats sont ensuite interprétés pour évaluer le potentiel d'une unité de produit pharmaceutique d'être contaminé lors d'opérations réelles (par exemple, start-up, ajouts d'ingrédients stériles, les connexions aseptiques, remplissage, fermeture).

Les Données sur la surveillance de l'environnement ou déroule la simulation du processus de fabrication peuvent aussi fournir des informations utiles pour l'évaluation de la ligne de traitement. [11]

Le programme media fill doit comprend les points suivants :

a. L'approche du pire cas (worst-case)

Le programme média fill devrait inclure tous les cas et les possibilités défavorables qui peuvent arrivés lors de la simulation.

- Interventions prédéterminées (Worst-case) : Les interventions habituelles devraient être simulées à chaque fois tandis que celles qui n'arrivent que rarement peuvent être simulées périodiquement.
- Simulations d'activités normale / pire des cas:
  - Identifier le max. d'interventions de maintenance et les durées maxi pour un procédé normal.
  - Les actions normales doivent être simulées pour tous les M F
  - Les actions peu fréquentes et rares peuvent être simulées en rotation au minimum annuellement.
  - Changement d'aiguilles
  - Lignes « coincées », embouteillages...
  - Réparations et réglages
  - Démarrages fréquents
  - Prélèvements
  - Remplacement de filtres
  - Nombre maxi. De personnes en zone critique
  - Initier les M F à différentes heures de la journée [16]

b. Fréquence et le nombre de pistes

\*le test media fill doit être répété suffisamment de fois pour s'assurer que les résultats sont cohérents et significatifs. [3]

\* Toute modification ou d'événements qui ont le potentiel d'affecter la capacité du processus aseptique pour exclure toute contamination du produit stérilisé doivent être évalués par des medias fills supplémentaires. Par exemple :

- l'installation et modifications de l'équipement
- des changements de configuration en ligne
- des changements importants dans le personnel
- les anomalies dans les résultats des tests de l'environnement.[11]

\*La revalidation devrait inclure une revue des historiques des données et des tendances (revoir sur 6 mois les éventuels échecs de stérilité) [17].

c. La durée de la simulation

La durée des opérations de traitement aseptique est un facteur important dans la conception du media fill. La durée du cycle de media fill doit être déterminée par le temps qu'il faut pour intégrer les manipulations et les interventions, ainsi que l'examen approprié de la durée de l'opération de traitement aseptique réelle.

d. La taille des séries (size of runs)

\*La taille des séries simulées devraient être suffisantes pour reproduire les conditions de production réelle et d'évaluer avec précision le risque de contamination du lot commercial.

\*Le nombre d'unités remplies lors de la simulation de processus doit être fondé sur le risque de contamination, et suffisant pour simuler avec précision les activités qui sont représentatifs du processus de fabrication.

\*Un point de départ acceptable pour la taille de la série est de l'ordre de 5000 à 10000 unités. Pour les opérations avec des tailles de production de moins de 5.000, le nombre d'unités rempli doit être au moins égale à la taille de lot maximale effectué sur la ligne de traitement.

\*La taille de media fill est un facteur particulièrement important parce que certains lots sont produits sur plusieurs quarts de travail ou donnent un nombre anormalement élevé d'unités. Ces facteurs doivent être évalués avec soin lors de la simulation pour englober de manière adéquate les conditions et les risques potentiels associés à des grandes opérations.

e. la vitesse de la simulation

Le programme de media fill devrait répondre adéquatement à la gamme des vitesses de ligne utilisée lors de la production. Chaque média fill devrait évaluer une vitesse d'une seule ligne, et la vitesse choisie doit être justifiée.

\* La simulation de la vitesse rapide est appropriée dans l'évaluation des processus de fabrication caractérisé par des interventions fréquentes ou un degré significatif de manipulation manuelle.

\*La simulation de la vitesse lente est généralement appropriée pour évaluer les processus de fabrication d'une exposition prolongée du produit stérile et les contenants / le scellage dans le secteur aseptique [3].

f. Le choix du milieu de culture

Il serait coûteux d'utiliser le produit lui-même pour la simulation, d'autant plus que le produit peut quelque fois présenter de l'inhibition à certains microorganismes. Il est recommandé d'utiliser un milieu de culture générale qui supportent la croissance d'un large spectre de microorganismes tel que: "Soy Casein Digest Medium (SCDM)" ou "Tryptic Soy Broth (TSB)", et plus particulièrement les microorganismes isolés de l'environnement des salles blanches ou des tests de stérilité positifs (produits contaminés) [17].

g. Evaluation des échantillons

\*Les unités remplies du media fill (3000 minimum) doivent être incubés dans des conditions adéquates pour détecter des micro-organismes qui pourraient autrement être difficiles à cultiver.

\* Les conditions d'incubation doivent être établies en accord avec les directives générales suivantes:

- La température d'incubation doit être adaptée à la récupération de la charge microbienne, et doit à aucun moment être en dehors de la gamme de 20-35<sup>0</sup>.
- Le temps d'incubation ne doit pas être inférieur à 14 jours. Si deux températures sont utilisées pour l'incubation des échantillons, les appareils doivent être mis en incubation pendant au moins 7 jours à chaque température (à partir de la température plus basse).

\*Chaque unité de media fill devrait être examinée par le personnel ayant une formation et l'expérience dans l'inspection de contamination microbiologique.

\*Toutes les unités suspectes identifiées lors de l'examen devraient être portés à l'attention immédiate de microbiologiste de contrôle qualité.

\*Pour permettre la détection visuelle de la croissance microbienne, nous recommandons la substitution des contenants transparents (avec des propriétés physiques identiques par ailleurs).

#### h. L'interprétation des résultats

Toute unité contaminée doit être considéré comme répréhensible et entièrement étudiées.

Les micro-organismes doivent être identifiés au niveau de l'espèce.

Chaque fois que la contamination existe dans un lot d'un media fill, il devrait être considéré comme le signe d'un problème de production potentielle [3].

- Exigences FDA : Taux de Contamination

- Si lot inférieur à 5,000

- Faire le media fill sur la taille de lot maximale

Tableau3 : l'interprétation et les exigences des résultats du reste media fill [16]

Nombre d'unité remplis	Nombre d'unité contaminée	La procédure à entreprendre
<5000	0	/
	1	-Investigation et revalidation
[5000-10000]	1	-Investigation et répétition de MF
	2	-Investigation et revalidation
>10000	1	-Investigation et pas de répétition de MF
	2	-Investigation et revalidation

## 2- Validation du procédé de nettoyage

### a- Principe

La validation du procédé de nettoyage fournit la preuve documentée que la ligne de fabrication et de conditionnement est réellement propre et qu'aucune trace de détergent et de principes actifs fabriqués sur cette ligne ne dépassent les limites fixées sur les surfaces des équipements après un nettoyage.

Il est indispensable dans les cas suivants :

- Changement de produit fabriqué ;
- Après chaque vide de ligne ;
- Après un arrêt prolongé même si la ligne était propre ;
- Après intervention maintenance [18].

\*La procédure de nettoyage sera validée en se basant sur la conformité des quatre tests suivants :

- La vérification visuelle de l'absence de traces du produit sur les équipements ;
- La recherche chimique de traces du principe actif considéré comme (worst case)
- La recherche de contaminants microbiologiques ;
- la recherche chimique de traces de détergent [19].

b- Les étapes d'un procédé de nettoyage :

Le nettoyage en général comporte les étapes suivantes :

- Le lavage ;
- Le séchage (fumigation);
- Stérilisation (autoclave).

\*Le nettoyage de la ligne de fabrication et de conditionnement primaire est effectué, pour certaines pièces d'équipements en laverie puis autoclavage, et pour la partie fixe par un système NEP (nettoyage en place).

c- Critères de conformité :

L'ensemble des contrôles et prélèvements sera effectués après le nettoyage de l'équipement fixe.

- Propreté visuelle :

Toute l'installation de la ligne de fabrication doit être propre visuellement. On doit contrôler l'absence de dépôts ou souillures visibles sur l'installation.

On doit inspecter plus particulièrement les endroits estimés comme points critiques (Le noyau aseptique)

- Propreté chimique :

-La Propreté chimique vis-à-vis du principe actif : consiste à faire des prélèvements sur toutes les surfaces de contact avec le produit stérile, ainsi que le personnel présent dans la zone stérile en utilisant la technique d'écouvillonnage.

- Propreté chimique vis-à-vis du détergent : concerne la recherche des éventuelles traces de détergent sur l'équipement dans les eaux de rinçage [18].

### 3- Validation des procédés analytiques

La validation des essais analytiques consiste à établir les critères suivants :

La précision, linéarité, pureté, limites de détection, limites de quantification, spécificité, la robustesse pour les méthodes physico-chimiques, et microbiologiques. Les différents paramètres doivent être mesurés au cours de la validation.

Tableau4 : Le tableau ci-dessous a été établi d'après le document de l'OMS sur la validation des essais analytiques Il indique les paramètres à valider pour les différents types d'essais.

Caractéristiques à prendre en compte pour les différents types de méthodes analytiques					
Paramètre	Identité	Impuretés		Activité	Composition
		Test quantitatif	Qualitatif		
<b>Exactitude</b>		+		+	+
<b>Précision</b>		+		+	+
<b>Robustesse</b>	+	+	+	+	+
<b>Linéarité et domaine d'utilisation</b>		+		+	+
<b>Sélectivité (spécificité)</b>	+	+	+	+	+
<b>Limite de détection</b>	+		+		
<b>Limite de dosage</b>		+			

Méthode : Préciser les conditions d'exécution du test et les analyses à faire sur les données recueillies, ainsi que les critères d'acceptation.

### 4- Autres procédés à validés

#### a- la Stérilisation :

\* La validation de ce procédé doit comprendre une épreuve microbienne qui teste le filtre et simule parallèlement le plus petit micro-organisme susceptible d'être présent au cours de la production.



\*Une fois que le procédé de filtration a été validé, on doit veiller à ce que tous les filtres de remplacement fonctionnent de façon aussi satisfaisante. C'est ce que l'on obtient en exécutant simultanément les tests d'intégrité du filtre et les tests de performance.

#### b- La Dépyrogénéation

\*La validation d'un procédé de dépyrogénéation comprend :

- la validation des limites de détection et le dosage des endotoxines,
- l'enrichissement d'échantillons en endotoxines,
- l'exécution de la dépyrogénéation selon la procédure approuvée et la recherche des endotoxines résiduelles dans des échantillons.

\*L'ensemble du procédé doit être testé au moins trois fois pour s'assurer qu'il détruit suffisamment les endotoxines et correspond aux spécifications techniques [7].

## II. LA QUALIFICATION

### 1- qualification du système CVC

Dans cette qualification il faut prouver que le système CVC fonctionne comme prévu dans son état définitif, au repos comme en fonction; et contrôler toutes les données et informations à ce sujet.

Les résultats doivent apporter la preuve que les performances répondent constamment aux spécifications techniques préalables dans les conditions normales et, le cas échéant, dans les situations les plus défavorables.

Matériel et équipement : Le matériel requis est constitué de tous les articles utilisés habituellement pour tester la qualité de l'air au niveau des particules et des micro-organismes ou pour exécuter les opérations manuelles ou informatisées destinées à contrôler la température, l'humidité, le débit d'air, etc.

Les appareils destinés à mesurer la qualité de l'air dans les différentes salles doivent, avant l'emploi, avoir été étalonnés, documents à l'appui de:

- micromanomètre ou manomètre différentiel ;
- compteur de particules ;
- échantillonneur d'air pour la microbiologie et boîtes de Pétri

Méthode : ce test doit démontrer que la qualité de l'air est conforme aux spécifications via les particules viables et non-viables, la température, l'humidité, la numération, le niveau

d'éclairage, et entre dans le cadre des caractéristiques et de la classification de chaque salle.



**Fig10** : Compteur des particules

## 2- la Qualification de l'autoclave

\*L'objectif de cette qualification est de Déterminer que l'autoclave, donne les résultats escomptés en le faisant fonctionner plusieurs fois et en consignait toutes les informations et les données nécessaire pour les études de répartition de la chaleur et les configurations de chargement à tester.

\*Les résultats doivent démontrer que les performances de l'appareil sont conformes aux spécifications données au préalable dans les conditions normales et, le cas échéant, dans les situations les plus défavorables

Matériel : Verrerie, vêtements, flacons, tubulures, seringues, filtres, récipients, etc.

Tous ces articles doivent être emballés ou placés dans les plateaux utilisés pour les passer à l'autoclave.

Les Instruments d'étalonnage requis: thermocouples, calibre de pression, calibre de vide, capteurs de température, minuteurs, thermostat, débitmètres

Méthode : Au cours de cette partie de la validation de l'autoclave, les tests servent à montrer la pénétration de la chaleur et de la vapeur et la destruction de la charge bactérienne à chaque chargement de l'autoclave. Les instruments de mesure doivent être étalonnés avant et après chaque qualification pour s'assurer que le fonctionnement est bien conforme aux spécifications techniques. Les tests à réaliser sont:

- a) La répartition de la chaleur dans la chambre chargée ;
- b) L'épreuve biologique (montre que la diminution de l'indicateur biologique correspond aux limites admises). [7]



**Fig11:** autoclave industriel

### 3- l'intégrité des filtres

\* En parallèle ou en pré-requis, le procédé de filtration qui est l'essence même de la stérilisation du produit doit-être validé spécifiquement pour le produit (solution) à filtré. Un filtre stérilisant, est un filtre qui en présence d'un challenge biologique tel que la bactérie *Pseudomonas diminuta* (*P.diminuta*, diamètre moyen de  $0.3\mu\text{m}$ ) à une concentration minimum de  $10^7$  organismes par  $\text{cm}^2$  de la surface du filtre, produira un effluent stérile [7].

#### a- Types de filtres

On peut distinguer différents types de filtres, des filtres stérilisants de qualité hydrophiliques (la filtration des solutions) et hydrophobiques (filtration d'air et gaz) ils sont utilisés tout au long du processus pour la stérilisation du produit et de l'air.

\* Les filtres doivent être certifiés comme répondant aux exigences réglementaires.

\* les filtres hydrophiles sont en contact direct avec le produit, donc on doit faire une qualification pour chaque type de produit afin de démontrer que les filtres sélectionnés pour la stérilisation de produits ne modifient pas la sécurité, et la qualité, du produit.[11]

#### a- Les teste d'intégrité des filtres

Objectif : cette instruction à pour but de définir, les modalités de réalisation du test d'intégrité des filtres, sont domaine d'application est a tous les filtres au niveau des différents classe, Le test d'intégrité des filtres se fait :

- ✓ Avant après chaque filtration

- ✓ A la 1<sup>ère</sup> utilisation
- ✓ Si le débit diminue [9]

Type de filtre : filtre d'azote pour la remplisseuse

Dispositif : Sartocheck

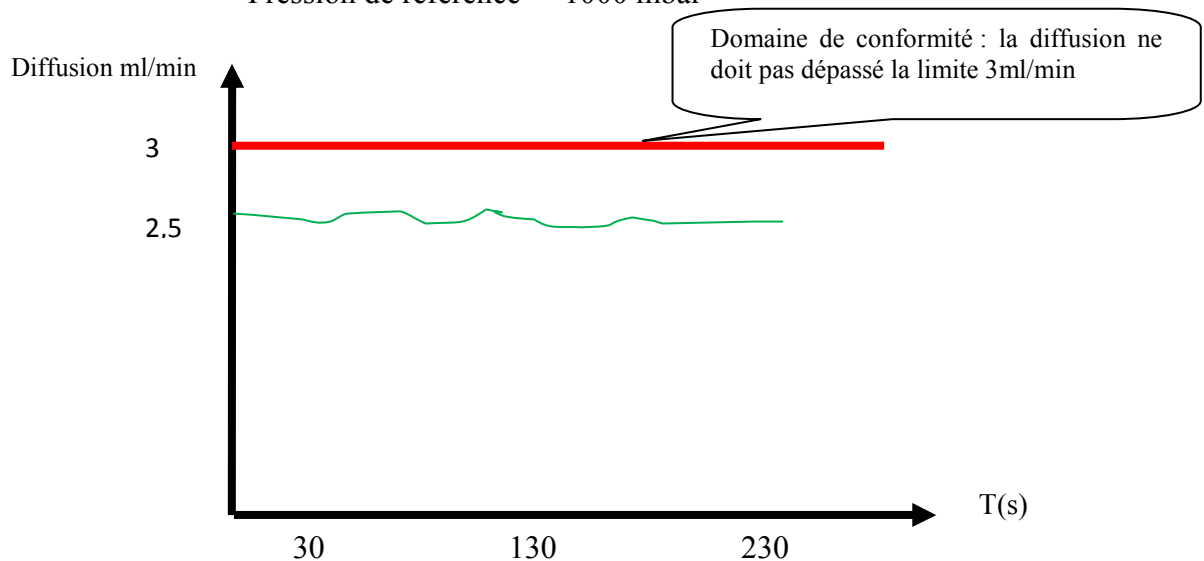
Méthode : on fait mouiller le filtre dans l'alcool isopropilique pendant 15 min.

Paramètres du teste :

- pression-----7000 mbar
- Temps-----10 min
- Diffusion-----3ml /min
- Volume net-----242 ml

Résultats du test :

- pression-----709 mbar
- Temps-----10 min
- Diffusion-----2,4 ml/min
- Chute pression-----90 mbar
- Pression de référence----1000 mbar



**Fig12** : diagramme de teste d'intégrité du filtre d'azote pour la remplisseuse[9]

- Test conforme : la diffusion ne doit pas dépassé la limite 3ml/min

#### 4- Qualification du l'incubateur

La température de l'incubateur sera contrôlée pendant deux semaines avant sa mise en service. Ce contrôle comprendra un enregistrement continu de la température et des mesures de la température interne faites par le personnel une fois par jour avec des thermomètres certifiés.

### III- APPROCHE ET METHODOLOGIE

La production sous ambiance maîtrisée ne cesse d'augmenter d'année en année. Ce type de production aide à éviter les erreurs et à réduire le rebut. Malgré toute les rigueurs et le respect des différentes étapes du procédé de fabrication, les industries pharmaceutiques n'arrivent -quelques fois- pas à atteindre la garantie absolue de la stérilité des solutions et même le produit fini à l'abri des contaminations particulières et microbienne.

En raison de cette difficulté d'assurer la qualité des produits, l'industrie pharmaceutique peut envisager d'autres procédures et des mesures supplémentaires et des techniques garantissant la stérilité de ces produits en se basant sur :

#### 1- Limitation du temps

En traitement aseptique les délais doivent être établis pour chaque phase de la production Et ces phases doivent être étayées par des données.

Ces délais devraient inclure :

- \* la période entre le début de composition du produit en vrac et sa stérilisation, doit être réduite au maximum;
- \* les procédés de filtration ;
- \*l'exposition des produits sur toute la ligne de traitement,( remplissage et scellage).
- \*La charge microbienne et la charge d'endotoxine devraient être évaluées lors de l'établissement des limites de temps pour chaque étape.
- \*Le temps total pour la filtration du produit devrait être limité à un maximum pour empêcher les micro-organismes de pénétrer dans le filtre. Un tel délai devrait également empêcher une augmentation significative de la charge microbienne en amont, et en charge de l'endotoxine.
- 0\*Les temps d'utilisation maximums pour les filtres utilisés pour la clarification des solutions ou l'élimination des particules devraient également être établies et justifiées.

## 2- Contrôle environnemental

Tableau5 : les différents paramètres de l'air

Traitement	Effet	Paramètre physique	Unités de mesure	Instruments de mesure	Moyens techniques d'obtention
<b>Filtration</b>	Elimination de particules	Classe d'empoussièrement	Concentration particulaire	Compteur de particules(0,5 et 5 $\mu$ )	Filtre système de renouvellement d'air
	Elimination des microorganismes	Classe bactériologiques	UFC	Impaction sur milieu gélosé	
<b>Insufflation et / ou aspiration</b>	Changement de pression de la pièce par rapport à la pression atmosphérique	Pression	Bar, Pa	Manomètre capteur de pression	CVC
	Maitrise des flux d'air	Classe d'empoussièrement et bactériologique	Concentration particulaire UFC		Hotte système de soufflage
<b>Humidification</b>	Condensation de l'eau	Hygrométrie	Taux d'hygrométrie	Hygromètre	Humidificateur
<b>Chauffage et/ou rafraichissement</b>	Chaleur	Température	T, K	thermomètre	Chauffage, climatisation

\*Tous ces paramètres -résumés dans le tableau ci dessus- doivent être contrôlés minutieusement et régulièrement ainsi que les instruments de mesure doivent être étalonnés après chaque utilisation.

\*On exécute la qualification de la salle blanche:

- Au repos : bâtiment équipé, mais le personnel absent et matériel ne fonctionnant pas;
- En fonction : avec le personnel et le matériel en fonction.

\*Pour obtenir la requise de l'air, il convient d'appliquer les méthodes suivantes :

- Dans les installations à flux laminaire, l'air doit se déplacer à une vitesse uniforme d'environ 0,30 m/s dans le sens vertical et environ 0,45 m/s dans le sens horizontal d'une manière régulière,
- pour atteindre la classe A le taux de renouvellement d'air soit >50vol/h et pour les classes d'air B, C et D, le nombre de renouvellements d'air doit généralement être supérieur à 20 vol/h.
- Les filtres HEPA doivent être requalifiés chaque deux mois pour assurer un flux d'air de qualité requise.
- Il faut aussi utiliser des compteurs particulaires "fixes" ou "en ligne" qui ont pour rôle de réaliser une surveillance continue, fiable dans ligne de remplissage. Et des compteurs "mobiles" ou "portables" pour réaliser des prélèvements courts à différents endroits du bâtiment (couloir d'accès à une salle blanche).

### 3- Flux personnel :

Le personnel pratiquant les opérations aseptiques doit être conscient de la nature du travail qui est entrainé d'exercé, assumer toute la responsabilité de fabriquer des médicaments de qualité requise.

\*le personnel doit être formé périodiquement sur les techniques d'asepsie, habillage, cleaning, comportement, et respecter toutes les instructions définis dans le guide des procédures dans l'industrie, ces derniers doivent être affiché devant chaque sas.

\*Minimiser les mouvements de l'opérateur qui veille sur la remplisseuse, comme réduire le nombre des personnes présent dans la salle blanche, deux personnes max, se là réduit les mouvements qui pourraient être source de contamination particulaire.

\*Chaque fois que le personnel sort et rentre dans la salle blanche sa tenue doit impérativement stérilisée.

\*L'entrée et sortie fréquente dans la salle blanche peut provoquer la contamination de l'air, alors il faut réduire au minimum l'ouverture de la porte, aussi que les interventions de maintenances.

\*La désinfection très fréquente des mains et bras des opérateurs impliqués dans la salle blanche.

### 4- La simulation du remplissage aseptique

Cette simulation en peut la considéré comme un test microbiologique à grand échelle (industrielle) donc : elle doit comprendre toutes les étapes d'un test microbiologique ;

\*nous recommandons au mois deux points séparés consécutifs réussis sont effectués chaque trois mois incluant les conditions extrêmes et les cas défavorables qui peuvent infectés la stérilité du produit.

\*Pour contrôler le déroulement du media fill, des caméras de surveillance sont installées pour surveiller le comportement des opérateurs sachant qu'ils sont source potentiel de contamination.

\*Toute personne participe à la simulation doit suivre et applique les procédures définis dans le protocole média fill, ce protocole doit comprendre les étapes suivante :

- Les tests portant sur le processus de remplissage contrôlent le maintien de l'asepsie en utilisant un milieu nutritif TS.
- Le procédé est accompli en vraie grandeur selon la formule originale pour au moins deux taille de remplissage (conditions les plus défavorable).
- Un contrôle de l'établissement et des systèmes est opéré pendant le procédé
- L'essai doit avoir une ampleur suffisante pour pouvoir déceler de faibles niveaux de contamination.

a- Choix du milieu de culture :

Sont choix se base sur les connaissances documentaires et les recommandations. Il est aussi basé sur la faisabilité technique et le comportement méthodologique du produit permettant la réalisation de l'image du procédé de répartition

- Trypocaséine de soja.....30g/L
- Eau PPI.....1L

Fertilité : le milieu doit être capable supporter la croissance d'un large spectre de microorganisme. L'étude de fertilité doit être réalisée à une température d'incubation identique à la température utilisée pour le remplissage de milieu de culture.

Limpidité : le milieu doit être parfaitement limpide pour permettre la mise en évidence de développement microbien.

Toutes ces mesures et procédures sont définies dans l'annexe suivante :



5- Annexe

Cette annexe a pour but définir toutes les opérations de routine du traitement aseptique ainsi que sa simulation périodique

## Procédure production aseptique

### Instructions Remplissage aseptique d'un médicament liquide injectable

	Nom	Département	Signature	Date
Document préparé par :	BOUDOUH CHARIFA	Contrôle de la qualité		
Document révisé par :		Direction technique		
Document approuvé par :		Direction contrôle qualité		

**Objectif :**

Cette procédure a pour but de définir toute les instructions et les modalités pour le remplissage d'une solution liquide injectable.

**Domaine d'application :**

Elle s'applique à toute la ligne de production, et au personnel pratiquant cette activité.

**Responsabilités :**

- Les analystes du laboratoire du contrôle qualité ;
- Les opérateurs en ligne de remplissage ;
- Le responsable de la production ;
- Le responsable du laboratoire d'assurance et de contrôle qualité.

**Définition :**

Le remplissage aseptique d'un médicament stérile injectable implique que les composants, les récipients, le scellage et l'environnement de fabrication soient stérilisés individuellement.

Ainsi que le personnel impliqué soit formé sur les techniques d'asepsie.

<b>Approbation de procédure de production</b>				
<b>Compagnie :</b>				
<b>Adresse :</b>				
<b>Installation :</b>				
<b>Observation :</b>				
<b>Instructions et mesures à prendre</b>				
<p><b>1)</b> réduire le temps :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>entre le produit en vrac et sa stérilisation</li> <li>le temps de filtration (débit de filtration ↑)</li> </ul> <p><b>2)</b> requalifier les filtres à air chaque deux mois :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>test d'étanchéité ;</li> <li>test d'efficacité.</li> </ul> <p><b>Critères d'acceptations :</b> L'efficacité soit à 99,97 % pour les particules &gt; 0,3 µm</p> <p><b>3)</b> Disposer des compteurs de colonie fixe sure :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A la sortie du tunnel de dypurogénation ;</li> <li>Poste point de remplissage ;</li> <li>La zone B entouré de la classe A ;</li> <li>Devant les portes d'accès du personnel et/ou matériel.</li> </ul> <p><b>4)</b> Disposer des boites pétris :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Poste remplisseuse ;</li> <li>Devant la tuyauterie ;</li> <li>Devant les accès du personnel et /ou matériel.</li> </ul> <p>La surveillance de l'environnement de fabrication doit être plus précise :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Faire un nombre maximal de point d'échantillonnage des différentes surfaces.</li> <li>- Faire des prélèvements sur la tenue des opérateurs de la salle : jambes, thorax, épaules, avant bras, doigts.</li> <li>- L'échantillonnage des surfaces doit se faire chaque deux heures en cour de production, et après chaque vide de ligne.</li> <li>- Prendre un nombre plus grand d'échantillons sur le produit en vrac et produit fini.</li> <li>- Le contact direct entre les mains de l'opérateur et les produits non protégés doit être évité, de même qu'avec les éléments du matériel qui entrent en contact avec les produits.</li> <li>- Contrôle contenu de la pression dans les différentes classes</li> </ul> <p><b>Critères d'acceptations :</b> Pour les particules viables : classe A (absence), classe B (&lt; 5 UFC/ml) Pour les particules non viables De taille :</p> <table style="margin-left: 20px;"> <tr> <td style="text-align: center;"><u>0,5µm</u></td> <td style="text-align: center;"><u>5µm</u></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">20000 particules</td> <td style="text-align: center;">0 particule</td> </tr> </table> <p><b>5)</b> le personnel doit être formé périodiquement sur les techniques d'asepsie, habillage, cleaning, comportement, et respecter toutes les instructions définies dans le guide des procédures dans l'industrie, ces derniers doivent être affichés devant chaque sas.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Minimiser les mouvements de l'opérateur qui veille sur la remplisseuse, comme réduire le nombre des personnes présentes dans la salle blanche, deux personnes max.</li> <li>- Chaque fois que le personnel sort et rentre dans la salle blanche sa tenue doit impérativement être stérilisée.</li> </ul>	<u>0,5µm</u>	<u>5µm</u>	20000 particules	0 particule
<u>0,5µm</u>	<u>5µm</u>			
20000 particules	0 particule			

<p>- réduire au minimum l'ouverture de la porte, aussi que les interventions de maintenances. *La désinfection très fréquente et alternative des mains et bras des opérateurs impliqués dans la salle blanche.</p>		
<b>Commentaire :</b>		
responsable contrôle qualité :	Signature :	Date :
Responsable assurance qualité :	Signature :	Date :

### Tableau de vérification quotidien

Procédure de production		
<b>Compagnie :</b>		
<b>Adresse :</b>		
<b>Installation :</b>		
<b>Observation :</b>		
Action	Faite	Commentaire
étalonner le manomètre à pression   Date :	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Contrôler la pression quotidiennement	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Mesurer la température	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Mesurer l'humidité	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Prendre des échantillons d'air pour comptage particulaire chaque 5min	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Faire des échantillons d'air pour comptage microbiologique chaque 2 h	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Prendre des échantillons sur le produit en vrac chaque 15 min	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Prendre des échantillons sur produit fini chaque 30 min	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Taux de renouvellement d'air en classe A >50vol/h	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Taux de renouvellement d'air en classe B, C >20vol/h	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Qualifier les Filtres produit	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
L'opérateur en salle blanche est habillé correctement	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
le nettoyage à été faite après chaque vide de ligne	Oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Respecter la procédure de nettoyage		
Responsable de production:	Sign :	Date :
Assurance qualité :	Sign :	

## Protocole de nettoyage

### Nettoyage De la zone stérile

	Nom	Département	Signature	Date
Document préparé par :	<b>BOUDOUEH CHARIFA</b>	<b>Contrôle de la qualité</b>		
Document révisé par :		<b>Direction technique</b>		
Document approuvé par :		<b>Direction contrôle qualité</b>		

**Objectif :**

Cette procédure a pour but de définir les règles de nettoyage de la zone stérile.

**Portée :**

La salle de remplissage aseptique

Laboratoire microbiologie

**Responsabilités :**

- Le microbiologiste
- Le responsable du laboratoire
- Le responsable d'assurance et de contrôle de la qualité

**Développement :**

Le nettoyage des salles blanches est différent par rapport aux autres salles, car il doit se faire avec des techniques bien précises.

<b>Approbation de procédure de nettoyage</b>		
<b>Compagnie :</b>		
<b>Adresse :</b>		
<b>Installation :</b>		
<b>Observation :</b>		
<b>Protocole</b>		
<ol style="list-style-type: none"> <li>1) l'opérateur utilise sorte de lingettes, mono file pour qu'elle ne libère des fibres, imbibées de l'agent nettoyant ou désinfectant et essuie toutes les surfaces de la ligne (la remplisseuse et le sol).</li> <li>2) Il faut pouvoir y utiliser de manière répétée et alternative des produits de nettoyage et des désinfectants. Ces détergents et désinfectants eux-mêmes doivent être stériles et renouvelés pour éviter que ne se développent des souches résistantes.</li> <li>3) l'opérateur doit essuyer l'équipement avec un seul passage sur les surfaces pour éliminer toute contamination éventuelle</li> <li>4) ne jamais marcher sur zone nettoyée</li> <li>5) faire un nettoyage après chaque 5 jours d'arrêt</li> <li>6) valider le nettoyage avec un test de propreté</li> </ol> <p><u>Procédure et Matériel :</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ecouvillons</li> <li>2. Tubes à essai stériles 11 ml en polypropylène avec bouchon à vis.</li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Essuyer avec l'écouvillon la surface humide à tester. Pour une surface sèche,</li> <li>✓ Prendre un écouvillon humidifié avec de l'eau pour préparations injectables.</li> <li>✓ L'écouvillon doit être passé systématiquement et régulièrement sur toute une surface de 100 cm<sup>2</sup> (carré de 10 cm de côté) en appuyant fermement.</li> <li>✓ Mettre l'écouvillon dans le tube stérile de 11 ml. Ne pas ajouter de liquide.</li> <li>✓ Etiqueter le tube avec le numéro de l'échantillon, la date et l'heure de prélèvement et l'envoyer au CQ pour l'analyse</li> <li>✓ Donner trois écouvillons neufs dans des tubes pour servir de témoins</li> </ul> <p><u>Analyse du CQ :</u></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ajouter 1,5 ml de réactif de solubilisation (laurylsulfate de sodium) dans chaque tube.</li> <li>2. Agiter le tube contenant l'écouvillon et le réactif de solubilisation. Laisser l'écouvillon reposer pendant une heure dans le réactif.</li> <li>3. Agiter de nouveau, puis enlever l'écouvillon de la solution. Essorer les écouvillons sur les parois du tube.</li> </ol>		
<b>Commentaire :</b>		
responsable contrôle qualité :	Signature :	Date :
Responsable assurance qualité :	Signature :	Date :

<b>Protocole média fill</b>
-----------------------------

	Nom	Département	Signature	Date
Document préparé par :	<b>BOUDOUH CHARIFA</b>	<b>Contrôle de la qualité</b>		
Document révisé par :		<b>Direction technique</b>		
Document approuvé par :		<b>Direction contrôle qualité</b>		

**Objectif :**

Cette instruction a pour but simulé le processus de remplissage aseptique

**Domaine d'application :**

Elle s'applique à toute la ligne de production, et au personnel pratiquant cette activité.

**Responsabilités :**

Biologiste, Opérateur, Responsable assurance qualité, Responsable de production

Responsable contrôle qualité

**Définition :**

C'est un test microbiologique à grande échelle il permet d'évaluer et de simuler le procédé de fabrication

<b>Compagnie :</b>
<b>Adresse :</b>
<b>Installation :</b>
<b>Observation :</b>
<b>Procédures</b>
<ol style="list-style-type: none"> <li>1) Faire 2 simulations consécutives chaque 3 mois</li> <li>2) Le temps doit comprend la durée des opérations et manipulations</li> <li>3) La taille du MF à 95% du lot commercial.</li> <li>4) Faire une vitesse pour une simulation</li> <li>5) Le milieu de culture favorise un large spectre de microorganisme</li> <li>6) Les données environnementales (particules totales et viables, échantillonnage de surfaces et d'opérateurs) doivent-être vérifier pour leur conformité aux spécifications</li> </ol>

établies.

- 7) Un test positif de croissance doit-être effectué pour démontrer la qualité du milieu test utilisé à supporter la croissance de microorganismes standards.

### Protocole média fill

#### Paramètres à fixés

Vitesse de la ligne :	Rapide
Milieu de culture :	trypocaséinede soja
Taille des flacons :	2ml
Volume flacons :	1,25ml
Nombre des flacons remplis :	17100
La durée de la simulation :	4h
Nombre de personne :	6

#### Contrôle de la numération des particules dans l'air

Volume de l'échantillon : 1 pied cube/minute

Intervalle d'échantillonnage : un échantillon toutes les 5 minutes

Durée du prélèvement : 1 minute

Localisation du prélèvement : exemple à 15 centimètres au-dessus des flacons ouverts au poste de remplissage

**Critère d'acceptation** : = 100 particules = 0,5µm

#### Contrôle microbiologique de l'aire

L'essai est réalisé dans les conditions suivantes :

Exposer les boites pétries de diamètre 90 mm dans les zones les plus critiques

- Le noyau aseptique
- Le sol de la classe B
- Zones de passage de personnel et/ou matériels

Temps d'exposition : 2 heures

Après la récoltes des prélèvements, on faite une incubation des échantillons et les résultats sont présentés dans un tableau

#### Critères d'acceptation

##### **Niveau d'alerte**

= 0,03 UFC/pied cube

##### **Niveau d'action**

= 0,1 UFC/pied cube ou 3 niveaux d'alerte consécutifs

UFC/pied-cube = Nombre total d'UFC par plaque / Durée totale de l'exposition

#### Incubation des échantillons prélevés

Touts les contenants remplis doivent-être incubé à 35± 2°C pour 14 jours.

Touts les échantillons doivent-être observés après 7 et 14 jours pour la présence de contaminants (milieu devient trouble).

#### Critères d'acceptations :

Si : MF1 → 1 contamination

MF2 → 0 contamination ⇒ investigation, et pas de répétition de MF

Si : MF1 → 1 contamination

MF1 → 1Contamination ⇒ investigation et répétition de MF

Si : MF1 → 1 contamination MF2 → 2 contamination			→ investigation et revalidation
Commentaire :	Sign :	Date :	
Fait par :	Sign :		
Supervisé par :	Sign :		

- Les Opérations de traitement aseptique dont les installations sont convenablement conçues ont démontré leur capacité de respecter les niveaux de contamination proche de zéro et devrait normalement donner aucune contamination lors du media fill.

#### 6- Technique de remplissage aseptique avancée

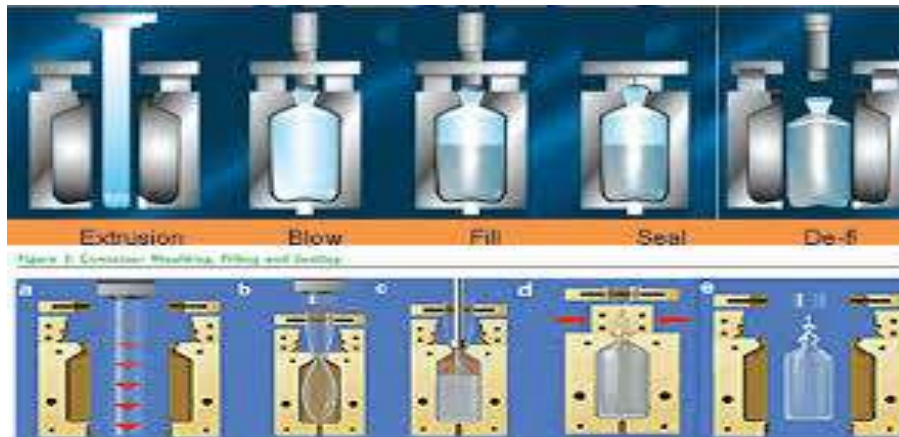
Pour un remplissage aseptique des produits stériles liquides, une technique plus sophistiquée est utilisée, La technologie **Soufflez-remplir-Sceller** (BFS) ( blow, fill, seal) est une technique de fabrication utilisée pour fabriquer des produits pharmaceutique stériles. Des récipients remplis de liquide, de petit volume (0,1 ml) et grand volume (500 ml). Développé à l'origine en Europe, dans les années 1930, il a été introduit dans le Etats-Unis dans les années 1960, mais au cours des 20 dernières années, il est devenu plus répandu dans l'industrie pharmaceutique et est maintenant largement considéré comme la forme supérieure de traitement aseptique des médicaments stériles.

##### a- Principe de base

Le concept de base de BFS est un récipient formé, rempli et scellé dans un processus continu, sans intervention humaine, dans une zone stérile enfermée à l'intérieur d'une machine. Ainsi, cette technologie peut être utilisée pour fabriquer de façon aseptique les formes liquides pharmaceutiques stériles. Le procédé dispose plusieurs étapes, une résine en plastique de qualité pharmaceutique est thermiquement et verticalement extrudé à travers une gorge circulaire pour former un tube d'accrochage appelé paraison . Ce tube extrudé est alors enfermé dans un moule en deux parties, et le tube est coupé au-dessus du moule. Le moule est transféré dans la zone de remplissage, ou l'espace du remplissage stérile, où les aiguilles de remplissage ( mandrins ) sont abaissés et utilisés pour gonfler la matière plastique pour former le récipient à l'intérieur du moule. Après la formation du récipient, le mandrin est utilisé pour remplir le récipient de liquide. Après le remplissage, des mandrins sont rétractés et un secondaire joint supérieurs moule le récipient. Toutes les actions se déroulent dans une chambre stérile enveloppée à l'intérieur de la machine. Le produit est ensuite évacué vers une zone non stérile pour le marquage, l'emballage et la distribution.



\*Cette technologie permet de réduire l'intervention du personnel, et qui est en fait une méthode plus robuste pour la préparation aseptique des produits pharmaceutiques stériles. BFS est utilisé pour le remplissage de flacons pour voie parentérale , les préparations et les infusions de gouttes pour les yeux , et des produits l'inhalation . En général, les récipients en plastique sont constitués de polyéthylène et de polypropylène. [20]



**Fig 13** : la technique de remplissage BFS

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]- [http //unf3s.cerimes.fr](http://unf3s.cerimes.fr) 12-09-2014
- [2]- Initiation a la connaissance du médicament.
- [3]- handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations Sterile, Products volume 6, Sarfaraz K. Niazi 22-09-2014.
- [4]- Pharmacie galénique formulation et technologie pharmaceutique, P.wehrlé.
- [5]- Pharmacie galénique bonne pratiques de fabrication des médicaments, A.le hir, J-C.chaumiel, D.brossard, 9<sup>em</sup> édition.
- [6]- guide pharmaceutique pour les projets d'installations pharmaceutique, Jordi Botet.
- [7]- Guide OMS des normes relatives aux bonnes pratiques de fabrication (BPF)  
Partie 2 : Validation 01-10-2014.
- [8]- united stat pharmacopoeia
- [9]- guide des procédures de l'entre prise.
- [10]- <http://gmorvan.wordpress.com> 09-08-2014
- [11]- Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice 12-02-2014.
- [12]- Encyclopedia of pharmaceutical technology volume 1, James Swarbirch, 3<sup>ed</sup> edition 25-13-2005.
- [13]- exposé sur le media fill de master 1 par CHAKER FARIDE
- [14]- [http//www. Lilly.fr](http://www.Lilly.fr) 18-06--2014
- [15]- Pharmaceutical manufacturing handbook production and processes19-05-2008.
- [16]- food and drag administration 9/40
- [17]- fichier pdf sur Validation des produits stériles (solutions) Chapitre 7.0 01-10-2014
- [18]- coure de master 1 du module cleaning 2013
- [19]- cour de master 1 du module validaion 2013
- [20]- [http//en.wikipedia.org/wiki/blow\\_fill\\_seal](http://en.wikipedia.org/wiki/blow_fill_seal) 19-10-2014

## CONCLUSION

Bien qu'il s'agisse d'une recommandation officielle de la pharmacopée européenne et qu'elle soit obligatoire pour toutes les solutions destinés à l'injection, la stérilité absolue des produit reste un point critique que les fabricants essayent toujours de le garantir.

Un remplissage aseptique est Que soient l'environnement de fabrication, l'équipement, composants, personnel, récipient et scellage stérilisés séparément, pour garantir un produit liquide injectable de qualité requise

Cette pratique exige que le praticien soit prêt à adapter les directives générales contenues dans cet effort. Dans ce fait, Les organismes internationaux de réglementation mettent en place des procédures et des exigences pour fabriquer ce genre de médicament.

Ce travail de diplôme s'est inscrit dans cette optique d'amélioration de la qualité des produits liquides injectables. Le contrôle environnementale, le nettoyage, la stérilisation, la filtration....etc. tous ces procédés doivent être exécutés rigoureusement et ils sont à l'origine de l'assurance qualité des produits. Pour ce là le procédé de fabrication à été complètement revue et un certain nombre de mesures ont été prises dans ce sens

- Tous les procédés et les systèmes doivent être valides et qualifier périodiquement
- Définir les délais établis pour chaque phase de production et réduire le temps d'exposition du produit à différentes opérations du traitement
- Définir et surveiller tous les paramètres environnemental (particules viables et nonviables, T, P, H) qui influencent sur ZAC.
- Etablir un plan d'échantillonnage plus précis pour l'obtention d'un maximum d'information sur l'environnement du remplissage
- Apporter des techniques et des gestes plus précis aux procédures de nettoyage
- Simulation trimestrielle de la ligne de remplissage incluant les conditions défavorables qui peuvent survenues lors du remplissage et en suivant tous les paramètres environnemental du media fill.
- Proposer un protocole à suivre pour les activités de production, et un protocole pour le test media fill.

Et encore aller plus loin de ce procédé de fabrication, le procédé BFS qui est reconnue comme une technologie avancée de la production des médicaments liquides injectables. Cette méthode qui assure d'une manière différente la stérilité des solutions

en se basant sur un processus continue de formation du récipient, remplissage et scellage dans une seule enceinte stérile de grade A sans l'intervention du personnel.

On respectant toutes les procédures et les directives exigées par les BPF, ainsi que les méthodologies et les procédures appliquées les fabricants arrive à produire des médicaments de qualité requise, et peut-être un jour l'incertitude associée à la fabrication aseptique sera si faible que l'on peut considérer ces produits vraiment stérile.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]- [http //unf3s.cerimes.fr](http://unf3s.cerimes.fr)
- [2]- Initiation a la connaissance du médicament.
- [3]- handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations Sterile, Products volume 6, Sarfaraz K. Niazi.
- [4]- Pharmacie galénique formulation et technologie pharmaceutique, P.wehrlé.
- [5]- Pharmacie galénique bonne pratiques de fabrication des médicaments, A.le hir, J-C.chaumiel, D.brossard, 9<sup>em</sup> édition.
- [6]- guide pharmaceutique pour les projets d'installations pharmaceutique, Jordi Botet.
- [7]- Guide OMS des normes relatives aux bonnes pratiques de fabrication (BPF)  
Partie 2 : Validation.
- [8]- united stat pharmacopoeia
- [9]- guide des procédures de l'entre prise.
- [10]- <http://gmorvan.wordpress.com>
- [11]- Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice.
- [12]- Encyclopedia of pharmaceutical technology volume 1, James Swarbirch, 3<sup>ed</sup> edition.
- [13]- exposé sur le media fill de master 1 par CHAKER FARIDE
- [14]- [http//www. Lilly.fr](http://www.Lilly.fr)
- [15]- Pharmaceutical manufacturing handbook production and processes.
- [16]- food and drag administration 9/40
- [17]- fichier pdf sur Validation des produits stériles (solutions) Chapitre 7.0
- [18]- coure de master 1 du module cleaning
- [19]- cour de master 1 du module validaion
- [20]- [http//en.wikipédia.org/wiki/blow\\_fill\\_seal](http://en.wikipédia.org/wiki/blow_fill_seal)



## LISTE DES ANNEXES

<b>Annexe</b>	<b>Titre</b>
<b>A</b>	Procédure de Contrôle microbiologique de l'air par la technique de sédimentation
<b>B</b>	Procédure décontamination des ZAC
<b>C</b>	Procédure de Contamination particulaire « les particules non visibles »
<b>D</b>	Procédure de Contrôle microbiologique de l'eau pour préparation injectable et l'eau purifiée
<b>E</b>	Procédure de Nettoyage du local stérile

## Annexe A

### Procédure de Contrôle microbiologique de l'air par la technique de sédimentation

#### 1. OBJETIF

Cette procédure a pour but de déterminer les modalités de contrôle du niveau de contamination microbienne de l'air dans la zone à atmosphère contrôlée.

#### 2. PORTEE

- Les salles de manipulation du laboratoire de microbiologie.
- Les salles de production de classe B.

#### 3 .RESPONSABILITÉ

- Le microbiologiste
- Le directeur de production
- Le responsable du contrôle qualité
- Le responsable de l'assurance qualité
- Le pharmacien directeur technique

#### 4. DEVELOPEMENT

##### *4.1. Définition*

- Une ZAC est une zone dont le contrôle de la contamination est défini et qui est construite et utilisée de façon à réduire l'introduction, la multiplication ou la persistance de substances contaminantes.

##### *4.2 Matériels*

###### *4.2.1 Équipement*

- Incubateur à 35 – 37 °C ; 20 – 25 °C.
- Bain – marie.
- Autoclave.
- Hotte à flux laminaires.
- Bec Bunsen.
- Compteur de colonies.
- Lampe UV.
- Cassette en inox.

###### *4.2.2 Consommable – verrerie*

- Boîte de Pétri.
- Pipettes pasteur.

###### *4.2.3 Milieux de culture*

#### **Milieux gélosés**

- Milieu gélosé 1: **T.S.A**
- Milieu gélosé 2: **Gélosé Sabouraud + antibiotique (chloramphénicol).**

#### **4.3 DEROULEMENT**

##### *4.3.1 Principe*

La méthode consiste à recueillir les germes en suspensions dans l'air sur des boîtes de pétri contenant la gélose et déposées ouvertes à l'endroit désiré. Cette technique est basée sur le



principe de sédimentation des germe qui est en fonction des caractéristiques physiques des particules : la densité, le poids et la vitesse de chute.....etc.

#### **4.3.2 Technique**

##### **4.3.2.1 Prélèvement**

- Exposer la cassette ouverte contenant les boîtes de pétri avec gélose sous une lampe UV ;
- Récupérer la cassette du côté interne des zones à atmosphère contrôlée ;
- Désinfecter les mains avec l'alcool ou autre désinfectant ;
- les déposer, ouvertes aux endroits désirés (selon le plan de la salle) ;
- Après 4 heures d'exposition à l'air, les boîtes sont fermées et récupérées.

##### **4.3.2.2 Dénombrement des germes aérobies viables totaux**

- Le dénombrement est fait sur milieu gélosé **trypticase soja agar (T.S.A)**
- Incubation à 35°C± 2 °C pendant 3 jours

#### **Lecture :**

- La lecture est faite à l'aide d'un compteur de colonies, en dénombrant les colonies qui se sont développées à la surface des milieux de cultures.

##### **4.3.2.3. Dénombrement des levures et moisissures**

- Le dénombrement est fait sur le milieu gélosé sabouraud en présence d'un antibiotique « chloramphénicol ».
- Incubation à 25°C pendant 5 jours.

#### **Lecture :**

- La lecture est faite à l'aide d'un compteur de colonies en dénombrant les colonies qui se sont développées à la surface des milieux de cultures.

### **5. REFERENCES**

- Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication, Edition 2007.
- Pharmacopée Européenne Edition 2008.

### **6. ANNEXE**

#### **Limites recommandées de contamination microbiologique**

<b>Classe</b>	<b>Norme</b>
Classe A	< 1UFC/ML
Classe B	≤ 5 UFC/ML
Classe C	≤ 50 UFC/ML
Classe D	≤ 100 UFC/ML

## Annexe B

### Procédure décontamination des ZAC

#### 1. OBJECTIF :

Définir les composantes du système de management de la qualité « SMQ » de l'unité Razès Laboratoires.

#### 2. Portée

Cette procédure s'applique au SMQ de Razès Laboratoires.

#### 3. Responsabilités

- 3.1. Directeur de l'unité,
- 3.2. Le pharmacien directeur technique,
- 3.3. Le directeur assurance qualité,

#### 4. Développement

##### 4.1 Nettoyage des salles

Nettoyer les surfaces horizontale et verticale des salles classe B et C, avec des chiffons mono fil et un antiseptique doux (tel que alcool à 70, alcool isopropylique, etc.).

**NB :** Ne jamais utiliser le même antiseptique deux fois de suite, alterner les antiseptiques pour éviter la sélection des germes résistants.

##### 4.2 Décontamination de la salle par fumigation :

- Les salles à décontaminer :

##### RDC : Ligne flacon

Salle 014 vestiaire : classe C volume : 15,230 m<sup>3</sup>.

Salle 015 sas personnel : classe B volume : 7,00m<sup>3</sup>

Salle 016 remplissage : classe B volume : 76,16

##### Salle de prélèvement

Salle 035 SAS matériel : classe C volume : 12,908 m<sup>3</sup>.

Salle 015 sas personnel : classe C volume : 10,248m<sup>3</sup>

Salle 016 remplissage : classe B volume : 33,628m<sup>3</sup>

##### 1<sup>er</sup> étage :

Salle 107 vestiaire : classe C volume : 13,048 m<sup>3</sup>.

Salle 108 : sas personnel classe B volume : 6,216m<sup>3</sup>

Salle 109 remplissage : classe B volume : 104,72m<sup>3</sup>.

Salle de préparation :

Salle 106 : formulation pour ligne ampoules : classe C, volume 81,104 m<sup>3</sup>,

Salle 115 : formulation pour ligne flacons Classe C, volume 87,621 m<sup>3</sup>.

##### 2<sup>ème</sup> étage :

Salle 213 vestiaire, Classe C, volume : 6,75m<sup>3</sup>

Salle 214 sas personnel, Classe B, volume : 5,292m<sup>3</sup>

Salle 215 contrôle de stérilité, Classe B, volume : 13,878m<sup>3</sup>

Salles 01

• **mise en marche du microdiffuseur électrothermique :**

- 1- Séparez les ressorts qui soutiennent la couverture supérieure et la casserole,
- 2- Enlevez la couverture,
- 3- Versez le produit choisi de PERSON-UVI dans la casserole,
- 4- Placez ensuite la couverture supérieure et fixez la correctement avec les ressorts,
- 5- Réglez le temps de fonctionnement du "MICRO-TERMIC" à raison de 1minute /10m3,
- 6- Réglez la minuterie conformément aux minutes qu'on a calculé, Du moment qu'on connecte la minuterie, un voyant lumineux rouge s'allumera,
- 7- Après de 70 ou 90 seconds, un voyant lumineux vert s'allumera et le "MICROTERMIC" commencera à fonctionner
- 8- Le "MICROTERMIC" s'arrête automatiquement quand le temps programmé s'est écoulé,
- 9- Vérifiez que les particules émises ne mouillent pas et qu'il n'y a pas de restes d'humidité sur aucune surface.
- 10- Attendez le délai de sécurité et ne pas entrer dans l'enceinte désinfecté jusqu'à ce que la période recommandée de 3h s'est écoulée,

**Paramètres de fonctionnement :**

<b>Salles</b>	<b>Volume total</b>	<b>Temps de fimugation</b>
<b>Ligne flacons</b>	<b>98,39 m3</b>	<b>10 minutes</b>
<b>Ligne ampoules</b>	<b>123,978 m3</b>	<b>13 minutes</b>
<b>Salle de formulation flacons</b>	<b>87,621 m3</b>	<b>9 minutes</b>
<b>Salle de formulation ampoules</b>	<b>81,104 m3</b>	<b>9 minutes</b>
<b>Laboratoire de contrôle de la stérilité</b>	<b>25,92</b>	<b>3 minutes</b>
<b>Salle de prélèvement</b>		

**5. Références**

- procédure gestion des documents,
- les BPF algériennes,
- les BPF françaises

## Annexe C

### Procédure de Contamination particulaire « les particules non visibles »

#### 1. OBJECTIF :

Cette procédure a pour but de décrire la procédure à suivre pour le comptage des particules étrangères, non dissoutes et mobiles, autres que des bulles de gaz, qui ont été involontairement introduites dans les préparations injectables et les préparations pour perfusion.

#### 2. PORTEE :

Elle s'applique aux produits de RAZES sous forme :

- Ampoules injectables.
- Solutés massifs en flacon.

#### 3. RESPONSABILITE:

- Le microbiologiste
- Le responsable de laboratoire de microbiologie
- Le directeur de contrôle de la qualité
- Le directeur d'assurance qualité.
- Le pharmacien directeur technique.

#### 4. DEVELOPPEMENT :

##### 4.1 Matériels :

- Appareil approprié (HIAC 9705)
- Flacons dépourvus de particules

##### 4.2 Principe :

Utilisez un appareil approprié, basé sur le principe de l'interception d'un rayon lumineux, permettant la détermination automatique de la taille des particules et le nombre de celles-ci par taille.

L'appareil est étalonné à l'aide de substances de référence certifiées appropriées consistant en des dispersions de particules sphériques de taille connue et comprise entre **10 µm- 25 µm**.

##### 4.3 Mode opératoire :

- Mélangez le contenu de l'échantillon par 20 retournements lents et successifs du récipient.
- Nettoyez les surfaces externes de l'ouverture du flacon à l'aide d'un jet d'eau exempte de particule R et retirez l'obturateur en évitant toute contamination du contenu
- Éliminez les bulles de gaz, en laissant reposer la solution pendant 2min.

**a) Cas des ampoules  $\leq 25\text{ml}$  :**

Dans le cas des préparations de petit volume, dont le volume est inférieure à **25ml**, le contenu de **10 unité** ou plus est réuni dans un récipient nettoyé de façon à obtenir un volume d' au minimum **25 ml**. Dans les cas justifiés et autorisés, la solution à examiner peut être préparée en mélangeant le contenu d'un nombre approprié de fioles et en complétant la solution à **25 ml** avec de l'eau exempte de particule R ou un solvant convenable exempt de contamination particulaire, lorsque l'eau exempte de particule R n'est pas appropriée.

**b) Cas des flacons et des préparations parentérales dont le volume est  $\geq 25\text{ml}$  :**

Les préparations parentérales de petit volume dont le volume est supérieur ou égale à 25 ml et les flacons des solutés massifs peuvent être examinés individuellement.

Le nombre d'échantillons doit être suffisant pour permettre une évaluation statistiquement valide. Dans le cas des préparations parentérales de grand volume ou de préparations parentérales de petit volume dont le volume est supérieur ou égale à **25 ml**, moins de **10 unités** peuvent être examinées, sur la base d'un échantillonnage approprié :

- Prélever à 4 reprises une quantité supérieure ou égale à **5 ml**.
- Déterminer le nombre des particules de taille supérieure ou égale à **10  $\mu\text{m}$**  et **25  $\mu\text{m}$** .
- Calculer le nombre moyen de particule dans la préparation à examiner sans tenir compte du résultat obtenu avec la première fraction.

**4.3. Evaluation**

	Particules de taille $\geq 25\mu\text{m}$	Particules de taille $\geq 10 \mu\text{m}$
Préparations conditionnées en récipients $\geq$ à 100 ml	< 03 particules /ml	< 25 particules /ml
Préparations conditionnées en récipients $\leq$ à 100 ml	< 600 particules/ récipient	< 6000 particules/ récipient

**5. REFERENCE :**

Pharmacopée européenne 6<sup>eme</sup> édition.

## Annexe D

### Procédure de Contrôle microbiologique de l'eau pour préparation injectable et l'eau purifiée

#### 1. OBJECTIF:

Cette procédure a pour but de décrire la démarche à suivre pour déterminer la charge bactérienne de l'eau purifiée et de l'eau pour préparations injectables à fin d'assurer leurs utilisation dans les limites fixées dans la pharmacopée européenne.

#### 2. PORTEE:

- Eau PPI en vrac
- Eau purifiée

#### 3. RESPONSABILITÉ:

- Le microbiologiste.
- Le responsable de laboratoire de microbiologie
- Le responsable d'assurance qualité.
- Le directeur de contrôle de la qualité.
- Le pharmacien directeur technique.

#### 4. DEVELOPEMENT:

##### 4.1. Principe :

C'est le dénombrement par filtration sur membrane des germes aérobies viables totaux, des coliformes fécaux (*E. coli*) et *Pseudomonas aeruginosa*.

##### 4.2. Matériels :

###### 4.2.1. Équipement :

- Etuves à  $35 \pm 2$  °C
- Rampe de filtration
- Bain – marie
- Compteur des colonies
- Autoclave

###### 4.2.2. Consommable – verrerie :

- Boite de Pétri
- Membranes stériles de porosité  $\leq 0,45\mu\text{m}$ .
- Flacons stériles.

###### 4.2.3. solutions et milieux de culture:

- Milieux gélosé au trypticase soja agar
- Mac conkey agar
- Cétrimide agar

Les milieux sont coulés dans des boites de pétri sous une épaisseur de 4 mm.

##### 4.3 Mode opératoire :

- Mettre en marche la hotte pendant 15 min, ainsi que la pompe à vide.
- Désinfecter les mains avec l'alcool.
- Placer les dispositifs de filtration stériles sur la rampe de filtration.

- Enlever la pince amovible qui tient les 2 parties du dispositif.
- Placer à l'aide d'une pince stérile la membrane filtrante stérile.
- Placer la 2<sup>ème</sup> partie du dispositif et la fixer avec la pince amovible.
- Filtrer le volume nécessaire selon le tableau ci-après

désignation	Eau purifiée	EPPI	Milieu utilisé
Germes aérobies totaux	100 ml	200 ml	T.S.A
Coliformes fécaux	100 ml	100 ml	Mac conky
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Le reste du flacon	Le reste du flacon	Cetrimide

- Placer chaque membrane sur la boîte de Pétri contenant le milieu indiqué dans le tableau ci-dessus.
- Identifier chaque boîte à l'aide d'un marqueur :
  - Type de l'eau.
  - Le point de prélèvement.
  - La date d'analyse.
- Incuber les boîtes en position inversée à 35±2°C pendant 48 h.

## 5 .REFERENCES:

- Pharmacopée européenne 6<sup>ème</sup> édition 2008

## 6. ANNEXE :

Annexe I : Les normes recommandées pour les deux types d'eau :

Germes recherchés	Eau purifiée	Eau pour préparation injectable
<b>Bactéries aérobies mésophiles</b>	100UFC/ml	10 UFC/100ml
<b>Les coliformes fécaux</b> <i>(E. coli)</i>	Absence	Absence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	Absence

### Remarque :

Le nombre de colonie par boîte doit être < à 300 UFC

## Annexe E

### Procédure de Nettoyage du local stérile

#### 1. OBJECTIF :

Cette procédure a pour but de définir les règles de nettoyage du local stérile.

#### 2. PORTEE :

La salle de contrôle des produits obligatoirement stériles (salle 215, 214 et 213).

#### 3. RESPONSABILITE :

- Le microbiologiste
- Le responsable du laboratoire
- Le responsable d'assurance et de contrôle de la qualité

#### 4. DEVELOPPEMENT :

##### 4.1 Matériels :

- Frottoir
- Chiffon monofil
- Alcool éthylique
- Solution de désinfectant des surfaces (anios,...).

##### 4.2 Mode opératoire :

Avant chaque nettoyage on doit suivre les instructions selon l'ordre suivant :

- Nettoyer avec un chiffon monofil et imbibés d'alcool toutes les surfaces extérieures y compris les hottes et vitres
- Nettoyer avec les chiffons imbibés la solution désinfectante les murs, le sol en prenant soin de nettoyer les coins et le sol sous et derrière les hottes.
- Ne jamais marcher dans la zone nettoyée
- Pour accomplir toutes ces instructions, il faut utiliser la combinaison stérile.

##### 4.3 Fréquence de nettoyage :

A la fin du travail, une fois par semaine, et chaque fois que le résultat de contrôle de surface n'est pas conforme.

#### 5. REFERENCE :

Les Bonne Pratique de Fabrication.

#### 6. ANNEXE :

- Fiche de nettoyage hebdomadaire du local stérile
- Fiche de nettoyage quotidienne et à la fin du travail.