



HAL
open science

Déploiement d'une stratégie de validation d'un procédé de stérilisation par chaleur humide sur le site de production de vaccins de Sanofi Pasteur

Silia Hadj-Said

► **To cite this version:**

Silia Hadj-Said. Déploiement d'une stratégie de validation d'un procédé de stérilisation par chaleur humide sur le site de production de vaccins de Sanofi Pasteur. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03611350

HAL Id: dumas-03611350

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03611350v1>

Submitted on 17 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour l'obtention du Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

Déploiement d'une stratégie de validation d'un procédé de stérilisation par chaleur humide sur le site de production de vaccins de Sanofi Pasteur

**Présentée par
Silia HADJ-SAID**

**Soutenue publiquement le 01/10/2021
devant le jury composé de**

Monsieur / Michel BOULOUARD	Professeur / Enseignant en pharmacologie / Doyen de la faculté de pharmacie de Caen	Président du jury
Monsieur / Guillaume RUPPE	Pharmacien Responsable / Sanofi Pasteur à Lyon	Examineur
Madame / Virginie WITH	Ingénieur / Global Head QA / Novartis à Bâle	Examineur
Madame/ Annick SCHERRER	Pharmacien / Expert QA Manager / Novartis à Bâle	Examineur
Monsieur / Nicolas LEFEBVRE	Ingénieur / Senior QA Manager / Novartis à Bâle	Examineur

Thèse dirigée par le Dr Marc SINCE / Maître de conférences en chimie analytique

LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs

Professeur Pascale SCHUMANN-BARD
Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

Directrice administrative
Madame Sarah CHEMTOB

Directrice administrative adjointe
Madame Emmanuelle BOURDON

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BOULOUARD Michel	Physiologie, Pharmacologie
BUREAU Ronan	Biophysique, Chémoinformatique
COLLOT Valérie	Pharmacognosie
DALLEMAGNE Patrick	Chimie médicinale
DAUPHIN François	Physiologie, Pharmacologie
DELEPEE Raphaël	Chimie analytique
FABIS Frédéric	Chimie organique
FRERET Thomas	Physiologie, Pharmacologie
GARON David	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
GIARD Jean-Christophe	Bactériologie, Virologie
MALZERT-FREON Aurélie	Pharmacie galénique
ROCHAIS Christophe	Chimie organique
SCHUMANN-BARD Pascale	Physiologie, Pharmacologie
SICHEL François	Toxicologie
SOPKOVA Jana	Biophysique, Drug design
VOISIN-CHIRET Anne-Sophie	Chimie médicinale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

ANDRE Véronique – HDR	Biochimie, Toxicologie
BOUET Valentine – HDR	Physiologie, Pharmacologie
CAILLY Thomas – HDR	Chimie bio-inorganique, Chimie organique
DENOYELLE Christophe – HDR	Biologie cellulaire et moléculaire, Biochimie, Cancérologie
DHALLUIN Anne	Bactériologie, Virologie, Immunologie
ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR	Parasitologie, Mycologie médicale
GROO Anne-Claire	Pharmacie galénique
KIEFFER Charline	Chimie médicinale

KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier) – HDR	Biologie clinique
LAPORTE-WOJCIK Catherine	Chimie bio-inorganique
LEBAILLY Pierre – HDR	Santé publique
LECHEVREL Mathilde – HDR	Toxicologie
LEGER Marianne	Physiologie, Pharmacologie
LEPAILLEUR Alban – HDR	Modélisation moléculaire
N'DIAYE Monique	Parasitologie, Mycologie médicale, Biochimie clinique
PAIZANIS Eleni	Physiologie, Pharmacologie
PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima	Chimie organique et thérapeutique
POTTIER Ivannah	Chimie et toxicologie analytiques
PREVOST Virginie – HDR	Chimie analytique, Nutrition, Education thérapeutique du patient
QUINTIN Jérôme	Pharmacognosie
RIOULT Jean-Philippe	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
SINCE Marc	Chimie analytique
VILLEDIEU Marie – HDR	Biologie et thérapies innovantes des cancers

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

PRICOT Sophie	Anglais
----------------------------	---------

PERSONNEL ASSOCIE A TEMPS PARTIEL (PAST)

SAINT-LORANT Guillaume	Pharmacie clinique
SEDILLO Patrick	Pharmacie officinale
RICHARD Estelle	Pharmacie officinale

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

JOURDAN Jean-Pierre

Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Remerciements

C'est avec beaucoup d'émotions, de fierté et de gratitude que je souhaiterais remercier ceux et celles qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours.

Je souhaiterais remercier Monsieur **Michel BOULOUARD**, professeur en pharmacologie et Doyen de la faculté de pharmacie de Caen. Merci d'avoir accepté de présider mon jury de thèse ainsi que pour vos enseignements.

Je souhaiterais remercier Monsieur **Marc SINCE**, maître de conférences en chimie analytique à la faculté de pharmacie de Caen. Merci d'avoir accepté d'encadrer ma thèse et aussi de m'avoir accompagné durant mon Master 1 et aussi en PACES.

Je souhaiterais remercier Monsieur **Guillaume RUPPE**, pharmacien responsable à Sanofi Pasteur à Neuville Sur Saône.

Merci de m'avoir recruté en tant qu'alternante puis consultante au sein de ton service. Merci pour tes conseils, ton support et ton soutien tout au long de cette thèse et de l'aventure Sanofi !!

Je souhaiterais remercier toute l'équipe **Sanofi Pasteur Neuvilleoise** !! Merci pour cette expérience. J'ai beaucoup appris avec vous tant sur le plan professionnel que sur le plan humain.

Je souhaiterais remercier Madame **Virginie WITH**, Global Head QA à Novartis à Bâle. Merci de m'avoir ouvert les portes au sein de ton équipe. Merci d'avoir cru en moi et de continuer à croire en moi...Tu as été et tu resteras pour moi un modèle de leadership et bien plus que ma cheffe...

Je souhaiterais remercier Madame **Annick SCHERRER**, Expert QA Manager à Novartis à Bâle. Merci de m'avoir accompagné tout au long de mon stage. Merci pour nos échanges, tes conseils et ta disponibilité. En plus d'avoir été mon mentor tu es mon amie.

Je souhaiterais remercier Monsieur **Nicolas LEFEBVRE**, Senior QA Manager à Novartis à Bâle. Merci de m'avoir accompagné tout au long de mon stage. Merci pour ton accueil, ton aide et ton écoute. Merci de m'avoir intégré au mieux.

Je remercie également son épouse **Lilia** et sa famille **LAHOUEL**. Merci pour votre hospitalité et votre gentillesse.

Je souhaiterais remercier Mademoiselle **Pauline CORDIER**, QA Manager à Novartis à Bâle. Merci Popo pour ton soutien, ta générosité et ta bonne humeur !! Merci à toi, à ta famille et à Nico de m'avoir fait découvrir l'Alsace et ses délices !! Nous avons une passion commune qui fait de nous plus que deux amies... Des cousines...

Virginie, Annick, Nico, Lilia et Popo, Merci pour votre confiance, votre bienveillance et de continuer à prendre soin de moi. Vous êtes ma seconde famille en France ...

Je souhaiterais remercier également toute l'équipe **Novartis Bâloise de QA** !! J'ai eu le plaisir de vous rencontrer, d'apprendre et de partager beaucoup avec vous.

Je souhaiterais remercier *mes très chers parents*

Maman, grâce à toi je m'applique dans tout ce que je fais !! Merci d'être mon amie, ma sœur et ma maman. Merci pour ton écoute et ta présence.

Papa, ton vécu et ton parcours m'ont appris qu'on pouvait entreprendre, changer de direction et rebondir à tout moment ...Merci pour ta confiance et tes précieux conseils.

Merci à vous deux pour vos sacrifices pour moi et Yanis. Merci pour votre amour, votre dévouement, vos encouragements et d'avoir toujours soutenu mes choix.

Je souhaiterais remercier *mon unique frère Yanis*

Rico, sans toi je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui et je n'aurais certainement pas eu le même parcours... Merci pour ton investissement, d'avoir cru en moi et de n'avoir jamais douté de moi et de mes capacités même dans les pires moments ... Merci d'avoir été toujours là pour moi et de trouver les bons mots. Tu as été et tu resteras mon exemple.

Maman, Papa et Rico, vous êtes mes piliers et je vous aime.

Je souhaiterais remercier *mes grands-parents maternels*.

Merci de m'avoir offert l'une des plus belles enfances !! Merci pour votre soutien et votre générosité. Grand-mère tu es partie trop tôt, je garde en mémoire tout ce que tu m'as appris de la vie, de l'histoire et tes précieux conseils.

Je souhaiterais remercier et honorer la mémoire de *mes grands-parents paternels*,

Je n'ai pas eu la chance de vous connaître mais je pense avoir hérité de vous et de papa courage et détermination...

Je souhaiterais remercier, *ma tante, mes oncles, cousins et cousines*. Merci pour tous les bons moments partagés et pour vos encouragements.

Je souhaiterais remercier la famille **AZZOUG**. Merci pour votre accueil et votre soutien à Caen. Merci **Camélia**, de m'avoir accompagné dans la grande aventure PACES !! merci pour ton support, tes encouragements et tous les moments partagés.

Je souhaiterais remercier *tous mes camarades de Master 2 de « Management de la qualité »* de Paris Sud. Une promo au top !! Merci pour cette super année passée ensemble !!

Je souhaiterais remercier mes amies et sœurs de cœur

Merci à **Mimine, Rym, Popo, Camélia, Sophie, Roza, Célia, Sara et Lara**.

Je souhaiterais remercier mes amis

Merci à **Amar, Abdou, Nico, Zakaria, Aurélien et Rafik**

Table des matières

Préambule	4
Introduction générale	5
Chapitre I : Vaccins et Vaccination	
1. Introduction	9
2. Définition	10
3. Cycle de recherche et de développement d'un vaccin	11
4. Différents types de vaccins	12
4.1 Les vaccins vivants atténués.....	12
4.2 Les vaccins inactivés	12
4.3 Les vaccins à ARN	12
5. Procédé de fabrication des vaccins	14
5.1 La production primaire (substance active)	14
5.2 La production secondaire (produit fini).....	15
6. Conclusion	16
Chapitre II : Stérilité et Stérilisation	
1. Introduction	18
2. Définition	19
3. Les procédés de stérilisation	20
3.1 Stérilisation par voie chimique	21
3.2 Stérilisation par irradiation stérilisante.....	23
3.3 Stérilisation par filtration.....	24
3.4 Stérilisation par chaleur sèche	25
3.5 Stérilisation par chaleur humide	26
4. Conclusion	27
Chapitre III : Approche générale de validation d'un procédé en industrie pharmaceutique	
1. Introduction	31
2. Système de management de la qualité en industrie pharmaceutique (SQP)	32
2.1 Définition	32
2.2 Objectif du système qualité pharmaceutique.....	33
2.3 Constitution et constituants d'un système qualité pharmaceutique.....	34
3. Qualification d'un équipement	35

3.1	Définition	35
3.2	Etapes de qualification d'un équipement	35
4.	<i>Validation d'un procédé en industrie pharmaceutique.....</i>	37
4.1	Définition de la validation.....	37
4.2	Approche de validation d'un procédé.....	37
5.	<i>Plan de validation.....</i>	39
6.	<i>Personnel.....</i>	40
7.	<i>Documentation.....</i>	41
8.	<i>Maitrise des changements.....</i>	42
9.	<i>Processus de gestion des déviations.....</i>	43
10.	<i>Conclusion.....</i>	44

Chapitre IV : Validation du procédé de stérilisation par chaleur humide à SANOFI PASTEUR

1.	<i>Introduction.....</i>	46
2.	<i>Procédé de stérilisation par chaleur humide détaillé.....</i>	47
2.1	L'autoclave.....	47
2.2	Principe de la stérilisation par chaleur humide.....	48
2.3	Déroulement du cycle de stérilisation	49
2.4	Lois d'inactivation des microorganismes.....	51
2.5	Le taux de létalité	55
2.6	La valeur stérilisatrice F0.....	55
2.7	Outils de maitrise de la température de la pression et de la charge microbienne	57
3.	<i>Validation du procédé de stérilisation par chaleur humide sur le site de SANOFI PASTEUR</i>	
3.1	Qualification de conception, d'installation et opérationnelle des autoclaves.....	64
3.2	Etablissement de la liste des éléments à stériliser consignée dans un rapport d'analyse de risque microbiologique.....	67
a)	Liste exhaustive des éléments mobiles utilisés dans le procédé de fabrication.....	67
b)	Rapport d'analyse de risque microbiologique.....	69
3.3	Etude théorique.....	71
3.3.1	Constitution des familles et identification des chefs de famille	71
3.3.2	Sélection des éléments à tester	75
3.3.3	Rédaction du rapport d'étude théorique	76
3.4	Essais préliminaires de développement.....	77
3.4.1	Déroulement des essais préliminaire 1 : Tests d'évaluation des éléments pour classement.	79
a)	Préparation et lancement des cycles de stérilisation.....	79
b)	Conformité des cycles de stérilisation.....	82

c)	Analyse des résultats des cycles de stérilisation.....	84
3.4.2	Déroulement des essais préliminaire 2 : Tests de développement de cycles.....	91
3.4.3	Déroulement des essais préliminaire 3 : Tests de développement des charges	93
3.5	Validation du procédé	95
3.5.1	<i>Essais prérequis lors des essais de validation</i>	95
3.5.2	<i>Critères d'acceptabilité pour la validation des charges</i>	97
3.6	Maintien de l'état validé.....	98
3.6.1	Surveillance en routine du système	98
3.6.2	Vérifications périodiques.....	98
3.6.3	Rapport de maintien en l'état validé.....	100
4.	<i>Conclusion</i>	101
	<i>Conclusion générale</i>	102
	<i>Bibliographie</i>	103
	<i>Annexes</i>	106

Liste des abréviations

AQ	Assurance Qualité
SP	SANOFI Pasteur
FDA	Food and Drug Administration
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
SQP	Système Qualité Pharmaceutique
NAS	Niveau d'assurance de Stérilité
PhE	Pharmacopée Européenne
ZAC	Zone à atmosphère contrôlée
ICH	International Conference of Harmonization
ISO	International Standard Organization
CCU	Cahier des Charges Utilisateur
QC	Qualification de Conception
TAU	Test d'Acceptation en Usine
TAS	Test d'Acceptation sur Site
QI	Qualification d'Installation
QO	Qualification Opérationnelle
QP	Qualification de Performance
PCP	Paramètres Critiques de Procédé
ACP	Attributs Critique de Procédé
OGM	Organisme Génétiquement Modifié
HSE	Hygiène Sécurité Environnement
MTI	Médicaments de Thérapie Innovante
NB	Niveau de Biocontamination
NVL	Neuville sur Saône
EP	Essai Préliminaire

Liste des Figures

- Figure 1 :** Etapes de recherche et développement d'un nouveau vaccin
- Figure 2 :** Principe du vaccin à ARNm
- Figure 3 :** Etapes du procédé de fabrication de vaccins
- Figure 4 :** Procédés de stérilisation Système qualité pharmaceutiques d'après l'ICH Q10
- Figure 5 :** Système qualité pharmaceutiques d'après l'ICH Q10
- Figure 6 :** Constitution d'un autoclave
- Figure 7 :** Mécanisme de stérilisation par chaleur humide
- Figure 8 :** Cycle de stérilisation en autoclave
- Figure 9 :** Courbe de décroissance des microorganismes selon la première loi
- Figure 10 :** Courbe de décroissance des microorganismes selon la deuxième loi
- Figure 11 :** Calcul de la valeur de F0
- Figure 12 :** Thermocouples reliés à la centrale d'acquisition de température
- Figure 13 :** Emplacement des thermocouples de distribution dans la chambre d'autoclave
- Figure 14 :** Effet seebeck
- Figure 15 :** Indicateurs biologiques avant et après utilisation
- Figure 16 :** Stratégie de validation d'un procédé de stérilisation par chaleur humide en autoclave
- Figure 17 :** Cuves sondées dans l'autoclave
- Figure 18 :** Cycle de stérilisation pendant les essais
- Figure 19 :** Cycles de stérilisation des 6 cuves

Liste des Tableaux

- Tableau 1 :** Comparaison des différentes méthodes de stérilisation
- Tableau 2 :** Avantages et inconvénients des différentes méthodes de stérilisation
- Tableau 3 :** Exemples de matériels à stériliser
- Tableau 4 :** Familles de montages
- Tableau 5 :** Résumé des essais préliminaires
- Tableau 6 :** Résultats de l'analyse des valeurs de F0 pour la charge Cuve
- Tableau 7 :** Résultats de l'analyse des valeurs de F0 pour les 6 cuves
- Tableau 8 :** Classement des cuves

Préambule

La présente thèse est l'aboutissement de mon long parcours d'études. Après l'obtention de mon baccalauréat en 2010, j'ai intégré la faculté de pharmacie d'Alger. J'y ai suivi six années d'études et soutenue une thèse afin d'être diplômée Docteur en pharmacie en 2016.

Ambitieuse, rêveuse, voyageuse et aspirant toujours à mieux et plus, j'ai choisi de traverser la méditerranée et continuer mes études en France. J'ai atterri à la faculté de pharmacie de Caen pour y suivre un Master 1 recherche en Drug Design. Après validation du Master et voulant m'ouvrir plus d'horizons j'ai décidé d'entamer l'équivalence de mon diplôme de pharmacie initialement obtenu en Algérie. Ce fut le début d'un périple ...

J'ai commencé par le concours de PACES, une année des plus marquantes mais aussi des plus enrichissantes ! J'ai réussi le concours en arrivant 3^{ème}, l'une de mes meilleures performances !!

Grace à mes résultats, j'ai pu intégrer directement la 5^{ème} année d'études en pharmacie, filière industrie. Pendant cette année, j'ai effectué un premier stage à l'hôpital (CHU de Caen) et le second en industrie (à Novartis en Suisse). Pour ma 6^{ème} année d'études en pharmacie, j'ai eu l'opportunité de suivre un Master 2 en Management de la qualité (Paris Sud) en alternance. L'équipe de Sanofi Pasteur à Neuville sur Saône m'a accueilli pour une année d'alternance pendant laquelle j'ai aussi commencé à rédiger ma thèse.

A la fin de mon alternance, j'ai eu une offre d'y rester en tant que consultante. J'ai accepté l'offre et j'y travaille actuellement.

Introduction générale

Sanofi Pasteur (SP) est une filiale du groupe Sanofi dédiée à la production de vaccins. Elle est reconnue comme leader mondial dans ce domaine.

La filiale SP dont le siège social se trouve à Lyon est présente en France à travers plusieurs sites de production. En effet, nous retrouvons un site de production à Val-de-Reuil en Normandie (dédié aux vaccins contre la grippe et la fièvre jaune). Deux autres sites en région Lyonnaise : Marcy l'Etoile, le plus grand site de production de SP (dédié à la fabrication de plusieurs vaccins dont celui contre la poliomyélite) et le site de Neuville sur Saône (NVL).

Historiquement, le site de NVL était un site de production de médicament par synthèse chimique. En 2010, SP a entamé un projet de transformation pour la construction d'un bâtiment dédié à la production du vaccin contre la Dengue. En 2016, la production de vaccin contre la Dengue le Dengvaxia[®] fut lancée. Le Dengvaxia[®] a été commercialisé dans plusieurs pays où la maladie de la Dengue était très répandue, après obtention de l'autorisation de mise sur le marché (AMM).

En 2019, pour des raisons stratégiques, la filiale SP a lancé un nouveau projet sur le site de NVL. Celui-ci est un projet d'extension du bâtiment de production afin de fabriquer plusieurs types de vaccins en plus de celui contre la Dengue. En effet, le type de vaccins produits se verra multiplié par trois : vaccin contre la Dengue, vaccin contre la fièvre jaune et vaccin contre la rage. Le vaccin contre la rage découvert par Louis Pasteur en 1885 est produit par SP depuis de nombreuses années sur le site de Marcy l'Etoile. Le procédé de fabrication a évolué, faisant appel à de nouvelles technologies. Ce nouveau procédé de fabrication sera déployé sur le site de NVL.

Dans le cadre de mon Master 2 en Management de la Qualité, j'ai effectué une alternance d'un an au sein du département d'assurance qualité sur le site de Sanofi Pasteur à Neuville sur Saône. J'ai rejoint l'équipe projet en Octobre 2019. Nous étions une équipe constituée de six personnes : Le Pharmacien responsable : Manager de l'équipe ; La Chargée d'assurance qualité opérationnelle : unité de validation de procédés ; Le Chargé d'assurance qualité opérationnelle : unité de qualification d'équipements ; Le Chargé d'assurance qualité opérationnelle : unité de métrologie ; Le Chargé de validation des systèmes informatisés.

J'étais rattachée à l'unité de validation de procédés. Néanmoins, j'interagissais régulièrement avec les autres membres de l'équipe. J'ai également collaboré avec l'équipe du département de production, avec l'équipe du département technique et métrologie ainsi qu'avec l'expert dédié aux procédés de stérilisation et de décontamination en autoclave.

Le processus d'assurance qualité en industrie pharmaceutique et notamment à Sanofi Pasteur exige un cycle de revue, de relecture puis d'approbation de tout document qualité. En tant qu'alternante je rédigeais des procédures et formulaires qualité. Mes documents rédigés étaient ensuite relus et approuvés par la chargée de validation et le pharmacien responsable.

J'ai également relu des documents qualité rédigés par mes collègues afin d'apporter un œil nouveau et vérifier la cohérence et la compréhension de ces documents. Dans la présente thèse, j'utiliserai le pronom « nous » afin de souligner que toutes les activités menées se sont déroulées en collaboration avec les membres des départements cités précédemment.

Durant mon alternance j'ai donc assisté aux travaux de transformation d'un bâtiment de production mono-produit à un bâtiment de production multi-produits. Ce passage implique de nombreuses problématiques une fois la phase de travaux de transformation terminée :

- risque de contaminations croisées : comment éviter la contamination d'un vaccin par un autre produits dans le même bâtiment ?
- les matériaux utilisés pour la production du vaccin contre la Dengue sont-ils compatibles avec ceux du vaccin contre la rage ?
- le vaccin contre la Dengue est un vaccin dit Organisme Génétiquement Modifié "OGM" dénué donc de pouvoir pathogène, tandis que le vaccin contre la Rage est un vaccin inactivé. Cela pose-t-il des questions d'Hygiène, Sécurité, Environnement (HSE) ou encore des difficultés pour allier les deux procédés ?
- impact du nouveau procédé sur l'ordre chronologique de production ?
- les équipements déjà existants ainsi que les locaux doivent-ils être requalifiés ?
- **les procédés critiques tel que la stérilisation doivent-t-ils être revalidés ?**
- les systèmes informatisés déjà mis en place doivent-ils également évoluer ?

Toutes ces interrogations ont fait objet d'analyses de risque pour évaluer l'impact du nouveau vaccin à produire sur l'existant.

Dans le cadre de la présente thèse et de ma mission d'alternance nous nous focaliserons sur la problématique de stérilisation de matériels impliqués dans la production de vaccins contre la Dengue et la Rage sur le site de SP. L'objectif est de déployer une nouvelle stratégie de

stérilisation par chaleur humide couvrant les exigences et contraintes des deux productions de vaccins sur le site.

CHAPITRE I

VACCINS ET VACCINATION

1. Introduction

La crise sanitaire que nous vivons actuellement due au Covid-19 témoigne de l'impact d'une épidémie sur l'Homme et de l'intérêt des vaccins et de la vaccination en santé publique. La vaccination permet de limiter voire de stopper la propagation d'une infection menaçant la sécurité sanitaire [1]. Ainsi, grâce à l'utilisation généralisée du vaccin, le virus de la variole a été complètement éradiqué et l'incidence de la poliomyélite, de la rougeole et d'autres maladies infantiles ont été considérablement réduite dans le monde [2].

De plus, la vaccination prévient la résistance aux antibiotiques. En effet, des vaccins luttant contre des infections d'origine bactérienne diminuent ainsi la consommation en antibiotiques. Il a été constaté ces dernières années une augmentation des maladies causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques. Une augmentation due principalement à une prise excessive ou à un mésusage des antibiotiques. Ce trouble est devenu un objet de préoccupation majeure de santé publique à l'échelle mondiale [1].

Ainsi, une meilleure utilisation des vaccins déjà existant ainsi que la mise au point de nouveaux vaccins constituent un outil majeur pour lutter contre :

- ✓ les maladies infectieuses graves voire mortelles ;
- ✓ la résistance des bactéries aux antibiotiques ;
- ✓ l'impact économique et social nous menaçant aujourd'hui [1].

2. Définition

Un vaccin est un médicament biologique et immunologique. Il consiste en une préparation contenant une suspension de micro-organismes inactivés ou atténués (virus, bactéries ou parasites) ou dérivés de micro-organismes (fragments ou substances toxiques) [3] [4].

L'objectif de l'administration des vaccins est la stimulation des défenses immunitaires de l'organisme en dispensant à faible dose de corps étrangers (dits antigènes) sans provoquer la maladie concernée. En effet, le vaccin contenant l'agent pathogène responsable de la maladie pénètre dans l'organisme, stimule le système immunitaire à produire des anticorps spécifiques, c'est la primo-infection. Lors d'un second contact avec le même agent pathogène et grâce aux cellules mémoires, le système de défense immunitaire répond plus rapidement et plus fortement. L'individu vacciné est ainsi protégé de la maladie contre laquelle il a été vacciné.

La voie injectable est la voie d'administration habituelle, cependant, certains vaccins sont apportés par voie orale ou par pulvérisation nasale (exemple de vaccin contre la grippe à administrer chez les enfants FLUENZ TETRA®) [1] [5].

Les vaccins sont classés en deux grandes catégories, préventifs et thérapeutiques. Les vaccins dits préventifs empêchent l'apparition de la maladie et les vaccins thérapeutiques aident le patient à se défendre contre la maladie [6].

3. Cycle de recherche et de développement d'un vaccin

Le développement d'un nouveau vaccin suit le même cycle de vie qu'un médicament d'une autre classe thérapeutique (Figure 1). L'étape de recherche et de développement est consacrée à l'identification des antigènes qui vont mimer la maladie et stimuler le système immunitaire. Ces antigènes seront ensuite produits en grande quantité pour les évaluer. Des essais précliniques sont menés pour tester le pouvoir immunisant et la toxicité des antigènes sur les animaux. En parallèle à ces essais et grâce aux résultats obtenus, le développement se poursuit avec la formulation de la préparation contenant le vaccin. Une fois les tests sur les animaux validés, la préparation formulée est administrée chez l'Homme pour des essais cliniques de phase 1, 2 et 3.

La production à grande échelle est entamée si les résultats des essais cliniques sont satisfaisants. L'ensemble des résultats des essais doit être recueilli et documenté dans le dossier de soumission pour l'autorisation de mise sur le marché (AMM) aux autorités de santé. L'AMM obtenue, le vaccin fait l'objet d'une campagne de sensibilisation, suivie d'études de pharmacovigilance.

Nous pouvons noter que le processus de développement d'un nouveau vaccin est très coûteux en ressources et en temps (pouvant aller jusqu'à 20 ans et plusieurs millions de Dollars) [7].

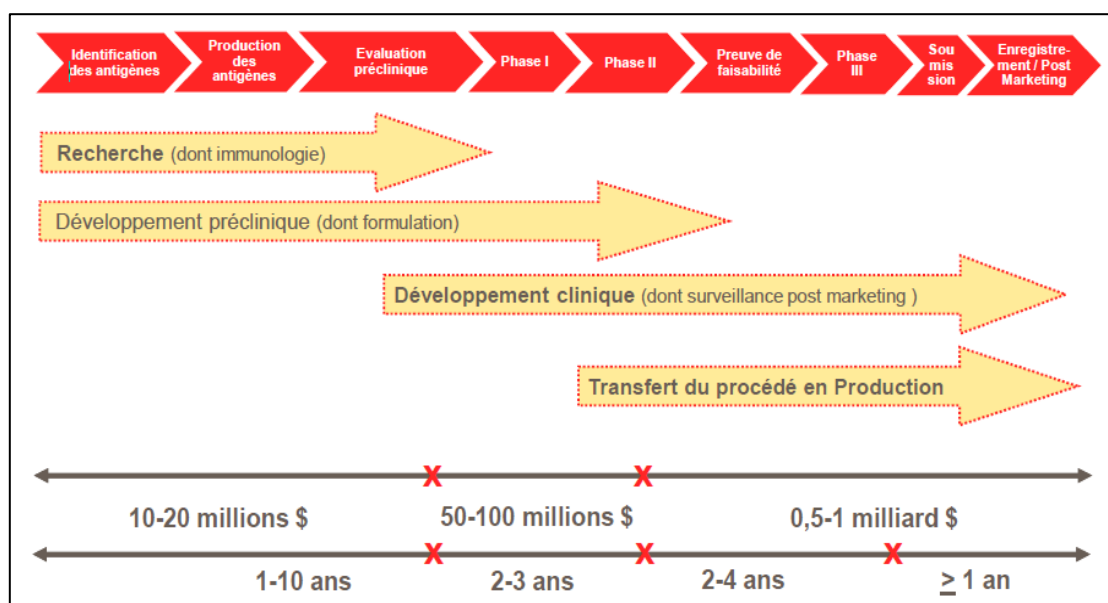


FIGURE 1 : ETAPES DE RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT D'UN NOUVEAU VACCIN [6]

4. Différents types de vaccins

4.1 Les vaccins vivants atténués

Ces vaccins sont composés de micro-organismes (virus, bactéries) vivants, ayant été modifiés pour perdre leur pouvoir pathogène tout en maintenant leur capacité d'immuniser l'individu vacciné. Le processus d'atténuation du pouvoir pathogène peut se faire *via* des produits chimiques (processus chimique), par des rayons (processus physique) ou par modification génétique. Du fait que l'agent immunisant soit vivant, l'administration se fait en une seule dose (relativement faible). Les vaccins vivants atténués sont les vaccins des agents de la dengue, la fièvre jaune, la rougeole, les oreillons, la rubéole, la varicelle et le zona, la tuberculose (BCG)... [3].

4.2 Les vaccins inactivés

Ces vaccins ne contiennent pas de micro-organismes vivants, ils sont composés de fragments d'agent pathogène ou de l'agent pathogène totalement inactivé. Contrairement au type de vaccin précédent, les vaccins inactivés nécessitent des doses plus élevées et plusieurs administrations pour immuniser l'individu. Des adjuvants peuvent également rentrer dans la composition de ces vaccins, ceux-ci augmentent la réponse immunitaire. Les vaccins vivants inactivés sont les vaccins des agents de la grippe, la rage, la coqueluche [3].

4.3 Les vaccins à ARN

Ce type de vaccin est l'un des plus innovants et représente une alternative aux vaccins classiques cités plus haut [8]. Il a fait son entrée dans le monde du vaccin lors de la lutte contre la pandémie due au COVID-19. Ces vaccins sont différents des deux premiers. En effet, ils sont constitués d'une unité d'ARNm (Acide RiboNucléique Messenger). La molécule d'ARNm est une transcription en une copie simple brin de l'ADN (Acide DésoxyRiboNucléique portant l'information génétique). L'ARNm sort ensuite du noyau et se positionne sur les ribosomes pour la synthèse des protéines [9].

Le principe d'un vaccin à ARNm consiste à faire synthétiser des protéines antigéniques du micro-organisme responsable de l'infection par les cellules de l'Homme. Une fois synthétisées, elles stimulent le système immunitaire à produire des anticorps. Reconnu comme non-soi, le système immunitaire est suffisamment stimulé pour empêcher ainsi le développement du micro-organisme lorsqu'il se retrouve chez l'Homme. La Figure 2 ci-dessous illustre le principe du vaccin à ARNm :

COMMENT FONCTIONNE UN VACCIN À ARN MESSAGER ?

ARN signifie acide ribonucléique. C'est une molécule appelée "messenger" car elle envoie à la cellule les informations nécessaires à la synthèse des protéines.

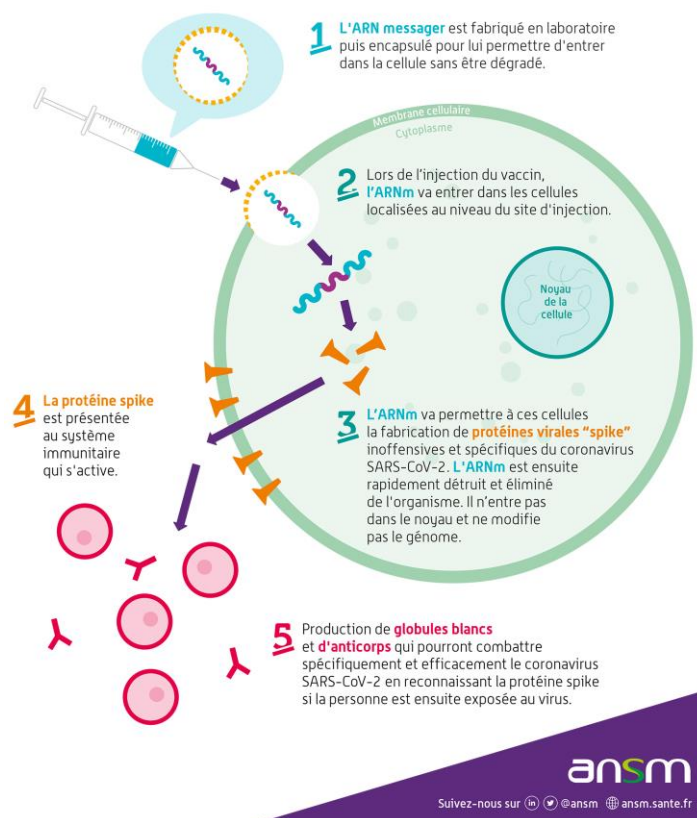


FIGURE 2 : PRINCIPE DU VACCIN A ARNm [9]

Dans le vaccin à ARNm contre le virus COVID-19, l'ARNm code pour la protéine S «Spike» du SARS-Cov-2. La protéine « S » est l'une des protéines constitutives de la couronne du virus. Une fois le vaccin injecté, une production d'anticorps anti-protéine S est observée. Ces anticorps empêcheront la fixation du virus sur les cellules de l'Homme, sa pénétration à l'intérieur de celles-ci et donc éviter l'infection [10].

5. Procédé de fabrication des vaccins

Les vaccins font partie des classes thérapeutiques les plus difficiles à développer. En effet, ils requièrent une expérimentation clinique longue, une fabrication complexe et un environnement hautement réglementé. La production de vaccin diffère d'un type de vaccin à un autre. La Figure 3 ci-dessous détaille le processus général qui peut varier à certaines étapes. [7]



FIGURE 3 : ETAPES DU PROCEDE DE FABRICATION DE VACCINS [7]

La production se déroule en deux grandes étapes, la production primaire et la production secondaire.

5.1 La production primaire (substance active)

La production primaire comprend les étapes suivantes :

- La fermentation/ culture : l'antigène est produit dans des cuves soit par un processus de fermentation dans le cas d'un vaccin bactériologique, soit par un processus de culture cellulaire dans le cas d'un vaccin virologique.
- Extraction de l'antigène pour la récolte après sédimentation du contenu de la cuve ;
- Purification par des techniques de chromatographie ;
- Inactivation s'il s'agit d'un vaccin inactivé ;
- Filtration stérilisante à travers un filtre de 0,22 micromètres ;
- Stockage : le vrac de substance active fabriqué est réparti et congelés [7].

5.2 La production secondaire (produit fini)

La production secondaire comprend les étapes de mise sous forme pharmaceutique (MSFP) suivantes :

- Assemblage (si nécessaire) : étape intervenant lorsqu'il s'agit d'un vaccin combiné, comportant plusieurs valences. Exemple : DTP pour Diphtérie, Tétanos et Poliomyélite REVAXIS[®]) [11].
- Formulation : d'autres produits sont additionnés tel que les stabilisants, les adjuvants et conservateurs. Les adjuvants améliorent l'efficacité en augmentant la réponse immunitaire. Les stabilisants et conservateurs empêchent le développement microbologique permettant ainsi de garder plus longtemps le vaccin ;
- Répartition : le produit est mis en flacon ou en seringue en respectant toutes les règles d'asepsie ;
- Lyophilisation (si nécessaire) : opération consistant à retirer l'eau (dessiccation) du produit par sublimation. Cette transformation assure une meilleure stabilité et donc une meilleure conservation ;
- Mirage : inspection visuelle de la conformité du produit ;
- Conditionnement : étape consistant en l'étiquetage et la mise en boîte sous forme de lots (un lot représente un ensemble homogène de fabrication de doses).
- Contrôle et libération des lots : les vaccins ont la particularité de faire l'objet d'un double contrôle : par l'industriel et par une autorité indépendante. Lorsque ces deux contrôles sont satisfaisants, les lots sont libérés et prêts à être commercialisés [7].

6. Conclusion

Les vaccins sont des produits biologiques sensibles avec un procédé de fabrication long et complexe. De plus, les vaccins se présentant sous forme injectable ont des contraintes supplémentaires pour maîtriser « le risque de contamination et la stérilité ». La stérilité de l'environnement et des équipements utilisés est donc l'une des contraintes principales à gérer lors de la production.

Dans le cadre du projet de SP, nous rencontrons des problématiques liées aux divers matériels à stériliser (appartenant au procédé de fabrication du vaccin contre la Dengue, et de celui contre la rage). De ce fait, nous nous intéresserons dans le prochain chapitre aux différentes méthodes de stérilisation afin de déterminer la méthode de choix.

CHAPITRE II

STERILITE ET STERISATION

1. Introduction

La stérilité est un attribut qualité crucial et indispensable pour de nombreux médicaments à usage humains et vétérinaire afin d'éviter tout risque de contamination :

- Médicaments à administrer par voie parentérale, intra-utérine, à usage ophtalmique, intra mammaire, pour inhalation ou pour irrigation.
- Médicaments à administrer sur des plaies ou peau lésée (exemple de crème ou pommade).

Compte tenu du caractère critique et sensible des vaccins, toute matière et équipement utilisés dans leur production doit être stérile [4].

Dans ce chapitre nous présenterons le concept de stérilité et les principaux procédés de stérilisation conformément à la Pharmacopée Européenne. Chaque procédé sera défini avec son mécanisme d'action et l'évaluation de son efficacité.

A l'issue de ce chapitre nous déterminerons le procédé de stérilisation de choix et de référence répondant aux exigences pour la production de vaccins. Ce procédé fera l'objet de la suite des travaux de la thèse.

2. Définition

La stérilité est un état relatif d'absence de microorganismes viables. Elle est définie par un Niveau d'Assurance de Stérilité (NAS) de valeur inférieure ou égale à 10^{-6} . Cette valeur exprime la probabilité théorique de retrouver un microorganisme vivant dans une unité de produit ou de matériel suite à un procédé de stérilisation. Si nous prenons l'exemple d'un NAS de 10^{-6} , c'est la probabilité de retrouver 1 unité non stérile sur 10^6 unités stérilisées dans le produit final.

Nous parlons également d'un état "relatif" d'absence de microorganismes viables, car nous ne pouvons pas vérifier leur absence absolue sans détériorer le matériel ou le produit stérilisé.

La stérilisation est donc une opération consistant à rendre une matière ou un matériel exempt de microorganismes viables [4].

3. Les procédés de stérilisation

La stérilisation peut être effectuée par différentes méthodes décrites dans les Bonnes Pratiques de Fabrication “BPF” ainsi que dans la Pharmacopée Européenne “PhE”. Deux grandes méthodes de stérilisation sont mentionnées : méthode de stérilisation terminale et méthodes de préparations aseptiques [4].

- Les méthodes dites de “stérilisation terminale”, recommandées, où le produit et son contenant sont stérilisés en fin de fabrication.
- Les méthodes de préparation aseptique où chacune des étapes de fabrication s’effectue en environnement aseptique extrêmement maîtrisé (exemple : dans des Zones à Atmosphère Contrôlée “ZAC”) [4].

Les principaux procédés de stérilisation terminale sont :

- Stérilisation par traitement thermique (chaleur sèche et humide) ;
- Stérilisation par voie chimique (gaz alkylants, peroxyde d’hydrogène...)
- Stérilisation par irradiation ionisante (rayonnement bêta, gamma, X....)
- Par filtration stérilisante (sur membrane et sur cartouche ...) [4].

La Figure 4 ci-dessous résume les différents procédés de stérilisation

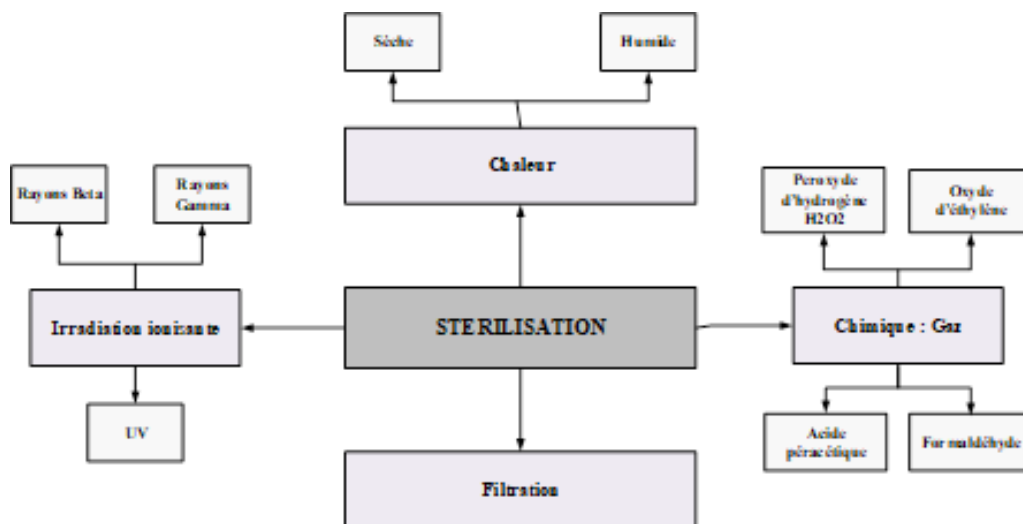


FIGURE 4 : SCHEMA RESUMANT LES PROCEDES DE STERILISATION [12]

3.1 Stérilisation par voie chimique

Principe

La stérilisation par voie chimique également appelée stérilisation par les gaz, est un procédé faisant appel à des agents chimiques en phase gazeuse. Cette méthode est utilisée pour la stérilisation de surfaces, d'équipements, d'emballages primaires et de certains produits pharmaceutiques sensibles à la chaleur [4].

Mécanisme d'action

Le type d'agents chimiques utilisé détermine le mécanisme d'action de cette méthode. En effet, deux grandes familles d'agents chimiques sont distinguées :

Les agents alkylants : l'oxyde d'éthylène

Composé hautement réactif, dont l'activité microbicide repose sur l'alkylation des acides nucléiques et des protéines des cellules (action irréversible sur les groupements amino, sulfhydryle et hydroxyle). En plus de l'activité alkylante, l'oxyde d'éthylène est reconnu pour être inflammable, explosif ainsi que pour ses effets cytotoxiques, carcinogènes et mutagène. Son usage exige de nombreuses précautions. Par conséquent les autorités de santé ainsi que la Pharmacopées Européenne préconisent d'autres alternatives pour la stérilisation par voie chimique [4] [13].

Les agents oxydants : Peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Composé hautement toxique et réactif, dont l'activité microbicide repose sur la formation à partir du H_2O_2 gazeux de radicaux libres. En effet le H_2O_2 à basse pression passe à l'état dit "plasma" (4^{ème} état de la matière connu après l'état solide, liquide et gazeux) et génère des espèces hyperactives dont des radicaux libres, des ions. Ces radicaux libres formés, dotés de pouvoir oxydant altérant les membranes cellulaires et les macromolécules intracellulaires des microorganismes (ARN et ADN), compromettant ainsi le métabolisme et la multiplication cellulaire. Dès lors que les radicaux libres ont réagi, ils perdent leur haute énergie, se transforment et se recombinent pour former essentiellement de l'oxygène et de la vapeur d'eau.

L'opération de stérilisation par le plasma de l' H_2O_2 se déroule à basse pression et à température ambiante. Ce procédé de stérilisation au plasma de H_2O_2 a été commercialisé par la société Johnson & Johnson Medical sous le nom de STERRAD[®]. D'autres agents peuvent également être utilisés pour la stérilisation chimique tel que l'ozone O_3 [4] [13].

Efficacité de la méthode

La fiabilité et l'efficacité de la stérilisation par voie chimique passe par une validation de performance microbiologique. Des indicateurs biologiques sont utilisés, ceux-ci mesurent l'inactivation de spores qui offrent les résistances les plus élevées à ce procédé de stérilisation. Les deux souches utilisées sont les spores de *Bacillus stearothermophilus* et *Bacillus subtilis* variété niger. La courbe de décroissance de ces spores a témoigné du pouvoir sporicide des agents chimiques utilisés et de l'efficacité de la stérilisation en atteignant le NAS requis [4].

3.2 Stérilisation par irradiation stérilisante

Principe

La stérilisation par radiation ionisante également appelée “radiostérilisation”, est un procédé faisant appel à des rayonnements ionisants. Cette méthode est utilisée pour la stérilisation terminale des dispositifs médicaux, des formes pharmaceutiques finies et dans leur conditionnement définitif, sans chauffage préalable et sans élévation de la température du produit. Les radiations utilisées interagissent avec la matière qu’elles pénètrent sans toucher leur noyau atomique, le matériel ne devient donc pas radioactif [4].

Différents types de rayonnements peuvent être utilisés pour l’irradiation :

- Faisceau d’électrons accélérés : ils sont produits par des accélérateurs d’électrons. Le pouvoir pénétrant de ces électrons dépend de l’énergie utilisée par l’accélérateur (classé en trois catégories : accélérateurs de basse énergie, de moyenne énergie ou de haute énergie.)
- Rayonnements X : ils sont produits après bombardement d’une matière quelconque par des électrons accélérés de haute énergie. L’intensité et le pouvoir pénétrant des rayonnements croient avec l’énergie du faisceau électronique.
- Rayonnements γ : sont produits par des irradiateurs qui utilisent comme source des isotopes tel que le ^{60}Co . Celui-ci reçoit un flux de neutrons et se transforme en ^{60}Ni élément plus stable, avec émission de rayonnements Gamma et rayonnements Beta [13].

Mécanisme d’action

Les trois types d’irradiations cités ci-dessus pénètrent le matériau à stériliser, effectuent une ionisation des atomes (d’où le nom radiations ionisantes) et produisent un mélange d’ions, de radicaux libres et de molécules excitées. Ces entités, notamment les radicaux libres, exercent une activité germicide et confèrent le pouvoir stérilisant [13].

Efficacité de la méthode

La Pharmacopée européenne recommande une dose de référence stérilisante (dose absorbée) de 25 kGy pour atteindre un NAS de 10^{-6} . Toutefois, d’autres valeurs peuvent être utilisées si validées efficaces et reproductibles. Des indicateurs biologiques sont également utilisés. La souche utilisée est les spores de *Bacillus pumilus* [4].

3.3 Stérilisation par filtration

Principe

La stérilisation par filtration appelée également filtration sur membrane est un procédé de stérilisation faisant recours à des filtres stériles et stérilisants. Le processus de filtration se fait par passage du produit à stériliser à travers la membrane filtrante. Cette méthode s'applique aux fluides monophasiques et aux gaz renfermant un principe actif thermolabile ne pouvant résister aux autres méthodes de stérilisation [4].

A l'opposé des autres méthodes de stérilisation, la filtration stérilisante ne se base pas sur l'inactivation des micro-organismes mais plutôt sur leur élimination du contaminant. Il convient donc de choisir un filtre adapté au produit à stériliser : compatibilité de la matière du filtre avec le produit (cellulose, polysulfone, nylon, polypropylène...) et un diamètre des pores adéquats avec un minimum de 0,22 μm .

L'élimination des particules lors de la filtration s'opère par un double effet de tamisage et d'interaction de surface. En effet les mécanismes de rétention sont les suivants :

- interception directe : les particules dont le diamètre est supérieur à celui des pores du filtre sont retenues ;
- impact inertiel : les particules sont retenues sur le filtre ;
- adsorption sur le filtre (membrane) [4].

Efficacité de la méthode

La filtration stérilisante nécessite des précautions à prendre avant et pendant la stérilisation ainsi qu'une grande rigueur de manipulation. En outre le filtre utilisé doit être stérile, doit subir des tests d'intégrité avant et après stérilisation (tests d'intégrité utilisés : le point de bulle, le test de diffusion et le test de tenue en pression). S'ajoute à cela des indicateurs biologiques sont également utilisés : une solution de 10^7 *Brevundimonas diminuta* par cm^2 de surface de filtration est testée pour témoigner de l'efficacité du filtre [4].

3.4 Stérilisation par chaleur sèche

Principe

La stérilisation par chaleur sèche également nommée stérilisation au Poupinel (en référence à son inventeur) est une méthode de stérilisation par traitement thermique à l'air chaud et à pression atmosphérique. Elle est généralement utilisée pour la stérilisation de contenants en verre, en inox... [4].

Mécanisme d'action

Cette méthode de stérilisation se déroule dans une chambre de traitement thermique dite étuve du four ou du tunnel. L'enceinte doit être équipée de ventilateurs pour assurer la bonne répartition de la température. La stérilisation est basée sur un transfert de chaleur sèche aux articles à stériliser soit par convection, rayonnement ou par transfert direct [13].

Efficacité de la méthode

La pharmacopée européenne préconise un couple temps/ température de 160°C au minimum pendant au moins 2h pour assurer un NAS de 10^{-6} . Cependant d'autres couples peuvent être utilisés à condition de prouver leur efficacité lors des essais de validation. Un traitement supplémentaire dit de "dépyrogénéisation" peut s'opérer à des températures au-delà de 220°C pour l'élimination des endotoxines.

Le suivi d'un cycle de stérilisation par chaleur sèche est obligatoire, en déterminant des profils de température et de durée minimums et ceci au point le plus froid de l'enceinte. Les données obtenues à chaque cycle doivent être enregistrées [4].

3.5 Stérilisation par chaleur humide

Principe

La stérilisation par chaleur humide est le mode de stérilisation le plus répandu, notamment en industrie pharmaceutique. Elle est utilisée pour la stérilisation d'équipements, de récipients fermés et non fermés [4].

Mécanisme d'action

Cette méthode de stérilisation se déroule dans des autoclaves à haute température et en surpression. Ces enceintes sont conçues pour admettre ou générer en continu de la vapeur, tout en évacuant l'eau de condensation afin de contrôler la pression et la température. L'effet stérilisant provient de l'interaction entre le germe à éliminer et la chaleur humide. En effet la vapeur d'eau saturée présente dans l'autoclave est considérée comme un complexe hydro-énergique, lorsque celui-ci est en contact avec une surface ou masse froide, il y aura un transfert calorique qui dégradera les structures chromosomiques et détruira donc les germes. A la différence de la stérilisation par chaleur sèche, le transfert énergétique sera tout aussi efficace mais la durée de chauffage moins importante. De ce fait, la stérilisation par chaleur humide est la plus écologique [13].

Efficacité de la méthode

Les paramètres critiques à suivre dans ce procédé de stérilisation sont le temps, la température et la pression.

Pour assurer l'efficacité d'un cycle, la pharmacopée européenne préconise une exposition minimale de 15 min à 121 °C dans le point le plus défavorable de l'autoclave (le point le plus froid). Une autre combinaison temps/température peut être appliquée à condition d'effectuer des essais de développement. Néanmoins la PhE exige une température minimale de 110°C et un temps d'exposition minimal de 8 min. L'efficacité des paramètres physiques cités ci-dessus est corrélée à celle des indicateurs biologiques [4].

4. Conclusion

La stérilisation peut se dérouler par différentes méthodes décrites précédemment.

Les tableaux ci-dessous compare chaque méthode en se basant sur les paramètres clés de la stérilisation :

- La durée du cycle de stérilisation ;
- La température à laquelle se déroule l'opération de stérilisation ;
- Le pouvoir pénétrant dans les éléments à stériliser ;
- La simplicité ou complexité de la mise en œuvre de la méthode ;
- Le pouvoir de destruction des spores ;
- La toxicité de la méthode pour le manipulateur (carcinogène, mutagène, corrosif *etc*) ;
- Le coût de la méthode (faible ou élevé) ;
- L'impact sur l'environnement des produits ou du matériels utilisés.

Après avoir comparé les différentes méthodes de stérilisation, un résumé des avantages et inconvénients de chaque méthode est présenté dans le Tableau 1 ci-dessous.

En résumé, nous pouvons conclure que la méthode de choix de stérilisation du matériel de production de vaccin est la stérilisation par chaleur humide en autoclave, méthode de référence mentionnée et préconisée dans la PhE. Cette méthode de stérilisation ne pouvant s'appliquer aux produits thermosensibles, elle s'appliquera uniquement au matériel utilisé lors de leur production. Du fait des hautes exigences de stérilité que requiert la production de vaccin, la stérilisation par chaleur humide du matériel utilisé pour la production de vaccin demeure le procédé de référence que nous développerons davantage et qui fera objet de validation dans le cadre de cette thèse.

TABLEAU 1 : COMPARAISON DES DIFFERENTES METHODES DE STERILISATION [13]

Méthode	Durée du cycle	Température	Pouvoir pénétrant	Equipement/ Installation	Action sporicide	Toxicité	Coût
Stérilisation chimique	Peroxyde d'Hydrogène : 1-2H	Peroxyde d'Hydrogène : 6-60°C	Bon	Simple	Oui	Peroxyde d'Hydrogène : Non	Elevé
	Oxyde d'Ethylène : >10H	Oxyde d'Ethylène : 40-60°C				Oxyde d'Ethylène : Oui	
Stérilisation par irradiation	Electrons accélérés : Très rapide (min)	Basse	Elevé	Complexe	Oui	Oui (Grande toxicité)	Elevé
	Rayons γ et X : Moyen (h)						
Stérilisation par chaleur sèche	2H30	160°C	Faible	Simple	Oui	Non	Faible
Stérilisation par chaleur humide	20-60 min	121°C	Elevé	+/- Simple	Oui	Non	Faible
Stérilisation par filtration	Non applicable	Basse	Non applicable	Simple	Oui (élimination et non destruction)	Non	Faible
Stérilisation par filtration	Non applicable	Basse	Non applicable	Simple	Oui (élimination et non destruction)	Non	Faible

TABLEAU 2 : AVANTAGES ET INCONVENIENTS DES DIFFERENTES METHODES DE STERILISATION [13]

Méthode	Avantages	Inconvénients
Stérilisation chimique	<ul style="list-style-type: none"> - Se déroule à des températures moyennes ; - Bon pouvoir pénétrant ; - Mise en œuvre facile. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cycle long pour l'oxyde d'éthylène. - Polluant pour l'environnement ; - Toxique, carcinogène pour l'oxyde d'éthylène ; - Cout élevé.
Stérilisation par irradiation	<ul style="list-style-type: none"> - S'applique à des éléments thermosensibles ; - Très bon pouvoir pénétrant ; - Efficacité élevée. 	<ul style="list-style-type: none"> - Mise en œuvre complexe ; - Très grande toxicité et mutagène ; - Polluant pour l'environnement.
Stérilisation par chaleur sèche	<ul style="list-style-type: none"> - Mise en œuvre simple ; - Faible cout ; - Non toxique. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cycle long ; - Mauvaise pénétration de la chaleur ; - Non écologique car nécessitant beaucoup d'énergie ; - S'applique à des éléments thermorésistants.
Stérilisation par chaleur humide	<ul style="list-style-type: none"> - Cycle rapide ; - Pénétration élevée de la chaleur ; - Mise en œuvre non complexe ; - Efficacité élevée et reconnue ; - Non toxique ; - Cout raisonnable ; 	<ul style="list-style-type: none"> - S'applique à des éléments thermorésistants.
Stérilisation par filtration	<ul style="list-style-type: none"> - S'applique aux éléments thermosensibles (exemple : vaccins) ; - Faible cout ; - Non toxique ; - Mise en œuvre simple ; 	<ul style="list-style-type: none"> - S'applique uniquement à des produits liquides ; - Ne retient pas les endotoxines ; - Nécessité de changer les filtres plusieurs fois.

CHAPITRE III

APPROCHE GÉNÉRALE DE VALIDATION D'UN PROCÉDE EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

1. Introduction

L'industrie du médicament touchant à la santé de l'Homme, est l'une des industries les plus réglementées. Afin d'assurer qualité, efficacité et sécurité des produits de santé fabriqués, chaque industriel doit mettre en place un système qualité, c'est-à-dire une organisation régissant les procédures, démarches et protocoles à suivre pour chaque processus et étape impliqués dans la production.

Dans les chapitres précédents nous avons conclu que la production des vaccins était complexe nécessitant beaucoup de matériel et que celui-ci devait être stérilisé par la méthode de stérilisation par chaleur humide. Le site SP de NVL possède déjà une unité de stérilisation par autoclave. Toutefois, une nouvelle stratégie de validation du procédé de stérilisation par chaleur humide en autoclave doit être mise en place pour le matériel dédié à la nouvelle production.

Selon les exigences réglementaires et en vue de garantir en industrie pharmaceutique la fiabilité d'un procédé, celui-ci doit être validé avant son utilisation en routine. La stratégie de validation doit être documentée dans une procédure de qualité. Le procédé de stérilisation à appliquer dans la production de vaccins sur le site de SP doit donc être validé.

Le présent chapitre sera dédié à l'approche générale de validation d'un procédé en industrie pharmaceutique. Nous commencerons par définir le système qualité pharmaceutique et ses constituants selon les Bonnes Pratiques de Fabrications (BPF), les ICHs (International Conference of Harmonization) et les normes ISOs (International Organization for Standardization). La suite du chapitre détaillera le processus de validation d'un procédé et les éléments impliqués (qualification de l'équipement, plan de validation, personnel, documentation et gestions des changements).

2. Système de management de la qualité en industrie pharmaceutique (SQP)

2.1 Définition

La “Qualité” est l’aptitude d’un ensemble de caractéristiques intrinsèques d’un produit, d’un système ou d’un processus à satisfaire des exigences prés-déterminées. [14] Dans la pratique la qualité se présente sous deux formes :

- la qualité externe : correspond à la satisfaction des clients, cela implique fournir un produit ou un service conforme aux attentes et exigences du client.
- la qualité interne : correspond à la maîtrise et l’amélioration du fonctionnement interne de l’entreprise. Les bénéficiaires sont la direction, le personnel de l’entreprise, les actionnaires et aussi le client.

Les deux formes de la qualité sont donc indissociables. Ainsi en industrie pharmaceutique, la satisfaction du client final qui est “le patient” passe par une maîtrise de la qualité interne et externe. [15] [16]

La norme ISO 9000 (2005) définit le système qualité pharmaceutique comme étant : “Un système de management pour diriger et contrôler une entreprise pharmaceutique en matière de qualité” [15]. D’après les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) « pour atteindre plus sûrement cet objectif de qualité, l’entreprise doit posséder un système qualité pharmaceutique bien conçu et correctement mis en œuvre intégrant les bonnes pratiques de fabrication et la gestion du risque qualité. Ce système doit bénéficier d’une documentation complète et son efficacité doit faire l’objet d’une surveillance » [17]. L’ICH Q10 est une ligne directrice décrivant un modèle global de système qualité pharmaceutique efficace, basé sur les concepts qualité de l’organisation internationale de normalisation (International Standardisation Organisation, ISO), qui inclut également les exigences réglementaires BPF.

Il en ressort de l’ICH Q10 la définition suivante : “Le système qualité pharmaceutique assure que les produits sont conformes aux exigences qualité, que les performances attendues du procédé sont atteintes, que les contrôles appropriés ont été effectués, que les opportunités d’amélioration sont identifiées et évaluées et que le corps et l’ensemble des connaissances est continuellement élargi” [18].

2.2 Objectif du système qualité pharmaceutique

✓ Assurer la réalisation du produit

Il s'agit de mettre en place puis de maintenir un système apte à fournir des produits de qualité appropriée pour répondre aux besoins des patients, des professionnels de santé et des autorités réglementaires compétentes [19].

✓ Établir et maintenir une phase de maîtrise

Le but est de développer et d'utiliser des systèmes efficaces de surveillance et de contrôle de la performance du procédé et de la qualité des produits, procurant ainsi un suivi et un maintien des capacités du procédé. La démarche de "gestion du risque" telle que décrite dans l'ICH Q9 peut être particulièrement pertinente dans ce cadre-là [19].

✓ Faciliter l'amélioration continue

Afin de s'inscrire dans une optique d'évolution, il est important d'identifier et de mettre en place des améliorations sur le procédé conduisant à réduire les variabilités et consolider le SQP [19].

2.3 Constitution et constituants d'un système qualité pharmaceutique

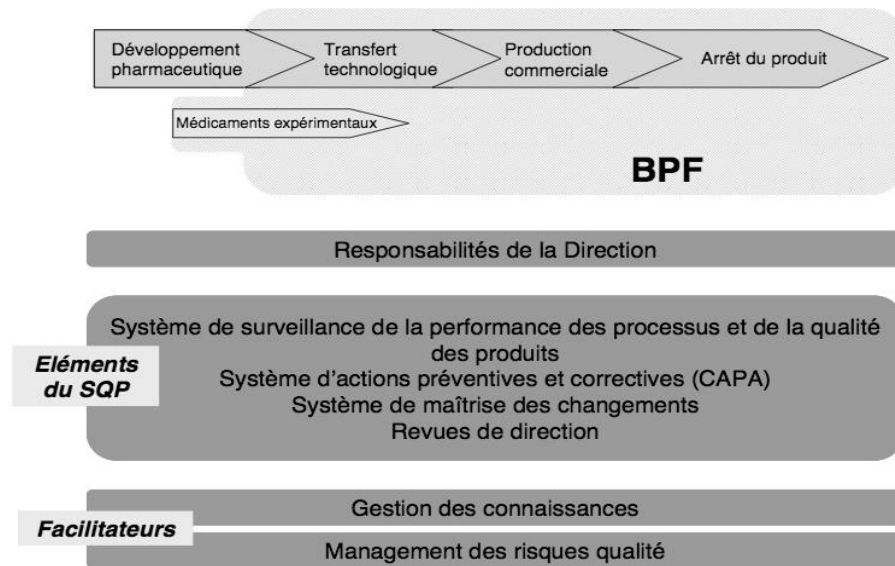


FIGURE 5 : SYSTEME QUALITE PHARMACEUTIQUE [20]

La Figure 5 illustre le SQP tel que décrit dans l'ICH Q10. Un système qui englobe tout le cycle de vie du médicament, son développement, son transfert technologique, sa production ainsi que son arrêt de commercialisation si y a lieu. En effet l'ICH Q10 est en complément de l'ICH Q8 "Développement pharmaceutique" et de l'ICH Q9 "Gestion du risque qualité". Le domaine d'application de ce modèle de système s'étend au-delà des exigences des BPFs, en incluant également les médicaments expérimentaux [20].

La première ligne horizontale souligne l'importance du rôle de la direction dans la mise en place, le déploiement et la surveillance du SQP. La deuxième ligne horizontale représente les piliers constitutifs du SQP. Les éléments cités doivent être appliqués de manière adaptée et appropriée à chaque étape du cycle de vie du médicament. Enfin, les deux dernières lignes horizontales, font référence aux facilitateurs en termes de gestion des connaissances et du risque qualité. Ces outils sont applicables à toutes les étapes du cycle de vie du médicament et permettent d'établir, d'assurer et de maintenir une maîtrise de la qualité [21].

Après avoir défini le SQP qui est une exigence réglementaire en industrie pharmaceutique, nous nous intéresserons à la démarche à suivre pour la qualification d'un équipement et la validation d'un procédé.

3. Qualification d'un équipement

3.1 Définition

D'après les BPFs « la qualification est l'action de prouver et de documenter qu'un équipement ou ses systèmes auxiliaires sont installés convenablement, travaillent correctement et conduisent réellement aux résultats attendus ». La qualification est un prérequis de la validation, nous parlons de qualification d'un équipement et de validation d'un procédé [22].

3.2 Etapes de qualification d'un équipement

Les activités de qualification doivent tenir compte de toutes les étapes, du développement initial des cahiers des charges de l'utilisateur jusqu'à l'utilisation finale de l'équipement. Les étapes de qualification sont présentées ci-dessous :

✓ Cahier des charges de l'utilisateur (CCU)

Le cahier des charges de l'utilisateur comporte l'ensemble des spécifications des équipements, des installations, des utilités ou des systèmes. Les éléments qualité doivent également être intégrés dans le CCU et les risques qualité potentiels doivent être réduits à niveau acceptable [22].

✓ Qualification de la conception (QC)

Le but de cette étape est de démontrer et de documenter la conformité de conception des équipements, des installations, des utilités et des systèmes avec les exigences des BPFs. Les spécifications contenues dans le CCU doivent également être vérifiées par la réalisation de tests spécifiques : les Test d'acceptation en usine (TAU)/Test d'acceptation sur site (TAS). Ils ont pour objectif de vérifier que la conception répond aux attentes du client et se conforme au contenu du CCU [22].

✓ Qualification de l'installation (QI)

Cette étape consiste à vérifier l'installation correcte des équipements, des canalisations, des instruments et des utilités conformément aux données techniques et aux spécifications. Les instructions de mise en œuvre et les exigences de maintenance du fournisseur sont collectées et les instruments sont étalonnés si nécessaire [22].

✓ Qualification opérationnelle (QO)

Cette étape faisant normalement suite à la QI, peut dans certains cas se faire simultanément dans le cadre d'une qualification de l'installation/des opérations (QIO).

Durant la QO, des tests sont conduits pour s'assurer du bon fonctionnement de l'équipement ou du système. D'autres tests sont menés pour confirmer les limites supérieures et inférieures d'utilisation ainsi que les conditions dites pires cas "*Worst Case*" [22].

✓ **Qualification des performances (QP)**

Cette étape doit s'effectuer normalement en dernier lors d'une qualification, néanmoins dans certains cas il est préférable de la mener en même temps que la QO.

Lors de la QP, des tests similaires aux travaux de routine sont effectués, en utilisant les mêmes produits et dans les conditions de fonctionnement normales, avec des tailles de lots correspondant au pire cas [22].

4. Validation d'un procédé en industrie pharmaceutique

4.1 Définition de la validation

Conformément aux BPFs “La validation d'un procédé (VP) est la preuve documentée que le procédé mis en œuvre à l'intérieur des paramètres établis peut fonctionner de manière efficace et reproductible pour produire un intermédiaire ou une substance active conforme à ses spécifications et à ses caractéristiques de qualité préétablies”. D'après la définition de la FDA, la validation d'un procédé est une collection et évaluation de données, de l'étape de conception à l'étape de production commerciale d'un produit. Des preuves scientifiques sont apportées attestant que le processus est capable de délivrer des produits de qualité.

Les deux définitions se rejoignent. En effet, un processus de validation implique une série d'activités menées tout au long du cycle de vie du produit. Ces activités de validation d'un procédé se déroulent en trois phases :

- Phase 1, Procédé de conception : le procédé de fabrication commerciale est défini durant cette étape en se basant sur les connaissances acquises lors du développement et de la transposition (passage de l'échelle développement à l'échelle commercialisation).
- Phase 2, Procédé de qualification : le procédé de conception est évalué afin de déterminer s'il est reproductible à échelle de production commerciale.
- Phase 3, Vérification continue du procédé : au cours de la production en routine, une vérification du bon fonctionnement du procédé est requise pour le garder sous contrôle [23].

4.2 Approche de validation d'un procédé

Trois approches sont possibles pour la validation d'un procédé :

- validation prospective : validation effectuée avant la phase de production en routine des produits destinés à la commercialisation.
- validation simultanée : validation effectuée en même temps que la commercialisation de lots de validation. Cette approche de validation est conduite dans des circonstances exceptionnelles justifiées par des bénéfices significatifs pour le patient (approche utilisée en cas : d'indisponibilité des données sur les lots successifs, d'une rare production de lots ou en nombre limité...).

- validation rétrospective : validation effectuée après commercialisation de lots de produits. Cette approche n'est applicable que pour des procédés déjà bien établis, détaillé et n'ayant pas subi de modifications affectant la qualité du produit.

La validation prospective demeure préférable, néanmoins des exceptions sont possibles pour lesquelles les autres approches peuvent être utilisées [23] .

5. Plan de validation

Le plan de validation (PDV) définit la stratégie de l'entreprise pour la validation. Ce plan couvre l'ensemble des activités de validation : validation des procédés de fabrication, des procédés de nettoyage, des méthodes analytiques, des systèmes informatisés et des méthodes de contrôle en cours de procédé. La documentation de la validation (rédaction, revue et approbation) est également décrite dans le PDV en désignant les personnes responsables à chaque étape de la validation. D'après l'annexe 15 des BPFs, le PDV doit inclure ou référencer au minimum les éléments suivants :

- la politique de qualification et de validation ;
- la structure organisationnelle incluant les rôles et responsabilités pour les activités de qualification et de validation ;
- le récapitulatif des installations, des équipements, des systèmes et des procédés du site et leur statut de qualification et de validation ;
- la maîtrise des changements et la gestion des déviations appliquées à la qualification et la validation ;
- les recommandations pour la détermination des critères d'acceptation ;
- les références aux documents existants ;
- la stratégie de qualification et de validation, incluant la requalification, le cas échéant » [23].

6. Personnel

Les opérations de qualification/validation requièrent un personnel compétent et formé. Des services dédiés à ces activités sont mis en place dans les industries pharmaceutiques. Néanmoins, selon la taille de l'industrie, le personnel chargé de qualification/validation peut avoir d'autres activités supplémentaires à mener.

Le service qualité intervient également dans les travaux de qualification/validation. En effet, le PDV et les protocoles de validations doivent être approuvés par un représentant du service d'assurance qualité afin de s'assurer de la conformité de la documentation avec les exigences des BPFs et de la politique mise en place par l'entreprise. Une supervision du représentant du service d'assurance qualité est donc indispensable tout au long du cycle de vie de la qualification/validation [24].

7. Documentation

Lors d'une validation il est nécessaire de définir une documentation spécifique. Le PDV renvoie aux documents à élaborer pour les opérations de validation :

- Le protocole de validation : document qui spécifie la façon dont la validation (d'un procédé, d'une méthode ou d'un système) doit être conduite et le type de validation (rétrospective, prospective et simultanée). Le protocole doit également définir les paramètres critiques du procédé (PCP), les attributs qualité produit critiques (ACQ) ainsi que les critères d'acceptation connexes (devant se reposer sur les données du développement). Le protocole de validation doit être rédigé par le service spécialisé en qualification/validation et approuvé par les services qualité et autres services désignés (service de production, département technique *etc*).
- Le rapport de validation : document qui renvoie et qui fait suite au protocole de validation. Ce document doit contenir les résultats obtenus suite à la validation, la conformité ou non des procédés, les déviations observées, conclusion sur l'opération de validation et éventuellement des recommandations pour les défauts rencontrés. Le rapport doit être dûment rempli par le personnel en charge de la validation et tout écart au protocole de validation doit être mentionné et justifié [25].

8. Maitrise des changements

Le processus de maitrise des changements faisant partie du SQP est une exigence réglementaire de toutes les autorités internationales. Processus considéré comme étant le seul moyen qui permet de garantir la qualité du produit tout au long de son cycle de vie. En effet, un produit fabriqué dans une industrie pharmaceutique est susceptible de subir des changements (matières premières, procédé de fabrication ou d'analyse, équipements et locaux), d'où l'intérêt de mettre en place un système de gestion des changements.

En cours de qualification/validation, des changements ou des modifications peuvent survenir. Pour ce faire des procédures écrites doivent être mises en place. Celles-ci devant décrire les mesures à prendre afin de gérer ces changements et modifications.

Le processus de maitrise des changements fait appel à celui de gestion des risques utilisant des méthodes documentées, exhaustives et reproductibles pour évaluer le risque et son impact. En fonction du risque (majeur, mineur ou modéré) du changement, celui-ci est géré de sorte à maîtriser son effet sur la qualité du produit. Les changements doivent être documentés *via* des rapports ou formulaires et approuvés par les personnes compétentes dédiées à la gestion des changements. L'ensemble du processus vise à garantir la qualité du produit [26].

9. Processus de gestion des déviations

D'après les BPFs, une déviation est un écart par rapport à une instructions, une directive, une norme ou un standard établi. Chaque entreprise pharmaceutique doit mettre en place un processus de gestion des déviations.

La gestion d'une déviation commence par une investigation visant à établir l'origine de l'écart dite cause racine « *Root cause* ». Cette investigation fait appel à différents outils ; nous citerons ci-dessous les plus utilisés :

- Diagramme d'Ishikawa ou 5M : diagrammes réunissant les causes potentielles liées au Matériel, à la Méthode, à la Main d'œuvre, aux Matières, ou au Milieu.
- Les 5 pourquoi : se poser 5 fois la question du « Pourquoi » afin de remonter à l'origine du problème.
- L'A3 : méthodologie d'investigation sur le terrain rédigée sur une feuille en format A3.

Ces outils sont issus de la stratégie du Lean Management déployée sur le site de Sanofi Pasteur.

Après avoir déterminé la cause racine, un système d'Actions Préventives et Actions Correctives « CAPA » est suivi afin de mettre en œuvre des mesures visant à corriger l'écart observé ou à prévenir sa survenue. Les CAPA permettent d'améliorer le produit et les connaissances de son procédé.

Cette démarche qualité doit être documentée à travers des procédures et son déroulement est dument détaillé [27].

10. Conclusion

La validation d'un procédé en industrie pharmaceutique est une exigence réglementaire. La validation implique :

- une qualification des équipements utilisés ;
- la rédaction d'un plan de validation ;
- un personnel qualifié et formé ;
- une documentation exhaustive de chaque étape de validation ;
- un processus de maîtrise des changements ;
- un processus de gestion des déviations.

Ces éléments sont donc nécessaires pour la validation du procédé de stérilisation et seront repris dans le chapitre suivant.

CHAPITRE IV

VALIDATION DU PROCEDE DE STERILISATION PAR CHALEUR HUMIDE A SANOFI PASTEUR ET MAINTIEN DE SON ETAT VALIDE

1. Introduction

Sur le site de SP de Neuville sur Saône, la fabrication de vaccins se déroule jusqu'à obtention du vrac de substance active, la mise sous forme pharmaceutique se fait sur un autre site SP. Les vaccins faisant partie des Médicaments de Thérapies Innovantes MTI, leur production requière un niveau d'exigence élevé en matière d'asepsie (Annexe 1 des BPF). Conformément aux exigences des BPFs, les vaccins sont des produits ne pouvant pas subir une stérilisation terminale, de ce fait un environnement aseptique et un matériel stérile sont exigés.

Dans le cadre de mon alternance, ma mission principale fut la participation à la mise en place d'une nouvelle stratégie de stérilisation de matériels utilisés pour la production de vaccins en autoclave par chaleur humide. La méthode de stérilisation est décrite dans la PhE (*Cf* Chapitre II).

Dans ce chapitre dédié au cas pratique seront introduits dans un premier temps, la description d'un autoclave et les principes détaillés de la stérilisation par chaleur humide. Dans un second temps, nous aborderons les étapes de validation du procédé de stérilisation par chaleur humide en autoclave sur le site de SP. Ces étapes mèneront à l'élaboration d'un protocole final de validation.

Après l'élaboration du protocole de validation du procédé de stérilisation par autoclave, nous détaillerons les procédures qui permettent de maintenir l'état validé du procédé.

Il est important de souligner que les lignes directives de l'ICH, les BPFs et les normes ISO ne fournissent pas de protocole détaillé à suivre pour la validation d'un procédé. Chaque industrie pharmaceutique dispose donc de sa propre stratégie. Néanmoins les normes citées fournissent des indications et des tests à effectuer pour assurer la fiabilité du procédé. L'objectif de ce travail est donc de créer un enchaînement logique d'étapes conduisant à un protocole de validation permettant d'obtenir un procédé efficace et reproductible.

2. Procédé de stérilisation par chaleur humide détaillé

Dans cette première partie du cas pratique nous détaillerons le principe de stérilisation par chaleur humide, le fonctionnement d'un autoclave ainsi que son application dans le cadre du projet de cette thèse. Il est essentiel de bien développer cette partie afin de mieux appréhender la validation du procédé de stérilisation par chaleur humide sur le site de SP.

2.1 L'autoclave

Le premier autoclave fut créé par Denis Papin qui inventa également le moteur à vapeur. Le procédé fut ensuite breveté en 1820 par Pierre-Alexandre Lemare. Charles Chamberland, microbiologiste français, a adapté le procédé à la médecine à la fin du XIX^{ème} siècle.

Un autoclave est constitué d'une chambre accueillant la charge à stériliser, et est connecté à plusieurs dispositifs (Figure 6 : Constitution d'un autoclave) :

- un générateur de vapeur,
- un dispositif de purge de la vapeur et des condensats,
- une pompe à vide,
- une arrivée d'air filtré (pour le retour à la pression atmosphérique en fin de cycle),
- des dispositifs métrologiques (thermocouples, de pression, manomètre et thermomètre). [25]

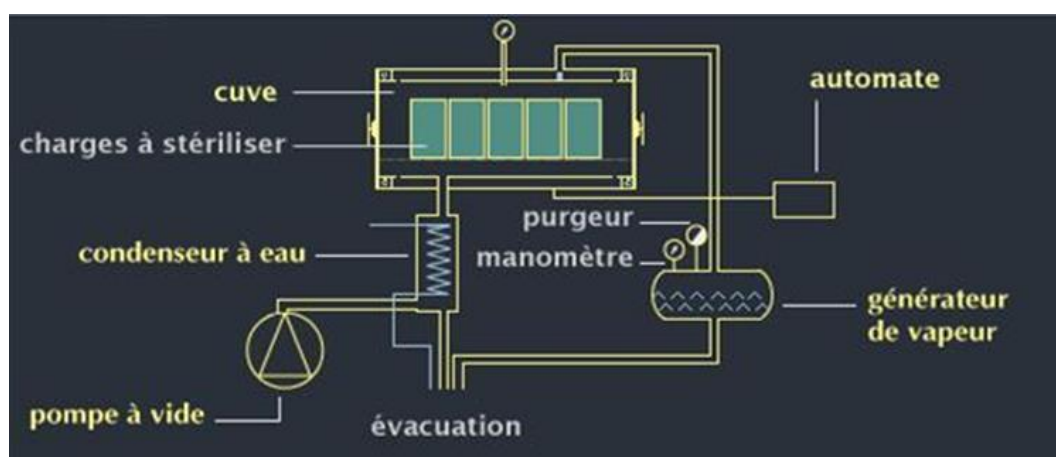


FIGURE 6 : CONSTITUTION D'UN AUTOCLAVE [28]

L'autoclave est utilisé pour la stérilisation de matériels utilisés dans la production de vaccins comme des cuves, flacons, tubulures, vannes *etc.*

2.2 Principe de la stérilisation par chaleur humide

La stérilisation par chaleur humide est la méthode la plus utilisée et la plus fiable. Elle consiste à exposer directement chaque item à la vapeur d'eau saturée à la température et à la pression requise pendant une durée spécifique. C'est une méthode non toxique, qui assure la destruction rapide des microorganismes, qui est sporicide, et dont l'action et la pénétration sont rapides dans les éléments à stériliser. Comme toutes autres méthodes de stérilisation, elle présente des inconvénients comme des effets délétères sur certains matériaux (corrosion)...

Quatre paramètres interviennent dans la stérilisation par chaleur humide : vapeur, pression, température, durée. La vapeur idéale pour la stérilisation est la vapeur d'eau saturée. La haute pression appliquée dans l'autoclave permet d'atteindre une température élevée nécessaire à la destruction de l'activité des microorganismes. La pression ne joue donc aucun rôle dans la mort des microorganismes qui est que la conséquence d'une élévation de la température. L'action conjuguée de la vapeur d'eau et de la température provoque la destruction par hydrolyse des protéines essentielles à la survie des microorganismes. En effet, les molécules d'eau forment des liaisons hydrogènes avec les groupes fonctionnels carbonyles (C=O) et amines (NH) des protéines, ceci déstabilise leur conformation naturelle et inhibe la machinerie de réplication moléculaire [13]. La Figure 7 : **mécanisme** ci-dessous résume le mécanisme d'action de la molécule d'eau sur les protéines des microorganismes :

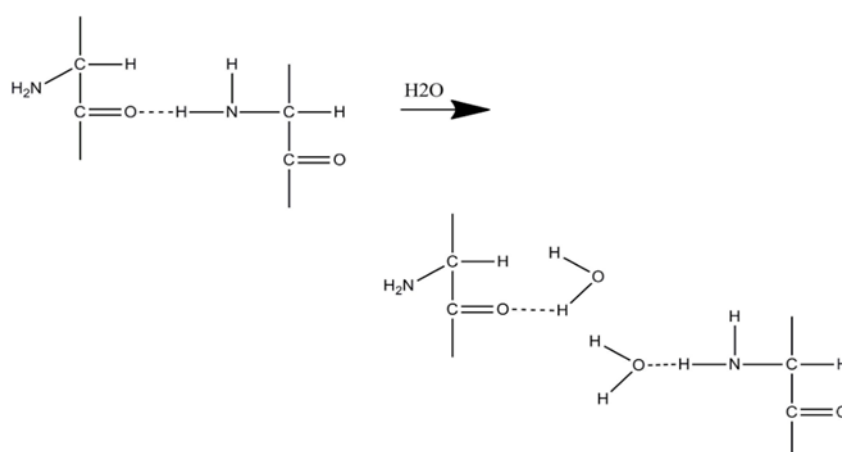


Figure 7 : mécanisme de stérilisation par chaleur humide [26]

2.3 Déroulement du cycle de stérilisation

Le cycle de stérilisation en autoclave comporte trois grandes étapes : le prétraitement, le traitement et le post-traitement.

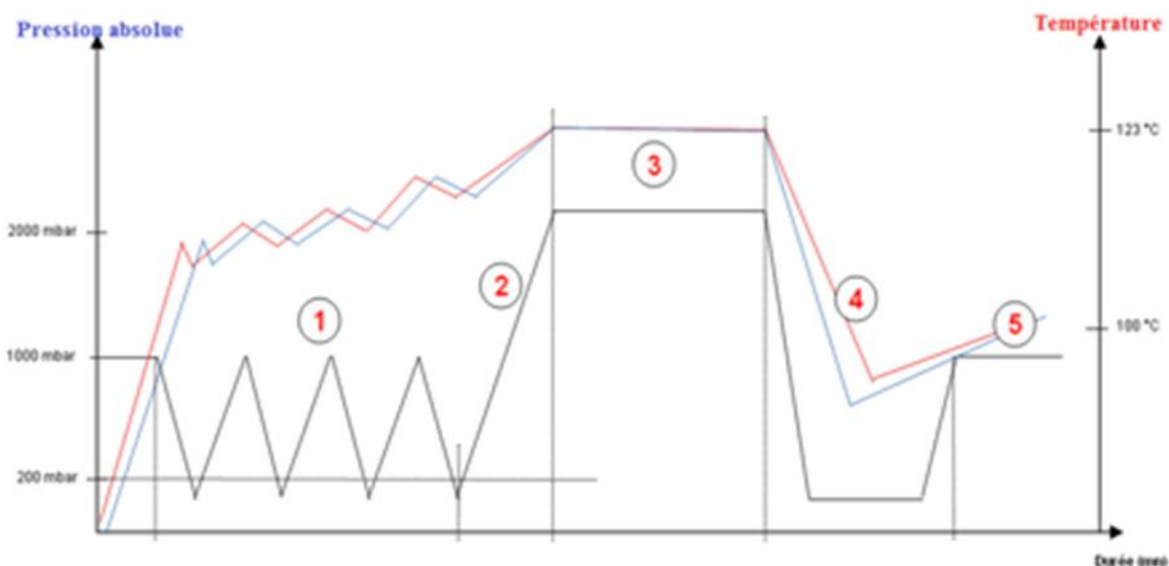


FIGURE 8 : CYCLE DE STERILISATION EN AUTOCLAVE

Première étape : le prétraitement

a) Prévide et injection de vapeur

Phase consistant à évacuer l'air de la chambre et de la charge, au moyen d'une pompe à vide, puis à injecter de la vapeur par pulse.

Cela se traduit par une évacuation de l'air présent dans les éléments de la charge ; toute poche d'air restant dans la charge représente un obstacle à l'action stérilisante. Une succession de vides et de réinjections de vapeur d'eau est effectuée, selon un rythme défini. Le but de cette opération est de substituer l'ensemble de l'air contenu dans la chambre et dans les charges par de la vapeur d'eau. Cette phase est particulièrement adaptée aux matériels poreux qui renferment de l'air (tubulures, filtres et systèmes de remplissage). Les pulses de vapeur permettent également le réchauffement de la charge et prépare sa mise en température.

b) Chauffage

Après évacuation de l'air, une phase de montée en pression et en température est observée. La charge atteint la température de consigne et cette dernière s'équilibre. La phase de montée en température ne doit pas être trop rapide afin de permettre à l'ensemble des éléments de la charge d'atteindre la température de consigne.

Deuxième étape : Le traitement

c) Exposition

Phase au cours de laquelle la température d'exposition est maintenue dans des limites spécifiques pendant la durée d'exposition nécessaire pour obtenir la létalité physique et biologique souhaitée. Tous les éléments de la charge et en tous points sont exposés à la température requise, ceci est l'étape de stérilisation proprement dite.

Troisième étape : Le post traitement

d) Séchage

Les charges d'éléments stérilisées devant sortir en état sec, le séchage est donc indispensable. Il est réalisé par tirage au vide et/ou par balayage d'air.

e) Refroidissement

Réalisé par circulation d'eau froide dans la double enveloppe et/ou balayage d'air dans la chambre. Une baisse de la pression est également réalisée pour un retour à la pression atmosphérique.

La charge est refroidie ce qui permet d'assurer la sécurité des opérateurs lors du déchargement des charges [29].

2.4 Principe d'inactivation des microorganismes

Les travaux de recherches [13] ont démontré que tous les procédés de stérilisation obéissent aux mêmes lois d'inactivation des microorganismes. Dans ce qui suit, nous nous consacrerons aux expérimentations faites sur des procédés de stérilisation par chaleur humide. Les résultats obtenus seront extrapolables aux autres types de procédés.

Afin de déterminer le type de lois à laquelle obéit l'inactivation des microorganismes par chaleur humide, une suspension de souches bactériennes pure de *Bacillus Stearothermophilus* sous forme de spores à concentration connue fut préparée (souche avec la forme la plus résistante à la chaleur humide). Cette suspension est mise dans l'autoclave et exposée à la chaleur humide. Afin d'apprécier l'efficacité de la méthode de stérilisation, un suivi des paramètres temps/température est effectué avec un dénombrement de la charge microbienne. Ne pouvant pas faire varier les deux paramètres en même temps, deux expériences séparées ont été menées. Durant la première, la température est fixe et la durée (temps) d'exposition est variable et dans la seconde la température est variable et la durée est fixe [13].

Les deux expériences ont donné lieu à deux lois d'inactivation des microorganismes (décroissance microbienne) répondant à un modèle logarithmique [13]. Le détail de ses deux expériences est le suivant :

Première loi : décroissance de la charge microbienne en fonction du temps d'exposition (valeur D)

Après exposition de la solution microbienne préparée à une stérilisation à température fixe, en fonction du temps, une destruction d'une partie des germes présents est observée, tandis que d'autres ont conservé le pouvoir de reproduction. Les résultats obtenus montrent que le nombre de microorganismes survivants varie en sens inverse avec la durée de traitement. C'est une décroissance exponentielle qui tend vers zéro sans jamais l'atteindre, l'expression de la fonction est la suivante :

$$N(t) = N_0 e^{-kt} \quad \text{ou} \quad \log(N/N_0) = -kt$$

Avec :

N : le nombre de microorganismes survivants à l'instant " t "

N_0 : le nombre de microorganismes initial avant stérilisation

K : constante de vitesse

T : temps

Le signe (-) indique qu'il s'agit d'une décroissance

De cette expérience il en ressort la valeur D . C'est une valeur qui correspond à la durée permettant une réduction décimale de charge microbienne en fonction du temps. En d'autres termes, " D " est la durée nécessaire pour faire baisser le nombre de microorganismes d'un facteur de 10. " D " est exprimée en minutes avec en indice inférieur la température fixée (D_T). Le graphique ci-dessous illustre la valeur " D " [13].

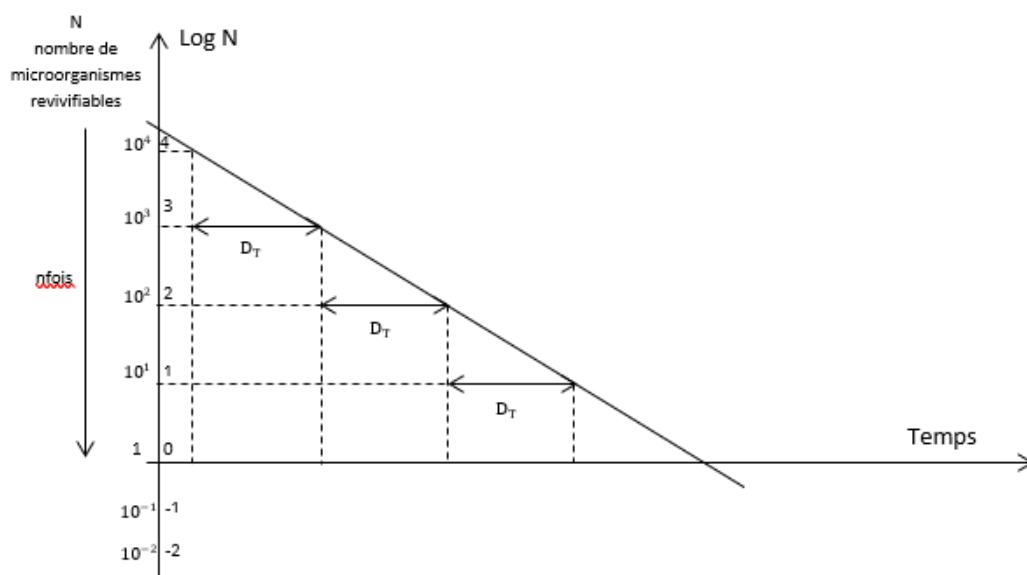


FIGURE 9 : COURBE DE DECROISSANCE DES MICROORGANISMES SELON LA PREMIERE LOI [13]

Seconde loi : décroissance de la charge microbienne en fonction de la température (valeur Z)

Après exposition de la solution microbienne à une stérilisation pendant une période fixe, en fonction de la température. Une destruction des microorganismes d'allure similaire à celle observée dans la première loi est observée. Le nombre de microorganismes survivants varie en sens inverse avec la température de traitement. C'est une décroissance exponentielle qui tend vers zéro sans jamais l'atteindre, l'expression de la fonction est la suivante :

$$N(t) = N_0 e^{-k\theta} \quad \text{ou} \quad \ln(N/N_0) = -k\theta$$

Le nombre de microorganismes décroît en fonction de la température et cette diminution obéit également à une loi exponentielle.

Avec :

N : le nombre de microorganismes survivants à l'instant "t"

N₀ : le nombre de microorganismes initial avant stérilisation

K : constante de vitesse

θ : température

Le signe (-) indique qu'il s'agit d'une décroissance

De cette expérience il en ressort la valeur "z". C'est une valeur qui correspond à l'élévation de température nécessaire permettant de réduire 10 fois la valeur de D_T, ou l'augmentation de température qui multiplie par 10 la vitesse de destruction des microorganismes. "z" est exprimée en degrés Celsius [13].

La valeur de “z” du *Bacillus Stearotherophilus* est de 10°C.

Le graphique ci-dessous illustre la valeur “z”

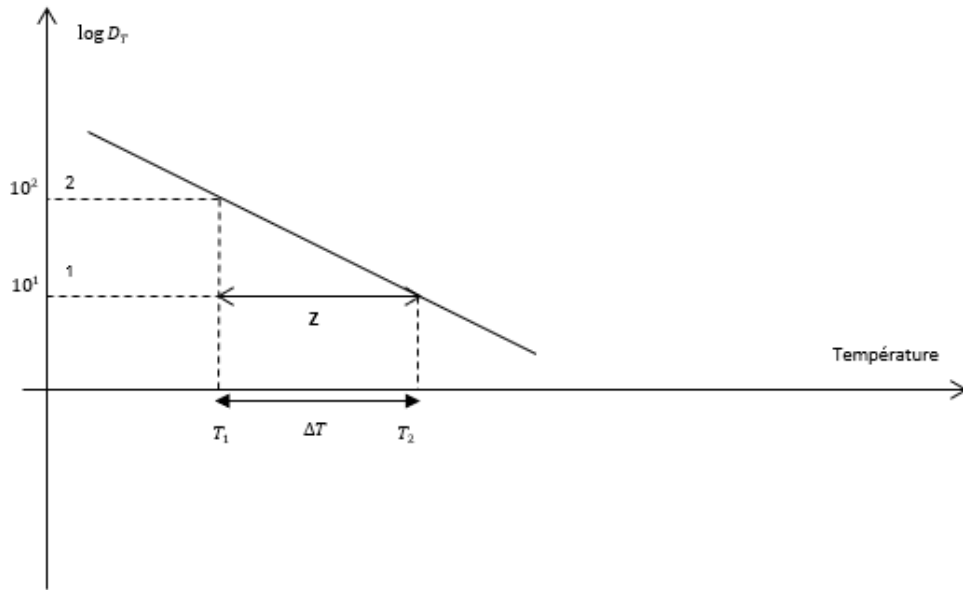


FIGURE 10 : COURBE DE DECROISSANCE DES MICROORGANISMES SELON LA DEUXIEME LOI [13]

Conclusion des deux lois de décroissance des microorganismes :

Les courbes d'inactivation des microorganismes obtenues tendent vers le zéro sans jamais l'atteindre. Ce qui porte à dire que l'état de stérilité absolue n'existe pas, c'est pour cela nous parlons d'un état de stérilité relatif et d'un NAS de 10^{-6} . De ce fait, plus la charge microbienne de départ est faible, moindre est le risque de retrouver des microorganismes survivants après stérilisation [13] [30].

2.5 Le taux de létalité

Pour mieux appréhender la notion de valeur stérilisatrice qui suit, il est important de définir un paramètre non évoqué précédemment le taux de létalité “L”.

Il indique l'efficacité relative d'une stérilisation à une température donnée par rapport à une température de référence. Cette valeur découle des lois précédentes de temps et de température. Pour calculer le taux de létalité, on prend comme référence l'efficacité de la stérilisation à 121°C pendant une minute, à laquelle on attribue un taux de létalité relatif de 1 par conséquent une valeur stérilisatrice d'une minute [13] .

$$L_Z^T = \frac{\text{effet léthal à la température } T}{\text{effet léthal à la température } T_{\text{réf}}}$$

2.6 La valeur stérilisatrice F0

Afin d'évaluer l'efficacité d'un cycle complet de stérilisation, la connaissance de sa valeur stérilisatrice est indispensable. Cette valeur est symbolisée par la lettre F par référence au degrés Fahrenheit rappelant la valeur stérilisatrice mise au point aux Etats Unis dans l'industrie des conserves.

La valeur stérilisatrice représente la somme des effets stérilisants cumulés au cours du cycle de stérilisation. Elle est représentée par la surface sous la courbe du graphe d'inactivation des microorganismes (taux de létalité en fonction du temps).

La Figure 11 ci-dessous représente la destruction des microorganismes lors d'un cycle de stérilisation. Ce dernier est découpé en intervalles de temps courts et égaux ($\Delta t = 30$ secondes en général) pendant lesquels la température et donc l'efficacité relative est constante. La valeur stérilisatrice lors d'une stérilisation est donc la somme (l'intégration) des contributions de chaque intervalle Δt de 30 secondes (avec une température relative de 120°C) [13].

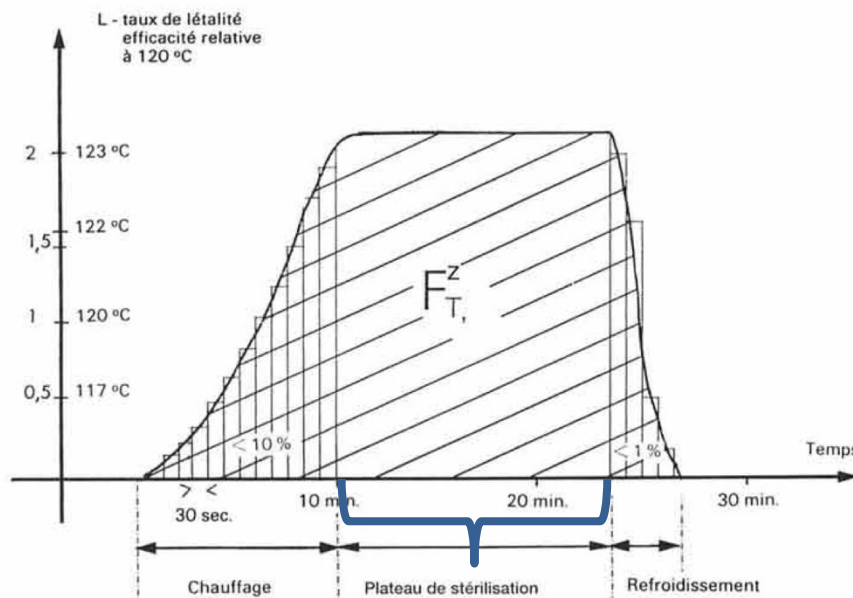


FIGURE 11 : CALCUL DE LA VALEUR DE F0 [13]

Que représente concrètement la valeur F₀ ?

F₀ est le temps, en minutes, de la valeur stérilisatrice, à une température de 250°F (121°C) et un z de 18°F (10°C).

$$F_0 = F_{250^{\circ}F}^{18^{\circ}F}$$

Dans le cadre du projet de SP de la présente thèse, des spécificités s'ajoutent au F₀. En effet, nous avons calculé le F₀ que sur la durée du plateau (durée d'exposition). La valeur obtenue est donc la surface sous la courbe délimitée par le plateau comme l'illustre le schéma ci-dessus (partie avec l'accolade).

Ci-dessous un exemple de calcul du F₀ à SP :

$$F_0 = \int_0^t 10^{\frac{T-T_{ref}}{z}} dt$$

avec :

T = Température mesurée à l'instant t

T_{ref} = 121,1°C

z = 10°C.

Dt = 20 min = durée du plateau

Par exemple, F₀ pour un cycle dont la température d'exposition est à 121,5°C, pour un dt de 20 min est calculé de la manière suivante :

$$F_0 = 10^{(121,5-121,1)/10} \times 20 = 20 \times 1,096 = 21,9 \text{ minutes}$$

F₀ est le temps, en minutes, de la valeur stérilisatrice, à une température de 250°F (121°C) et un z de 18°F (10°C) (avec 1°F = un degré Fahrenheit) [13].

$$F_0 = F_{250^\circ F}^{18^\circ F}$$

En pratique, lors des essais que je vais décrire plus loin, la valeur de F₀ servira d'indicateur pour le classement des éléments. L'élément dont le F₀ est le plus petit représentera l'élément le plus difficile à stériliser.

2.7 Outils de maîtrise de la température de la pression et de la charge microbienne

Pour s'assurer du bon fonctionnement de l'autoclave, il est nécessaire d'effectuer des contrôles. Avant toute utilisation, il faut inspecter son état général : propreté, système d'étanchéité de la porte et système de verrouillage en bon état de fonctionnement. Il est essentiel de respecter les délais entre deux maintenances selon les recommandations du fournisseur.

Dans le cadre du projet que j'ai mené à SP, nous avons donc procédé à la vérification que tous les éléments intervenants dans le contrôle de la température, de la pression et de la charge microbienne étaient bien conformes.

➤ Thermocouples

Les thermocouples « TC » utilisés dans le cadre de la validation du procédé de stérilisation par autoclave sont reliés à une centrale d'acquisition de température. Ces thermocouples reliés à la centrale d'acquisition permettent un suivi de la température en temps réel tout au long du cycle de validation de la stérilisation.

La Figure 12 illustre la centrale d'acquisition, les thermocouples (fils en couleurs) et l'ordinateur permettant de visualiser le suivi de température [29].



FIGURE 12 : THERMOCOUPLES RELIES A LA CENTRALE D'ACQUISITION DE TEMPERATURE [29]

Les thermocouples « TC » utilisés lors de la validation sont classés en deux catégories selon leurs emplacements et leurs rôles en Figure 13 :

- TC de distribution : placés au niveau de points stratégiques (D1, D2 et D3 dans le schéma ci-dessous) dans la chambre d'autoclave afin de s'assurer de l'homogénéité de distribution de la température dans la chambre.
- TC de pénétration : placés dans les éléments à stériliser afin de s'assurer de la bonne pénétration de la chaleur dans les éléments à stériliser.
- TC de drain : placé au niveau du drain de la chambre d'autoclave (point rouge dans le schéma ci-dessous). Le drain est le point le plus froid de l'autoclave contenu de la conception et des condensats qui y sont déversés. Ce point nous sert de levier de contrôle de la température et de passage d'une phase à une autre du cycle de stérilisation. Lorsque le TC du drain atteint la température de stérilisation ciblée, nous pouvons dire que l'ensemble de la chambre a également atteint cette température cible. [29]

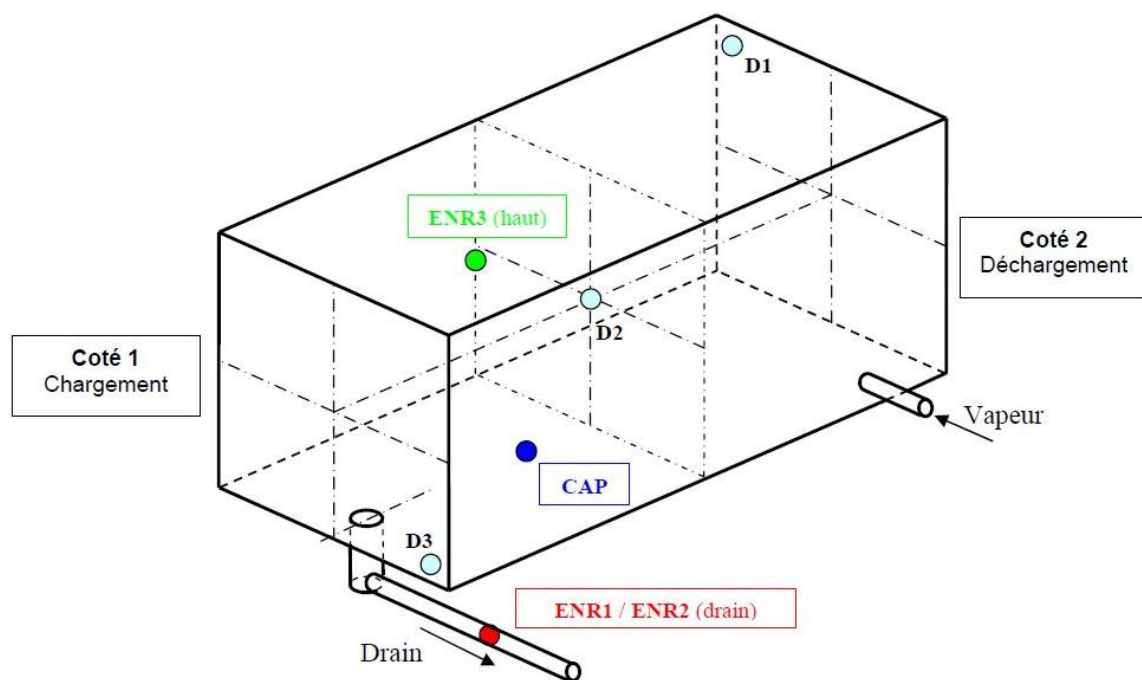


FIGURE 13 : EMBLEMMENT DES THERMOCOUPLES DE DISTRIBUTION DANS LA CHAMBRE D'AUTOCLAVE [29]

Un thermocouple est un capteur nous permettant une mesure de la température. Il est constitué de deux fils conducteurs de matières différentes. Ils sont soudés à une extrémité (soudure chaude, point rouge sur le schéma ci-dessous) partie avec laquelle nous mesurons la température tant dis que les deux autres extrémités restent libres (soudures froides, points bleus sur le schéma ci-dessous).

La capture de température par un TC est basée sur le principe de « Seebeck ». En effet le changement de température au niveau de la soudure chaude génère un courant thermoélectrique, responsable ainsi de la survenue d'une tension faible entre les deux extrémités non connectées. Cette tension résultante est liée d'une part à la température et d'autre part à la nature du matériau conducteur constituant les fils. L'apparition de ce courant mesuré par un voltmètre est ensuite traduite en température [31] [32].

Le schéma ci-dessous illustre l'effet Seebeck :

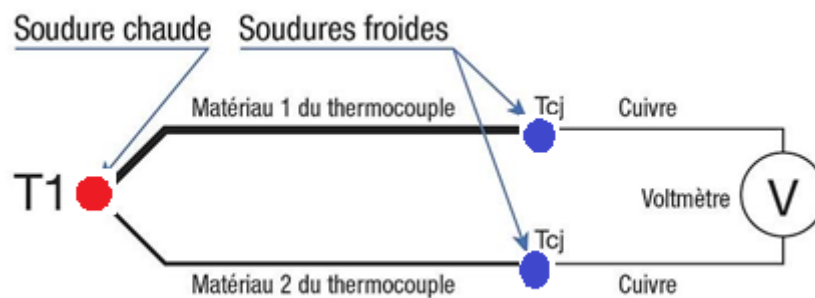


FIGURE 14 : EFFET SEEBECK [29] [30]

➤ Sondes de pression

La pression étant un paramètre déterminant dans le procédé de stérilisation par autoclave, son suivi est donc obligatoire. Pour ce faire, des sondes de pression dites aussi capteurs de pression sont utilisés. Ils convertissent la pression en un signal électrique et plus précisément un signal analogique. Un signal analogique est un signal variant en fonction du temps. La pression est ainsi relevée et suivies tout au long du cycle de stérilisation [29] .

➤ Indicateurs biologiques

Les indicateurs biologiques « IB » sont constitués de spores très résistantes de type *Bacillus stearothermophilus* à une concentration d'environ 10^5 spores / IB.

Les IB peuvent se présenter sous deux formes :

- Bandelettes imprégnées de souches de *Bacillus stearothermophilus*
- EZ-Test constitués d'une ampoule contenant du milieu de culture ainsi que des souches de *Bacillus stearothermophilus*.

La forme d'IB utilisée dépend de l'élément dans lequel celui-ci sera introduit. Si diamètre ou espace d'introduction petits, la forme bandelettes sera privilégiée.

Les IB sont introduits en même temps que la charge à stériliser afin de mesurer la destruction de la charge microbienne. Après le déroulement du cycle de stérilisation, les IB sont incubés au laboratoire de contrôle qualité. Si l'opération de stérilisation est efficace les spores seront détruites (Figure 15) [33].

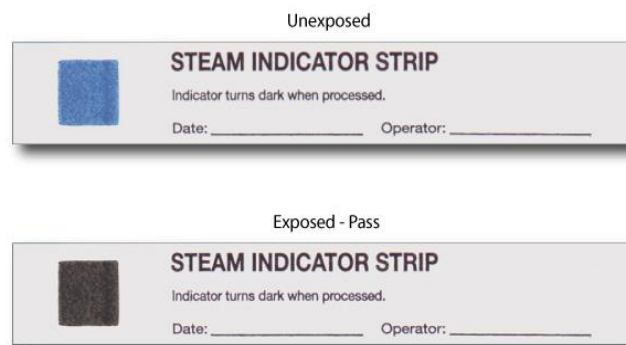


FIGURE 15 : INDICATEURS BIOLOGIQUES AVANT ET APRES UTILISATION [33]

3. Validation du procédé de stérilisation par chaleur humide sur le site de SANOFI PASTEUR

Après avoir détaillé le principe de la stérilisation par chaleur humide ainsi que le fonctionnement d'un autoclave, je présenterai dans ce qui suit l'application et mon implication sur la mise en place d'une nouvelle stratégie de validation d'un procédé de stérilisation en autoclave à SP.

Pendant mon alternance j'ai pu déployer la stratégie de validation du procédé de stérilisation par chaleur humide en autoclave à travers une procédure qualité. Cette stratégie tient compte : des exigences réglementaires, de la stratégie de validation de procédés du site et des différentes remarques lors d'inspection des autorités de santé (ANSM et FDA).

La stratégie décrite dans cette procédure est détaillée dans le schéma ci-dessous :

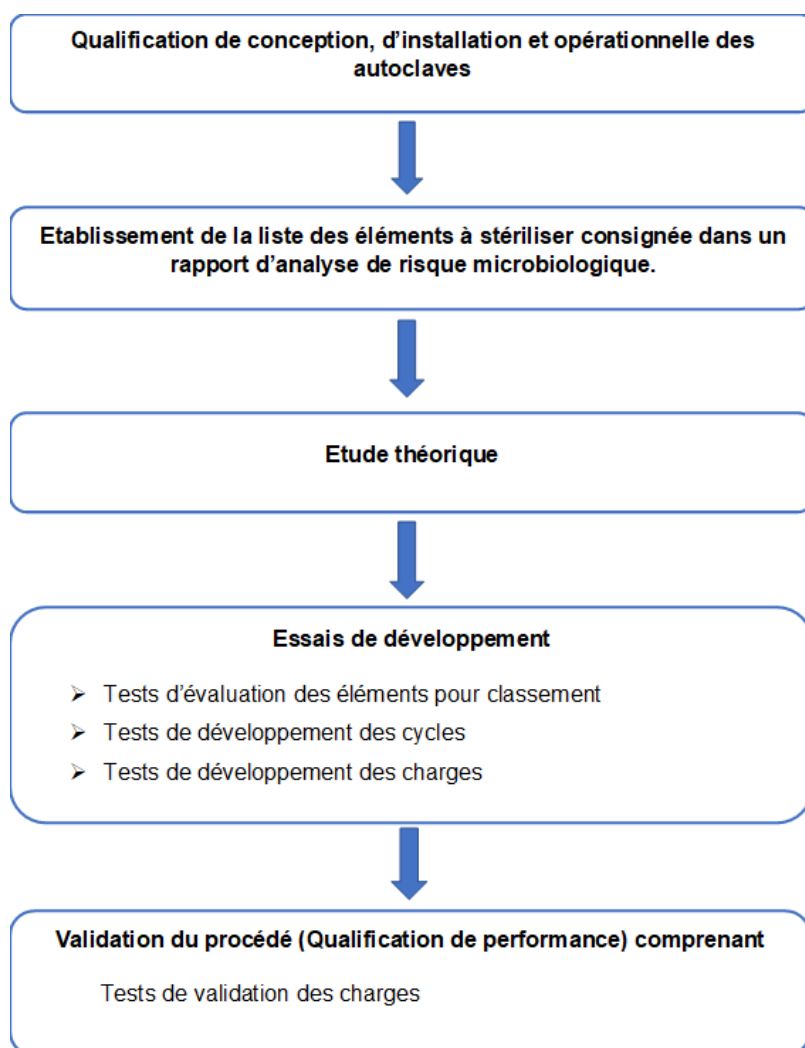


FIGURE 16 : STRATEGIE DE VALIDATION DU PROCEDE DE STERILISATION PAR CHALEUR HUMIDE EN AUTOCLAVE

J'ai ensuite suivi une partie de la mise en place (pratique) de cette stratégie :

- qualification de conception, d'installation et opérationnelle des autoclaves.
- établissement de la liste des éléments à stériliser consignée dans un rapport d'analyse de risque microbiologique.
- étude théorique.
- essais de développement (première partie)

Le contexte Covid-19 vécu en 2020, a eu impact considérable sur le projet mené à SP en termes de planning. Les essais de développement se sont vus décalés et je n'ai donc pas pu suivre le déroulement de l'ensemble de la stratégie implémentée.

Néanmoins, dans la partie pratique qui va suivre, je décrirai l'ensemble de la stratégie mise en place avec un focus sur les parties auxquelles j'ai participé en pratique.

3.1 Qualification de conception, d'installation et opérationnelle des autoclaves

Les essais de qualifications de conception et d'installation de l'autoclave doivent répondre aux exigences réglementaires décrites dans le chapitre III paragraphe 3 Qualification d'un équipement ainsi qu'à la procédure générale de qualification de site.

Dans le cadre du projet de SP, l'autoclave existant déjà sur le site, nous n'avons pas eu à refaire l'ensemble des tests de qualification (tests de QC, incluant les TAU, TAS et tests de QI). Cependant, les tests de QO présentés ci-dessous ont été refaits et considérés comme des prérequis pour démarrer les essais de développement :

- qualité de la vapeur ;
- étanchéité au vide ou en pression ;
- pénétration de la vapeur de type *Bowie Dick* ;
- intégrité des filtres ;
- contrôle d'homogénéité de température à vide.

L'ensemble des tests ci-dessus ont été réalisés par l'équipe de techniciens du département technique et du département de production.

➤ **Qualité de la vapeur**

La qualité de la vapeur doit être vérifiée conforme selon l'EN285, norme européenne, adoptée en 2008. Elle définit les exigences et les essais relatifs aux grands stérilisateurs à la vapeur d'eau utilisés dans le domaine de la santé. La vapeur à usage pharmaceutique utilisée dans les procédés de stérilisation doit être à l'état de vapeur saturée, c'est à dire en état d'équilibre thermodynamique entre les deux phases gazeuse et liquide, soit l'état idéal entre la vapeur humide et la vapeur surchauffée.

Lorsque la vapeur est à l'état saturé, en l'absence d'autres gaz, il existe une corrélation entre la pression et la température qui doit être testée en Qualification Opérationnelle (QO). La vapeur initialement saturée peut devenir humide et contenir des gouttelettes d'eau lors du transfert thermique atteignant ainsi l'équipement à stériliser. La formation de gouttelettes pénalise la stérilisation en augmentant la quantité de condensats. Un condensat est un liquide obtenu par la transformation de la vapeur d'eau de l'état gazeux vers l'état liquide, ceci par un transfert d'énergie.

La qualité de la vapeur a donc été vérifiée sur le site de SP avant l'étape de validation proprement dite du procédé de stérilisation. Après lancement d'un cycle de test, la vérification

se fait *via* l'automate de pilotage intégré à l'autoclave (critères de pression et de température conformes et absence de condensats d'eau à l'ouverture de l'autoclave).

➤ **Étanchéité dans les autoclaves**

La vapeur d'eau, la température et la pression étant des éléments conditionnant la stérilisation des éléments dans l'autoclave, il est donc impératif de vérifier qu'il n'existe pas de fuites au sein de la chambre de l'autoclave. Selon l'installation, ce test peut être réalisé sous vide ou sous pression.

- Test d'étanchéité sous vide.

C'est un test utilisé pour vérifier qu'un volume de fuite d'air défini dans la chambre de l'autoclave, pendant les phases de vide, n'excède pas une valeur qui impacterait la pénétration de la vapeur d'eau dans la charge à stériliser, ou constituerait un risque potentiel de recontamination de la charge stérilisée pendant le séchage.

- Test d'étanchéité sous pression.

C'est un test utilisé pour vérifier qu'un volume de fuite d'air défini dans la chambre de l'autoclave, pendant les phases en pression, n'excède pas une valeur qui impacterait la qualité de l'air extérieur, et constituerait un risque potentiel de contamination de l'environnement.

La validation de ces tests se fait également *via* l'automate intégré à l'autoclave. A la fin d'un cycle de test d'étanchéité, si le cycle est conforme, la mention « ok » sera générée par l'automate.

➤ **Pénétration de la vapeur de type Bowie Dick**

Un test Bowie-Dick permet de vérifier l'homogénéité et la rapidité de pénétration de la vapeur dans des charges solides et poreuses (ex : filtres, montages, tissus, bouchons).

Le test est composé d'un indicateur chimique localisé au milieu d'une épaisseur de papier simulant une charge poreuse. L'indicateur est formé d'un motif en couleur imprégné d'un réactif chimique. Au contact de la vapeur d'eau sur l'ensemble de la surface de l'indicateur, le réactif provoque un changement de couleur uniforme du motif.

➤ **Intégrité des filtres de l'autoclave**

Le but de ce test est de vérifier l'intégrité des filtres de l'autoclave. Les filtres sont de nature hydrophile. Un filtre évent hydrophile a pour rôle de filtrer l'air rentrant dans l'autoclave et régissant la vapeur d'eau saturée. Ces filtres ont un diamètre de 0,22 µm, qui correspond au diamètre permettant de garantir une stérilité.

L'intégrité a été testée en QO :

- avant le cycle de stérilisation, de manière à s'assurer de l'intégrité des filtres lors de la cartographie thermique ;
- après le cycle de stérilisation, pour démontrer que le cycle n'endommage pas les filtres.

Le test d'intégrité de ces filtres est un test de point de bulle. Ce test consiste à faire passer du liquide (dans notre cas de l'eau) à travers le filtre à tester. Une quantité du liquide est retenue dans les pores du fait des forces de tension de surface et par capillarité. La quantité de liquide est ensuite mesurée et si elle est conforme aux spécifications du filtre concerné, le test est conforme.

➤ **Contrôle d'homogénéité de température à vide**

Ce test consiste à contrôler la distribution homogène de la température à l'intérieur de l'autoclave. Des thermocouples sont placés dans l'enceinte à vide c'est-à-dire sans éléments à stériliser. Ce test mené dans le cadre du projet de SP est considéré comme essentiel car il tient compte du comportement de la chambre d'autoclave à vide.

J'ai vérifié avec la chargée de validation de procédés, la conformité de ces essais afin de valider le déroulement et les résultats des essais de développement qui suivront.

3.2 Etablissement de la liste des éléments à stériliser consignée dans un rapport d'analyse de risque microbiologique

Afin de définir les charges à stériliser, nous avons établi la liste des éléments (matériels) utilisés lors du procédé de fabrication des vaccins et nécessitant une stérilisation.

J'ai participé à des ateliers en tant que représentante en AQ, avec l'équipe de production, l'équipe d'ingénierie et l'équipe de Manufacturing Technologie. Le but de ces ateliers était de déterminer la liste des éléments à stériliser en autoclaves.






Les étapes ci-dessous résument la démarche suivie :

a) Liste exhaustive des éléments mobiles utilisés dans le procédé de fabrication

Nous avons établi une liste exhaustive de tous les éléments mobiles utilisés dans le procédé de production. Nous parlons d'éléments mobiles car les éléments en emplacements fixes requièrent un traitement spécifique dit de stérilisation en place.

Aux éléments mobiles listés, nous avons joint les montages auxquels ils appartiennent. En effet, lors du procédé de fabrication du vaccin, les éléments sont assemblés pour former des montages, qui sont à leurs tours raccordés aux équipements fixes. Tous les éléments sont codés de manière unique et définitive afin d'en assurer la traçabilité pour les tests de validation et l'utilisation en routine. Le Tableau 3 ci-dessous présente quelques exemples de montages utilisés lors du procédé de fabrication de vaccins.

TABLEAU 3 : EXEMPLES DE MATERIELS A STERILISER

	
<p>Vanne</p>	<p>Rallonge</p>
	
<p>Cuve</p>	<p>Flacon</p>
	
<p>Filtre</p>	

b) Rapport d'analyse de risque microbiologique

J'ai par la suite participé toujours en tant que représentante en AQ au déroulement de l'analyse de risque microbiologique afin de sélectionner les éléments à stériliser. En effet, d'après les guidelines de l'ICH Q9, les évaluations ainsi que les décisions qualité prises en industrie pharmaceutique doivent se baser sur le principe d'une analyse de risque. Dans le cadre de la présente thèse et du projet de SP, c'est l'analyse de risque microbiologique (ARM) qui est abordée. Cette analyse déterminant le risque de contamination microbiologique du matériel utilisé à chaque étape du procédé de fabrication et le niveau de maîtrise requis.

Ainsi, l'ARM définit pour chaque élément utilisé lors des étapes du procédé de fabrication, le besoin ou non d'être stérilisé avant utilisation. Ceci afin de respecter le niveau d'exigence d'assurance de stérilité requis à l'étape de son emploi.

Les départements d'ingénierie et de production ont déterminé des niveaux de biocontamination (NB) pour chaque étape du procédé de fabrication. Un niveau de biocontamination définit un statut de maîtrise de la biocharge (charge microbienne), en fonction de :

- l'étape du procédé et du positionnement de celle-ci par rapport au traitement stérilisant si applicable.
- l'étape est favorable ou non au développement de microorganismes,
- l'étape d'attente ou de stockage qui représentent un risque pour le produit en termes de développement de micro-organismes,
- la présence ou non de facteurs permettant de limiter ou maîtriser le développement de microorganismes (ex : filtration en aval de l'étape considérée).

Il en découle trois NB d'exigences décroissantes :

- i. Niveau de Biocontamination 1 - NB1 : « Stérilité »

Une étape d'un procédé est ainsi qualifiée lorsque les opérations effectuées garantissent la stérilité ou la pureté du produit alors que celui-ci ne subit pas de traitement stérilisant ultérieur.

- ii. Niveau de Biocontamination 2 - NB2 : « Bioburden 0 »

Une étape d'un procédé est ainsi qualifiée lorsque les opérations effectuées ne doivent pas être contaminées par un agent biologique extérieur au produit, ce dernier subissant un traitement stérilisant ultérieur. Une absence de biocharge est requise.

iii. Niveau de Biocontamination 3 - NB3 : « Maîtrise du bioburden »

Une étape d'un procédé est ainsi qualifiée lorsque les opérations effectuées nécessitent une maîtrise de la charge microbienne en limitant les contaminations externes. Une maîtrise de biocharge est requise.

Pour chaque élément de la liste exhaustive établie, un NB est attribué. Ceci en fonction de l'étape du procédé dans laquelle intervient l'élément.

Après avoir associé un NB à chaque élément, le traitement adéquat a été attribué comme suit :

- Un élément classé NB2 requiert une stérilisation en autoclave.
- Un élément classé NB3 requiert une sanitation. Une sanitation se déroule en autoclave avec des critères d'acceptabilités de cycle moins drastiques que la stérilisation.
- Un élément déjà radiostérilisé chez le fournisseur ne requiert aucun traitement.

L'ensemble des éléments doivent être compatibles avec la stérilisation par la vapeur afin de garantir leur stérilisation (passage de la vapeur suffisant), leur stabilité (produits/matières thermosensibles) et leur intégrité à la fin du cycle de stérilisation.

Remarque :

Le NB1 n'est pas retrouvé dans la classification car au sein du site de NVL. Les produits vrac fabriqués sur le site de NVL n'ont pas le statut de stérile et ne requièrent donc pas les exigences liées à la stérilité. La stérilisation terminale du vaccin mis sous forme pharmaceutique se fera par filtration stérilisante dans un autre site de SP.

3.3 Etude théorique

Lors de la stérilisation en autoclave, les éléments sont placés sur des chariots à étagères. L'emplacement des éléments exige donc une certaine organisation. L'étude théorique a pour objectifs de regrouper les éléments à stériliser en familles et de sélectionner les éléments à tester pour l'étape de validation.

3.3.1 Constitution des familles et identification des chefs de famille

a) La constitution des familles

La constitution des familles s'appuie sur une démarche scientifique et tient compte de facteurs de similarité basés sur :

- le type de l'élément (filtre, cuves...),
- la nature du matériau (inox, élastomère...),
- l'encombrement et la masse de l'élément,
- le mode de positionnement (accrochés, posés)

Le Tableau 4 ci-dessous présente des exemples de familles de montages à stériliser.

TABLEAU 4 : FAMILLES DE MONTAGES A STERILISER



Famille Filtres

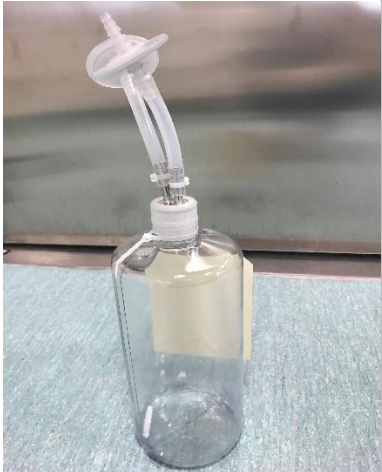
3



2



1



Famille Flacons



Famille Vannes



Famille Rallonges



Couloirs de remplissage (grand et petit format) et cuillère de pesée



Famille Cuve



Famille Cartère Filtre lenticulaire

b) Identification des chefs de famille théoriques

Un chef de famille est l'élément le plus difficile à stériliser au sein d'une même famille. La difficulté de la stérilisation réside dans la pénétration de la vapeur d'eau dans l'ensemble de l'élément et aussi dans la siccité (qualité de ce qui est sec et non humide) de l'élément à sa sortie de l'autoclave. Afin de mieux appréhender la notion de chef de famille, nous prendrons l'exemple de famille « Flacons » présentée dans le tableau 4 et nous déterminerons lequel sera le chef de famille. Le flacon 1 est considéré comme étant le plus facile à stériliser car celui-ci comporte un seul flacon relié à un filtre sans tubulures supplémentaires.

Le flacon 2 est plus difficile à stériliser que le flacon 1 car comporte des tubulures reliées à un autre petit flacon qui doit être aussi stériliser.

Le flacon 3 est le plus difficile à stériliser car plus complexe. En effet, il comporte plusieurs petits flacons reliés par des tubulures qui doivent aussi être stérilisés. Il faut que la vapeur d'eau puisse pénétrer dans l'ensemble des éléments qui doivent aussi sortir secs à la fin de la stérilisation. Le flacon 3 est considéré comme le chef de famille des trois types de flacons présentés ci-dessus.

Cette opération est menée pour chaque famille d'éléments afin de déterminer le chef de famille pour chacune d'elles.

3.3.2 Sélection des éléments à tester

Nous avons évalué unitairement tous les éléments à stériliser afin de déterminer s'ils doivent être testés ou non lors des étapes suivantes de développement. A l'issue de l'étude, les éléments sont catégorisés en éléments simples ou complexes. Le rationnel de sélection s'est basé sur des équivalences scientifiques démontrées ou par des données comparatives préalablement collectées et formalisées (parvenus du fournisseurs ou d'autres site SP utilisant les mêmes éléments). Les éléments pouvant potentiellement présenter des difficultés de séchage (longueur importante de tubulure, contenants en plastiques) font systématiquement partie des éléments à tester.

3.3.3 Rédaction du rapport d'étude théorique

Comme décrit plus haut dans les exigences documentaires de la validation, un rapport de l'étude théorique est donc requis. J'ai eu pour mission de relire le rapport établi par l'expert en stérilisation avant approbation de la chargée d'assurance qualité opérationnelle unité de validation de procédés. Le rapport de l'étude théorique comporte :

- les familles retenues avec la codification des éléments ainsi que leur complexité ;
- la sélection des éléments à tester lors des essais de développement
- le nombre de test préconisés.

3.4 Essais préliminaires de développement

Après l'étude théorique nous sommes passés aux essais préliminaires de développement. Au vu du retard cumulé sur le projet à cause de la crise sanitaire, ces essais ont été décalés. Je n'ai donc pas pu suivre l'intégralité de leurs déroulements et je n'ai pu assister et mener que les Essais Préliminaires 1 (EP1).

Cependant, dans ce qui suit j'ai décrit le contenu et la méthodologie de ces essais à travers la procédure qualité rédigée. J'exposerai également le contenu et l'enchaînement de ces essais tels qu'ils sont décrits dans la procédure que j'ai déployée.

Les essais préliminaires (EP) de développement se déroulent en amont de la validation du procédé de stérilisation (la validation se faisant après toutes les étapes de qualification QC, QI, QO et QP). Ces essais ont pour but de développer des cycles de stérilisation robustes permettant l'atteinte des critères physiques, biologiques et une siccité maximale pour les charges qui seront retenues pour la qualification de performance. Ces essais font l'objet de trois étapes distinctes : tests d'évaluation des éléments pour classement (EP1), tests de développement des cycles (EP2), tests de développement des charges (EP3).

Le Tableau 5 ci-dessous résume le contenu et le but de chaque test.

TABLEAU 5 : RESUME DES ESSAIS PRELIMINAIRES

Essai préliminaire	Définition de l'essai préliminaire
<p>EP1 : Tests d'évaluation des éléments pour classement</p>	<p>Après avoir classé théoriquement les éléments à stériliser par famille, chaque famille est testée. Cette classification sera confirmée et étayée davantage lors de ces tests. L'objectif de cette étape est d'étudier individuellement chaque élément devant être stérilisé afin de déterminer :</p> <ul style="list-style-type: none"> - l'emplacement du ou des points froids à l'intérieur de l'élément ; - l'orientation optimale (à la verticale ou à l'horizontale) permettant la meilleure pénétration de vapeur dans l'élément ; - la confirmation de l'élément « worst case » (également appelé chef de famille dans ce cas) représentatif défini comme étant le plus difficile à stériliser au sein de chaque famille; - l'identification des éléments potentiellement difficiles à sécher.
<p>EP2 : Tests de développement des cycles</p>	<p>Cette étape permet d'optimiser les cycles de stérilisation permettant d'assurer une bonne extraction d'air, une bonne pénétration de la vapeur dans les éléments et la siccité des éléments.</p>
<p>EP3 : Tests de développement des charges</p>	<p>Ce dernier essai préliminaire permet d'identifier les charges qui seront testées lors des essais de validation proprement dite. Les charges définies sont les charges "maxi", "mini" et les charges de familles d'éléments :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les charges "maxi" sont constituées de l'élément le plus difficile à stériliser de chaque famille (les chefs de famille). - les charges "mini" sont constituées de l'élément le plus difficile à stériliser de la charge maxi (l'élément « worst case » général). - le plan de chargement précis et définitif de chargement des familles d'éléments ainsi que l'emplacement des sondes (dans les éléments et dans l'autoclave).

3.4.1 Déroulement des essais préliminaire 1 : Tests d'évaluation des éléments pour classement.

a) Préparation et lancement des cycles de stérilisation

➤ Préparation des cycles :

J'ai mené les EP1 avec l'expert en stérilisation par autoclavage. Un cycle de stérilisation a préalablement été établi pour les tests par l'expert. Il a également consigné les éléments à stériliser, les schémas de montage et le conditionnement des éléments à stériliser dans un document nommé « spécifications des montages lors des EP1 ».

Les éléments sont placés par familles sur les chariots rentrant dans l'autoclave. L'orientation des éléments doit favoriser l'extraction de l'air et l'élimination des condensats (exemple : orientation d'un filtre vers le haut, utilisation de supports, crochets ou chariots adaptés). Une fois les chariots préparés, deux techniciens supérieurs du service métrologie, introduisent des thermocouples dits de « pénétration » ainsi que des indicateurs biologiques (IB) conjointement à l'intérieur des éléments à stériliser à de multiples endroits. Cela pour évaluer la pénétration ou non de la vapeur, le ou les emplacements difficiles à stériliser, ainsi que pour vérifier les données physiques (atteinte des critères d'acceptabilité) et biologiques (indicateurs biologiques). Le positionnement des thermocouples et des IBs ne doit pas impacter significativement les flux gazeux (extraction air, flux vapeur, séchage).

D'autres thermocouples dits de « distribution » sont placés à l'extérieur des éléments dans l'autoclave. Ces thermocouples permettent un contrôle et un suivi de la distribution de la température à l'intérieur de l'autoclave comme décrit dans le chapitre IV paragraphe 2.7 Outils de maîtrise de la température de la pression et de la charge microbienne. Des sondes de pression sont également placées dans l'autoclave pour assurer la surveillance et le suivi de la pression.

➤ Lancement des cycles :

Une fois les éléments prêts et placés dans l'autoclave, nous lançons le cycle préalablement défini et programmé dans le logiciel de l'autoclave. Le lancement d'un cycle d'autoclave nécessite une habilitation spécifique délivrée par un organisme agréé suivi d'une formation par compagnonnage sur le site de NVL. L'habilitation au pilotage de l'autoclave est un prérequis réglementaire. Ceci est dû à la dangerosité de l'équipement qui atteint des pressions élevées de plus de 2 bars et des températures de plus de 120°C. J'ai donc effectué l'habilitation autoclaves ainsi que la formation par compagnonnage en interne afin de pouvoir lancer des cycles de stérilisation.

Toutes les familles d'éléments ont été testées lors des EP1 au cours de deux essais indépendants par famille. Les essais ont duré un peu plus de six semaines pour tester l'ensemble des familles. Une fois le cycle de stérilisation achevé et la température de la chambre inférieure ou égale à 80°C, nous procédons à l'ouverture de l'autoclave et nous récupérons les chariots d'éléments stérilisés.

Afin de mieux appréhender le déroulement des essais, nous prendrons un exemple de famille d'éléments à stériliser : « la famille cuve ». La figure ci-dessous illustre les essais de stérilisation d'une cuve introduite dans l'autoclave muni de thermocouples. Les IBs ne sont pas visibles sur la photo car ils sont à l'intérieur même de la cuve.

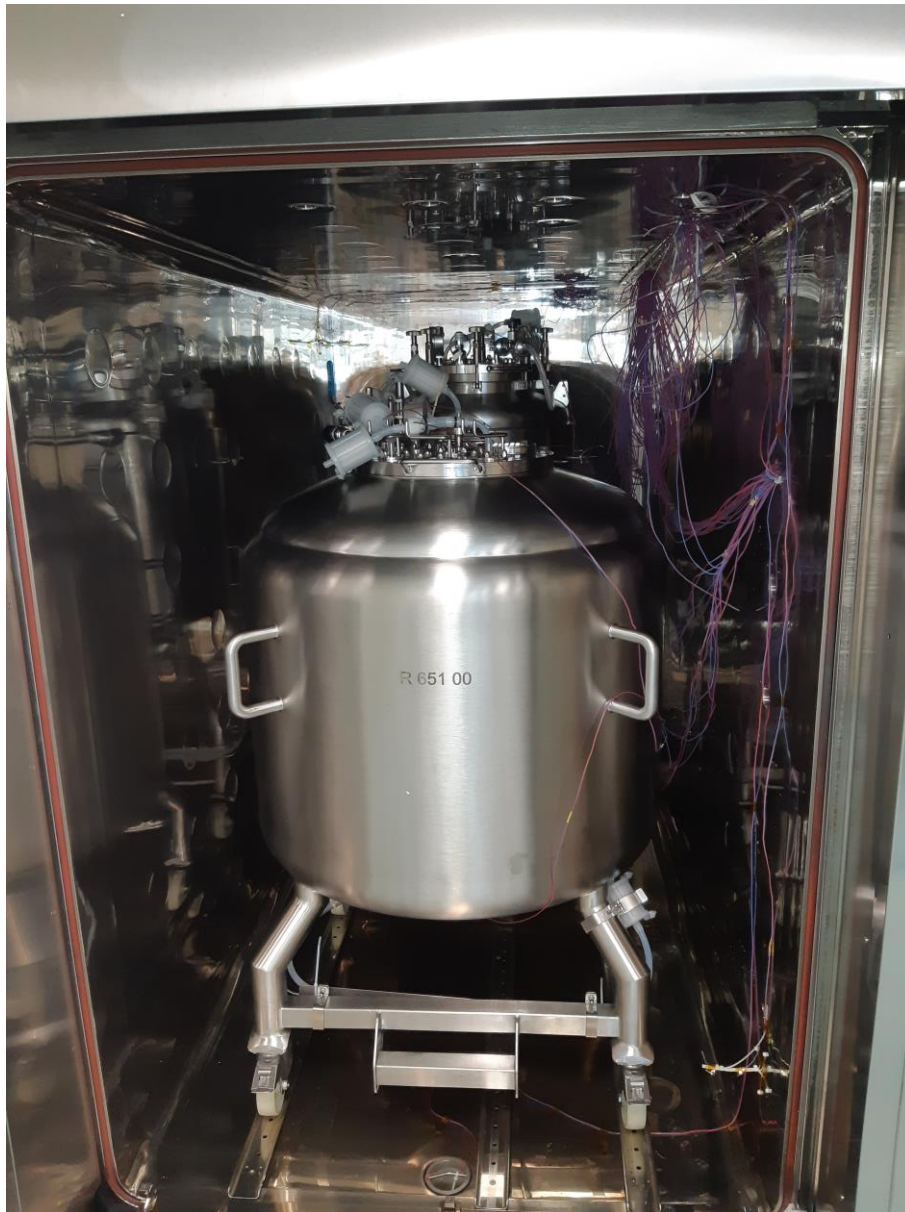


FIGURE 17 : CUVES SONDEES DANS L'AUTOCLAVE

Des photos supplémentaires des cuves figurent en annexe 02.

b) Conformité des cycles de stérilisation

La conformité des cycles de stérilisation est conditionnée par le respect des critères d'acceptabilité suivants :

- Absence de croissance des IB exposés,
- Croissance de l'IB témoin positif de contrôle,
- Phase d'équilibrage (E0 – E1) : durée $\leq 30s$,
- « Overshoot » de température : aucun thermocouple de pénétration ne dépasse de 2°C la consigne de température de stérilisation pendant les 60 premières secondes de la phase d'exposition (T0-T1),
- Uniformité des thermocouples de distribution : à chaque acquisition pendant la phase d'exposition stabilisée (T1-T2), l'écart de température entre la sonde de température la plus froide et la sonde de température la plus chaude ne doit pas excéder 2°C,
- Corrélation pression/température : pendant la phase d'exposition stabilisée (T1-T2), les températures mesurées par les thermocouples de pénétration, le thermocouple du drain et la température de la vapeur saturée dérivée de la pression mesurée dans la chambre doivent, à chaque acquisition :
 - Se situer dans les limites de la plage de température de stérilisation ($T_{\text{consigne}} - 1^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{consigne}} + 2^{\circ}\text{C}$)
 - Ne pas diverger entre elles, de plus de 2°C.
- La température du thermocouple de validation proche du drain doit être à $\pm 1^{\circ}\text{C}$ de celle de la sonde fixe du drain pendant toute la phase d'exposition stabilisée (T1-T2) ⁽¹⁾.
- Les sondes de température doivent se maintenir à $T^{\circ}\text{C} \geq 121,1^{\circ}\text{C}$ pendant la phase de maintien (E1-T2).
- La siccité des éléments est à titre indicatif pour les EP1 (on la vérifie afin d'anticiper d'éventuels écarts lors des EP2). Si l'écart entre le maximum et le minimum des valeurs de température sur la globalité de la phase d'exposition stabilisée respecte ce critère, il n'est pas nécessaire de faire le calcul sur chaque acquisition.

La figure ci-dessous illustre les phases du cycle de stérilisation :

Le graphique ci-dessous représente le résultat de mesure de la température *via* différents types de TC :

- TC du drain (en vert),
- TC présent dans la charge (en rouge),
- TC le plus lent à atteindre les 121,1°C dans la charge (en bleu)

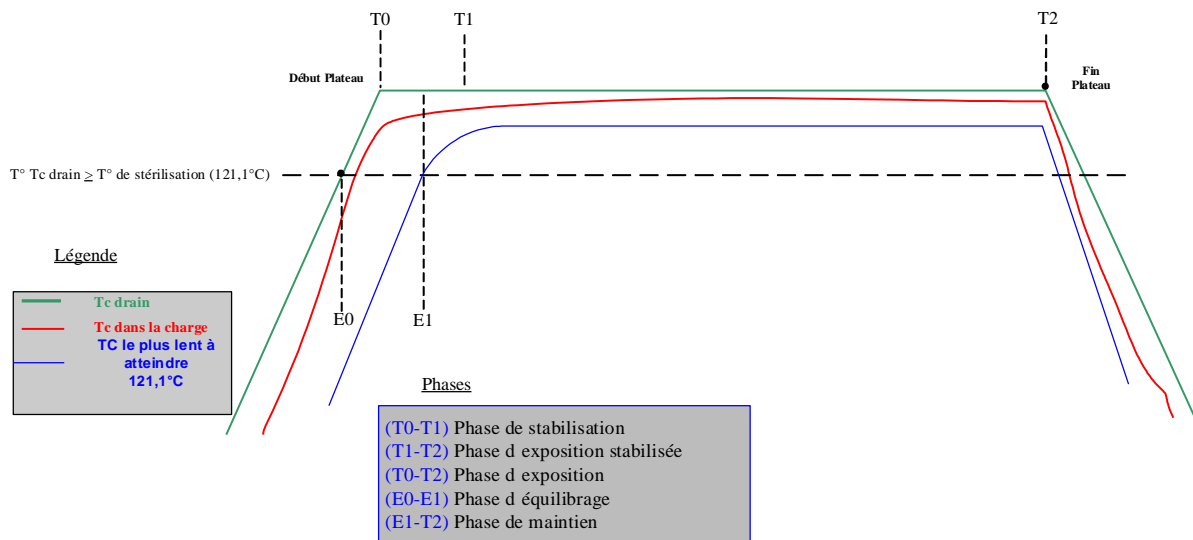


FIGURE 18 : CYCLE DE STERILISATION PENDANT LES ESSAIS

- Phase de stabilisation (T0-T1) : phase précédant l'atteinte du plateau de stérilisation
- Phase d'exposition (T0-T2) : phase incluant la phase de stabilisation + la phase d'exposition stabilisée.
- Phase d'exposition stabilisée (T1-T2) : phase durant laquelle tous les éléments de la charge ainsi que le drain ont atteint et dépassé les 121,1°C
- Phase d'équilibrage (E0-E1) : la phase durant laquelle la température atteint et dépasse les 121,1 °C, cette phase est dite aussi « temps retard »
- Phase de maintien (E1-T2) : le plateau pendant lequel nous calculerons la valeur de F0 à chaque point sondé par un TC.

Pour la famille cuves, prise comme exemple l'ensemble des critères d'acceptabilité ont été remplis excepté la siccité sur une cuve. En effet nous avons observé de l'eau dans les tubulures reliées à la cuve en sortie d'autoclave. Néanmoins, le cycle demeure conforme car le critère de siccité est à titre indicatif pour la suite des essais en EP2 et non discriminant pour les EP1.

c) Analyse des résultats des cycles de stérilisation

Pour rappel le but de l'analyse des résultats est :

- Identifier l'emplacement du ou des points froids à l'intérieur des éléments,
- Identifier l'orientation optimale permettant la meilleure pénétration de vapeur dans l'élément,
- Comparer les résultats afin d'identifier l'élément « worstcase » représentatif défini comme étant le plus difficile à stériliser au sein de chaque type d'élément et de chaque famille et la détermination des éléments équivalents (si applicable),
- Evaluer la siccité des éléments testés.

J'ai donc analysé les résultats obtenus des essais avec l'expert en stérilisation par chaleur humide. Nous avons suivi la démarche ci-dessous :

- Dès la fin du cycle de stérilisation et après déchargement, nous procédions au contrôle visuel de la siccité des éléments testés.
- Extraction des données brutes de température, de temp et de pression de la centrale d'acquisition sous forme de fichiers Excel.
- Calcul du F0 : valeur stérilisatrice calculée uniquement sur la phase de plateau dite phase d'exposition à partir des données brutes (comme mentionné précédemment dans le chapitre IV, paragraphe 2.6 La valeur stérilisatrice F0). Le calcul s'est fait à l'aide d'une feuille Excel « dite MACRO Excel » qualifiée avec la formule de F0 intégrée.
- Graphiques des profils de températures au plateau d'exposition des éléments de chaque famille. Les graphiques ont également été tracés via la MACRO Excel.

Une fois toute cette démarche effectuée, nous avons déterminé le point froid de chaque élément testé ainsi que le chef de chaque famille testée. En effet lors de l'étude théorique nous avons émis des hypothèses sur des points froids et de potentiels chefs de famille. Ces EP1 nous ont donc permis de confirmer ou non ces hypothèses théoriques.

Afin de déterminer le point froid de chaque élément (le point mettant le plus de temps à atteindre la température consigne de 121°C) nous observons le F0 le plus faible des points sondés au sein d'un même élément et en tenant compte des deux runs de chaque essai.

Le tableau ci-dessous résume les valeurs de F0 de chaque point sondé sur deux cuves différentes testées dans un même cycle :

TABLEAU 6 : RESULTATS DE L'ANALYSE DES VALEURS DE F0 POUR LA CHARGE CUVE

Désignation de l'élément testé	Essai 1		Essai 2	
	Repère sonde	F ₀ (min)	Repère sonde	F ₀ (min)
Cuve-01	A	28,26	A	29,48
	B	26,89	B	28,02
	C	27,61	C	28,86
	D	26,99	D	28,26
	E	27,02	E	28,61
	F	27,18	F	27,62
Cuve-02	G	26,90	G	27,75
	H	28,24	H	27,62
	I	23,35	I	28,44
	J	28,94	J	28,88
	K	27,36	K	27,63

Cuve-01 : le point sondé en B en bleu représente le F0 le plus faible et donc le point le plus froid de cette cuve.

Cuve-02 : le point sondé en I en bleu représente le F0 le plus faible et donc le point le plus froid de cette cuve.

Des deux cuves, celle qui est considérée la plus critique « worstcase », avec un F0 le plus faible est la cuve-02.

Afin de déterminer l'élément worstcase (chef de famille) de la famille Cuve, nous avons comparé les valeurs de F0 de toutes les cuves de la même façon.

Nous avons 6 cuves à tester réparties sur 3 cycles avec 2 runs pour chaque cycle. Cette répartition à 2 cuves par cycle tient compte des capacités (d'un point de vue volume) de l'autoclave.

Le tableau ci-dessous résume les valeurs de F0 obtenues pour les 6 cuves testées :

TABLEAU 7 : RESULTATS DES CYCLES DE STERILISATION DES 6 CUVES

Désignation de l'élément testé	Essai RUN 1		Essai RUN 2	
	Repère sonde	F ₀ (min)	Repère sonde	F ₀ (min)
Cycle 01				
Cuve-01	A	28,26	A	29,48
	B	26,89	B	28,02
	C	27,61	C	28,86
	D	26,99	D	28,26
	E	27,02	E	28,61
	F	27,18	F	27,62
Cuve-02	G	26,90	G	27,75
	H	28,24	<i>H</i>	27,62
	I	23,35	I	28,44
	J	28,94	J	28,88
	K	27,36	K	27,63
Cycle 02				
Cuve-03	A	28,90	A	28,87
	B	28,05	B	28,21
	C	30,54	C	30,30
	D	30,02	D	29,89
	E	28,06	E	27,81
Cuve-04	F	27,61	F	27,52
	G	24,89	G	25,13
	H	28,82	H	28,29
	I	29,08	I	29,66
	J	28,25	J	28,21
Cycle 03				
Cuve-05	A	28,92	A	28,88
	B	28,13	B	28,22
	C	28,83	C	28,49
	D	28,96	D	29,03
	E	28,84	E	28,34

Désignation de l'élément testé	Essai RUN 1		Essai RUN 2	
	Repère sonde	F ₀ (min)	Repère sonde	F ₀ (min)
	<i>F</i>	27,61	<i>F</i>	27,56
Cuve-06	G	27,60	G	27,57
	H	24,37	H	24,69
	I	29,86	I	29,25
	J	28,25	J	28,15
	K	28,91	K	28,93
	L	28,81	L	28,48

Les valeurs de F₀ en bleu représentent les points froids de chaque cuve testée. La valeur de F₀ en rouge représente le F₀ le plus petit de toute la famille cuve testée avec F₀ = 23,35 min. La cuve-02 est donc l'élément chef de famille de la famille Cuves.

Ensuite, nous avons classé les autres cuves de la plus difficile à stériliser à la moins difficile. Pour cela, nous avons constitué un intervalle d'équivalence à partir de la valeur de F₀ la plus petite + 10% de celle-ci :

$$F_0 = 23,35 + 2,34 = 25,69 \text{ min}$$

L'intervalle fixé à F₀ le plus faible + 10% est le résultat d'études pratiques faites en interne au sein de sites SP et en se basant sur des référentiels de stérilisation. Cet intervalle que nous prenons est mentionné dans la stratégie globale de stérilisation par chaleur humide.

Nous observons donc que les valeurs de F₀ de la Cuve-04 (F₀ = 24,89) et de la Cuve-06 (F₀ = 24,37) sont comprises dans l'intervalle d'équivalence [23,35-25,69]. Cela signifie que ces deux cuves sont équivalentes d'un point de vue stérilisabilité.

Pour confirmer les données de F₀ et le classement qui en est sorti nous nous sommes appuyés sur les graphiques des cycles afin d'identifier des profils atypiques. En effet des profils atypiques sont retrouvés chez des éléments dits critiques ou « worst case ».

La figure ci-dessous représente le graphique des profils de températures des thermocouples des 6 cuves :

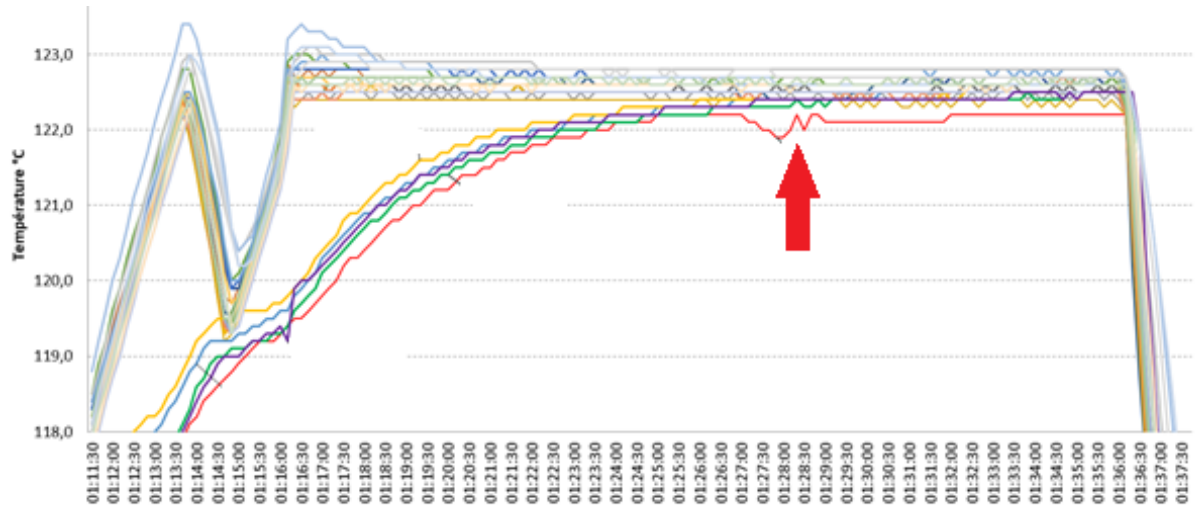


FIGURE 19 : CYCLES DE STÉRILISATION DES 6 CUVES

Nous observons un profil atypique en rouge. Celui-ci correspond au repère I de la cuve-02. Nous avons donc pu confirmer que l'élément critique est bien la cuve-02 avec un $F_0 = 23,35$ min avec un point froid au repère I.

De toute cette analyse nous sommes parvenus au classement ci-dessous :

TABLEAU 8 : CLASSEMENT DES CUVES

Désignation de l'élément	de	Repère sonde	F_0 (min)	Classement des éléments
Cuve-02		I	23,35	Worst case
Cuve-06		H	24,37	Equivalent
Cuve-04		G	24,89	Equivalent
Cuve-01		B	26,89	Best case
Cuve-05		F	27,56	Best case
Cuve-03		B	28,05	Best case

De ces résultats, nous avons pu déterminer l'élément critique à retester lors des EP2.

Le critère de siccité n'étant pas rempli pour la Cuve-04 nous avons effectué une modification de montage et ajouté un filtre de plus grande taille sur la cuve. Cela permettrait ainsi une meilleure évacuation des condensats lors de la phase de séchage (via le filtre de grande taille placé directement sur la cuve). La cuve sera donc retestée en EP2 avec le montage modifié afin de vérifier la siccité.

d) Analyse des résultats des EP1 des autres familles

Nous avons effectué la même analyse suivant la valeur de F0 pour toutes les autres familles (Carters filtres, Vannes, Tubulures, Filtres, Flacons et Matériels). Nous avons donc déterminé l'élément « worst case » de chaque famille qui sera testé lors des EP2.

Cependant nous nous sommes confrontés à d'autres problématiques pour certaines familles qui ont été résolues :

- La famille flacons : certains flacons d'un volume de 10L ne remplissaient pas le critère de siccité. Un plus grand filtre a été placé en sortie des tubulures reliées au flacon afin de favoriser l'entrée d'air et le séchage de celui-ci.
- La famille filtres : après un passage en autoclave de stérilisation, l'intégrité des filtres est testée afin de s'assurer que le cycle de stérilisation n'altère pas leurs fonctions. Certains filtres revenaient non intègres. La durée de séchage a été raccourcie (pour diminuer l'exposition du filtre à de hautes températures).

e) Rédaction du rapport des EP1

À la suite des essais d'évaluation d'EP1, un rapport d'essais de classement a été rédigé par l'expert en stérilisation. J'ai relu le rapport avant son approbation par la chargée de validation de procédés. Le rapport présente :

- L'analyse des résultats pour chacun des éléments testés,
- Le classement retenu des éléments, avec l'identification des éléments « worst case » représentatifs de chaque famille ;
- La liste des éléments n'ayant pas répondu aux critères EP1 et devant être retestés en EP2 (notamment dans les familles : cuves, filtres et flacons) ;
- L'identification des éléments potentiellement difficiles à sécher ;

A l'issue de l'approbation de ce rapport, le rapport d'étude théorique a été mis à jour afin d'indiquer le classement retenu pour les éléments et l'identification des éléments « worst case » représentatifs de chaque famille.

3.4.2 Déroulement des essais préliminaire 2 : Tests de développement

de cycles

Après les EP1, nous avons entamé les EP2 afin de développer un cycle de stérilisation optimal (Tableau 5 : résumé des essais préliminaires).

J'ai suivi et contribué à toute la préparation précédent les essais. Mais les essais se sont déroulés sans moi, les résultats ne feront donc pas l'objet de la présente thèse. Je ne présenterai donc que la préparation des EP2 : les tests de développement du cycle.

Les tests de développement du cycle sont constitués d'une charge comportant :

- Les éléments les plus difficiles à stériliser de chaque famille (identifiés dans les EP1).
- Les éléments n'ayant pas atteints les critères d'acceptabilité lors des EP1).
- Les éléments ayant un profil de température irrégulier (identifiés lors des EP1) et/ou des éléments identifiés comme présentant une humidité significative lors des essais de classement.

En s'appuyant sur les résultats des EP1, nous concluons donc que les familles à retester en EP2 sont les cuves, les filtres et les flacons. Concernant les cuves et les flacons, nous testerons l'efficacité de la modification du montage apportée pour évacuer les condensats. Nous avons également développé un cycle spécifique pour les filtres en diminuant la durée de séchage

Comme pour l'EP1 les thermocouples et les IBs sont positionnés conjointement aux points froids (points déterminés lors des EP1) à l'intérieur des éléments afin de vérifier les données physiques (atteinte des critères d'acceptabilité) et biologiques (indicateurs biologiques). Le positionnement des thermocouples et des IBs ne doit pas favoriser ou altérer la pénétration de la vapeur.

Il est également nécessaire d'évaluer la distribution de la température dans l'autoclave. Trois thermocouples de distribution sont placés en bas, au milieu et en haut de la chambre de l'autoclave. Les thermocouples de distribution ne doivent pas être positionnés en face d'une arrivée vapeur. Une sonde de pression de validation doit également être placée dans la chambre de l'autoclave.

A la fin de l'EP2 nous arriverons à définir un cycle de stérilisation optimal. L'optimisation du cycle concerne l'étape de chauffage (d'envoi de vapeur à l'intérieur de la chambre) ainsi que l'étape de séchage des éléments à la fin du cycle. En effet, l'objectif est d'obtenir un cycle de stérilisation efficace et le moins long possible. La stratégie fut donc d'envoyer le juste

nécessaire en quantité de vapeur afin de former le moins de condensats possible et assurer un séchage rapide et efficace.

Les critères d'acceptabilité des EP2 sont les mêmes que ceux des EP1 avec le critère de siccité qui devient discriminant. Le détail des critères d'acceptabilité est résumé dans le tableau présenté en Annexe 01.

Après le déroulement des EP2 un rapport est rédigé par l'expert en stérilisation. Le rapport de développement de cycle précise l'orientation des éléments, le conditionnement des éléments, la hauteur et la configuration des étagères des chariots et la liste exhaustive des paramètres du/des cycle(s) optimisés.

Le rapport statue également sur le développement du/des cycle(s) optimisé(s), en concluant sur l'adéquation des cycles par rapport aux éléments et l'atteinte des critères.

3.4.3 Déroulement des essais préliminaire 3 : Tests de développement

des charges

Ma contribution sur le déroulement pratique des essais s'est achevée avant le déroulement des EP3.

J'exposerai ci-dessous la démarche à suivre lors des EP3 telle que je l'ai décrite dans la procédure décrivant la stratégie de validation.

Les charges de validation sont définies de manière précise selon les besoins en production. En effet lors de la constitution des charges, il est nécessaire de s'assurer que tous les éléments sont représentés en quantité suffisante de manière à supporter les contraintes de la production : flux de production, besoins actuels et/ou futurs.

Les éléments sont positionnés de manière adéquate dans la charge afin de minimiser l'impact de la formation des condensats sur les autres éléments. Par exemple, les éléments de grande taille ou de masse importante générant beaucoup de condensats doivent être positionnés sur les étagères inférieures des chariots). L'orientation des éléments est identique à celle utilisée dans les essais d'EP1 et EP2 de la phase de développement.

Les charges maximales sont composées d'une quantité maximale d'éléments « worst case » représentatifs d'une même famille (ou d'éléments équivalents seulement si la quantité disponible d'éléments « worst case » représentatifs est insuffisante) positionnés sur un emplacement fixe d'une étagère. A chaque charge maximale est associée une charge minimale qui est composée de l'élément le plus difficile à stériliser parmi tous les éléments des familles qui sont représentées dans la charge maximale. La validation de charges maximales et minimales permet à l'utilisateur de faire varier la quantité d'éléments dans une charge en routine, dans les limites validées. Si la charge exploitée en routine est toujours fixe en quantité, seule cette charge doit être validée.

Au cours de l'étape de développement de charges, l'utilisation des IBs est optionnelle pour tous les éléments mais recommandée pour les éléments complexes. Pour chaque charge, des thermocouples et IBs (optionnels) doivent être positionnés aux points froids à l'intérieur d'un nombre défini d'éléments les plus difficiles à stériliser. Les thermocouples et les IBs doivent être placés au même endroit à l'intérieur des éléments afin de vérifier les données physiques (atteinte des critères d'acceptabilité) et biologiques (indicateurs biologiques).

Lorsque deux éléments identiques sont présents dans la charge et que l'on ne peut introduire dans le même élément un IB et un thermocouple, il est possible de positionner un thermocouple dans un élément et un IB dans l'autre élément. Un IB témoin positif du même lot que celui employé pour les essais doit être utilisé, et envoyé pour lecture au laboratoire de contrôle après stérilisation. Les thermocouples et les IBs sont placés de sorte à ne pas altérer la pénétration de chaleur.

Pour chaque essai, il est également nécessaire d'établir la distribution de la température (à l'extérieur des éléments) en disposant au minimum trois thermocouples dans la chambre (bas, milieu, haut) et un capteur de pression.

L'emplacement des éléments dans l'autoclave est enregistré précisément pour chaque essai à l'aide de schéma.

Les critères d'acceptabilité des EP3 sont résumés dans le tableau présenté en Annexe 01. Après le déroulement des EP3 un rapport est rédigé par l'expert en stérilisation statuant sur la conformité de l'atteinte des critères pour les charges définitives, incluant la siccité des charges. Le rapport définit de manière définitive pour l'étape de validation :

- les charges de validation avec le plan de chargement associé,
- les emplacements des éléments sondés et des thermocouples et IBs dans les éléments pour les charges de validation,
- l'identification de l'élément « worst case » général défini comme étant l'élément le plus difficile à stériliser parmi tous les éléments des familles représentées dans les charges maximales.

3.5 Validation du procédé

Après avoir validé les éléments, le cycle et les charges nous passerons aux essais de validation proprement dits.

L'objectif de la validation est de démontrer l'efficacité et la reproductibilité de la stérilisation des charges de validation. Pour ce faire trois cycles de stérilisation consécutifs des charges maxi, mini et fixes sont lancés (ces charges de validation sont celles définies lors des essais de développement en EP3).

3.5.1 Essais prérequis lors des essais de validation

➤ Essais de pénétration de chaleur et de challenge biologique

Les essais de pénétration de chaleur ont pour but de démontrer que les températures de stérilisation ont été atteintes dans le cas de chaque charge soumise au procédé de stérilisation. Ces essais de pénétration de chaleur garantissent que l'élément le plus froid à l'intérieur d'une configuration de charge prédéfinie est toujours exposé à une température létale suffisante durant une durée définie.

Les essais de challenge biologique, réalisés en même temps que les essais de pénétration de chaleur, ont pour objectif de démontrer la réduction d'une population d'au minimum 10^6 spores de *Geobacillus Stearotherophilus* avec une valeur de $D \geq 1.5$ min et $< 2,5$ min.

Les thermocouples et les IBs sont positionnés dans les éléments les plus difficiles à stériliser, aux emplacements définis lors des tests de développement de charge. Un IB témoin positif du même lot que celui employé pour les essais est également placé dans l'autoclave et envoyé pour lecture au laboratoire de contrôle par la suite.

Comme pour les essais de développement, une sonde de pression de validation est placée dans la chambre de l'autoclave et les thermocouples doivent être lacés au plus proche des sondes fixes d'enregistrement (incluant celle du drain) et de régulation de l'autoclave.

Afin d'assurer au mieux les conditions de reproductibilité, la température des éléments présents dans les charges de validation est strictement inférieure à 40°C au moment du lancement de cycle.

Pour chaque charge, l'emplacement des éléments est enregistré à l'aide de plans de chargement. Chaque charge maximale et minimale ou fixe doit être testée trois fois consécutivement.

L'analyse des données liés aux thermocouples est réalisée avant de démonter toute charge de validation afin de pouvoir investiguer la charge en cas de résultat non conforme.

➤ Essais de distribution de chaleur

Les essais de distribution de chaleur ont pour objectif d'évaluer l'uniformité de température dans la chambre de l'autoclave (à l'extérieur des éléments) et de vérifier les conditions de vapeur saturée par la corrélation pression / température.

Ces essais de distribution de chaleur sont réalisés pour chaque charge maximale en même temps que les essais de pénétration de chaleur et de challenge biologique.

Pour chaque essai, il est nécessaire d'établir la distribution de la température (à l'extérieur des éléments) en disposant au minimum trois thermocouples dans la chambre (exemple : bas / côté non stérile, milieu / centre de la chambre, haut / côté stérile).

L'essai de distribution de chaleur n'est pas nécessaire pour les charges minimales dans la mesure où l'homogénéité à vide est vérifiée par 3 essais lors de la phase de développement de cycle.

➤ Séchage des éléments

Cette étude a pour objectif de vérifier visuellement que les éléments sont secs après le déroulement d'un cycle de stérilisation.

La vérification du séchage des éléments est menée en même temps que les essais de pénétration et de challenge biologique. Chaque élément et son conditionnement est inspecté immédiatement après chaque essai de validation pour vérifier l'absence d'humidité. La présence de gouttelettes d'eau éparses est tolérée. La présence d'emballage mouillé ou d'eau en quantité importante dans les éléments n'est pas acceptable car cela peut potentiellement engendrer une perte des caractéristiques de protection de l'emballage ou de potentielles recontaminations (exemple : filtre).

3.5.2 Critères d'acceptabilité pour la validation des charges

Afin de valider la stérilité des charges, les critères suivants doivent être remplis :

- $F_0 \geq 18$ calculé sur la phase d'exposition (T0-T2).
- Température d'exposition : les thermocouples de pénétration doivent se maintenir à $T^\circ \geq 121,1$ °C pendant la phase de maintien (E1-T2).
- Absence de croissance de tous les indicateurs biologiques exposés
- Corrélation pression / température : pendant la phase d'exposition stabilisée (T1-T2), les températures mesurées par tous les thermocouples de distribution et la température de la vapeur saturée dérivée de la pression mesurée dans la chambre doivent, à chaque acquisition se situer dans les limites de la plage de température de stérilisation ($T_{\text{consigne}} - 1^\circ\text{C}$; $T_{\text{consigne}} + 2^\circ\text{C}$) et ne pas diverger entre elles, de plus de 2°C.
- La charge à l'ouverture de l'autoclave doit être sèche. Une présence de gouttelettes éparses doit être signalée et documentée.
- Uniformité des thermocouples de distribution : à chaque acquisition pendant la phase d'exposition stabilisée (T1-T2); l'écart de température entre le thermocouple le plus froid et le thermocouple le plus chaud ne doit pas excéder 2°C.

3.6 Maintien de l'état validé

Il est essentiel de maintenir l'état validé du procédé de stérilisation tout au long de son utilisation pour assurer la fiabilité des résultats. De ce fait j'ai inclus cette partie dans la stratégie déployée. L'objectif est donc d'instaurer une démarche qualité de vérification et surveillance de l'état validé du procédé de stérilisation.

Les étapes suivantes ont été mises en place pour assurer le maintien en état validé :

- la surveillance (ou contrôles systématiques de routine) du système ;
- les vérifications périodiques.

3.6.1 Surveillance en routine du système

Les tests suivants sont réalisés en routine :

- gestion des filtres hydrophobes de l'autoclave ;
- un test d'étanchéité au vide ;
- un test de pénétration de vapeur de type Bowie-Dick ;
- un contrôle annuel de l'homogénéité à vide.

3.6.2 Vérifications périodiques

La vérification périodique est mise en œuvre afin de vérifier l'efficacité et la maîtrise du procédé de stérilisation. Elle inclut :

- une revue de l'état qualifié de l'autoclave et de l'état validé du procédé de stérilisation ;
- les essais de validation périodique du procédé de stérilisation.

➤ [Revue de l'état qualifié de l'autoclave et de l'état validé du procédé de stérilisation](#)

La revue de l'état qualifié de l'autoclave et de l'état validé du procédé de stérilisation est réalisée périodiquement. La fréquence de revue est définie par une analyse de risque. Les résultats et la conclusion de l'analyse de risque sont tracés dans un protocole de revue d'état qualifié / validé ou dans un document spécifique.

➤ Essai de validation périodique du procédé de stérilisation

Les essais de validation périodique du procédé de stérilisation (Trios charge/cycle/autoclave) sont réalisés annuellement afin de comparer les résultats avec la précédente validation et détecter une éventuelle dérive. Ils sont effectués dans les mêmes conditions qu'en routine avec des thermocouples et des IBs. Pour chaque charge :

- un cycle de validation périodique du procédé de stérilisation est réalisé en configuration maximale (charge maxi) ;
- un cycle de validation périodique du procédé de stérilisation est réalisé en configuration minimale (charge mini).

Chaque type de cycle est vérifié une fois par an sur l'autoclave utilisé en routine (la périodicité est à considérer à plus ou moins 1 mois, soit 1 an \pm 1 mois).

Si plusieurs charges sont stérilisées *via* le même cycle, une rotation des charges à tester peut être mise en place dans la mesure où chacun des trios « charge/cycle/autoclave » est testé au minimum tous les 3 ans.

❖ Critères d'acceptabilité des essais

Les critères d'acceptabilité des essais de validation périodique réalisés à l'année n sont les mêmes que ceux définis lors de la précédente validation (validation initiale ou validation suite à changement).

❖ Analyse comparative des résultats

De plus, les résultats de l'année n sont comparés aux résultats de la précédente validation afin de vérifier l'absence de dérive. Cette comparaison repose sur l'analyse des F0. Les thermocouples ayant un Ecart Maximal Toléré (EMT) de $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, un écart de F0 inférieur ou égal à 10% n'est pas significatif.

3.6.3 Rapport de maintien en l'état validé

A l'issue des revues et des essais de validation périodique, un rapport est rédigé. L'objectif du rapport est de présenter :

- l'analyse de la revue de l'état qualifié de l'autoclave et la conclusion associée si applicable ;
- l'analyse de la revue de l'état validé du procédé de stérilisation et la conclusion associée si applicable ;
- le planning de réalisation des essais ;
- les conditions opératoires des essais, notamment le paramétrage des cycles ;
- l'ensemble des résultats des essais, et les données brutes associées,

Le rapport conclut sur le statut qualifié de l'équipement et le statut validé du procédé de stérilisation associé.

4. Conclusion

Au terme de ce chapitre nous avons déroulé la nouvelle stratégie de validation d'un procédé de stérilisation par chaleur humide que j'ai déployé sur le site de SP à Neuville sur Saône.

Après avoir détaillé le principe du procédé de stérilisation par chaleur humide, nous avons développé la stratégie proprement dite. La première étape fut l'étude théorique permettant de classer les éléments à stériliser. La deuxième étape consistait en l'étude pratique avec les EP1, EP2 et EP3. J'ai plus détaillé dans cette partie les EP1 car c'est les essais que j'ai pu suivre intégralement. Dans ces essais, la famille « cuves » apparaissait la plus difficile à stériliser et a nécessité une modification de montage qui a nécessité une modification de montage.

Le déploiement de cette stratégie fut très fastidieux de par la complexité du processus mais aussi à cause de l'impact coût-planning due à la crise COVID-19 rencontrée.

Conclusion générale

Les vaccins sont des produits biologiques sensibles et leur procédé de fabrication est long et complexe. La stérilité des équipements et du matériel utilisés est l'une des principales contraintes à gérer lors de la production. La stérilisation par chaleur humide est la méthode de choix pour stériliser le matériel de production de vaccins. Comme tout autre procédé en industrie pharmaceutique, ce procédé doit être validé.

Le déploiement d'une nouvelle stratégie validation du procédé de stérilisation par chaleur humide fut le sujet principal durant mon alternance à Sanofi Pasteur à Neuville Sur Saône. Cette nouvelle stratégie s'inscrit dans un projet d'harmonisation des procédés sur l'ensemble des sites de Sanofi Pasteur. De plus, elle permet de pallier aux problématiques liées à la production de vaccins différents au sein du même bâtiment.

La validation du procédé de stérilisation à SP s'est déroulée en plusieurs étapes, j'ai suivi une partie des essais et j'ai décrit la suite à travers la stratégie déployée.

A travers cette expérience j'ai mesuré la difficulté et la complexité de gestion d'un projet. Le management d'équipe constitue également un maillon important dans la réalisation d'un projet. L'expérience m'a beaucoup apporté tant sur l'aspect technique que sur l'aspect humain et constitue également un bon point de départ de ma carrière de pharmacien en industrie pharmaceutique.

Bibliographie

- [1] Organisation Mondiale de la Santé « OMS » ; vaccins 13/12/2020 ; <https://www.who.int/fr/news/item/12-09-2019-vaccination-european-commission-and-world-health-organization-join-forces-to-promote-the-benefits-of-vaccines>
- [2] Younger, D. S., Younger, A. P. & Guttmacher, S. Childhood vaccination: implications for global and domestic public health. *Neurol. Clin.* 34, 1035–1047 (2016) ; 15/06/2021
- [3] Agence Nationale de sécurité des Médicaments et des produits de santé « ANSM » ; l'ANSM et les vaccins ; 13/12/2020 ; <https://ansm.sante.fr/qui-sommes-nous/notre-perimetre/les-vaccins/p/les-vaccins-2>
- [4] Pharmacopée Européenne « PE » ; 10^{ème} édition ; Vol. Vaccins pour usage humain ; 15/03/2020
- [5] Manuel du VIDAL ; vaccin FLUENZ TETRA ; 16/08/2021 ; <https://www.vidal.fr/medicaments/fluenz-tetra-susp-p-pulv-nasal-vaccin-grippal-vivant-attenué-nasal-137046.html>
- [6] Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale « INSERM » ; Vaccins et vaccination, Inserm-La science pour la santé ; 13/12/2020. <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/vaccins-et-vaccinations>
- [7] Les entreprises du médicament « Leem » ; Grands principes de production des vaccins ; Géraldine Vetterhoeffter ; 10/12/2020. https://www.leem.org/sites/default/files/G%C3%A9raldine%20Vetterhoeffter%20-%2011.09.13_0.pdf
- [8] Pardi, N., Hogan, M., Porter, F. *et al.* mRNA vaccines — a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* **17**, 261–279 (2018) ; 15/06/2021.
- [9] Site officiel de l'ANSM ; Comment fonctionne un vaccin à ARNm ; vaccins autorisés ; 16/08/2021 ; <https://ansm.sante.fr/dossiers-thematiques/covid-19-vaccins/covid-19-vaccins-autorises>
- [10] Site officiel de publichealth ontario ; les vaccins à base d'ARNm ; 16/08/2021. <https://www.publichealthontario.ca/-/media/documents/ncov/vaccines/2020/12/covid-19-mrna-vaccines.pdf?la=fr>
- [11] Manuel du VIDAL ; vaccin REVAXIS ; 16/08/2021 ; <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/revaxis-17515.html>
- [12] Thèse de Docteur en pharmacie ; Approche globale de la validation de la stérilisation par autoclavage : optimisation et choix stratégiques ; Camille Dupuy ; 2018 ; 12/12/2020.

- [13] F.Galtier ; *La Stérilisation* ; Arnette-Blackwell ; 1996 ; 10/11/2020.
- [14] International Conference of Harmonization “ICH” ; Definition / Quality ; page 09 .
15/12/2020.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-3.pdf
- [15] Axess qualité ; qualité interne et qualité externe ; 10/11/2020.
https://www.leem.org/sites/default/files/G%C3%A9raldine%20Vetterhoeffter%20-%2011.09.13_0.pdf
- [16] Thèse de Docteur en pharmacie ; D’ICH Q8 à Q10 : la maîtrise des changements dans un système de gestion de la qualité ; Daubé M ; 2014 ; 20/12/2020.
- [17] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; chapitre 1 : Système qualité pharmaceutique ; page 13 ; 20/12/2020
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [18] International Conference of Harmonization “ICH” ; Pharmaceutical quality system ; page 4 ; 03/11/2020.
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human_en.pdf
- [19] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; chapitre 1 : Système qualité pharmaceutique ; paragraphe 1.4 ; page 14 ; 20/12/2020
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [20] International Conference of Harmonization “ICH” ; ANNEX 2 page 20 ; 20/12/2020
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human_en.pdf
- [21] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; Responsabilité de la direction ; page 135 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [22] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; ANNEXE 15 Qualification et validation D’un équipement ; page 367 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [23] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; validation d'un procédé et qualification d’un équipement BPF ; page 369 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [24] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; PARTIE I : bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain, chapitre 2 : Personnel ; page 19 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>

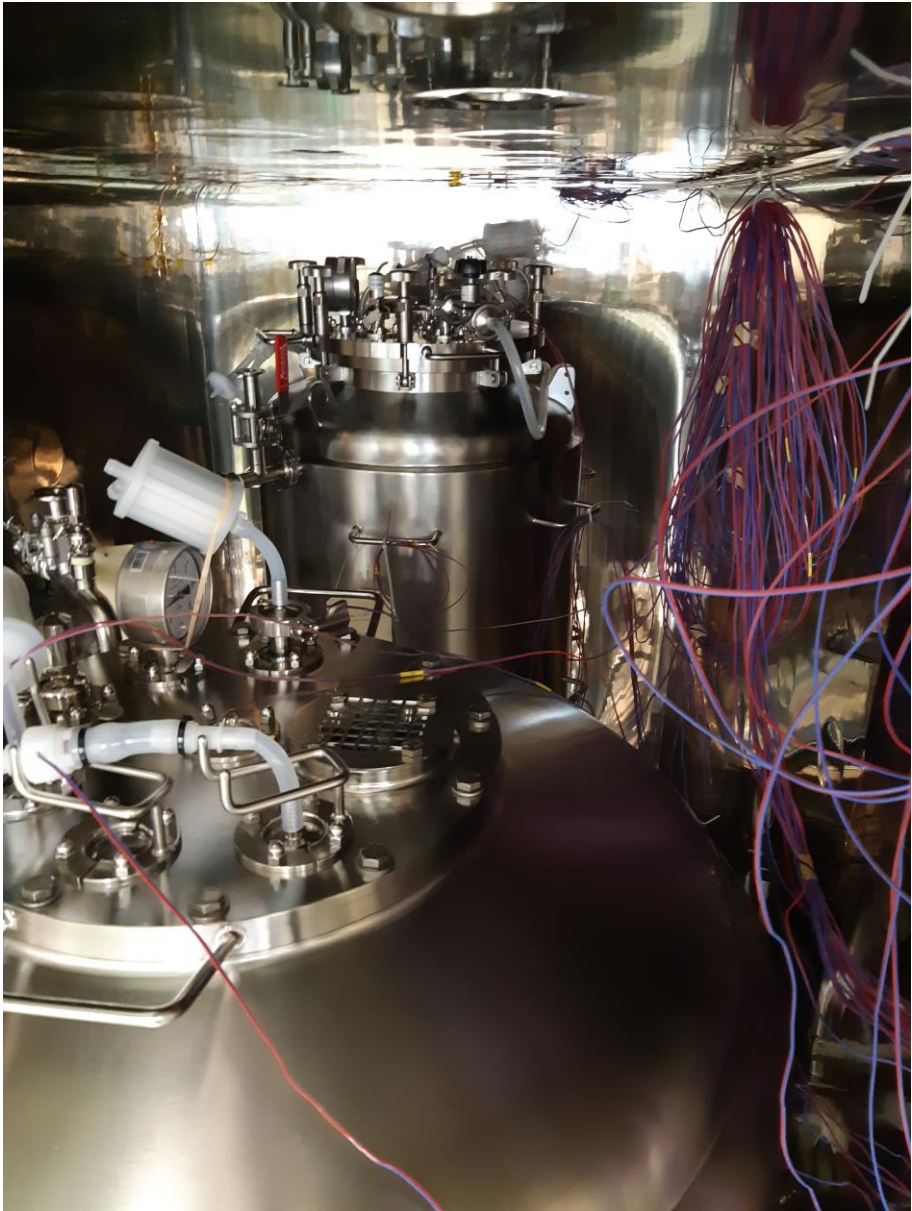
- [25] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; PARTIE I : bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain, chapitre 4 : Documentation ; page 28 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [26] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; Système qualité pharmaceutique : système de gestion des changements page 139 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [27] Bonnes Pratiques de Fabrication « BPF » ; Gestion des déviations non planifiées page 386 ; 20/12/2020.
<https://ansm.sante.fr/uploads/2021/04/08/20210111-guide-bpf.pdf>
- [28] Certoclave ; Autoclave ; Définition ; 31/01/2021.
<https://autoclave-certoclav.blogspot.com/2013/03/autoclave-definition.html>
- [29] Documents Sanofi Pasteur ; Source interne ; 15/02/2021
- [30] Hir, L. *Pharmacie Galénique Bonnes Pratiques de Fabrication* ; ELSEVIER MASSON ; 2009 ; 10/02/2021.
- [31] Thermocouples ; Définition ; 16/03/2021.
<https://blog.beamex.com/fr/les-thermocouples>
- [32] Effets Seebeck ; 16/03/2021.
Seebeck TJ. I - Phénomènes thermoélectriques
<https://cira-descartes.etab.ac-lyon.fr/>
- [33] Test biologique ; Définition ; 20/04/2021
http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-Sterilisation_Test-biologique.pdf

Annexes

Annexe 01 : critères d'acceptabilité des EP2

CHARGE SOLIDE		PHASES		
		EP1 Evaluation des éléments	EP2 Développement de cycle	EP3 Développement de charge
Phase d'équilibrage E0-E1	Phase d'équilibrage $\leq 30s$	X	X	Non applicable
Phase de stabilisation T0- T1	Overshoot de température charge $T^{\circ}_{max} \leq T^{\circ}_{consigne} + 2^{\circ}C$	X	X	Non applicable
Phase d'exposition T0- T2	$F0min \geq 18 \text{ min}$	Non applicable	X	X
Phase d'exposition stabilisée T1-T2	$\Delta T \leq 1^{\circ}C$ entre T°_{drain} Tc et T°_{drain} enregistreur	X	X	X
	Uniformité en charge des TC distribution $\Delta T^{\circ} \leq 2^{\circ}C$	X	X	X
	Corrélation Pression/température : pour TC $_{drain}$, TC $_{pénétration}$ et T° issue de la pression de la chambre : $T_{consigne} - 1^{\circ}C$; $T_{consigne} + 2^{\circ}C$ et $\Delta T^{\circ} \leq 2^{\circ}C$	X	X	Non applicable
	Corrélation Pression/température : pour TC distribution et T° issue de la pression de la chambre : $T_{consigne} - 1^{\circ}C$; $T_{consigne} + 2^{\circ}C$ et $\Delta T^{\circ} \leq 2^{\circ}C$	Non applicable	Non applicable	X
Phase de maintien E1-T2	Maintien de $T^{\circ} \geq 121,1^{\circ}C$	X	X	X
Cycle	Indicateurs biologiques Absence de croissance IB exposés	X	X (derniers runs de confirmation)	X (recommandé pour les éléments complexes)
	Siccité (état sec)	Non applicable	X	X

Annexe 02 : illustration d'une cuve à l'intérieur de l'autoclave





VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

TITRE

DEPLOIEMENT D'UNE STRATEGIE DE VALIDATION D'UN PROCEDE DE STERILISATION PAR CHALEUR HUMIDE SUR LE SITE DE PRODUCTION DE VACCINS DE SANOFI PASTEUR

Résumé

La production de vaccin est longue et complexe. La stérilité des équipements et de l'environnement constitue un attribut qualité crucial et indispensable pour leur production.

L'industrie du médicament étant l'une des plus réglementées, chaque procédé s'y déroulant doit faire l'objet d'une validation afin d'assurer qualité, efficacité et sécurité des produits.

Dans le cadre de la présente thèse et de ma mission d'alternance nous nous sommes focalisés sur la problématique de stérilisation de matériels impliqués dans la production de vaccins contre la Dengue et la Rage sur le site de Sanofi Pasteur à Neuville Sur Saône. L'objectif était de déployer une nouvelle stratégie de stérilisation par chaleur humide couvrant les exigences et contraintes des deux productions de vaccins sur le site.

TITLE

IMPLEMENTATION OF A STRATEGY TO VALIDATE A WET HEAT STERILIZATION PROCESS AT SANOFI PASTEUR'S VACCINE MANUFACTURING SITE

Summary

Vaccine's manufacturing process is long and difficult. The sterility of the equipment and the environment is a crucial and a necessary quality attribute for their production.

The drug industry is one of the most regulated industries, each process performed must be validated to ensure quality, effectiveness, and safety of products.

As part of this thesis and my apprenticeship mission, we focused on the challenge of the sterilization. The scope was the sterilization of material involved in the manufacturing process of Dengue and Rabies vaccines at Sanofi Pasteur in Neuville Sur Saône. The purpose was to implement a new wet heat sterilization strategy covering all requirements and constraints of the two vaccines.

Mots-clés

Vaccins, Stérilisation, autoclave, validation, procédé, assurance qualité
