



HAL
open science

Mise en place d'analyses de risque, agrémentées FDA, au sein d'un atelier de production pharmaceutique multi-souche

Juliette Dagousset

► To cite this version:

Juliette Dagousset. Mise en place d'analyses de risque, agrémentées FDA, au sein d'un atelier de production pharmaceutique multi-souche. Sciences pharmaceutiques. 2022. dumas-03833085

HAL Id: dumas-03833085

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03833085>

Submitted on 28 Oct 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.



UFR DE PHARMACIE
Université Clermont Auvergne

Université Clermont Auvergne
Faculté de Pharmacie

Année 2022 n°

THESE D'EXERCICE
Pour le
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN
PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 04 février 2022

Par Juliette DAGOUSSET

Mise en place d'analyses de risque, agrémentées FDA, au sein d'un atelier de production pharmaceutique multisouche.

Directeur de thèse : Mme **Emmanuelle LAINE**, Maître de conférences, Université Clermont Auvergne

Président : Mr **Ghislain GARRAIT**, Maître de conférences, Université Clermont Auvergne

Membre du jury : Mr **Fabrice GONIN**, Pharmacien responsable Biose industrie

Membre du jury : Mme **Anne-Monique SIMONIN**, Pharmacien responsable EDEC.

Remerciements

A Emmanuelle Lainé, vous m'avez fait l'honneur de diriger cette thèse et de la juger en tant que directrice de thèse. Je vous remercie pour votre disponibilité, pour vos encouragements ainsi que pour le partage de connaissance, de mes études de pharmacie, en passant par mon master de 6^{ème} année jusqu'à l'obtention de ma thèse de Docteur en Pharmacie. Je vous adresse mes remerciements les plus sincères. Soyez assurée de mon profond respect.

A Fabrice Gonin, cette thèse n'aurait pas été possible sans la confiance que vous m'avez accordé en m'ouvrant les portes de Biose Industrie pour mon stage de fin d'étude jusqu'à ma prise de poste de pharmacien assurance qualité. Je tiens à vous remercier pour les conseils dispensés, pour le partage de connaissance et les relectures de ma thèse malgré un emploi du temps bien chargé.

A Ghislain Garait je vous remercie d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse en tant que Président. Soyez assuré de ma gratitude.

A Anne Monique, en souvenir des années AEPIC qui auront été à vos côtés, très formatrices aussi bien sur le plan professionnel que personnel. Veuillez recevoir le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A mes professeurs de l'université et plus particulièrement Mr Beyssac et Mr Cardot, pour avoir pendant 7ans transmis leur savoir et d'avoir été toujours de bons conseils concernant mon avenir.

A Nadia Moubile, pour la confiance qu'elle m'a donnée en m'intégrant au sein de son service et pour m'avoir permis de prendre mes fonctions en attendant patiemment ma thèse.

A mes collègues et amis de Biose Industrie, Marie, Cédric, Thomas, Anaïs, Adrien, Marion, Laetitia, Alexandre, Damien, Anissa ect... pour leur gentillesse et leur amitié qui auront facilité mon intégration au sein de l'entreprise. Ainsi que tous les membres de mon bureau (Véro, Jérôme, Apolline, Sandra, Emmanuelle, Romane et Alexandre), qui m'auront soutenu (et supporté) dans la rédaction de ma thèse. Mention spéciale à Véronique pour avoir largement contribué à mon arrivée dans le service d'assurance qualité, et d'en payer les frais aujourd'hui.

A ma mère, et Patrick, pour avoir été un soutien durant mes études, d'avoir su m'apporter de l'aide lorsque cela a été nécessaire. D'être venus jusqu'en Angleterre, voir jusqu'en Auvergne, pour me soutenir dans mes projets, je garderai de supers souvenirs de vos visites. Maman, merci pour l'éducation que tu as su me donner, qui aurait cru que rester un bébé soleil même en grandissant serait mon plus grand atout. Tout ce que nous aurons vécu ensemble ont fait la personne que je suis aujourd'hui.

A mon père, merci, d'être au quotidien un soutien sans faille, un papa d'exception. De m'avoir accompagné de l'Angleterre au fin fond du Cantal, tous ces déménagements, ces appels malgré ton emploi du temps bien chargé, pour des problèmes administratifs ou juste pour annoncer les bonnes nouvelles du jour. Merci d'être un modèle aussi bien professionnellement que personnellement au quotidien pour tes trois filles. Cette thèse t'est dédiée, pour avoir été mon premier soutien pour devenir pharmacien mais surtout pour toute ton aide à y être parvenu. Merci à **Marie-Noëlle**, de

faire aujourd'hui partie de notre famille en te rendant heureux et en nous permettant de vivre, en sa compagnie et celle de ces enfants, de supers moments.

A Marie et Hélène, mes deux grandes sœurs, me connaissant mieux que personne, d'avoir su me lancer des défis et d'avoir été là pour moi chaque jour dans la réalisation de ces derniers. Notre complicité et notre unicité est ma plus grande fierté. Merci de savoir partager vos expériences, vos conseils au quotidien, malgré nos vies et la distance. Vous avez fait entrer dans notre famille **Christopher** et **Alvaro**, que je considère comme des frères, et qui m'ont permis de devenir une super « Tajuju » pour **Charlotte, Hugo et Valentina** (et les prochains...). Mention spéciale à mon pâté à qui j'ai promis que « sa marraine l'emmènerait en voyage quand elle serait pharmacienne », prépare-toi.

A Thibaut, merci pour ton avis, ton partage d'expérience qui aura été une aide précieuse lors de la rédaction de cette thèse. Merci de m'avoir supporté, en première ligne, pendant ces mois de rédaction de thèse et de début de vie active, avec tout ton soutien et tes encouragements. De savoir au quotidien me faire rire même dans les moments de doute.

Notre rencontre a marqué un tournant dans ma vie, partager ton quotidien, ta vision de la vie, ton amitié et ton amour me rend plus heureuse encore chaque jour.

A Léanne et Capucine, mes amies de toujours, merci d'avoir toujours été un soutien dans ma vie personnelle, de m'avoir encouragé à faire les bons choix depuis le tout début, du collègue à l'entrée dans la vie active. Les moments de rire, de doutes (mais surtout de rire), nous aurons toutes les trois fait grandir ensemble et je suis très fière d'être votre amie. Tout ce que l'on aura vécu ensemble fait que je ne doute pas instant que ces 13 ans d'amitié ne sont que le début. Merci également à tous nos amis du lycée, collègue, primaire avec qui nous avons su à travers les années garder contact : Sim, Guiz, Polo, Elo, Maëlie, Totor, Louis et Sacha.

A mes amis de la fac, Matthias, Youf, Julie, Selma ... Pour tous ces moments passés avec vous de rigolade et de fête de puis la PACES et pour les années à venir.

A Anaëlle et Soufiène, les rayons de soleil de mon quotidien, qui ont illuminé mes journées et mes nuits durant ces 7 longues années. Je ne pourrai parler d'eux dans ces remerciements sans faire mention de leur intelligence sans limite et de leur beauté éternelle. Tel le vert dans le noir, ils auront toujours été ma lumière au bout du tunnel. Des manifestations pour l'indépendance du Berry, à la naissance d'Anémone, Henri et Denise de l'AEPIC, nous pourrons dire que nous avons traversé de véritables épreuves ensemble. Ce fût un plaisir de travailler aux côtés de ceux que l'on surnomme Sof, qui n'aura finalement jamais été de Sanof[®] et A la D même si avec ta tête de raptor tu n'es pas vraiment une Diva, cependant nous te remercions pour cette citation, représentative des 7 années passées ensemble :

« Aujourd'hui nous n'aurons pas vraiment brillé d'intelligence, mais au moins nous aurons brillé d'highlighter » A La D.

Aux meilleurs amis et futurs collègues que l'on puisse avoir (dans l'espoir de dépasser les 30ans, bien sûr).

A Dou, mon fidèle compagnon, qui m'accompagne depuis toujours dans toutes les épreuves, malgré parfois nos différents, tu restes mon meilleur ami.

Résumé

Depuis quelques années le monde de l'industrie pharmaceutique et du médicament à vue son intérêt pour les biotechnologies et plus particulièrement les spécialités à base de souches bactériennes augmenter fortement. Ces souches microbiotiques prises en complément sont également appelées produits biothérapeuthiques vivants (PBV). Les processus de fabrication des produits à base de souches microbiotiques sont des processus bien spécifiques. Les ateliers de production sont amenés à produire à la suite différentes souches microbiotiques. Il est donc indispensable pour maîtriser ses processus de fabrication de réaliser une stratégie de contrôle des contaminations croisées à l'aide de l'analyse de risque, outil qualité (ICHQ9) entre différentes productions afin d'assurer la qualité du produit fabriqué.

Mots clés : souches microbiotiques, production, contamination croisée, analyse de risque

Sommaire

1	Introduction	11
2	Produits Bio thérapeutiques vivants à usage humain (PBV).....	13
3	Biose Industrie.....	14
4	Principe de fabrication d'un PBV.....	17
5	PARTIE 1 : THEORIE – MISE EN PLACE D'ANALYSE DE RISQUE....	21
5.1	Analyse de risque	21
5.1.1	Définitions analyse de risque	21
5.1.2	Les outils d'analyse de risque	24
5.1.2.1	Définitions des outils utilisés	24
5.1.2.2	Introduction à la méthode AMDEC	26
5.1.2.2.1	Méthode des 6M.....	29
5.1.2.2.2	Cotation : méthode AMDEC.....	29
5.1.2.2.3	Criticité : méthode AMDEC.....	30
5.1.2.2.4	Mise en place des CAPA.....	31
5.2	Stratégie de maîtrise de contamination.....	31
5.2.1	Règlementation : annexe 1 BPF et évolution.....	31
5.2.2	Stratégie de contrôle de contamination (CCS).....	32
5.2.3	Stratégie des contaminations biologiques (BCS).....	35
5.2.3.1	Définition.....	35
5.2.3.2	Niveau de biosécurité	36
5.2.3.3	Cas particulier de production d'OGM.....	40
5.2.3.4	Stratégie BCS : Biose Industrie.....	43
5.2.4	Zone à atmosphère contrôlée.....	44
5.2.4.1	Définition.....	44
5.2.4.2	Locaux	46

5.2.4.3	Classification de propreté.....	47
5.2.4.3.1	Monitoring zone à atmosphères contrôlées	49
5.2.4.3.2	Taux de brassage de l'air.....	50
5.2.4.4	Centrales de traitement d'air (CTA).....	51
5.2.4.4.1	Fonctionnement de CTA	51
5.2.4.4.2	Filtration	53
5.2.4.4.3	Maintenance et entretien.....	54
5.2.4.5	Cascade de pression.....	55
5.2.4.6	Hygrométrie et température.....	56
5.2.5	Flux personnel	57
5.2.5.1	Habillage du personnel.....	57
5.2.5.2	Hygiène du personnel.....	59
5.2.5.3	Formation du personnel.....	59
5.2.6	Flux matériel	61
5.2.6.1	Gestion du matériel propre	61
5.2.6.2	Stérilisation.....	62
5.2.6.3	Gestion du matériel après utilisation.....	63
5.2.7	Flux matières	63
5.2.7.1	Gestion de l'entrée et de la sortie des matières	63
5.2.7.2	Flux des matières premières	64
5.2.8	Qualification et validation.....	65
5.2.8.1	Définitions	65
5.2.8.2	Validation	66
5.2.8.3	Qualification.....	66
5.2.8.4	Validation de nettoyage et désinfection (N&D).....	68
5.2.8.4.1	Définitions	68

5.2.8.4.2	Nettoyage et désinfection (N&D).....	68
5.2.8.4.3	Prérequis à la validation du nettoyage.....	69
5.2.8.4.4	Contenu du plan/protocole de validation de nettoyage	70
5.2.8.4.5	Définition du produit	72
6	PARTIE 2 : PRATIQUE - MISE EN APPLICATION ANALYSE DE RISQUE	
	73	
6.1	Caractérisation de la souche	74
6.2	Environnement : CCS.....	74
6.2.1	Etude de l'activité de la zone	75
6.2.2	Etude des flux personnel, matière, déchets, matériel	76
6.2.3	Etude des classes de propreté et cascades de pression.....	77
6.3	Constitution du groupe de travail	79
6.4	Analyse de risque CCS / BCS	79
6.4.1	Début d'opération.....	80
6.4.1.1	Contrôle environnementaux du local de broyage.....	80
6.4.1.2	Etude des flux personnel	82
6.4.1.3	Etude des flux matériel/matières	83
6.4.2	Production : déchargement lyophilisateur et broyage du produit	84
6.4.3	Fin d'opération	85
6.4.3.1	Nettoyage du local.....	85
6.4.3.2	Flux personnel / flux matériel / flux matière	86
6.5	Plan d'action et mise en place des CAPA	87
7	Intérêts et limites des analyses de risques	89
8	Conclusion.....	91
9	Bibliographie	92
	Annexe I : Fiche de sécurité de souche microbiotique	95

Annexe II : Cotation et criticité de la mise en pratique.....	96
Annexe III : Cascade de pression, classe particulière et filtration de la zone de broyage	97

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AMDEC : Analyse des Modes de Défaillance, de leurs Effets, et de leur Criticité
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé
APR: Annual Product Review
BCS : Biological contamination strategy
BPF: Bonnes Pratiques de Fabrication
BSL : Biosafety Level
CAPA : Action correctives et préventives
CCS : Cross contamination strategy
CDMO: Contract development and manufacturing organisation
CHT: Cleaning Holding Time
CQ : Contrôle qualité
CTA : Centrale de traitement d'air
DHT: Dirty Holding Time
DLU : Date Limite d'Utilisation
DP: Drug Product
DS: Drug Substance
EMPQ : Environnemental Monitoring Performance Qualification
EPI : Equipement de Protection Individuelle
ERP : Entreprise Resource Planning
FDA: Food and Drug Administration
FMECA: Failure Modes, Effects and Criticality Analysis
FTA: Fault Tree Analysis
GMP: Good Manufacturing Practices
HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points
HAZOP: Hazard Operability Analysis
HCB : Haut Conseil des Biotechnologies
HEPA : High Efficiency Particulate
ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
LBP : Live Biotherapeutic Product
Lcr35 : *Lactobacillus casei* variété *Rhamnosus 35*
MCB: Master Cell Bank
N&D : Nettoyage et désinfection
NEP : Nettoyage en Place
OGM : Organisme Génétiquement Modifié
PBV : Produit Biothérapeuthiques vivants à usage humain
PHA: Preliminary Hazard Analysis
R&D : Recherche et Développement
RCB : Research Cell Bank
SEP : Stérilisation en Place
UE : Union Européenne
WCB: Working Cell Bank
ZAC : Zone à atmosphère contrôlée

Liste des figures et tableaux

SCHEMAS

Schéma 1 : Représentation partielle de la diversité du microbiote humain

Schéma 2 : Constitution des banques cellulaires MCB et WCB

Schéma 3 : Processus de fabrication d'un PBV

Schéma 4 : Graphique de cycle de lyophilisation représentant les trois phases de lyophilisation (congélation, dessiccation primaire et secondaire).

Schéma 5 : Fabrication d'un PBV : forme liquide et forme poudre

Schéma 7 : Définition du risque

Schéma 8 : Plan d'une centrale de traitement d'air fonctionnement 100% air neuf desservant une ZAC

Schéma 9 : Plan d'une centrale de traitement d'air fonctionnement 100% air neuf desservant plusieurs ZAC

Schéma 10 : Pictogramme de l'ensemble des équipements de protection individuel

Schéma 11 : Schéma du cycle en V – gestion des projets de qualification et validation

Schéma 12 : Schéma représentatif stratégie de maîtrise de contamination

Schéma 13 : Schéma flux de la zone de broyage (flux personnel, matériel, matière, déchets)

Schéma 14 : Flux d'air, classe de propreté et cascade de pression de la zone de broyage

TABLEAUX

Tableau I : Ensemble des méthodes/outils de réalisation d'analyse de risque

Tableau II : Evaluation de la criticité et mise en place de CAPA

Tableau III : Définition des différents niveaux de biosécurité des pathogènes selon CNRS

Tableau IV : Comparaison des exigences réglementaires selon différentes recommandations pour un niveau de biosécurité 2.

Tableau V : Tableau des équipements de protection individuelle à revêtir en fonction du différent niveau de biosécurité de la souche

Tableau VI : Recommandations concernant la production de souches OGM

Tableau VII : Limite recommandées de contamination microbiologique dans les zones à atmosphères contrôlées

Tableau VIII : Limite nombre maximal autorisé de particules dans les zones à atmosphères contrôlées

Tableau IX : Périodicité des contrôles particuliers et microbiologiques des différents locaux/équipements de classe A, B, C ou D

Tableau X : Classification des filtres de très haute efficacité (EN 1822 :2009)

1 Introduction

Depuis quelques années le monde de l'industrie pharmaceutique et du médicament à vue son intérêt pour les biotechnologies et plus particulièrement les spécialités à base de souches bactériennes augmenter fortement. Ce phénomène s'explique par la découverte de propriétés pharmacologiques de différentes souches et notamment la découverte de l'effet du microbiote sur certains phénomènes physiologiques ou pathologiques du corps humain. Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons non pathogènes) vivants dans un endroit donné. Dans l'organisme il existe différents microbiote, notamment au niveau de la peau, de la bouche, du vagin, des intestins, des poumons ect... Il a été établi qu'un certain nombre de pathologies ont pour étiologie ce que l'on appelle des dysbioses, caractérisées par des déséquilibres de la biodiversité des différentes flores du corps humain. Dans de très nombreux cas ces dysbioses se traduisent par une baisse importante du nombre de bactéries. Il a été démontré que la prise de souches microbiotiques permet de pallier ces différentes dysbioses. Ces souches microbiotiques prises en complément sont également appelées produits biothérapeuthiques vivants (PBV). Biose Industrie est à ce jour le leader mondial de la production de produits biothérapeuthiques vivants. Ce sont des produits de santé pour usage humain contenant des micro-organismes vivants (bactéries ou levures). Depuis 2016, l'entreprise Biose Industrie est entrée dans une phase d'évolution industrielle et commerciale grandissante qui pousse aujourd'hui cette dernière à s'agrandir et se développer plus amplement dans le respect des Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF). Biose est devenue une CDMO (Contract development and manufacturing organisation) d'envergure internationale, la stratégie d'entreprise actuellement est de pouvoir aller encore plus loin en s'adaptant aux normes d'industrie pharmaceutique mondiale en étant agréementée de la FDA (Food And Drug Administration), administration Américaine responsable de la commercialisation des denrées alimentaires et des produits de santé.

Les processus de fabrication des produits à base de souches microbiotiques sont des processus bien spécifiques. Les ateliers de production sont amenés à produire à la suite différentes souches microbiotiques, ces souches peuvent différer de par leurs différents phénotypes, mais également leur nettoyabilité ou encore leur dangerosité. Il est donc

indispensable pour maîtriser ses processus de fabrication de réaliser une stratégie de contrôle des contaminations croisées entre différentes productions afin d'assurer la qualité du produit fabriqué. Pour se faire, et conformément à l'ICHQ9 relative à la gestion des risques qualité des produits de santé, aux Bonnes Pratiques de fabrication (BPF) et au GMP (Good Manufacturing Practice) il est nécessaire de réaliser des analyses des risques de contaminations prenant en compte l'ensemble de l'environnement du processus de fabrication, elles doivent également être réalisées en fonction de la pathogénicité et dangerosité des souches produites. Un certain nombre d'outils peuvent être utilisé pour réaliser ces analyses de risques, le choix de l'outil fait partie intégrante de la stratégie de contrôle des contaminations.

La première partie de cette thèse fait état des lieux de l'ensemble de la réglementation autour des différents éléments rentrant en compte lors de l'établissement d'une analyse de risque contamination croisée autour d'un procédé de fabrication de produit à base de souches microbiotiques. Cette première partie reprend l'ensemble des étapes à réaliser pour mettre en place l'analyse des risques et les différentes stratégies adoptées par Biose pour répondre à la demande des autorités Européenne et Américaine.

La deuxième partie est une mise en application d'une analyse de risque dans une zone spécifique de production conformément aux exigences de la FDA. La dernière partie de la thèse traitera des différents intérêts et limites des analyses de risque au sein d'une industrie pharmaceutique de production de souches microbiotiques.

2 Produits Bio thérapeutiques vivants à usage humain (PBV)

Les PBV ont été défini en 2012 par la FDA comme « *un produit biologique qui contient des micro-organismes vivants, tels que des bactéries ou des levures, qui sont d'origines naturelle, recombinante ou sélectionnée par clonage ; ce produit doit être applicable à la prévention, au traitement ou à la guérison d'une maladie ou d'une condition humaine ; et il ne doit pas être un vaccin spécifique à un immunogène* » (1) et comme « un médicaments contenant des micro-organismes vivants (bactéries ou levures) à usage humain » selon la commission européenne de pharmacopée (2).

Historiquement, les souches probiotiques, étaient réservées aux domaines microbiologiques et compléments alimentaires. Les souches les plus utilisées, tel que *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, et *Saccharomyces*, sont, en effet, étroitement liées au processus alimentaire. Au XXe siècle, une émergence de compléments alimentaires et d'aliments contenant ces micro-organismes vivants, a été observée (3). Au fur et à mesure que la caractérisation du microbiome humain et son lien avec la santé humaine a été mieux comprise, de nouveaux défis thérapeutiques ont émergé permettant une transition progressive vers de nouveaux traitements à base d'organismes vivants. Catégorisé comme « probiotique thérapeutique », les PBV se distinguent par leur effet thérapeutique et leurs revendications de bénéfices cliniques définis. Leur utilisation clinique s'avère très prometteuse pour réduire les infections, stimuler les réponses immunitaires innées et moduler le métabolisme gastro-intestinal.(4)

Les probiotiques ont pour objectif de lutter contre les dysbioses qui se définit par un déséquilibre du microbiote.

Un microbiote est constitué d'un ensemble de micro-organismes comme les bactéries, les virus, les parasites ou encore les champignons. Il existe plusieurs microbiotes chez l'individu : le microbiote intestinal, vaginal, buccal, cutané et pulmonaire etc... (Voir schéma 1) Le microbiote humain comprend des bactéries, virus, champignons (levures), archées et autres micro-organismes qui sont présents sur ou dans le corps humain. (5) Ces flores participent à de nombreuses fonctions biologiques. Le microbiote intestinal, par exemple, joue un rôle dans les fonctions digestive, métabolique, immunitaire et neurologique. On retrouve un effet significatif du microbiote dans plusieurs pathologies

comme par exemples : le diabète (6), le cancer du sein (7), syndrome du côlon irritable (8), dysbiose vaginale (9).

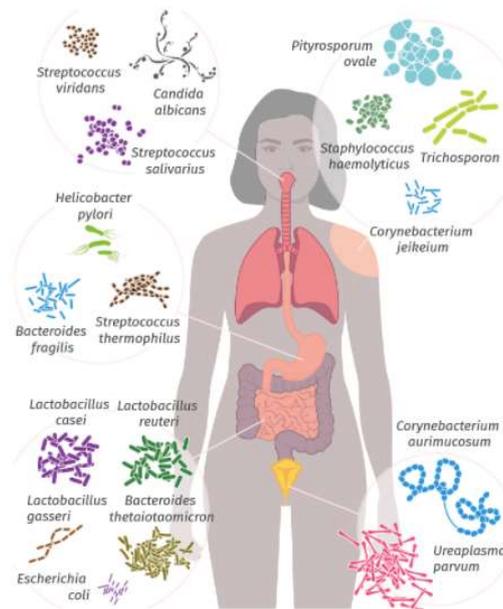


Schéma 1 : Représentation partielle de la diversité du microbiote humain (10)

Le microbiote intestinal, le plus important, se compose de 10^{12} à 10^{14} micro-organismes. Une dysbiose du microbiote intestinal peut être causée notamment par la prise d'antibiotiques, un régime alimentaire non adapté ou encore une infection nosocomiale / infection associée aux soins. La dysbiose est une altération qualitative et fonctionnelle du microbiote, elle représente une piste sérieuse pour comprendre l'origine de certaines maladies, notamment celles sous-tendues par des mécanismes auto-immuns ou inflammatoires (11). L'identification des souches microbiotiques, ainsi que les progrès sur les procédés de culture cellulaire permettent aujourd'hui la production des probiotiques. Ces produits à base de micro-organismes exercent un rôle de rééquilibrage de la flore et sont ainsi bénéfiques pour la santé.

3 Biose Industrie

Biose Industrie est une CDMO pharmaceutique « Contract Développement and Manufacturing Organisation » spécialisée dans la production de produits de santé à base de probiotiques. Le groupe Biose est actuellement basé à Aurillac (15) dans le Cantal, il possède également un site de recherche et développement basé à Boston (USA). Certifié

BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication), Biose Industrie aspire à accompagner des partenaires innovants, de la phase de développement jusqu'à la mise sur le marché de leur médicament. C'est une entreprise qui a pour vocation le développement industriel et technologique, la production clinique et la production commerciale de galéniques microbiotiques. Poussée par les valeurs d'humilité, d'efficacité, d'expertise et d'agilité, Biose est aujourd'hui un groupe de dimension internationale.

Biose Industrie possède deux activités essentielles : une activité CMO et une activité CDO. De ce fait, Biose Industrie s'engage à respecter différentes normes et réglementations : les BPF pour les médicaments, le Règlement (UE) 2017/745 pour les dispositifs médicaux et la charte Synadiet pour les compléments alimentaires. L'entreprise est également aujourd'hui en cours de mise en place de la certification FDA afin de pouvoir exporter les produits fabriqués aux USA. Obtenir cette certification engendre un certain nombre de modifications à apporter au sein de l'entreprise, l'ensemble des systèmes doivent être revus (gestion documentaire, système qualité, planning de production, locaux ect...) afin d'être en accord avec la réglementation Américaine, beaucoup plus stricte que la réglementation Européenne et plus particulièrement en termes de qualité.

Activité CMO : L'appellation activité CMO concerne les produits de santé commercialisés par Biose. La souche Lcr35 (*Lactobacillus casei* variété Rhamnosus) découverte par Biose en 1952 a été pendant longtemps la seule substance active de ces produits, et récemment la souche *Lactobacillus crispatus* a été introduites dans les procédés de fabrication pour élargir la gamme de produits commercialisés.

Ces activités CMO incluent la gestion et le renouvellement des banques cellulaires des souches Lcr35 et *L.crispatus*, la production en fermenteurs, la lyophilisation du produit, le broyage de la poudre et finalement la mise en formes galéniques en gélules, comprimés en conditionnement pilulier, stick ou blister.

On retrouve également chez Biose Industrie le service Chimie Fine qui contribue également dans l'activité CMO de Biose en produisant et vendant une matière première : la Glucuronamide.

Activité CDO (Contract Développement Organization) : Le service Recherche et Développement travaille, à la demande du client, sur de nombreux projets innovants qui consistent à identifier et développer un processus de culture, de nouvelles souches bactériennes, allant de la simple souche bactérienne, à des souches sporulantes, à des souches au caractère potentiellement pathogène, voire des OGM (Organisme Génétiquement Modifié). Les laboratoires pharmaceutiques internationaux ayant découvert une nouvelle souche bactérienne ou cherchant à prouver un intérêt thérapeutique à une souche déjà existante, font appelle à Biose Industrie pour faire de cette souche un produit de santé. Les produits issus du processus certifié GMP (good manufacturing practices) passent ensuite des essais cliniques (phase I, phase II, phase III) selon l'agence ayant l'autorité dans leur pays (exemple : France : Agence Nationale des produits de Sécurité du Médicament et des produits de santé) dans le but de commercialiser le produit.

L'activité industrielle pharmaceutique repose essentiellement sur les bonnes pratiques de fabrication (BPF) et plus spécifiquement sur les normes ISO et ICH. L'organisation de Biose Industrie repose sur trois grands processus :

- Processus management : permettant d'assurer la vision et la pérennité de l'entreprise (processus commercial permettant le développement de nouveaux produits et d'assurer la continuité des produits déjà en production)
- Processus supply Chain : regroupant les activités administratives des ventes et des planifications ainsi que le service logistique avec l'approvisionnement, l'ordonnancement et la gestion des stocks/magasin.
- Processus production : Recherche et développement, Production de la substance active (DS : Drug Substance), Conditionnement de la substance active (DP : Drug Product)

En tant qu'entreprise CDMO, Biose Industrie propose une large gamme de prestations pour des clients et commercialise également sous sa propre marque des produits de santé à base de souches.

Au sein de Biose industrie les productions sont soumises à différentes réglementation :

- Les matières premières à usage pharmaceutique (MPUP) ou Drug Substance (DS)
 - o Glucuronamide (Substance active du Guronsan)
 - o Lcr35
 - o Crispatus
 - o Souches CDO
- Les médicaments : ils sont soumis à la directives 2001/83/CE :
 - o Lenia® gélules (adultes) et sachets (enfants)
 - o Florgynal® et Trophigil®
- Les dispositifs médicaux (DM) : ils sont soumis à la fois à la directive 93/42/CEE et au règlement 17 2017/745 :
 - o Gynophilus® et Gynophilus LP® (Lactobacillus)
 - o Physioflor® et Physioflor LP® (Crispatus)
- Les compléments alimentaires : ils sont soumis à la directive 2002/46/CE :
 - o Arthelio®
 - o Florea® gélules et sachets
 - o Gynoboost®
 - o Physioflor® voie orale

4 Principe de fabrication d'un PBV

Le processus de fabrication entre un produit CDO et CMO est similaire dans les deux cas. La différence relevant de la taille du lot produit, les produits CMO sont fabriqués à l'échelle industrielle tandis que les produits CDO nécessitent une plus faible quantité (entre 2 et 25 Kg pour la CDO contre environ 200 kg pour CMO).

Le séquençage de l'ADN propre à la souche étudiée est la première étape du processus de fabrication d'un PBV par le processus d'amplification génétique de PCR (Polymérase Chain Reaction). Grâce à ce dernier il va donc être possible de concevoir des banques cellulaires. En ce qui concerne la CMO il existe un ensemble de trois banques cellulaires primaires, appelées Master Cell Bank (MCB) : *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus crispatus* (voir schéma 2).

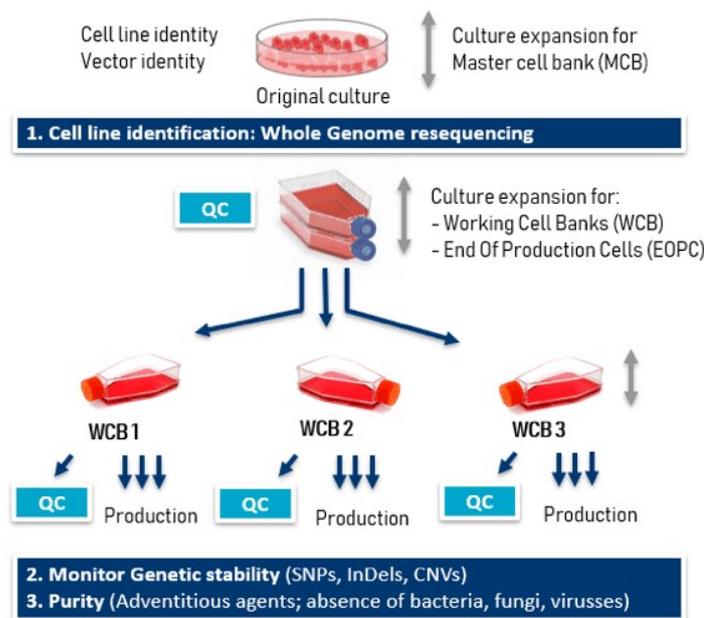


Schéma 2: Constitution des banques cellulaires MCB et WCB (12)

Ces « cellules mères » sont conservées dans un congélateur à -80°C pendant maximum 10 ans. Ces banques cellulaires de « cellules mères » ne sont pas utilisables pour la suite de la production, elles vont être utilisées pour donner des « cellules filles » que l'on pourra utiliser pour la suite du processus. Ces « cellules filles » sont appelées Working Cell Bank (WCB) ou dans certains cas pour le service de recherche et développement des Research Cell Bank (RCB). La RCB est utilisée pour des analyses R&D, qualité etc... elle est conservée à $\pm 5^{\circ}\text{C}$. La WCB est utilisée comme base de production, tous les deux ans des prélèvements par petites fractions sur les MCB sont effectués afin de former la WCB. Ces dernières sont conservées à -20°C .

En CDO, le client transmet la souche à développer, des WCB sont créées afin d'être inoculées dans un fermenteur avec un milieu de culture optimisé et spécifique à la souche cultivée. Ce milieu de culture est stérilisé, selon des paramètres de stérilisation définis (validés et qualifiés), directement dans le fermenteur, afin d'être exempt de tout autre micro-organisme.

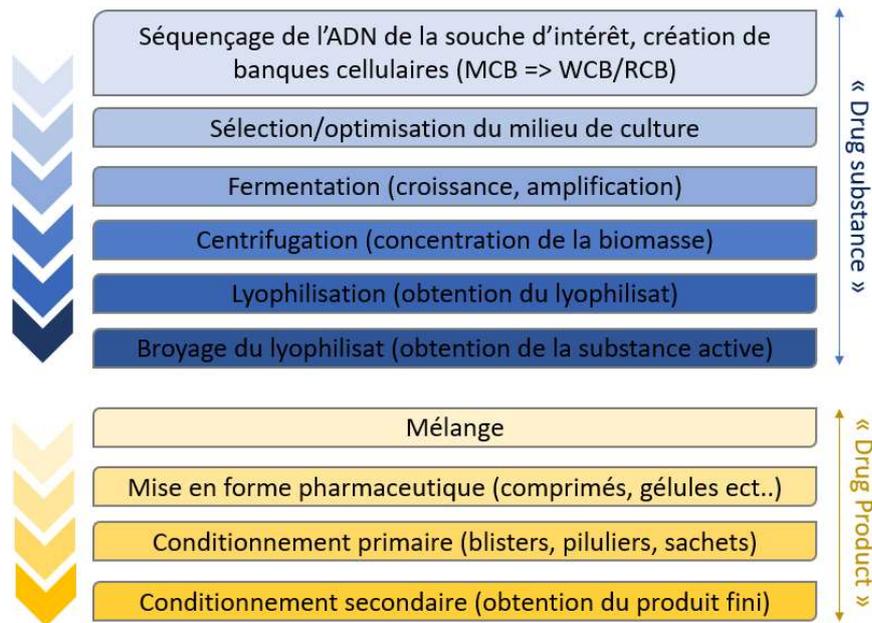


Schéma 3 : Processus de fabrication d'un PBV

Une fois cette étape réalisée la souche va pouvoir être inoculée dans le fermenteur. A ce stade, le fermenteur contient alors le milieu de culture avec notre souche d'intérêt. Ici l'objectif de la fermentation, est d'augmenter la numération de la souche. Dans l'exemple du *Lactobacillus casei rhamnosus*, la fermentation lactique va permettre la production d'énergie en milieu anaérobie grâce à la présence de plus ou moins de glucides en formant de l'acide lactique (13). Cette étape provoque une acidification du milieu, le critère d'arrêt de la fermentation va donc être le pH, cependant dans certaine production le critère d'arrêt peut également être une mesure de la densité optique afin d'observer la multiplication de la souche selon une norme établie au préalable.

Lors de cette étape de fermentation le produit est sous forme liquide. La fermentation s'effectue en milieu entièrement clos au sein de fermenteurs, le flow-chart entre ces derniers s'effectuent par lignes de transferts.

Après validation, le process développé sur des fermenteurs de 2L, 5L, 150L en R&D (recherche et développement) passe en scale-up en production. La souche est cultivée en fermenteurs selon les rendements et les quantités demandées (20L, 300L, 3500L).

Après fermentation, le produit liquide est amené à être centrifugé afin de concentrer la biomasse et de récupérer un concentrat. Le transfert du produit liquide entre le fermenteur et la centrifugeuse sont réalisés par ligne de transfert.

Une fois le concentrat récupéré des excipients cryoprotectants appelés « lests » sont ajoutés à la préparation liquide. Ils jouent un rôle de protection et de conservation des propriétés de la souche lors de la prochaine étape : l'étape de lyophilisation. Elle consiste à retirer l'eau d'un produit liquide, pâteux ou solide, à l'aide de la congélation puis évaporation sous vide de la glace sans la faire fondre. Lorsque l'on réchauffe de l'eau à l'état solide à très basse pression, l'eau se sublime : elle passe directement de l'état solide à l'état gazeux. La vapeur d'eau quitte le produit et est capturée par la congélation à l'aide d'un condenseur (voir schéma 3). La lyophilisation se divise en 3 étapes : congélation du produit, dessiccation primaire puis dessiccation secondaire. La lyophilisation est un procédé pharmaceutique qui permet de conserver à les propriétés du produit.

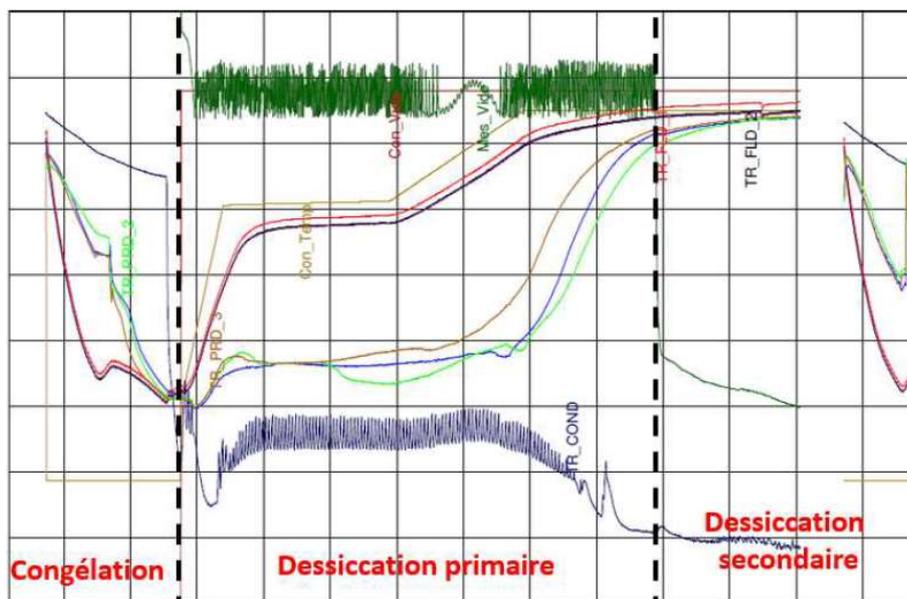


Schéma 4 : Graphique de cycle de lyophilisation représentant les trois phases de lyophilisation (congélation, dessiccation primaire et secondaire).

On obtient en fin de lyophilisation un lyophilisat qui sera amené à être broyé et calibré afin d'obtenir une granulométrie reproductible. On obtient alors une « Drug substance » (DS), sous forme de poudre, qui sera la substance active du produit. Selon les besoins du client la poudre peut être mélangée à divers excipients, puis conditionnée : en gélules, comprimés, sticks puis en blister, pilulier, on obtient alors un « Drug Product » (DP).

Dans le processus de fabrication d'un PBV le produit est sous forme liquide lors de la première étape de fabrication : de la constitution des banques cellulaires à la

lyophilisation. Cette dernière permet d'obtenir un lyophilisat, sous forme sèche. Du broyage au conditionnement secondaire le produit est sous forme de poudre.

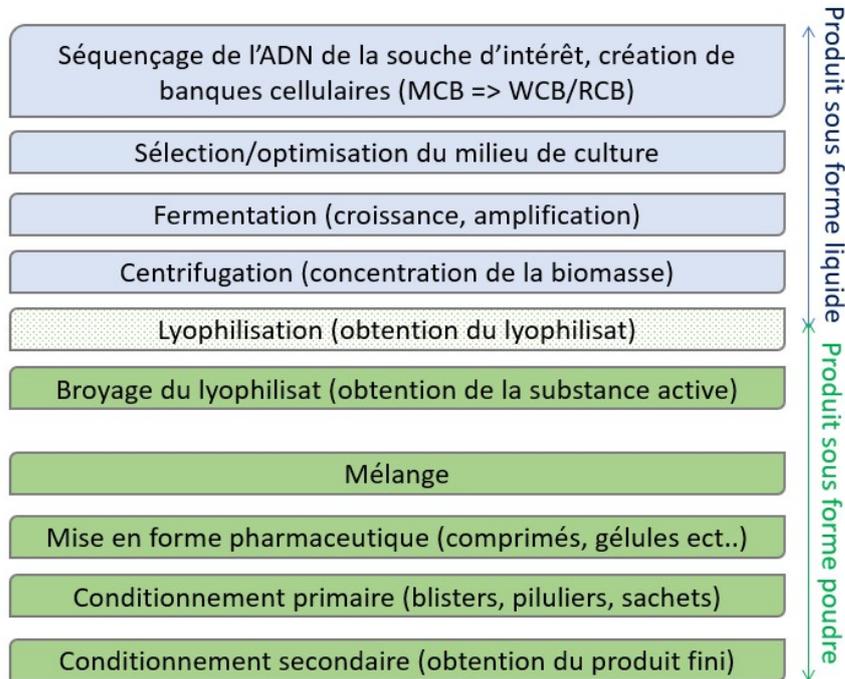


Schéma 5 : Fabrication d'un PBV : forme liquide et forme poudre

5 PARTIE 1 : THEORIE – MISE EN PLACE D'ANALYSE DE RISQUE

5.1 Analyse de risque

5.1.1 Définitions analyse de risque

Le **risque** est défini par un danger plus ou moins probable, il s'agit en effet de la combinaison entre la probabilité de fréquence d'arrivée (occurrence) d'un dommage et de sa sévérité, les graduations des échelles étant à définir par l'entreprise. Elles doivent être procédurées et en fonction de détail de l'étude.

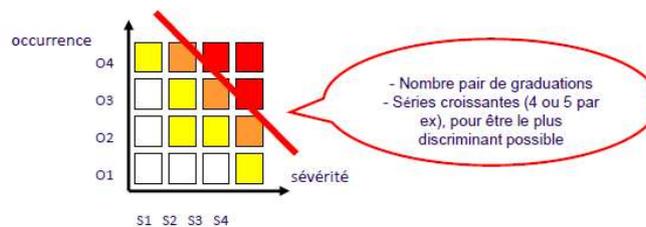


Schéma 6 : Définition du risque

Le risque est lié au contexte de la situation. L'analyse se caractérisant par une décomposition, une étude du risque. La gestion du risque qualité dans une industrie pharmaceutique doit être considérée comme une priorité, cette gestion est guidée par la réglementation en vigueur : bonnes pratiques de fabrication (BPF). Le but d'une analyse de risque étant de sécuriser les systèmes et de respecter les réglementations en vigueur. La mise en place d'une analyse de risque n'est pas une donnée obligatoire, mais par le cadre qui est donné dans les BPF elle doit faire partie intégrante du système qualité de l'entreprise. Le principe de gestion du risque qualité de l'ICHQ9 sont intégrées dans la partie 1 des BPF et dans la partie II des GMP.

Selon l'ICHQ9 (14) l'analyse de risque est « *l'estimation du risque associé aux dangers identifiés. C'est le processus qualitatif ou quantitatif qui consiste à lier la probabilité de la survenue des dommages et leur gravité. Avec certains outils de gestion du risque, la capacité à détecter les dommages (défectabilité) est également un facteur pris en compte dans l'estimation du risque.* ». L'analyse de risque permet d'estimer un risque, qui a été identifié et de le lier à l'incidence de ce risque sur une situation réelle et la probabilité d'engendrer des dommages et la gravité de ces derniers.

Ces analyses de risques permettent de connaître les procédés et processus d'une entreprise, d'identifier ce qui est réellement important, de cibler les aspects économiques, temporels, énergétiques et ressources humaines, c'est un moyen de prendre les bonnes décisions et de ne pas perdre de temps sur des points à faible risque.

Si les décisions relatives au risque qualité sont fondées sur des bases scientifiques et documentées, cela permet une plus grande confiance de la part des autorités, une meilleure utilisation des ressources disponibles en adaptant l'effort à fournir au niveau du risque. Cependant, il est de noter que l'utilisation approprié du management du risque ne dispense pas l'industrie de satisfaire aux exigences réglementaires et cela ne remplace pas la communication entre l'industrie et les autorités compétentes. Les deux objectifs majeurs d'une analyse de risque dans l'industrie pharmaceutique sont de faciliter la prise de décision et de justifier des pratiques afin d'être le plus objectif possible.

En effet la fabrication jusqu'à l'utilisation même du médicament par le patient engendre un certain nombre de risques qui devront être pris en compte. Dans notre cas nous étudierons plus particulièrement le risque qualité du produit (risque de contamination du

produit fabriqué), qui lui-même représente qu'une partie du risque global du cycle de vie du médicament. Cela inclue notamment les étapes de développement, de fabrication, de distribution ainsi que l'inspection et la soumission/révision des procédés tout au long du cycle de vie des substances actives.

Quand ?

Elle peut être appliquée de façon **prospective ou rétrospective**. En effet elle peut être établie en anticiper, sur une situation actuelle ou encore sur des situations passées. Les domaines d'applications sont multiples : gestions des déviations (anomalies), des modifications, qualification validation, dans le cadre d'audit, de contrôles réduits etc...

Comment ?

L'initiation du processus de gestion du risque qualité se fait en trois grandes étapes (voir schéma) : dans un premier temps **l'appréciation du risque**, dont la première étape est d'identifier le risque. Une fois le risque identifié il est important de réaliser une **analyse de ce risque** afin de l'évaluer. Dans un second temps, le risque identifié, analysé et évalué doit être maîtrisé, cela passe par la **réduction de ce risque ou l'acceptation de ce risque**. Si la maîtrise du risque est inacceptable le risque devra être à nouveau analysé et évalué. Dans le cas contraire, l'acceptation du risque est la donnée de sortie du processus de gestion des risques. Enfin dans un dernier et troisième temps, le risque devra être revu, pour s'assurer de la **bonne maîtrise**.

Quoi ?

Il existe plusieurs types de risques, des risques dit endogènes et des risques exogènes :

- Un **risque endogène** est un risque qui est créé par l'entreprise elle-même ou par ses parties prenantes. Le risque peut être liés aux méthodes, au personnel incluant les dirigeants, au milieu, aux équipements ou aux systèmes informatisés. Il peut également être lié aux matières, aux produits fabriqués ou aux services délivrés.

Dans certains cas il peut également être dû aux fournisseurs, aux clients ou aux actionnaires.

- Les **risques exogènes** peuvent être liés aux concurrents, à l'environnement politique, social, culturel ou économique.

Ils peuvent aussi être juridiques (incluant les risques réglementaires), liés à l'évolution des technologies ou encore liés à l'environnement géographique, ou périls d'origine naturelle.

D'autres possibilités existent, ce pourquoi il est important et nécessaire de bien réaliser la bonne identification du risque.

5.1.2 Les outils d'analyse de risque

5.1.2.1 Définitions des outils utilisés

L'industrie pharmaceutique et les autorités compétentes peuvent évaluer et maîtriser le risque à l'aide d'outils de gestion du risque reconnus et/ou de procédures internes. Ces outils sont utilisés pour **évaluer la criticité**. Ils permettent de considérer les différents types de risques : patient, business, sécurité, réglementaire, optimisation... Et permettent de déterminer le besoin et le niveau d'actions. Ils permettent **la maîtrise du risque** ; processus par lequel des décisions sont prises et des mesures de protections sont mises en place pour réduire les risques ou les maintenir dans des limites spécifiées. La maîtrise du risque permettra de déterminer si le risque reste à un niveau acceptable, s'il sera possible à diminuer ou à supprimer. Cependant il faudra s'assurer de ne pas introduire de nouveaux risques en traitant les risques identifiés.

La maîtrise du risque consiste soit à agir sur la probabilité d'apparition du risque, soit à atténuer la gravité des effets. Il peut aussi consister à augmenter la détectabilité du défaut pour lui permettre d'être constaté au plus vite (au moment où il se produit ou avant que l'effet indésirable sur le patient ne puisse se produire) :

- Réduction du risque : Actions entreprises en vue de diminuer la probabilité, les conséquences négatives ou les deux associées à un risque.
- Acceptation du risque : hormis dans le cas de suppression du risque, il restera toujours un risque résiduel. Le niveau acceptable sera préétabli, en fonction des objectifs fixés et de l'environnement

Le risque est acceptable lorsqu'après évaluation de ce risque, la décision formelle de l'accepter est prise car sa gravité est mineure et son potentiel d'apparition faible. Il peut être acceptable en l'état actuel des connaissances ou lorsqu'un système cohérent et

efficace de management du risque est en place et les risques sont réévalués en continu dès leur apparition.

Il existe en effet des moyens pour gérer les risques qualité comme l'ensemble de la documentation qualité (instructions, procédures) qui vont venir en support qualité des activités, la compilation de données et analyse de données (APR) qui vont pouvoir donner un regard global à un ensemble d'évènement/déviante. Cependant ces éléments vont permettre de traiter plus globalement les défauts rencontrés dans le système qualité d'une industrie pharmaceutique.

Plusieurs outils de gestion des risques qu'utilise majoritairement l'industrie pharmaceutique ont donc été mis en place afin d'évaluer et gérer le risque :

- Analyse des modes de défaillance et de leurs effets - AMDE (Failure Mode Effects Analysis - FMEA)
- Analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité - AMDEC (Failure Mode, Effects and Criticality Analysis – FMECA)
- Analyse par arbre des défaillances (Fault Tree Analysis – FTA) ;
- Analyse des dangers et maîtrise des points critiques (Hazard Analysis and Critical Control Points - HACCP) ;
- Analyse de dangers-exploitableté (Hazard Operability Analysis - HAZOP) ;
- Analyse préliminaire des dangers (Preliminary Hazard Analysis - PHA)

Tableau I : Ensemble des méthodes/outils de réalisation d'analyse de risque

ICH Q9 – Briefing Pack (liste non exhaustive)		
Risk analysis	Analyse de risques	Description
Failure Mode Effects Analysis (FMEA)	• Analyse des effets des modes de défaillance (AMDE)	Décomposez les grands processus complexes en étapes gérables
Failure Mode, Effects and Criticality Analysis (FMECA)	• Analyse des modes de défaillance, des effets et de la criticité (AMDEC)	AMDE enrichie des liens avec la gravité, la probabilité et la détectabilité à la criticité
Fault Tree Analysis (FTA)	• Analyse de l'arbre de pannes	Arborescence des combinaisons de modes de défaillance avec des opérateurs logiques
Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP)	• Analyse des risques et points critiques pour leur maîtrise (HACCP)	Méthode systématique, proactive et préventive sur la criticité
Hazard Operability Analysis (HAZOP)	• Analyse d'opérabilité des risques	Technique de brainstorming
Preliminary Hazard Analysis (PHA)	• Analyse préliminaire des risques	Possibilités que l'évènement à risque se produise
Risk ranking and filtering	• Classement et filtrage des risques	Comparez et hiérarchisez les risques avec des facteurs pour chaque risque

Au sein de Biose Industrie la méthode AMDEC est la méthode principalement utilisée.

5.1.2.2 Introduction à la méthode AMDEC

La méthode AMDEC provient en effet de la traduction anglaise de « Failure Mode Effects Analysis – FMEA ». Elle a été créée dans les années 1950, aux Etats-Unis pour améliorer la sécurité des programmes spatiaux (industries aéronautique et militaire). Elle a ensuite été améliorée dans les années 1970 par certaines industries européennes (automobile, chimie et nucléaire) qui y ajoutent la notion de criticité.

L'AMDEC est une forme élargie de l'AMDE. Elle intègre dans sa méthode un **degré de gravité des conséquences** par l'introduction d'un **paramètre de criticité**. On réalise ainsi une analyse des modes de défaillance, des effets de ces modes et de leur criticité. Dans l'AMDE, ou analyse des modes de défaillances, le paramètre de criticité n'est donc pas pris en compte, cette méthode permet d'établir les priorités du risque, elle permet également de contrôler l'efficacité des activités de maîtrise du risque mises en place. Elle est utilisée pour analyser un processus de fabrication et son impact sur le produit ou sur des équipements, elle permet de mettre en lumière les points de vulnérabilité. Les résultats de l'AMDE peuvent servir de base à une analyse de risque suivant la méthode AMDEC. Cette dernière peut identifier grâce à la criticité du risque des mesures préventives supplémentaires à mettre en place pour désimpacter le risque.

Elle est applicable aux moyens de production et de conception, mais également aux processus de fabrication et de contrôle et pour l'évaluation des points critiques de toutes sortes de processus. L'AMDEC est un **outil d'amélioration continue**. Pour réaliser une analyse de risque suivant la méthode AMDEC il est nécessaire d'avoir une certaine connaissance des spécifications du produit ou des processus.

Une analyse de risque doit être un travail collectif, systématique et exhaustif. Pour obtenir cette vision globale de connaissance autour du produit et/ou des processus l'implication d'un certain nombre de personne avec des connaissances diverses et variées au sein de l'entreprise est un élément essentiel pour établir une analyse de risque. Ce travail collectif doit permettre de récolter un ensemble d'information nécessaire pour le bon déroulement de l'analyse de risque. L'ensemble des services de l'entreprise peut être amené à intervenir dans ce processus : logistique, maintenance, métrologie, production, qualité, qualification et validation, affaires règlementaires. Chacun ayant des visions différentes

de l'appréhension du risque. Cela permet d'imaginer en groupe, de la manière la plus exhaustive possible, les modes de défaillance d'un processus.

L'évaluation des risques et l'établissement de la criticité doit être un travail systématique lors d'intégration de nouveaux procédés ou nouvelles pratiques. Ainsi à chaque modification sur le produit ou sur son processus de fabrication une revue et une mise à jour de l'analyse de risque doivent-être effectuées sur la base du travail au préalable établi.

Une analyse de risque doit être exhaustive, elle doit traiter de tous les sujets relatifs à l'analyse en cours. L'ensemble des paramètres pouvant avoir un impact sur l'identification du risque, l'évaluation de ce dernier, le mode de défaillance, la détection, sa gravité ou encore son occurrence doit-être pris en compte.

Le but de l'analyse de risque permettra de rendre plus robuste le système qualité relatif à la fabrication de produits de santé au sein de l'industrie pharmaceutique. Il permettra par le biais d'actions préventives ou correctives de réduire le risque, d'éviter l'émission d'anomalies ou d'accident du travail.

On va pouvoir distinguer différents types d'AMDEC selon les systèmes auxquels la méthode est appliquée :

- **AMDEC produit** : elle va permettre d'identifier les défaillances du produit ou de ses composantes en phase de conception, de valider la définition d'un produit par rapport au cahier des charges fonctionnel pour en assurer la qualité avant que la définition du produit soit figé.
- **AMDEC procédé** : permet d'identifier les défaillances du procédé de fabrication d'un produit dont les effets agissent directement sur la qualité du produit fabriqué, sur le respect des spécifications attendues du produit.
- **AMDEC processus** : permet d'identifier les défaillances du processus de fabrication dont les effets agissent directement sur l'atteinte des objectifs qui lui sont alloués.
- **AMDEC service** : permet d'identifier les défaillances lors de la réalisation du service dont les effets agissent directement sur la valeur ajoutée du service et la satisfaction des clients.

L'issue d'une AMDEC est une « cotation » de risque relatif donnée à chaque mode de défaillance, utilisée pour les classer sur une base de risque relatif : hiérarchiser la criticité de ces modes de défaillance grâce à une cotation chiffrée et prioriser les actions à entreprendre en fonction de la cotation obtenue.

L'utilisation de la méthode AMDEC pour établir une analyse de risque nécessite une bonne connaissance du fonctionnement du système et de son environnement. Il est important de valoriser le retour d'expérience en s'appuyant sur des événements qui sont déjà survenus. Il peut être intéressant d'utiliser en amont les informations apportées par les outils qualité : anomalies, change control, dérogation, CAPA.

Il faut définir à l'avance à quoi va servir l'analyse de risque AMDEC : quel sera le but du travail et réfléchir à l'avance à l'organisation et aux responsabilités durant l'étude.

Cette première étape de **préanalyse des données** est un travail préliminaire obligatoire qui servira de support pour l'analyse de risque. Elle consiste à décrire les différentes fonctions du système étudié.

Dans un premier temps il est important de bien définir à quoi sert le système que l'on étudie (produit, équipement, atelier, activité, processus ect...) afin de pouvoir l'étudier dans sa globalité. Quelle vont être les entrées et les sorties, les entrées productions seront apparentées aux entrées matières, les entrées processus de formation seront l'ensemble du personnel à former. Les sorties production seront les produits finis, les déchets, le matériel sale, les sous-produits éventuels, les sorties processus formation seront les personnes habilitées au poste de travail par exemple.

La troisième étape sera la **constitution du groupe de travail**, cela permettra de désigner dès le début un animateur et un rédacteur qui complètera l'analyse de risque au fur et à mesure qu'avance l'analyse en appliquant la cotation en direct. Il est important de fixer les règles de cotation employées dès le début, la cotation de la gravité, la fréquence et la détectabilité, le seuil à partir duquel la mise en place d'une action est obligatoire et le seuil en dessous duquel l'action mise en place est considérée comme suffisante

Ensuite il conviendra de réaliser **une analyse fonctionnelle** du système étudié, en utilisant des éléments tels que les schémas d'installation, le descriptif du processus, le schéma d'automatisme, les modes opératoires et consignes.

L'analyse de risque en elle-même sera ensuite une recherche des modes de défaillance avec l'ensemble du groupe de travail.

5.1.2.2.1 Méthode des 6M

La méthode des 6M, ou diagramme d'Ishikawa est une **méthode de brainstorming** qui permettra de chercher et identifier l'ensemble des causes d'un problème ou d'un effet dans le cas d'une étude AMDEC. Cette méthode fait partie intégrante de l'AMDEC dans ce cas.

Cette méthode est parfaitement bien adaptée à la gestion des risques. Il s'agit d'un outil de gestion de la qualité notamment au niveau de l'industrie pharmaceutique (lean, gestion de projet). Avec comme départ le mode de défaillance, identifié lors de l'analyse de risque, ou du défaut identifié, le brainstorming est conduit autour de 6 catégories de causes qui commencent toutes par la lettre M :

- Matériel (flux matériel, nettoyage du matériel, statut de qualification)
- Méthode (procédures, méthode de travail)
- Main d'œuvre (formation, habilitation, flux)
- Milieu (environnement, organisation physique)
- Matières (traçabilité, flux des matières, péremption ect...)
- Mesure (instruments de mesure)

Cette méthode permet d'animer efficacement et rapidement le groupe de travail pour rechercher et identifier les causes d'un problème et définir le plan d'action.

5.1.2.2.2 Cotation : méthode AMDEC

Pour chaque cas à traiter, un groupe de travail constitué des différentes fonctions impliquées imagine les différentes défaillances possibles. Pour chacune des défaillances, nous avons déterminé :

- La probabilité d'occurrence de l'évènement et on lui attribue une note P (croissante avec la probabilité d'occurrence)
- La gravité de l'évènement et on lui affecte une note G (croissante avec la gravité)
- La détectabilité de l'évènement et on lui attribue une note D (décroissante avec la capacité de détection)

On pourra alors estimer la probabilité d'occurrence du risque, cette étape est une étape complexe, chaque membre du groupe de travail ayant une perception différente de la possibilité de survenue d'un incident. Pour éviter la subjectivité, il est important de bien utiliser la cotation au préalable définie. Ensuite il conviendra d'étudier les conséquences du risque et d'en coter la gravité. Une même défaillance peut entraîner plusieurs conséquences avec des gravités diverses. Il est important de les considérer comme deux événements distincts et de les coter séparément. Enfin il faut établir la détectabilité du risque, il s'agit de déterminer l'ensemble des moyens mis à disposition pour détecter le risque identifié. Cette détection peut être préventive ou à postériori. Dans le cas idéal les moyens mis en œuvre permettront une détection automatique du risque. L'appréciation de l'efficacité des moyens mis en œuvre pour détecter le risque est réalisée par le groupe de travail. Dans le cas où les moyens ne sont pas assez robustes, il conviendra de rajouter des moyens de détection (par exemple ajout de contrôle visuel, précision dans la documentation qualité, mise en place de détecteur etc...).

Le produit des trois paramètres : $G \cdot P \cdot D$ attribue une valeur de criticité à la défaillance étudiée.

5.1.2.2.3 Criticité : méthode AMDEC

La criticité est donc obtenue par le produit $G \cdot P \cdot D$, le point le plus important est le seuil que l'on donne pour avoir obligatoirement une action corrective. Dans l'exemple ci-dessous, lorsque le produit de la gravité, par l'occurrence et la détection est strictement égal à 12 la mise en place d'une action corrective est déterminée au cas par cas. Au-delà de cette valeur, lorsque la criticité est au moins égale à 16 une action est obligatoirement mise en place.

Tableau II : Evaluation de la criticité et mise en place de CAPA



A partir d'un seuil de criticité préalablement défini, plusieurs actions correctives ou préventives doivent être mises en place pour éviter la défaillance identifiée. On procède

alors à une nouvelle évaluation de la criticité de la défaillance en tenant compte des actions dédiées.

Dans certain cas, même lorsque la criticité est inférieure il est possible de mettre en place une action corrective, cela arrive lorsque la gravité du risque est au maximum, lorsque la gravité du risque peut avoir un impact sur la santé du patient. Dans ce cas même lorsque la détection est faible et l'occurrence également une action doit être mise en place.

5.1.2.2.4 Mise en place des CAPA

Lorsque la criticité du risque l'indique, ou que le score de gravité est trop important, la mise en place d'actions préventives et correctives est nécessaire (CAPA). Ces actions doivent permettre de réduire le score de criticité du risque. L'AMDEC permet d'être un outil d'amélioration continue à travers les différentes CAPA.

La difficulté consiste à trouver des CAPA à la fois efficaces, faciles à mettre en place, d'un coût raisonnable et qui ne nécessitent pas des mois de délais.

La recherche des CAPA peut faire appel à l'expérience des différents membres du groupe sur des cas semblables sur d'autres unités ou processus.

Le score de criticité doit être revu après la mise en place de la CAPA, on utilise donc le même système de cotation. Si le score est toujours supérieur au seuil acceptable la CAPA est inefficace ou incomplète (possibilité d'ajouter une autre action).

5.2 Stratégie de maîtrise de contamination

5.2.1 Règlementation : annexe 1 BPF et évolution

L'annexe 1 des GMP Européenne (Good manufacturing practice) relative à la fabrication de produits dans des conditions stériles se rapproche au plus près des pratiques de fabrication des PBV. Cette annexe à vue au cours des dernières années un certain nombre d'évolutions, notamment au niveau de la structure du texte, mais aussi dans le contenu : de nouvelles recommandations tendront à s'appliquer dans le futur à l'ensemble des pratiques de production de produits pharmaceutiques. (15)

Tout d'abord on peut noter que le nouveau draft de l'annexe 1 présente une modification du sommaire : les locaux ayant sont placés en amont du personnel afin d'assurer. Ce

changement a été réalisé dans le but d'améliorer la cohérence des étapes à suivre pour le bon respect des pratiques de fabrication des produits stériles. La qualité des locaux, des équipements qualifiés, des utilités, les réseaux de distribution raccordés à l'ensemble des zones étant la première étape avant d'y faire rentrer du personnel formé et habilité. L'annexe 1 nous rappelle qu'au préalable d'avoir des locaux il faut avoir une vision claire des procédés et donc la maîtrise théorique des procédés.

L'élément principal de cet évolution règlementaire est l'établissement d'une stratégie de contrôle de contamination en amont (CCS) s'appuyant sur le principe de Quality Risk management.

Le draft de 2020 étend petit à petit le champ d'application de l'annexe 1 à la fabrication des produits non stériles et indique le concept du CCS (control contamination strategy), de la gestion des locaux et du personnel, en effet la gestion de ces derniers devra être similaire lors de production de produit non stérile. A ce jour il existe dans la réglementation peu de recommandations pour maîtriser le risque microbiologique pour les procédés lors de production de produit non stérile. Bien souvent lors de contamination sur le produit fini les pratiques de contrôle qualité sont remises en cause au lieu d'identifier les potentielles contaminations process dépendant, étant en production non stérile.

L'annexe 1 permet de renforcer la réglementation autour de divers sujets notamment la gestion des SAS d'entrée (importance majeur en production de routine pour diminuer le risque de contamination extérieur par le personnel de production), les processus de décontamination des surfaces, le monitoring des zones à atmosphères contrôlées, la qualification des locaux, la gestion des utilités (production d'eau purifiée), les réseaux de gaz (monitoring périodique) ect...

L'ensemble de ces directives est le point de départ pour établir la stratégie de contrôle des contaminations sur la base d'analyse du risque.

5.2.2 Stratégie de contrôle de contamination (CCS)

La stratégie de contrôle des contaminations croisées (Contamination control strategy) ou CCS, se définit par la gestion de l'ensemble des risques liés à la contamination croisée.

Selon l'annexe 1 des GMP le CCS est défini comme : *“Un ensemble planifié de contrôles pour les micro-organismes, les pyrogènes et les particules, dérivé de la compréhension actuelle du produit et du processus qui assure la performance du processus et la qualité du produit. Les contrôles peuvent inclure des paramètres et des attributs liés aux substances actives, aux excipients et aux matériaux et composants des produits pharmaceutiques, aux conditions de fonctionnement des installations et des équipements, aux contrôles des processus, aux spécifications du produit fini, ainsi qu'aux méthodes et à la fréquence de surveillance et de contrôle associées. »*

On peut en effet distinguer deux types de contaminations croisées :

- **La contamination successive** : par exemple un résidu du précédent produit reste dans l'équipement et vient contaminer le lot suivant. L'équipement n'est pas dédié, il est utilisé pour produire différentes souches successives.
- **La contamination simultanée** : lorsque dans une zone de production plusieurs produits sont fabriqués simultanément dans des zones proches. Le personnel, le matériel, peuvent être sources de contaminations croisées par une mauvaise gestion des flux personnels et matériels.

La CCS est introduit dès le début de l'annexe 1 des BPF, il s'agit d'une analyse de risque globale de tout risque de contamination, qu'elle soit particulière, microbienne ou croisée.

Il s'agit d'un système qui prend en compte tous les éléments de la fabrication des produits pharmaceutiques. La CCS doit prendre en compte tous les paramètres du process afin d'avoir une bonne maîtrise de la contamination, impliquant une connaissance du produit, de son environnement.

Lors de la fabrication le risque de contamination croisée accidentelle a pour origine la libération incontrôlée de poussière, de gaz/vapeurs/aérosols ou organismes à partir de matières premières et des produits en cours de fabrication, de résidus provenant du matériel et des vêtements des opérateurs. La contamination croisée peut s'apparenter à la présence d'un produit étranger.

La stratégie de contrôle des contaminations croisées comprend également les contaminations particulières. Cette contamination est essentiellement véhiculée par l'air

ambiant qui récupère les particules pouvant être en contact avec les produits, le personnel, le matériel entrant ou encore les matières.

La maîtrise de l'environnement ambiant est l'élément principal dans l'établissement de l'analyse des risques de contaminations croisées. Chaque environnement dans lequel le produit transit devra être maîtrisé. L'analyse de risque permet de déterminer la robustesse de la maîtrise de cet environnement et de prévenir les risques de contaminations croisées.

Lors de production de PBV lorsque le produit sous forme liquide est contenu en circuit fermé, les environnements à maîtriser seront donc les équipements et lignes de transfert dans lequel transite le produit. Lorsque ce liquide viendra à être en phase ouverte (lors de l'ajout des lests) nous devons nous assurer de la maîtrise de l'environnement du local. De même lorsque le produit est sous forme poudre à l'air libre, la contamination croisée étant à l'origine d'une contamination particulière, l'environnement du local ou des contenants étant en contact direct avec le produit doivent avoir un environnement contrôlé.

La rédaction de l'analyse de risque CCS commence par une synthèse des données de la zone étudiée reprenant l'ensemble des flux (personnel, matière, matériel, déchet) mis en corrélation avec les activités réalisées au sein de l'atelier (produit circuit ouvert, fermé, phase poudre ou liquide) et les paramètres de contrôles de l'environnement : classe de propreté, cascade de pression, niveau de filtration de l'air. On étudie également les utilités : entrée/sortie eau, gestion des gaz ect... Ce document comprend un certain nombre de schéma, de document technique permettant de justifier de la zone (plans, schéma équipement ect...). L'ensemble de ces informations permettant de réaliser une analyse des risques en cours de processus, cette analyse est réalisée à l'aide de l'outil Excel et est joint au document final.

L'analyse des risques de contaminations croisées découlent d'une deuxième analyse permettant de mettre en place le monitoring de l'environnement, ou EMPQ (environmental monitoring performance qualification) faisant référence à la définition du CCS « *ensemble de contrôle pour les micro-organismes les pyrogènes et les particules* » qui donc « *dérive de la compréhension actuelle du produit et du processus qui assure la performance du processus et la qualité du produit.* »

5.2.3 Stratégie des contaminations biologiques (BCS)

5.2.3.1 Définition

La BCS se définit par la stratégie de contrôle des contaminations d'origines biologiques. Selon la norme ISO 14698-1 : 2003, la **biocontamination** est la « contamination d'une matière, d'un appareil, d'un individu, d'une surface, d'un liquide, d'un gaz ou de l'air par des **particules viables à dangerosité variable** ».

La contamination biologique provient d'organismes vivants tels que les levures, les virus, les moisissures et les bactéries, ces organismes sont susceptibles d'être source de contaminations lorsque ces derniers se trouvent dans des conditions qui leurs sont favorables (pH, température, humidité, apport nutritif etc...).

La stratégie BCS est intimement liée à la CCS, les particules dans l'air ambiant pouvant être des organismes viables. Plus l'environnement a une contamination particulière importante, plus le risque est élevé d'avoir une contamination microbiologique. Dans le cas de production de PBV la contamination biologique est souvent témoin d'une contamination croisée entre différents lots. Le risque de biocontamination est plus important lorsque le produit est sous forme liquide, favorisant la multiplication bactérienne. L'origine de cette biocontamination peut-être une contamination croisée entre deux productions successives, cependant un certain nombre de pratiques de nettoyage et de stérilisation est mise en place, l'analyse de risque permettra de déterminer la robustesse de ces pratiques. La contamination peut-être également à l'origine de multiplications bactériennes commensales (réseau d'eau, humain, environnement).

Il est important de savoir détecter et quantifier par des techniques de microbiologie (exemple : prélèvements de surface sur gélose) les contaminations biologiques. Le niveau de pathogénicité et de dangerosité, doit être au préalable établi.

Selon les différentes souches produites ces dernières peuvent être d'un niveau de dangerosité, de pathogénicité différentes, elles peuvent également posséder des caractères génotypiques particuliers. Les souches peuvent être des organismes génétiquement modifiés (OGM), elles peuvent également être potentiellement sporulante, à cela s'ajoute la pathogénicité. On définira différents groupes de pathogénicité des souches produites

ou « biosafety level ». Le génotype et le phénotype des organismes fabriqués doivent être étudiés et caractérisés.

5.2.3.2 Niveau de biosécurité

Le niveau de biosécurité ou **biosafety level** (BSL) ou **niveau de protection** contre les agents pathogènes, représente un certain nombre de précaution de confinement biologique requis pour isoler des agents biologiques dangereux. La caractérisation « BSL » permet de déterminer le niveau de confinement, allant du plus petit niveau : BSL1, niveau de biosécurité 1 au plus élevé, le niveau 4 (BSL4). Aussi bien aux Etats-Unis que dans l'Union Européenne les mêmes niveaux de biosécurité sont définis dans le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) pour les Etats-Unis (16) et dans une directive pour l'UE (17). Les laboratoires/unités de production portant ces désignations sont également appelés P1, P4 (pour niveau de protection).

Ce classement concerne : les bactéries, les virus, les parasites et les champignons. Ils sont repartis en quatre groupes suivants leur pathogénicité et l'existence ou non d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace. Différents agents ont été classés par le centre international de recherche sur le cancer (Annexe 2, 4) (18).

On différencie les souches BSL1 des souches BSL2 en fonction de leur caractère dangereux pour l'homme. Une souche BSL1 est non pathogène, avec aucun risque de propagation (exemple : *Escherichia coli*), contrairement à une souche BSL2 qui présente un caractère potentiellement pathogène pour l'homme à risque modérément dangereux pour l'opérateur mais pour lequel il existe une prophylaxie ou un traitement connu (exemple : Virus de la rougeole : *Clostridium tetani*).

Tableau III : Définition des différents niveaux de biosécurité des pathogènes selon
CNRS (18)

Critère	GROUPE 1	GROUPE 2	GROUPE 3	GROUPE 4
Pathogène pour l'homme	Non	Oui probable	Oui maladie grave	Oui maladie très grave
Dangereux pour l'opérateur	/	Oui modérément	Oui Risque élevé	Oui Risque très élevé
Propagation	/	Peu probable	Possible	Risque élevé
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement	/	Oui	Oui généralement	Non

La définition des différents niveaux de biosécurité des pathogènes donnent ainsi des différents niveaux de confinements. L'arrêté du 16 juillet 2007 (19) permet de fixer les mesures techniques de prévention, notamment de confinement à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, établissement industriels où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes. Cet arrêté vient compléter l'arrêté du 2 juin 1998 (20) relatif aux règles techniques auxquelles doivent satisfaire les installations soumises à autorisation au titre de la rubrique 2680-2 de la nomenclature des installations classées pour la protection de l'environnement.

Le haut conseil des biotechnologies (HCB) a également rendu un avis sur les niveaux de confinements de souche pathogène (21). Le CNRS dans son cahier de prévention des risques biologiques (18) a établi un tableau récapitulatif comparatif des exigences réglementaires minimales de l'arrêté du 16 juillet 2007 et des recommandations du HCB par niveau de sécurité biologique 2 (BSL2 souche la plus à risque produite à Biose Industrie).

Tableau IV : Comparaison des exigences réglementaires selon différentes recommandations pour un niveau de biosécurité 2.

Dispositions	Niveaux de sécurité L2/C2		
	Arrêté 16/07/07	Recommandations HCB	Prescriptions retenues
Porte maintenue fermée pendant les expériences	Non précisé	Oui	Oui
Accès via un sas muni de portes asservies ne pouvant pas s'ouvrir simultanément.	Non	Non	Non
Possibilité de fermer hermétiquement la salle dédiée aux activités techniques pour permettre la désinfection.	Optionnel	Optionnel	Optionnel
Filtration de l'air entrant de la salle dédiée aux activités techniques (filtre HEPA).	Non	Non	Non
Filtration de l'air extrait dans la salle dédiée aux activités techniques (filtre HEPA).	Non	Non	Non
Fenêtres fermées pendant la manipulation.	Oui	Oui	Oui
Maintien d'une pression négative dans la salle dédiée aux activités techniques par rapport aux zones voisines.	Non	Non	Non
Système d'alarme pour détecter tout changement anormal de la pression de l'air.	Non	Non	Non
Approvisionnement en énergie électrique de secours.	Non	Non précisé	Non
Système de ventilation de secours.	Non	Non précisé	Non
Présence d'au moins un poste de sécurité microbiologique.	Oui	Oui type II certifié par le LNE	Oui type II *
Vêtements de protection.	Oui	Oui	Oui Voir tableau n°9
Surfaces imperméables à l'eau, résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection, sans endroit inaccessible au nettoyage.	Oui Sols et murs, plan de travail	Oui Sols et murs, plan de travail	Oui Sols et murs, plan de travail
Présence d'une douche.	Non	Non	Non
Présence d'un autoclave.	Optionnel Si oui, facilement accessible et, si possible, dans le bâtiment	Oui À proximité	Oui Au niveau du bâtiment
Présence d'un sas de désinfection liquide ou gazeuse.	Sans objet	Sans objet	Sans objet
Cages, moyens de contention, procédures d'euthanasie appropriés aux espèces animales (si manipulation d'animaux).	Oui	Oui	Oui
Stockage des agents biologiques dans un lieu sécurisé.	Oui	Oui	Oui
Inactivation des déchets.	Optionnel Avant leur sortie de l'établissement	Obligatoire	Obligatoire
Inactivation des agents biologiques dans les effluents par des moyens appropriés.	Optionnel	Obligatoire	Obligatoire

Ce tableau est la donnée d'entrée de base pour la réalisation d'analyse de risque comprenant la production d'une souche BSL2. Les exigences retenues seront donc la fermeture obligatoire des portes pendant les expériences, la possibilité de maintenir hermétique les ateliers de production, la présence d'au moins un poste de sécurité microbiologique, les surfaces doivent être imperméables à l'eau, résistantes aux agents de nettoyage, présence d'un autoclave, l'inactivation des déchets et la gestion des effluents sont des éléments essentiels pour la production de souche du groupe 2. Les opérateurs de production doivent obligatoirement revêtir des habits de protection. En effet, dans le cahier de prévention des risques biologiques, nous pouvons retrouver le tableau des équipements de protection individuelle à revêtir en fonction du différent niveau de biosécurité de la souche (tableau 5 du cahier de prévention des risques biologiques (22)).

Tableau V : Tableau des équipements de protection individuelle à revêtir en fonction du différent niveau de biosécurité de la souche

PROTECTION	EPI	AGENT BIOLOGIQUE		
		Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Corps	Blouse en coton	✓		
	Blouse jetable en matériau non tissé		✓	
	Blouse jetable en matériau non tissé Norme EN 14126		✓*	✓ Blouse à boutonage dorsal
	Surchaussures		✓	✓
	Charlotte		✓*	✓
Mains	Gants EPI de catégorie III		✓*	✓ Double gantage préconisé
Yeux et visage	Lunette ou masque	✓*	✓*	✓*
Voies respiratoires	Masque FFP1 ou filtre P1	✓*		
	Masque FFP2 ou filtre P2		✓*	✓
	Masque FFP3 ou filtre P3			✓*

La blouse constitue la tenue de travail minimale. De plus, les niveaux de sécurité biologique déterminent de façon obligatoire le port de certains EPI (chaussures différentes des chaussures de villes en niveau 2). Selon le résultat de l'analyse de risque d'autres EPI peuvent s'avérer nécessaires (exemple : pour des souches du groupe 2 pour des productions à grands risques en phase liquide port de double gant obligatoire).

Ainsi lorsque la souche est envoyée à Biose Industrie le service de R&D dans son rapport de sécurité va déterminer le niveau de biosécurité de la souche d'intérêt. A ce jour nous produisons majoritairement des souches de niveau BSL1 au niveau des zones de production étant donné la conception des locaux. L'objectif de Biose industrie est de finaliser la construction de trois nouveaux ateliers de production de DS, pouvant accueillir des souches de niveau BSL2. Les souches BSL2 ne sont actuellement manipulées qu'en R&D.

5.2.3.3 Cas particulier de production d'OGM

Selon l'article L. 531-1 du Code de l'environnement, un organisme génétiquement modifié est défini comme tout organisme dont le matériel génétique a été modifié autrement que par multiplication ou recombinaison naturelles, un organisme étant toute entité biologique non cellulaire, cellulaire ou multicellulaire capable de se reproduire, de s'amplifier ou de transférer du matériel génétique. Cette définition englobe notamment les micro-organismes, les virus, les viroïdes et les cultures de cellules végétales et animales. (23)

L'utilisation de ces organismes nécessite la prise **de mesure de confinement spécifique** pour limiter au maximum le contact de ces organismes avec l'ensemble de la population et l'environnement ainsi que pour assurer à ces derniers un niveau élevé de sécurité. La manipulation de ces molécules présente un danger qui va nécessiter une évaluation du risque de manipulation et le cas échéant la mise en œuvre d'un niveau de confinement. Il existe différents groupes d'OGM rejoignant le niveau de biosécurité vu auparavant (OGM II : agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs, ou causer des effets négatifs sur l'environnement ; leur propagation est peu probable et il existe une prophylaxie ou un traitement efficace).

Les risques liés aux OGM dépendent de leur niveau de pathogénicité (1, 2, 3 ou 4) et de leur modalité de manipulation et d'utilisation. Les conditions de confinement sont définies par la **classification C1, C2, C3, C4**. Cette classification intègre l'agencement des locaux, les équipements/matériel de la zone de production, les équipements individuels de protection (EPI) et les bonnes pratiques de travail. Les locaux doivent être maintenus propres et en ordre pour faciliter le respect des bonnes pratiques de travail. L'arrêté du 16 juillet 2007 dans ses annexes I et V ainsi que l'annexe IV de la directive 2009/41/CE du Parlement Européen et du conseil du 6 mai 2009 relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés définissent les pratiques à mettre en œuvre. Contrairement à un micro-organisme BSL1, l'OGM de niveau 1 possède des exigences supplémentaires notamment sur la gestion des déchets.

La **destruction des déchets biologiques** issus de production/manipulation d'OGM doit être encadrée selon les règles suivantes : l'ensemble des déchets liquides, solides doivent

être inactivés par stérilisation sur le site de production (traitement physique ou chimique) ou être placés dans des containers adaptés, fermés et identifiés (mention OGM) et éliminés par un prestataire de service agréé (DASRI) pour un niveau de confinement 1. Pour les niveaux de confinement 2, 3 les déchets liquides doivent être immédiatement inactivés dès leur production par un traitement physique ou chimique. Concernant les déchets solides ils doivent respecter un flux bien déterminé et être stérilisés par autoclavage pour être éliminés en DASRI dans un second temps.

Lors de production à base d'OGM l'ensemble du personnel ayant été en contact avec le micro-organisme doit être soumis à un traitement prophylactiques approprié (vaccination etc...) s'il existe, et en accord avec le médecin du travail, un suivi thérapeutique peut être également réalisé (prise de sang après production).

L'analyse de risque dans le cadre du risque biologique permettra donc de s'assurer que l'ensemble des installations, des EPI et des bonnes pratiques de travail sont conformes au niveau du risque et du risque réel des activités réalisées.

Parmi les exigences (voir tableau VI) concernant les différents niveaux d'OGM on retrouve quelques exemples ci-dessous :

- L'installation doit être conçue et aménagée de manière à maintenir un niveau d'exposition des lieux de travail et de l'environnement le plus faible possible à tout agent physique, chimique ou biologique
- La zone de travail, sol, mur, plafond, appareils, matériel doivent être maintenus en parfait état de propreté et régulièrement décontaminés.
- Manipulation réalisée de manière à minimiser la création d'aérosols.
- Port d'équipement de protection individuel (EPI) adapté au micro-organisme manipulé et à l'activité
- Le personnel doit se laver les mains après avoir été en contact avec les OGM
- Les fermenteurs sont équipés de vannes, de joints, permettant d'assurer l'étanchéité (en phase liquide), ils sont également munis d'un dispositif d'échantillon stérilisable à la vapeur (uniquement niveau C2, C3, C4)
- La mise en culture de micro-organismes OGM doit être réalisée en système clos, le fabricant doit être en mesure, si nécessaire de vérifier la présence d'OGM viable en dehors du confinement (niveau C2, C3, C4)

- Contrôle de l'ensemble des appareils types appareils de mesure, autoclave.
- Une analyse des effluents aqueux permettant de rechercher la présence d'OGM doit être faites.
- L'exploitant doit également disposer d'un désinfectant d'efficacité reconnue, en quantité connue.

Tableau VI : Recommandations concernant la production de souches OGM

MESURES DE CONFINEMENT	NIVEAUX DE CONFINEMENT		
	2	3	4
1°) Signalisation du lieu de travail (pictogramme "danger biologique").	Oui	Oui	Oui
2°) Séparation du lieu de travail des autres activités dans le même bâtiment.	Déterminée au cas par cas	Oui	Oui
3°) Localisation des systèmes clos dans la zone contrôlée.	Déterminée au cas par cas	Oui	Oui
4°) Accès à la zone contrôlée via un sas.	Non	Oui, si mise en dépression	Oui
5°) Accès à la zone contrôlée réservé aux seuls travailleurs autorisés.	Oui	Oui	Oui
6°) Présence d'une fenêtre d'observation ou système équivalent permettant de voir les occupants.	Déterminée au cas par cas	Oui	Oui
7°) Résistance des surfaces à l'eau et nettoyage et désinfection aisés.	Oui (sol)	Oui (sol, mur, plafond)	Oui (sol, mur, plafond) et résistance aux agents chimiques de nettoyage
8°) Surfaces des paillasses résistantes aux acides, alcalis et solvants et désinfectants.	Oui	Oui	Oui
9°) Installations pour le lavage et la décontamination des mains munies de robinets à commande non manuelle.	Oui	Oui	Oui
10°) Installations sanitaires dans la zone contrôlée.	Déterminé au cas par cas	Non	Non
11°) Le personnel doit prendre une douche avant de quitter la zone contrôlée.	Non	Déterminé au cas par cas	Oui
12°) Vêtement de protection.	Oui	Oui	Oui, change complet
13°) Gants.	Déterminé au cas par cas	Oui	Oui
14°) Fenêtres.	Fermées	Hermétiquement closes	Hermétiquement closes et incassables
15°) Possibilité de rendre la zone contrôlée hermétique pour permettre la désinfection par méthode gazeuse.	Déterminée au cas par cas	Oui	Oui
16°) Ventilation adaptée de la zone contrôlée pour minimiser la contamination de l'air.	Déterminée au cas par cas	Déterminée au cas par cas	Oui
17°) Système de ventilation de secours.	Non	Non	Oui
18°) Maintien d'une pression négative dans la zone contrôlée par rapport aux zones voisines.	Non	Oui (1)	Oui
19°) Système d'alarme adapté pour détecter des changements inacceptables de la pression de l'air.	Non	Oui, si mise en dépression	Oui
20°) Filtration HEPA de l'air entrant et extrait de la zone contrôlée.	Non	Oui (air extrait)	Oui (air entrant et extrait)
21°) Lutte efficace contre les vecteurs, par exemple rongeurs et insectes.	Oui	Oui	Oui
22°) Présence d'un autoclave double entrée dans la zone contrôlée.	Non	Oui ou à proximité, sous réserve de la mise en place de procédures évaluées et conférant la même protection	Oui
23°) Manipulation des micro-organismes viables dans un système qui sépare physiquement le procédé de l'environnement.	Oui	Oui	Oui
24°) Prélèvement des échantillons, apport de substances au système clos et transfert de micro-organismes viables à un autre système clos effectués de façon à :	Minimiser la dissémination	Empêcher la dissémination	Empêcher la dissémination
25°) Conception des joints et garnitures des systèmes clos de façon à :	Minimiser la dissémination	Empêcher la dissémination	Empêcher la dissémination
26°) Sauf si le micro-organisme génétiquement modifié vivant est le produit, sortie du système clos des fluides de cultures après que les micro-organismes aient été :	Inactivés par des moyens validés	Inactivés par des moyens validés	Inactivés par des moyens validés
27°) Traitement des gaz rejetés du système clos de façon à :	Minimiser la dissémination	Empêcher la dissémination	Empêcher la dissémination
28°) Conception de la zone contrôlée de façon à retenir le déversement total du plus grand contenant.	Oui	Oui	Oui
29°) Installation d'un système de collecte et d'inactivation des effluents des éviers, douches et de lavage des sols avant rejet.	Non	Oui	Oui
30°) Inactivation du matériel contaminé et des déchets.	Oui	Oui	Oui
31°) Inactivation des effluents biologiques par des moyens validés avant rejet final.	Oui	Oui	Oui
32°) Moyens de communication avec l'extérieur.	Non	Déterminés au cas par cas	Oui

(1) ou moyen alternatif de confinement évalué procurant des conditions de sécurité biologique équivalentes.

Les installations mettant en œuvre des OGM dans un processus de production industrielle sont soumises à la réglementation des installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) sous la rubrique 26800 de la nomenclature.

La réglementation soumet les industries pharmaceutiques à déclaration pour ceux utilisant des OGM de classe C1, soit à autorisation pour le niveau C2, C3, C4.

5.2.3.4 Stratégie BCS : Biose Industrie

Dans une industrie CDO comme Biose industrie, le client va transmettre la souche d'intérêt à développer, dans le but d'effectuer le transfert industriel permettant de produire la souche à grande échelle. L'élément central lors de la caractérisation de la souche repose sur la séquence d'ADN, propre à chaque souche.

Les laboratoires fournissent une ou plusieurs souches, elles vont être l'objet d'un **phénotypage**, permettant de décrire l'ensemble des caractères observables, ce phénotypage va dépendre de l'expression des gènes (génotype) de la souche d'intérêt et de l'environnement. L'ensemble de ces éléments fait partie intégrante de l'analyse de risque et de sécurité d'un produit (Risk Assessment and Safety), ces données vont permettre de caractériser la souche : pathogénicité, conditions de manipulation (métabolisme respiratoire), elles seront mises à disposition dans un document récapitulatif : **fiche de sécurité de la souche**.

Le procédé R&D suit deux processus de production distincts : le **processus test** « Engineering » et le deuxième processus certifié GMP (Good Manufacturing Practices). Lors de ces deux processus une fermentation est réalisée sur un volume de fermenteur de 150L spécifique R&D pour obtenir une numération définie et optimisée, la centrifugation, lyophilisation pour obtenir un lyophilisat amené à être broyé. Cette poudre sera utilisée pour réaliser une **validation des méthodes analytiques** : mise au point des méthodes de dosages, validation des méthodes de nettoyage de la souche.

La fiche de sécurité de la souche comprend : l'origine de la souche (fèces humaines etc..), la pathogénicité (BSL1 ou BSL2), le caractère OGM, les potentielles structures de résistance (formation de biofilm, formation de spore etc..). On doit retrouver le métabolisme respiratoire de la souche (aérobie, anaérobie stricte ou non). Cette fiche

présente également des données sur la croissance et la méthode de numération de la souche ainsi que l'aspect des colonies sur milieu gélosé.

On retrouve également les éléments issus de la validation de la méthode de nettoyage et désinfection : produits à utiliser et produits back up, concentration d'utilisation, temps de contact (voir **Annexe 1**).

Un **rapport de sécurité** est associé à cette fiche de sécurité, dans ce rapport, l'ensemble des études ayant permis d'établir la fiche de sécurité est mentionné avec notamment les informations préliminaires : données de la souche, la caractérisation de la pathogénicité puis l'évaluation de la sécurité de la souche (composition du milieu de culture, l'analyse du phénotype, séquençage du génome : modification génétiques, stabilité, échange génétique, identification de plasmide, identification de phage, gènes de résistance aux antibiotiques, la virulence des gène). Ce document comprend également toute la recherche bibliographique.

On devra retrouver en préambule de l'analyse de risque la caractérisation de la souche c'est-à-dire l'ensemble des données fournies par la fiche de sécurité et le rapport associé.

Les données permettront de réaliser une **étude réglementaire** de l'ensemble des mesures à prendre en compte en fonction du caractère pathogène de la souche, cela permettra également d'intégrer dans l'analyse de risque d'un certain nombre de précautions directement liés aux caractéristiques spécifiques à la souche (niveau de biosécurité, caractère OGM, contraintes liées au phénotypage). Ce document est le point de départ de l'analyse de risque BCS.

La production de ces souches est réalisée dans des zones dont lesquelles l'atmosphère est contrôlée, dans le but de maîtriser tout risque de contamination du produit (contamination croisée) mais également des zones extérieures (risque dissémination souches OBM, BLS2).

5.2.4 Zone à atmosphère contrôlée

5.2.4.1 Définition

Zone propre = zone à atmosphère contrôlée : Espace dédié dans lequel la concentration des particules en suspension dans l'air est maîtrisée et qui est construit et

utilisé de façon à minimiser l'introduction, la production et la rétention de particules à l'intérieur de la zone.

Particule : Objet solide ou liquide

Au sein de Biose industrie les produits sont fabriqués dans des zones à atmosphères contrôlées (ZAC). Une ZAC est une zone dans laquelle l'on souhaitera limiter au minimum les risques de contamination microbienne, particulaire et biologique lors de production de produit à usage pharmaceutique. Ces zones à atmosphères contrôlées doivent être **maintenues à un niveau de propreté approprié** et alimentées en **air sur des filtres d'efficacité** correspondant au niveau de propreté requis. Ces zones sont classées selon les qualités requises pour leur environnement. La classification de ces zones fait partie intégrante de la CCS (Contamination control strategy), cela nous permettra de justifier de la classe de propreté du local en fonction des activités exercées.

La production de PBV nécessite des conditions de fabrication spécifique pour éviter tout risque de contaminations croisées. Pour produire des probiotiques dans des ateliers multisouche/monosouche on doit être capable de contrôler notre environnement, le nettoyage des locaux et installation. Le risque de contamination croisée entre deux productions successives est un risque supplémentaire par rapport à un atelier de production monosouche, ou le risque concerne la contamination externe et la contamination inter-lot.

Les méthodes détaillées pour permettre de déterminer la propreté microbiologique et particulières de l'air et des surfaces sont référencées dans les recueils des normes EN/ISO.

Pour réussir à maintenir une atmosphère contrôlée il est important de garantir la bonne conception des **locaux**, la bonne **classification de propreté** du local en fonction de l'activité exercée, une mise en place d'un monitoring de ces zones pour assurer le bon respect des normes engagées par la classe de propreté correspondante. Afin d'alimenter en air filtrée d'efficacité donné il est important d'avoir **une centrale de traitement d'air** des zones appropriées, associé à une **cascade de pression** entre différente zone permettant de donner contrôler l'ensemble des flux d'air filtrés. Le contrôle de **l'hygrométrie** et de la **température** est égal à un ensemble de paramètre faisant parti du contrôle de l'atmosphère.

5.2.4.2 Locaux

La conception des locaux des zones à atmosphères contrôlées doit être réalisée dans le but de minimiser au maximum les risques de contamination externes et internes :

- Les surfaces apparentes doivent être conçues de manière à éviter de relarguer toute particules dans l'air ambiant (surface lisse, sans fissure, facile à nettoyer, sans aspérité susceptible de retenir de potentielles particules)
- Les surfaces doivent être imperméables afin de permettre l'utilisation répété de produits de nettoyage / désinfectants.
- Les canalisations / gaines / évier doivent être conçus pour être facile à nettoyer, des systèmes anti-reflux sont installés sur les machines, éviers pour éviter tout risque de retour, potentiellement source de contaminations (évacuation au sol avec système anti-retour ou siphon, garde d'eau)

Ceci implique des situations où le procédé de fabrication n'est pas entièrement en système clos et que de ce fait le produit est exposé à l'environnement immédiat du local.

Des vestiaires personnels, matières et matériaux doivent être présents pour éviter tout risque de croisement de flux de matières/matériel/personnel souillés. Les vestiaires sont conçus et utilisés comme des SAS en vue de fractionner les différentes phases de l'habillage pour diminuer le risque de contamination microbienne et particulière des vêtements protecteurs.

Dans certains cas il sera même préférable d'utiliser des vestiaires distincts pour l'entrée et la sortie de ZAC. Les différentes portes de SAS ne doivent pas s'ouvrir en simultanée, de manière à toujours garder une barrière avec une zone plus externe à la zone de production. Un système d'asservissement des portes doit être mis en place (blocage alterné) pour éviter ce risque.

Il doit être démontré que le **schéma aéraulique** ne présente aucun risque de contamination. La circulation de l'air ne doit pas entraîner de particules en provenance du personnel, d'une opération ou d'une machine vers une zone de plus haut risque pour le produit. Afin d'étudier le schéma aéraulique il est nécessaire de réaliser un smoke test, ou test à la fumée qui permettra de suivre le schéma des flux d'air de la pièce, ce test est réalisé dans le cadre de la qualification initiale des locaux.

Les locaux de production doivent être **étanches** pour éviter tout risque de dissémination de potentielles particules à l'extérieur mais également pour assurer qu'aucune contamination extérieure peut venir impacter la qualité du produit. L'étanchéité des locaux est également testée par un test de fumée, ce test est réalisé dans le cadre de la qualification initiale des locaux.

Ces locaux doivent être efficacement ventilés avec de l'air filtré et les différentes pièces doivent être classées selon une **classe de propreté** définie selon l'activité exercée au sein de la pièce.

5.2.4.3 Classification de propreté

La ligne directive 1 qui s'applique aux fabrications de médicaments stériles (ou produit vivant nécessitant des conditions de fabrication stériles) distingue **quatre niveau de classes de zone à atmosphère contrôlées, classes A, B, C et D**. Chaque classe est définie par un nombre limite de particules de taille 0,5µm et 5µm et par un taux limite en germes dans l'environnement.

La norme ISO 14644-1, qui s'applique aux salles propres et environnements maîtrisés, définit des **niveaux de maîtrise** de la contamination particulaire de l'air. Cette classification concerne uniquement la concentration de particules en suspension dans l'air dans une étendue granulométrique de 0,1µm à 5µm. Sachant que chaque zone/atelier est définie en fonction de son état d'occupation : « au repos », « en activité » ou le cas particulier « après construction ». L'état au repos se définit par l'état dans lequel les locaux sont opérationnels avec le matériel en place, sans que les opérateurs soient à leur poste. L'état « en activité » est l'état où les locaux et les équipements sont en fonctionnement selon le mode opératoire défini et en présence des opérateurs dédiés à la zone. Ces activités « repos » et « activité » doivent être définies pour chaque zone à atmosphère contrôlée. L'état au repos de la zone est l'état déposé au sein des autorités et est la classe représentée dans les différents plans de l'usine.

La norme ISO14698-1 qui s'applique aux salles propres et environnements maîtrisés, correspondant au milieu de production de produit vivant, établit les principes et la méthodologie fondamentale d'un système formalisé de **maîtrise de la biocontamination**.

La définition des classes de propreté est réalisée selon les différentes industries pharmaceutiques, afin de se fixer un niveau de propreté en corrélation avec les activités réalisées dans les zones concernées. En fonction du niveau de stérilité souhaité, de la dangerosité des substances manipulées ainsi qu'en fonction des formes manipulées (poudre, liquide) on définira une norme de contamination particulaire et microbiologique.

Ainsi pour une classe donnée il est donné une limite recommandée de contamination microbiologique pour l'air (UFC/m³) (mais également pour les surfaces équipements : gélose contact, surfaces mains opérateurs : empreintes de gant), ainsi qu'une limite de nombre maximal autorisé de particules dans les zones à atmosphères contrôlées au repos ou en activité.

Tableau VII : Limite recommandée de contamination microbiologique dans les zones à atmosphères contrôlées

Limites recommandées de contamination microbiologique (a)				
Classe	Echantillon d'air ufc/m ³	Boîtes de Pétri (diam.: 90 mm), ufc/4heures (b)	Géloses de contact (diam. : 55 mm), ufc/plaque	Empreintes de gant (5 doigts) ufc/gant
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Tableau VIII : Limite nombre maximal autorisé de particules dans les zones à atmosphères contrôlées

Classe	Au repos		En activité	
	0.5 µm (d)	5 µm	0.5 µm (d)	5 µm
	<i>Nombre maximal autorisé de particules par m³ de taille égale ou supérieure aux tailles précisées.</i>			
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352000	2900
C	352000	2900	3520000	29000
D	3520000	29000	Non défini	Non défini

En ce qui concerne la norme particulière : au repos on doit atteindre la norme de la classe déclarée, en activité on doit rencontrer la norme inférieure pour récupérer la classe initiale en fin d'activité et déterminer en combien de temps ce transfert est effectué. Le temps calculé fait partie intégrante des paramètres vérifiés lors de la qualification de la ZAC, ce test est appelé test de recovery.

Par exemple dans une zone de broyage (sous forme de particule de poudre), il peut être décidée que cette zone doit maintenir une classe B « au repos » lorsqu'aucune activité n'est effectuée, et en cours d'activité, le nombre de particule dans l'air doit correspondre à une classe C (classe en dessous de la classe C). En fin d'opération on pourra mesurer le temps effectif pour que le local retrouve une norme particulière correspondante à la classe B. L'entreprise convient alors qu'en cours d'activité on acceptera maximum 3520000 particules de 0,5µm dans l'air ambiant mais à la fin de l'opération on devra retrouver maximum 3520 particules de 0,5µm, pour assurer

5.2.4.3.1 Monitoring zone à atmosphères contrôlées

Au sein d'une zone atmosphère contrôlée on distingue la **qualification** de la classe de propreté au **monitoring** de cette dernière.

Le monitoring du contrôle particulière est effectué par le service de métrologie, tandis que la qualification est réalisée par le service de qualification et validation à l'aide d'un **appareil de comptage particulière**.

La fréquence de monitoring est différente de celle de qualification. La qualification est réalisée une fois par an, tandis que pour certaines classes de local ou équipement le monitoring peut être mensuel ou trimestriel.

La détermination de cette périodicité est entreprise dépendante, elle doit être déterminée en fonction de la forme de produit manipulée : poudre ou liquide ainsi que de l'activité réalisée dans l'atelier (ajout de matière première sous forme de poudre dans une cuve, fermentation en total circuit fermé).

Tableau IX : Périodicité des contrôles particuliers et microbiologiques des différents locaux/équipements de classe A, B, C ou D au sein de Biose Industrie

	Type de contrôle	Périodicité
LOCAUX	Qualification périodique Classe C ou D	Annuel
	Monitoring classe D	Annuel
	Monitoring classe C	Trimestriellement
HOTTES/PSM/Chambres anaérobie	Qualification périodique des hottes/PSM/CA classe A, B, C ou D	Annuel
	Monitoring classe A	Mensuel
	Monitoring classe B	Trimestriel
	Monitoring classe C	Annuel

La fréquence et les emplacements des contrôles doivent se faire suivant les bases d'une analyse de risque « EMPQ » (environnement monitoring performance qualification) cette dernière doit être documentée, elle découle de l'analyse de risque établi dans le cadre de la stratégie de contaminations croisées et contaminations biologique.

En cas de non-conformité sur une pièce ou sur un équipement, une anomalie sera ouverte et une interdiction d'accéder à la zone de travail sera apposé sur les portes ou sur l'équipement. Un re-nettoyage des surfaces ou équipement, une désinfection aérienne des locaux pourront alors est mis en place.

L'ensemble de ces contrôles sont archivés et enregistrés sur la base de données du service de maintenance. Une étiquette est apposée sur les équipements ou sur les portes menant aux locaux, permettant avant toute opération de vérifier la conformité de ces tests.

5.2.4.3.2 Taux de brassage de l'air

Suivant la classe de propreté particulière du local le taux de brassage de l'air doit être compris :

- Classe ISO 9 et ISO 8 (classe D) : de 5 à 30 m³/h (pour un régime turbulent)

- Classe ISO 7 (classe C) : 10 à 60 m³/h (pour un régime turbulent)
- Classe ISO 6 : de 50 à 100 m³/h (pour un régime turbulent)
- Classe ISO 5 (classe B) : jusqu'à 600 m³/h (régime laminaire)

5.2.4.4 Centrales de traitement d'air (CTA)

5.2.4.4.1 Fonctionnement de CTA

La CTA, centrale de traitement d'air (24), est une **climatisation** qui va permettre **de traiter, purifier et assainir** l'air intérieur. Cette centrale possède une taille très importante composée de réseau et de gaines. Un filtre est un système qui ralentit les particules contenues dans le flux d'air qui le traverse.

Elles sont majoritairement utilisées dans le secteur tertiaire, l'industrie informatique, les soins hospitaliers et l'industrie pharmaceutique. Elle permet d'obtenir une qualité d'air contrôlée : régulation de la température et de l'humidité.

L'air en provenance de l'extérieur est **filtré, climatisé et tempéré** avant d'entrer à l'intérieur. Ainsi on retrouvera plusieurs types de traitement :

- Traitement thermique : chauffage, refroidissement, déshumidification, humidification
- Traitement microbiologique
- Traitement acoustique
- Traitement physico-chimique : filtration particulaire, filtration chimique

Plusieurs critères sont à prendre en compte : la filtration de l'air, la diffusion de l'air, le maintien des cascades de pression (surpression ou dépression), le taux de brassage de l'air (extraction recyclage), ou encore le contrôles des conditions physiques de l'air (hygrométrie, température).

Il existe plusieurs modèles de centrale de traitement de l'air avec des capacités et des niveaux de performances différents, qui seront surtout données par la nature des filtres et les technologies complémentaires. Elle permettra de respecter les normes imposées en termes de contrôles particuliers et microbiologiques dans les zones à atmosphères contrôlées.

Au sein de Biose industrie, il existe actuellement **plusieurs types de CTA** : fonctionnement en tout air neuf avec un récupérateur de chaleur ou fonctionnement en air recyclé avec un pourcentage d'air neuf, ce pourcentage est régulé par la CTA (minimum 10%). Il est également conditionné par la valeur absolue de la pression dans la pièce, en effet pour un local en surpression l'air extrait est inférieur à l'air soufflé, le taux de renouvellement de l'air étant un paramètre à également prendre en compte pour le calcul du pourcentage d'air neuf. Une CTA peut être attitrée à une seule pièce ou à plusieurs.

Le traitement est généralement le suivant :

- Pré filtration
- Abaissement de la température batterie froide
- Réchauffage de l'air à la consigne de température par batterie chaude
- Filtration
- Filtration finale

Le positionnement dans la pièce des bouches de reprises et de soufflages a également un intérêt particulier dans des zones à atmosphères contrôlées (ZAC).

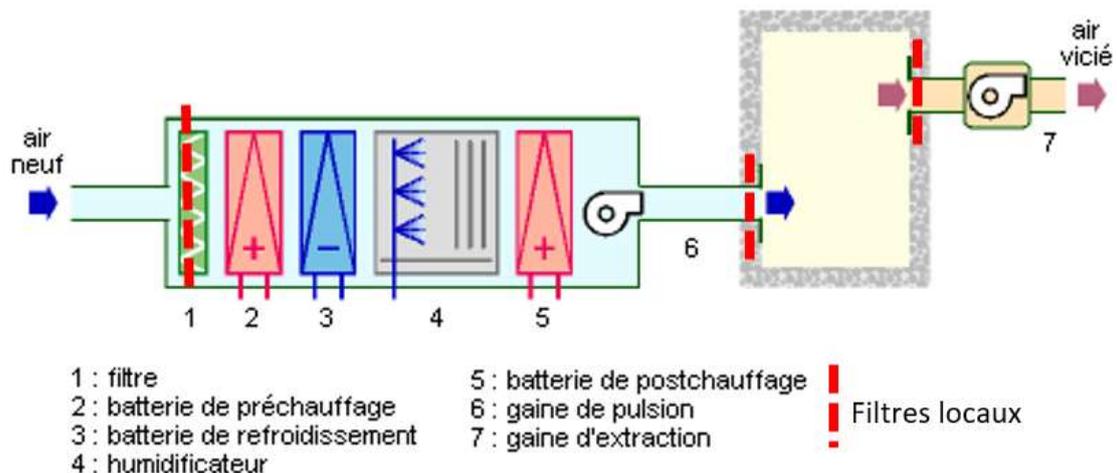


Schéma 8 : Plan d'une centrale de traitement d'air fonctionnement 100% air neuf desservant une ZAC

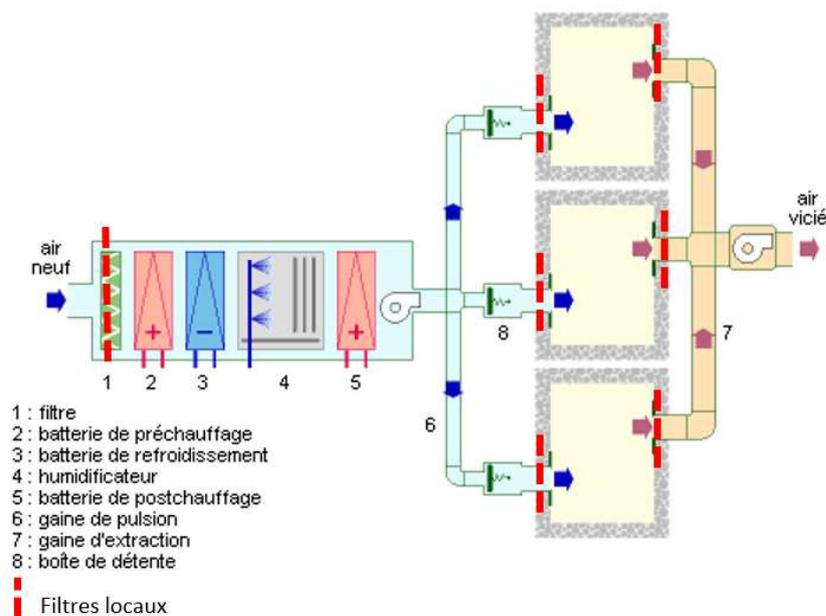


Schéma 9 : d'une centrale de traitement d'air fonctionnement 100% air neuf desservant plusieurs ZAC

5.2.4.4.2 Filtration

Les filtres vont préserver la zone propre de la contamination extérieure apportée par l'air neuf, ils vont permettre également d'éliminer la génération de contaminations intérieures et de préserver la qualité de l'air que l'on va rejeter (important notamment lors de la fabrication de produit à base de souche à risques : BSL2, OGM, sporulant).

Il existe **plusieurs groupes de filtres** qui vont varier selon la taille de filtration de particules. Ces filtres sont régis par la norme NF EN 1822 pour les filtres à très haute efficacité et la norme NF EN 779 pour les filtres de moyenne et haute efficacité. On va retrouver ces filtres à deux endroits différents : au niveau de la **centrale de traitement d'air** (filtre haut) pour les filtres de moyenne et haute efficacité ou directement au niveau de l'air arrivant dans la zone pour les filtres à très haute efficacité (filtres terminaux).

Trois groupes de filtres à très haute efficacité sont utilisés et diffèrent par leur efficacité (tableau X) :

- Groupe E : Les filtres à haute efficacité (EPA : Efficiency Particulate Air)
- Groupe H : Les filtres à très haute efficacité (HEPA : High Efficiency Particulate Air)
- Groupe U : Les filtres à très faible pénétration (ULPA : Ultra Low Penetrating Air)

Tableau X : Classification des filtres de très haute efficacité (EN 1822 :2009)

Groupe	Classe	Efficacité (%)
EPA	E10	≥ 85
	E11	≥ 95
	E12	≥ 99,5
HEPA	H13	≥ 99,95
	H14	≥ 99,995
ULPA	U15	≥ 99,9995
	U16	≥ 99,99995
	U17	≥ 99,999995

L'efficacité des ULPA (25) est plus forte que celle des HEPA (Tableau X). Dans une zone à atmosphère contrôlée l'efficacité des filtres finaux est exigée à 0,5µm selon les BPF, et le filtre terminal de la chaîne de filtration devra être un H14 ou un U15.

En fonction de la classe de propreté et du renouvellement d'air : tout air neuf ou avec recyclage ou encore pour des flux unidirectionnels ou des flux turbulent (tout air neuf ou recyclé) le type de filtration sur la CTA va varier. On peut retrouver le tableau du type de filtration recommandée dans la norme NF EN ISO 14 644-1 (figure 4.20).

Selon la norme NF S 90-351 de 2003, il est recommandé pour une classe A (système à flux unidirectionnel) l'air circulant doit être délivré à une vitesse de 0,45m/s +/- 20% (0,36 à 0,54 m/s) et pour les classes B, C et D le taux de renouvellement d'air doit être adapté au volume du local ainsi qu'à son équipement et aux effectifs présents (autour de 25 à 30 vol/h).

En classe A, B, C les filtres utilisés doivent être à très haute efficacité.

5.2.4.4.3 Maintenance et entretien

L'ensemble des CTA doit être suivi en maintenance et planifié sur le logiciel de traitement de données de la maintenance. A minima un contrôle trimestriel est réalisé sur

le fonctionnement des CTA, dans d'autres cas elles sont contrôlées tous les semestres et annuellement (vérification électrique, courroies, réglages ect...).

Les préfiltres sont nettoyés ou remplacés tous les 6 mois. Une mesure du delta de pression des filtres intermédiaires et terminaux, équipés de prises de mesures est effectuée tous les 2 mois. Un remplacement des filtres est effectué si l'on observe un dépassement des valeurs établies (minimum : -20% de la valeur initiale en pascal ; maximum 3 fois la valeur initiale en pascal) ou au maximum tous les 5ans.

A chaque changement de filtre HEPA un test d'intégrité est effectué sur l'ancien filtre et sur le nouveau filtre installé, dans le cas où l'ancien filtre est non conforme une anomalie est ouverte et l'impact sur les lots déterminées (vérification des prélèvements aériens de la pièce et des bulletins de contrôle des lots produits pour assurer la qualité des dernières productions). Le test d'intégrité des filtres est appelé test DOP (Dispersed Oil Particulate) ou test EMERY(26). Ce test permet la détection de potentielles fuites et de vérifier l'étanchéité des joints entre le cadre et le filtre. Ce test consiste à introduire des microgouttelettes d'huiles (d'environ 0,3 micron) dans le système de filtration pour mesurer la teneur à l'entrée et en sortie lors du fonctionnement de la CTA. Le filtre va donc être saturé en huile (aérosol), puis avec un photomètre (équipement de détection des aérosols) on mesure la capacité de filtration et donc la fiabilité de ce dernier.

Le contrôle périodique de la qualité de l'air effectué annuellement consiste en la mesure des débits d'air, des pressions, du taux de renouvellement et du nombre de particule dans les zones de production.

Lors de certaines productions de souches à risques (OGM, BSL2 ou sporulant) les filtres locaux sont changés directement après la production.

5.2.4.5 Cascade de pression

Une des mesures techniques à respecter selon les BFP (27) chapitre 5 partie 1, pour la production de produit à usage humain est l'utilisation appropriée de cascade de pression afin de confiner toute contamination potentielle aéroportée dans une zone donnée.

Les locaux de fabrication doivent avoir des flux d'air géré et réglé afin d'avoir une maîtrise des contaminations croisées et des flux de production.

Le contrôle de ces flux d'air entre différents locaux se fait en réalisant une mesure de pression différentielle. Pour garantir une qualité d'air optimale, il est important d'obtenir une circulation d'air appropriée depuis les zones de propreté plus élevées vers les zones adjacentes de propreté moins élevées.

Le différentiel de pression doit impérativement être positif entre les zones propres et les locaux avec de l'air moins propre. Ces cascades de pression sont au préalable définies et surveillées en continu en utilisant les méthodes appropriées (alarme, voyant de couleur). Les écarts de pression entre pièces adjacentes relevant de classes différentes doivent être de 10 à 15 pascals minimum.

Pour des zones à risques, où l'on cherche à confiner (exemple : zone de broyage avec forte exposition à de la poudre pulvérulente de bactéries pathogènes), les zones doivent avoir une pression négative. Dans ce cas, ces zones à pression négative doivent être entourées par une zone propre de pression positive de classe appropriée.

Dans le cadre de production de PBV les ateliers de production sont placés en dépression par rapport aux SAS adjacents ou local adjacent dans le but de confiner les particules au sein de l'atelier pour éviter le risque de contamination biologique ou contamination croisée (CCS, BCS).

L'alimentation en air doit être équipée d'un système d'alarme pouvant détecter toute déficience. Les zones entre lesquelles il est important de maintenir une différence de pression doivent être équipées d'indicateur de différentiel de pression ou de pression absolue et doit être relevé ou consigné.

5.2.4.6 Hygrométrie et température

Le traitement de l'air dans des ateliers à atmosphère contrôlée doit permettre de maintenir tout au long du process de fabrication les conditions d'ambiance décrites dans les dossiers d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) et dans le dossier d'autorisation d'ouverture de l'établissement pharmaceutique afin de garantir la qualité du produit.

Les probiotiques fabriqués au sein de Biose industrie sont sensibles à la température, elle ne doit pas dépasser 25°C. Le critère d'hygrométrie est un paramètre critique important lorsque le produit est en forme lyophilisée. Une hygrométrie trop élevée peut être facteur de mauvais conditionnement ainsi que de potentielle reprise en eau, favorisant la croissance de contaminants.

L'hygrométrie en zone de déchargement de lyophilisateur et de broyage est un paramètre relevé dans les dossiers de lot. C'est un paramètre critique de production, en cas de non-conformité les opérateurs doivent impérativement prévenir un responsable et arrêter la production. Cette valeur d'hygrométrie est un paramètre déclaré dans le dossier d'autorisation de mise sur le marché, dans le cas de la production de lot clinique ce sont les clients qui imposent leur valeur d'hygrométrie selon leur produit, à respecter (exemple : <30 %).

La vérification de l'hygrométrie doit être équipée d'un système d'alarme pouvant détecter toute déficience. Les zones dans lesquelles il est important de maintenir une hygrométrie doivent être équipées d'indicateur. Le maintien d'une hygrométrie donnée est réalisé par la centrale de traitement d'air.

Dans le cadre des activités CDO réalisées au sein de Biose Industrie, certains clients pourront être amenés à exiger une hygrométrie bien spécifique au vu des caractéristiques du produit fabriqué.

5.2.5 Flux personnel

5.2.5.1 Habillage du personnel

Les conditions d'accès du personnel aux zones de production à atmosphères contrôlées dépendent de l'activité qui y est exercée. La circulation dans les zones de production implique le port de tenue vestimentaires adéquates et le respect des consignes affichées.

Des pictogrammes d'habillage doivent rappeler sur le terrain les dispositions décrites dans les procédures de sur-habillage et dans les instructions en vigueur en matière d'habillage du personnel. En effet, tout personnel pénétrant dans une zone de fabrication doit porter des vêtements protecteurs appropriés aux opérations qui s'y déroulent.

Le flux du personnel est clairement identifié et notifié au sein de la documentation qualité. Des plans sont mis à disposition des employés pour suivre les flux personnels.

Le nombre de personnes dans les ZAC doit être réduit au minimum : nombre de personnes nécessaire dans ces zones pour la bonne production, dans le but de réduire au maximum les risques de contaminations.

Les vêtements de production et leur qualité (en termes de résistance, matériaux de conception) doivent être adaptés aux fabrications et aux classes des zones de travail. Ils doivent être portés de façon à protéger le produit des contaminations.

Les vêtements des zones d'atmosphère contrôlée doivent être nettoyés et manipulés de façon à ne pas être contaminés.

Les vêtements personnels ne doivent pas être introduits dans les vestiaires menant aux locaux de classe B et C. Les gants doivent être désinfectés pendant les opérations ; les masques et les gants doivent être changés au moins à chaque séance de travail.



Schéma 10 : Pictogramme de l'ensemble des équipements de protection individuel

Les flux personnels doivent faire partie intégrante de l'analyse de risque contaminations croisées. Le risque de contaminations s'inscrit à la fois dans la stratégie de contamination croisée mais également en biocontamination. Le personnel pouvant être porteur de particules extérieures ou d'autres productions en cours de pathogénicité variable.

Ces flux doivent être étudiés et suivis afin de s'assurer qu'aucun risque de contaminations croisées puissent arriver par le flux du personnel. Dans le cas où la conception des locaux ne permettrait pas le respect d'un flux unidirectionnel du personnel des mesures doivent être mises en place pour limiter les risques de contaminations croisées.

5.2.5.2 Hygiène du personnel

Selon les BPF, des programmes détaillés consacrés à l'hygiène doivent être établis et adaptés aux différents besoins de l'entreprise. Ils doivent comporter des procédures relatives à la santé, l'hygiène, et l'habillement du personnel. Le personnel doit être formé à ces procédures, qui doivent être appliquées strictement. Le programme d'hygiène doit être au préalable défini.

Pour toute fabrication de produits de santé à usage humain il a été défini que toute personne pénétrant dans une zone de fabrication doit porter des vêtements protecteurs appropriés aux opérations qui s'y déroulent.

Le contact direct entre les mains de l'opérateur et les produits non protégés est interdit, de même qu'avec les éléments du matériel qui entre en contact avec les produits.

Avant l'entrée des zones à atmosphères contrôlées un point d'eau doit être mis à la disposition du personnel. Le port de bijoux, maquillage, ou la présence de nourriture est interdit dans les ZAC.

Le nettoyage des mains au gel antiseptique, ou lavage des mains à un point d'eau stratégiquement installé, est obligatoire avant l'entrée en zone. Les programmes d'hygiène doivent être compris et observés de façon très stricte par toute personne appelée à pénétrer dans les zones de fabrication et de contrôle. Toute personne travaillant dans ces zones de fabrication doit recevoir une formation continue portant sur les bonnes pratiques de fabrication.

5.2.5.3 Formation du personnel

L'industrie pharmaceutique doit garantir la formation de tout le personnel appelé à pénétrer dans les zones de production et de stockage ou dans les laboratoires de contrôle (personnel technique, entretien et nettoyage inclus) de même que toute personne pouvant avoir un impact sur la qualité du produit, pour éviter le risque de contamination (27).

Avant toute formation à la tâche, la formation des nouveaux arrivants inclut différents modules comprenant une formation sur les fondamentaux de la politique qualité de l'entreprise, une formation sur l'information médicale et la pharmacovigilance. Un test

est réalisé ensuite, attribuant un score dont un minimum de 15 sur 20 est à obtenir pour valider la formation.

La formation interne au poste de travail ou « formation métier » s'appuie sur un programme de formation préparé et établi spécifiquement au poste. L'ensemble des étapes de formation est tracé, jusqu'à la validation des compétences acquises, ces formations sont archivées dans un passeport de formation. Une formation continue est réalisée chaque année sur des points précis pouvant concerner la qualité, la sécurité du travail, la sûreté, l'environnement ou les systèmes de l'informations.

Un plan de formation (outil qui répertorie les actions de formation à venir, en cours ou réalisées selon la stratégie de l'entreprise) prévisionnel est établi, prenant en compte plusieurs paramètres :

- Les entretiens individuels annuels où sont pris en compte l'ensemble des attentes du personnel
- Les demandes directes des services
- Les demandes de la direction de rattachement du personnel concerné par les formations

Le passeport de formation est un élément pouvant être demandé par les autorités telles que l'ANSM lors d'inspection et également des clients ou futurs clients lors d'audit.

Disposer d'un plan de formation défini par poste dans le but de prouver l'habilitation au poste est une exigence à la fois BPF et FDA.

La formation continue du personnel permet d'assurer l'efficacité dans le temps des bonnes pratiques. Les enregistrements des formations doivent être conservés et être facilement accessibles. Les programmes de formation doivent être disponibles et approuvés.

La formation du personnel permettra d'attester du bon respect des pratiques de fabrication lors de l'établissement de l'analyse de risque. Les potentielles sources de contamination par la main d'œuvre pourront être dans certains cas justifiées par la présence de la formation du personnel, qui permet d'attester de la robustesse des pratiques de fabrication. Lors du remplissage des dossiers de lot pour attester de la réalisation des opérations de production le personnel en cours de formation n'est pas habilité à apposer

son VISA seul, un contre VISA sera demandé par une deuxième personne formée et habilitée, cette dernière sera considérée comme « formateur ».

5.2.6 Flux matériel

5.2.6.1 Gestion du matériel propre

Le matériel utilisable (matériel utilisé pour la production, par exemple pièce de broyeur, cuve de préparation de milieu, tuyau versilic de passage de produit liquide entre différents milieu) doit être dans la mesure du possible être conçu et/ou installé afin de permettre au mieux le nettoyage, les interventions de maintenance. Au sein des zones à atmosphères contrôlées il peut être également demandée que l'ensemble des réparations des mécanismes puissent être réalisé à l'extérieur de la zone de production.

Le matériel et/ou équipements et les consommables doivent être entrés en zone de façon à empêcher la contamination d'autres zones, d'autres produits ou d'autres étapes de fabrication du produit dans les ateliers de production multisouche. La production par campagne (enchaînement de production de même souche) doit-être favorisée, se référant à une production dans un atelier mono souche.

Le flux du matériel doit être spécifiquement notifié au sein de la documentation qualité, le personnel de production formé au flux du matériel. Dans les zones à atmosphères contrôlées le matériel propre ne doit pas croiser le matériel souillé, ceci représente sinon un risque de contaminations croisées par le matériel.

Le matériel après nettoyage et/ou décontamination doit être ensaché avant réutilisation et identifié, cette identification doit comprendre : la date de nettoyage, le VISA de l'opérateur ayant effectué le nettoyage, la date de re nettoyage déterminée par la validation de la date limite d'utilisation du matériel. Une fois nettoyée et décontaminé le matériel doit être emmené dans la zone de production pour réutilisation par l'intermédiaire de SAS spécifique à l'entrée de matériel.

Le matériel peut également être nettoyé sur place (exemple : cuve de fermentation) : NEP (nettoyage en place). La NEP doit faire partie intégrante du système de qualification et validation. La méthode de nettoyage, le type de détergent, le dosage en détergent/désinfectant doivent être validés. Ce système de NEP doit être régulièrement vérifié (intégration dans le système de qualification et validation du nettoyage et de la

désinfection). Le système de NEP doit être utilisé lorsque cela est possible. Les vannes de prélèvement des cuves doivent être entièrement stérilisables à la vapeur.

Le risque de biocontamination étant prédominant sur les étapes de process de fabrication de produit liquide, l'ensemble des équipements de fabrication liquide doivent subir un nettoyage puis stérilisation de façon à ne retrouver aucune charge bactérienne. Les formes sèches (poudre) étant moins sujet au biocontamination les normes de nettoyage des équipements en contact avec le produit sous forme de poudre seront différentes (absence de stérilisation).

Il est important de favoriser au maximum l'utilisation de matériel à usage unique lorsque ce dernier est en contact direct avec le produit. Il peut être stérile ou non en fonction de son utilisation. Ce matériel fait l'objet de contrôle réalisé par le contrôle qualité à réception pour s'assurer de sa bonne conformité. Ce matériel est libéré après contrôle, la libération est vérifiée au moment de la libération du lot fabriqué par l'assurance qualité. Concernant le matériel à usage unique stérile un certificat fournisseur permettra d'attester la stérilité du matériel, ce certificat sera joint au dossier de lot.

Dans le cas où l'utilisation du matériel à usage unique stérile n'est pas possible, il conviendra de réaliser une débactérisation du matériel par stérilisation avant réutilisation.

5.2.6.2 Stérilisation

Les méthodes de stérilisation du matériel doivent être validées, en effet avant d'adopter une méthode de stérilisation, il faut pouvoir démontrer au moyen de mesures physiques et le cas échéant, d'indicateurs biologiques, qu'elles conviennent au produit/matériel et qu'elle est capable de réaliser les conditions nécessaires à la stérilisation pour tous les types de charges à traiter. Conformément aux pratiques de validation et qualification la validité de la méthode doit être contrôlée à intervalles déterminés, au moins annuellement, et après chaque modification importante apportée au matériel. Au préalable de l'étape de stérilisation le matériel/équipement doit être décontaminé, nettoyé, séché puis stérilisé.

Les chariots, panier ou autre dispositif de transports du matériel / produits doit être étiquetés : nom du produit (si produit), numéro de lot (si produit), indication de sa stérilisation ou non. Les enregistrements de chaque cycle de stérilisation doivent être

tracés au moyen de cahier de suivi/Logbook et dossier de lot (partie intégrante de la revue lors de la libération du lot).

5.2.6.3 Gestion du matériel après utilisation

Le matériel et/ou équipements et les consommables après utilisation doivent être sortis de la zone de production de façon à empêcher la contamination d'autres zones, d'autres produits ou d'autres étapes de fabrication du produit dans les ateliers de production multisouche.

Le matériel qui ne peut subir de nettoyage en place doit être évacué de l'atelier de production vers une zone dédiée au nettoyage (laverie). Le flux du matériel sale doit spécifiquement être décrit au sein de la documentation qualité, les opérateurs de production doivent être formés à ces pratiques. Le matériel peut être décontaminé avant d'être transmis à la laverie dans le cas de production de souches à risques (exemple : autoclave double porte donnant sur la laverie, SAS H₂O₂ de décontamination).

Pendant son transfert le matériel doit être ensaché et identifié, l'identification doit comprendre : la date d'utilisation du matériel, le numéro de lot de la production, le VISA opérateur effectuant le transfert du matériel sale.

Le matériel sale doit suivre un flux propre à lui, pour éviter tout risque de croiser du matériel propre ou de contaminer une autre zone de production, de contaminer le personnel, un produit ou une matière. Le flux doit être au préalable identifié et suivre un sens logique de fabrication. Un SAS de transfert de matériel sale doit également être réservé à cet effet pour éviter le risque de contaminations croisées avec d'autres production.

5.2.7 Flux matières

5.2.7.1 Gestion de l'entrée et de la sortie des matières

Une matière première se définit par toute substance utilisée dans la fabrication d'un médicament ou matière première pharmaceutique, à l'exclusion des articles de conditionnement selon le BPF.

Les matières premières sont prélevées à réception au sein de Biose industrie, dans une installation dédiée au prélèvement. Ces prélèvements sont réalisés par le contrôle qualité. Une analyse de risque doit être établie dans cette zone de prélèvement pour éviter tout risque de contaminations croisées par le prélèvement des matières premières. A cette étape de prélèvement le bulletin de contrôle du fournisseur, l'intégrité des contenants, le numéro de lot, le nombre de contenant, la date de péremption (fournisseur/Biose Industrie) sont vérifiés. Une instruction qualité permet de donner la quantité de produit à prélever ainsi que la destination des échantillons (contrôle qualité, échantillothèque). Les matières premières sont ensuite acceptées ou non en fonction de leur conformité après libération.

Chaque matière à son arrivée est enregistrée sur un logiciel de gestion intégré ou ERP (entreprise Resource Planning). Ce logiciel permet de suivre la consommation des matières, leur statut à chaque instant (accepté, en dérogation, quarantaine, anomalie en cours, retour client, refusé, à reconstrôler après date limite d'utilisation). Une fois les matières libérées le statut de ces dernières sera modifié directement sur l'ERP.

Les productions sont gérées par lancement d'ordre de fabrication (OF). Selon le besoin le service de production, ou la personne en charge de la formulation ou de la panification va créer un ordre de fabrication, cette étape permet d'allouer les matières premières qui sont libérées après prélèvements, en quantité suffisante. L'ordre de fabrication est transmis à la logistique pour la préparation et la livraison des matières premières à l'atelier de pesée. Les opérateurs de production sont en charge de la vérification de l'ordre de fabrication, les matières premières doivent correspondre au numéro de lot à la quantité livrée. Les opérateurs de production vont pouvoir lancer la fabrication : consommation des stocks de matières premières entrantes dans la fabrication.

Ces étapes de suivi des matières premières de la réception à la consommation des matières sont un élément essentiel pour s'assurer que les bonnes matières vont être utilisées pour la bonne production afin d'éviter tout risque de contamination croisée.

5.2.7.2 Flux des matières premières

Les matières premières sont transportées sur des palettes dédiées aux zones où elles transitent (logistique, zone de pesée). Les matières sont enfermées dans leur contenant,

ensachées et identifiées. Avant l'entrée dans une zone de production, la face externe de l'ensachage est désinfectée et enlevée dans les SAS de transfert. Les palettes peuvent également être filmées pour éviter tout risque de contamination par l'environnement extérieur.

En sortie d'atelier, le produit fini est stocké dans des contenants adaptés, ensachés et identifié, la sache externe est désinfectée avant de sortir dans le SAS de transfert de produit fini. L'identification comprend le numéro de lot, le nom de la matière fabriquée (souche), les conditions de conservation du produit, le VISA opérateur.

Le flux des matières premières doit être clairement spécifié dans la documentation qualité et le personnel de production, de logistique doit être formé au respect de ce flux.

5.2.8 Qualification et validation

5.2.8.1 Définitions

Qualification : Opération destinée à démontrer qu'un matériel fonctionne correctement et donne réellement les résultats attendus. Le concept de validation est parfois élargi pour comprendre celui de qualification.

Validation : Etablissement de la preuve, en conformité avec les principes de Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), que la mise en œuvre ou l'utilisation de tout processus, procédure, matériel, matière première, article de conditionnement ou produit, activité ou système permet réellement d'atteindre les résultats escomptés.

Equipement : c'est une entité mécanique, compacte, localisée, commandée (ou non) par des automates de programmation raccordée (ou non) à des systèmes en réseau, informatiques, électriques, fluides (liquides, gazeux) dédiée à une mission essentielle : production d'un produit ou d'un service, contrôles, mesures...)

Installation : Ensemble de matériels, de composants aménagés en vue d'un usage défini (installation de production d'eau...).

Système : Est utilisé dans le sens d'un ensemble structuré d'opérations et de techniques interactives qui sont réunies pour former un tout organisé. C'est un ensemble d'entités mécaniques, compactes, localisées ou disséminées, commandées (ou non) par des automates de programmation, raccordées à d'autres systèmes en réseau : informatiques,

électriques, fluides, obligées de fonctionner de concert et dédiées à plusieurs missions (production, distribution, retraitement, élimination).

Systeme informatisé : Systeme comprenant la saisie de données, le traitement électronique et la sortie d'informations destinées à être utilisées à des fins soit de rapport, soit de contrôle automatique.

5.2.8.2 Validation

La validation des procédés de production, des méthodes de nettoyage, des méthodes analytiques, des méthodes de contrôle en cours de procédé et des systèmes informatisés, ainsi que les personnes responsables de la conception, de la revue, de l'approbation et de la documentation de chaque étape de la validation doit être documentée selon les BPF.

Ces validations vont permettre d'identifier : les caractéristiques critiques de la substance active, l'identification des paramètres du procédé qui peuvent affecter les caractéristiques critiques de la substance active, la détermination des limites de chaque paramètre critique à utiliser en routine lors de la fabrication et du contrôle du procédé.

Un document appelé **protocole de validation** permet de spécifier la façon dont la validation d'un procédé doit être effectuée. Il spécifie les étapes critiques du procédé et les critères d'acceptation ainsi que le type de validation qui doit être conduit (à minima le champ d'application et le raisonnement pour l'approche : prospectif ou concomitant) et le nombre de procédé à réaliser. Tout écart doit être documenté et justifié.

5.2.8.3 Qualification

Le cycle de vie d'un équipement/système/installation suit le modèle d'organisation appelé **cycle en V** (voir figure 1). Ce modèle comprend la décision d'achat et l'expression des besoins de l'utilisateur (approbation du cahier des charges comprenant l'ensemble des spécifications et la conception générale et détaillée et inscription du besoin dans un plan directeur de validation), l'installation de l'équipement (qualification d'installation : QI et qualification opérationnelle : QO) et inscription dans la base de données des équipements, puis la vérification que le produit correspond bien aux attentes (qualification de performance : QP). L'équipement/système/installation obtient l'autorisation de mise en service et est inscrit au plan de maître de validation (VMP) une

fois la QI et QO approuvées, que le personnel est formé et que la documentation est à jour.

Dans un second temps la qualification interviendra lors de la modification de l'installation ou lors du remplacement d'une partie de l'équipement non à l'identique (suivi par le système qualité par l'ouverture d'un change control), elle intervient également lors du contrôle du maintien de l'état de qualification (requalification périodique avec tests sur paramètres critiques) ainsi qu'en cas d'arrêt définitif de l'équipement (désinscription de la base de données des équipements et mise à jour du VMP).

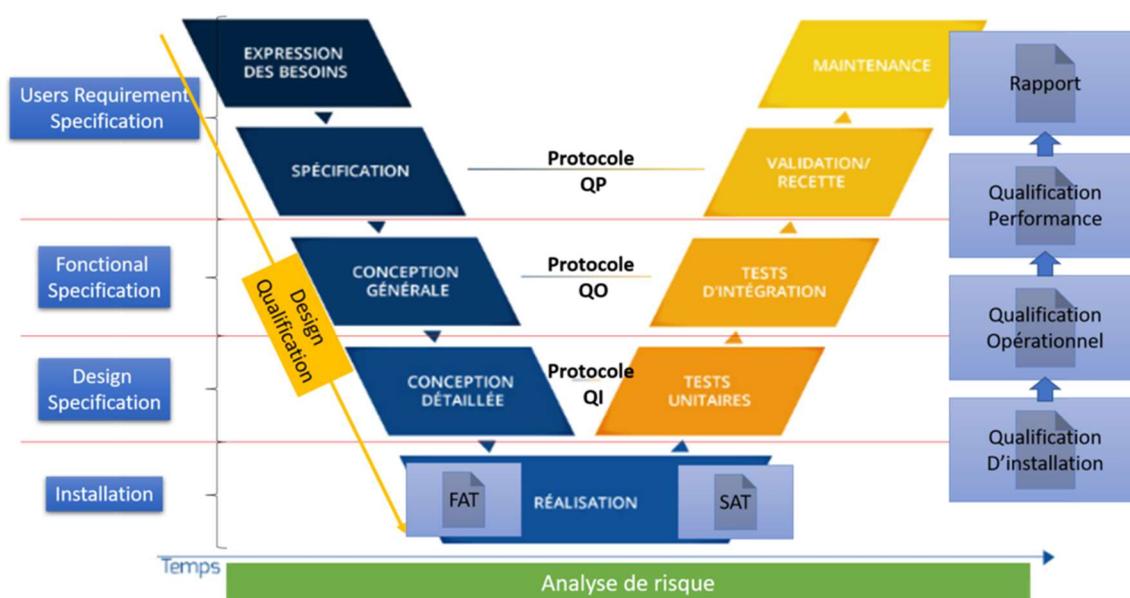


Schéma 11 : Schéma du cycle en V – gestion des projets de qualification et validation

Le système de qualification et validation comprend la qualification **des systèmes informatisés**, des **équipements**, des **postes de sécurité microbiologiques (PSM)** ou des **hottes** ou des **enceintes thermostatiques**, des **pratiques de nettoyage**, des **locaux**, des **centrales de traitement d'air**, des **fluides** (qualité de l'eau) et des **utilités** (évaluation de la qualité des gaz en contact avec le produit). Nous décrirons plus amplement la qualification et validation de nettoyage et désinfection car elle représente une partie importante dans la gestion du risque de contamination et contaminations croisées au sein des ateliers de production mono-multisouche.

5.2.8.4 Validation de nettoyage et désinfection (N&D)

5.2.8.4.1 Définitions

Selon les BPF annexe 15 (27) « *La validation du nettoyage est une information documentée dans une procédure de nettoyage approuvée, elle permet d'éliminer le produit ou les agents utilisés préalablement pour nettoyer l'équipement, de manière reproductible, en dessous du niveau de contamination résiduelle maximale autorisée déterminé scientifiquement.* »

« *Les limites de contamination résiduelle du produit doivent reposer sur une évaluation toxicologique* »

« *En cas d'utilisation d'une approche par le **pire cas** comme modèle de validation de nettoyage, une justification scientifique doit être fournie pour la sélection du pire cas, et l'incidence des nouveaux produits sur le site doit être évaluée. Les critères pour définir le pire cas doivent inclure la **solubilité**, la **nettoyabilité**, la **toxicité** et l'**activité thérapeutique**.* » -

« *Les protocoles de validation du nettoyage doivent préciser ou référencer les points à échantillonner, la **justification de la sélection de ces points**, et définir les **critères d'acceptation**.* »

« *La vérification du nettoyage est un ensemble de données produites par le biais d'une analyse chimique après chaque lot/campagne visant à démontrer que les résidus du produit ou des agents utilisés préalablement pour le nettoyage ont été réduits en dessous du niveau de contamination résiduelle maximale autorisée déterminée scientifiquement.* »

Désinfection : Opération, au résultat momentané, permettant d'éliminer ou de tuer les microorganismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés (norme NF T72-101).

5.2.8.4.2 Nettoyage et désinfection (N&D)

L'objectif de la validation est de contrôler l'efficacité des procédures de nettoyage et de désinfection en vigueur. Suivant les cas, elle porte sur la recherche de **contaminants bactériens** après traitement (validation de désinfection), la recherche de **traces du produit** fabriqué précédemment dans l'installation (validation de nettoyage), la recherche

des **traces de détergent** après traitement (validation de nettoyage). La validation du nettoyage et de la désinfection est un élément essentiel pour établir la stratégie de contrôle des contaminations croisées.

Les teneurs limites en résidus et en produits de nettoyage sont fixées en fonction des matériaux et des produits utilisés.

Au sein de Biose Industrie, ces validations sont menées en prenant compte de la détermination du cas le plus défavorable afin d'optimiser le nombre d'essais à réaliser.

Le **plan directeur de validation de la N&D** (PDV) établi au sein de Biose est rédigé par le service de qualification et validation. Une mise à jour périodique du plan est réalisée si nécessaire pour faire état d'avancement et intégration de nouveaux projets. Ce document est un support pour l'établissement d'une analyse de risque contamination, contaminations croisées, il permettra d'attester de la validation de pratiques de nettoyage d'équipement/matériel/locaux ou dans le cas contraire d'entraîner une mise à jour du PDV si la validation d'un équipement/matériel/local était nécessaire.

5.2.8.4.3 Prérequis à la validation du nettoyage

Un des premiers prérequis à la réalisation de la validation du nettoyage est d'avoir une recette de nettoyage qui est **optimisée, figée et efficace** avec un nombre de recette **rationnalisé**.

La documentation qualité doit être mise à jour sur la base des guidelines en vigueur. On doit également avoir à disposition le plan directeur de validation (PDV), l'établissement des protocoles / fiches de tests et le mode opératoire du nettoyage.

L'ensemble des produits de nettoyage et/ou de désinfection est identifié lors de cette étape : la fiche technique, la fiche de données de sécurité, le certificat d'analyse, la composition du produit doivent être disponibles ainsi que, la date limite d'utilisation.

La qualification (QI/QO/QP) des locaux, des utilités propres (eau, air), des équipements à nettoyer (cuves, remplisseuses etc...), du matériel de nettoyage est également un prérequis pour l'établissement d'une validation du nettoyage. La définition d'un plan de maintenance et de métrologie pour les instruments critiques doit également être mis en place.

La formation et l'habilitation du personnel comprenant les opérateurs de nettoyage, les techniciens analytiques et les préleveurs doit être également mise en place.

Il est à noter que pour tout nouveau produit introduit au sein de Biose industrie, le service de R&D s'assure que les produits de nettoyage et/ou désinfection sont efficaces par l'intermédiaire de tests de nettoyage et désinfection sur la souche. La R&D doit également mettre en place au préalable la validation des méthodes analytiques.

Le nettoyage peut être :

- Automatisé : Dans ce cas la recette de nettoyage doit être optimisée, figée et efficace avec un nombre de recettes rationalisée et le mode opératoire doit être écrit
- Semi-automatisé : Le mode opératoire doit être décrit
- Manuel : Le mode opératoire doit être décrit

L'ensemble des facteurs variables qui influence l'efficacité et les performances du nettoyage, le niveau de détail des procédures comme les durées de rinçage, les températures, l'action mécanique ou encore la concentration en produit (méthode TACT : température, temps contact, action mécanique et la concentration) doit être décrit en détail dans les procédures et instruction de nettoyage.

5.2.8.4.4 Contenu du plan/protocole de validation de nettoyage

Le type d'équipement doit être défini ainsi que le fait qu'il soit dédié ou non à la fabrication d'un produit afin d'évaluer la criticité (atelier monosouche/multisouche) :

- La détermination des surfaces de l'équipement en contact direct ou indirect avec le produit, indispensable pour le calcul du critère d'acceptation.
- Les zones les plus difficiles à nettoyer doivent être identifiées, ce qui aidera à déterminer les points de prélèvements. Dans certain cas, des tests spécifiques peuvent être mis en place comme le test à la riboflavine, qui va permettre d'évaluer l'efficacité de l'aspersion d'un système de nettoyage automatique.
- La méthode de prélèvement pourra être définie en fonction des caractéristiques de l'équipement.
- Le couple produit/équipement doit être notifié

L'analyse de risque pourra ainsi se reposer sur l'ensemble de ces paramètres déterminés auparavant pour justifier d'un bon nettoyage de l'ensemble des pièces des équipements dans le but d'éviter les contaminations croisées.

On doit retrouver dans ce protocole la définition de « traceur » représentatif du produit recherché :

- Visuel (vérification préalable de l'état de propreté visuel)
- Chimique (principes actifs, conservateurs, détergents/désinfectants)
- Microbiologique (substance active : souche)

Le choix de la méthode de recherche du traceur doit être validé au préalable (réalisée par le service de recherche et développement au sein de Biose industrie) ou directement repris de la Pharmacopée. Il existe donc des méthodes spécifiques (exemple : HPLC, PCR etc..) ou non spécifique (conductivité, COT – carbone organique total – etc..), la plage de détection de ces méthodes (LOD – limit of detection et LOQ – limit of quantification) doit être compatible avec les critères d'acceptation

Définition de la stratégie de validation et du plan de prélèvement associé :

- Types de prélèvements à effectuer (écouvillons, eaux de rinçage ...)
- Analyse de criticité : matériaux (en fonction du type, si inox ou plastique stratégie différente), la géométrie, le contact direct/indirect entre la surface et le produit directement. Cette analyse de criticité est une analyse de risque préliminaire réalisée par la N&D à l'aide de la méthode AMDEC, afin d'identifier les points critiques à prélever, représentatifs de l'équipement et leur attribuer un score de criticité.

Il devra être défini dans le protocole les conditions de validation :

- Temps de latence : DHT (dirty holding time) étant le temps limite de stockage de matériel sale entre l'utilisation et le nettoyage (il convient cependant de nettoyer le matériel dès que possible après l'utilisation, lorsque les souillures sont les plus faciles à éliminer) et le CHT (cleaning holding time) concernant le temps limite de validité du nettoyage.
- Le nombre de lot et/ou la durée de la campagne

On devra retrouver dans ce protocole le maintien du statut validé du nettoyage, notamment le monitoring du procédé, les références de change control, la date de revalidation périodique.

5.2.8.4.5 Définition du produit

Le produit fabriqué doit clairement être défini, sa forme galénique (gélules, stocks, poudre, liquide ect...), sa composition (voir si présence d'excipients à effet notoire difficile à nettoyer ou autre), la ou les souches (type de souche : BSL1, BSL2, sporulant, OGM) du produit, la toxicité déterminée à partir des fiches toxicologiques de produit, ainsi que leur nettoyabilité déterminé à partir de retour d'expérience et des fiches toxicologiques des produits.

La stratégie au sein de Biose industrie étant la définition du **produit « worst case »**, appelée **approche groupage ou braketng**. Cette approche a pour objectif de minimiser le nombre de validation à effectuer. Pour cela il faut définir à partir d'un rationnel scientifique un produit représentatif d'un groupe de produits, de valider l'efficacité de la recette de nettoyage sur ce produit représentatif et appliquer les résultats de la validation à l'ensemble du groupe de produits.

Le produit représentatif identifié comme étant **le plus difficile à nettoyer**, peut être sélectionné en se basant sur les critères suivants :

- La **solubilité** du principe actif (ou excipient/conservateur à effet notoire)
- La **nettoyabilité** : expérience opérateur, données pilotes, essais en laboratoire, présence de matière difficile à nettoyer (veiller à bien la documenter) etc...
- La concentration en principe actif (ou excipient/conservateur à effet notoire) et la toxicité peuvent être utilisés pour **départager** des produits de même nettoyabilité

Afin de couvrir l'ensemble des produits de la matrice, la limite résiduelle du produit « pire cas », c'est à dire du plus difficile à nettoyer, sera la limite du produit le plus **toxique** et/ou le **plus actif**.

6 PARTIE 2 : PRATIQUE - MISE EN APPLICATION

ANALYSE DE RISQUE

Sujet analyse de risque contamination : Mise en place d'une analyse de risque d'introduction d'une souche X à caractère pathogène dans l'atelier de broyage. L'analyse de risque particulière, microbiologique devra prendre en compte l'environnement, le processus, les matières.

Méthode utilisée : méthode AMDEC – 6M

Cotation : **Annexe 2**

Rappel production d'un PBV :

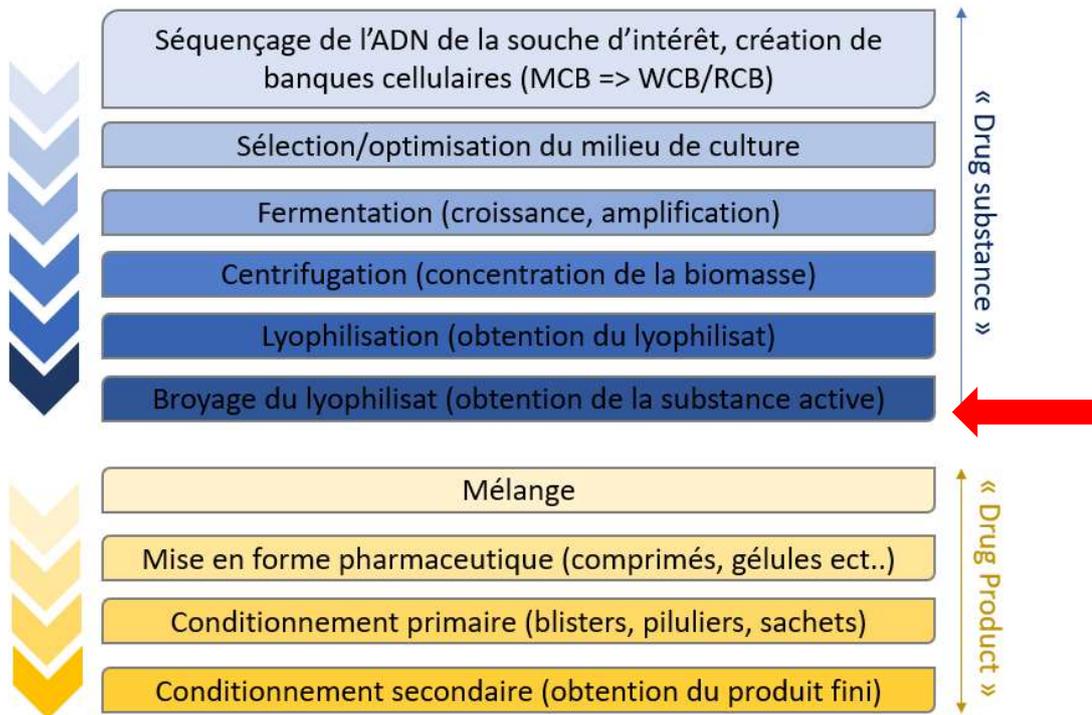


Schéma 1 : Processus de fabrication d'un PBV

Notre analyse de risque s'intéressera donc à l'ensemble des flux personnel, matières, matériel lié à l'activité de broyage, à l'environnement de cette zone et des zones adjacentes, tout en prenant compte du niveau de biosécurité et de confinement de la souche produite.

6.1 Caractérisation de la souche

L'analyse de risque à établir dans la zone de broyage concerne la production d'une souche à caractère potentiellement pathogène. Il a été mis à notre disposition la fiche de sécurité de la souche établie au préalable par le service de R&D à partir du rapport de safety associé (**Annexe 1**).

La souche X étudiée est d'origine humaine (retrouvée dans les fèces). La souche a été caractérisée comme d'un niveau de biosécurité de confinement 2 suite à sa pathogénicité. La souche possède des gènes d'une certaine virulence. Aucun caractère OGM de la souche produite.

La souche est un bacille Gram- anaérobie avec une résistance à l'oxygène. La numération est possiblement réalisable dans des conditions aérobies cependant les conditions d'incubation de la souche sont anaérobies.

La méthode de nettoyage de la souche à auparavant été validée, le désinfectant Y est utilisé à une concentration [X] avec un temps de contact de Xmin, cette méthode de nettoyage est efficace contre la souche.

Le caractère BSL2 de la souche produite nous ramène à des niveaux réglementaires de confinement spécifiques (voir chapitre réglementation BSL2).

6.2 Environnement : CCS

Afin de réaliser l'analyse de risque CCS (cross contamination strategy) et notamment dans le but d'analyser les risques liés à la contamination particulière un certain nombre d'éléments doivent être établis et validés. Notamment le périmètre du système étudié et de l'activité au sein de la zone, l'étude des flux et de la conception des locaux. Selon ces informations on étudiera la classification de propreté des zones et les cascades de pression entre les différents ateliers, enfin on étudiera les différents niveaux de filtration de l'air soufflé et rejeté. Cette analyse est une base de travail pour l'analyse de risque contamination demandée de la zone de broyage d'une poudre de niveau de biosécurité 2 voir schéma suivant.

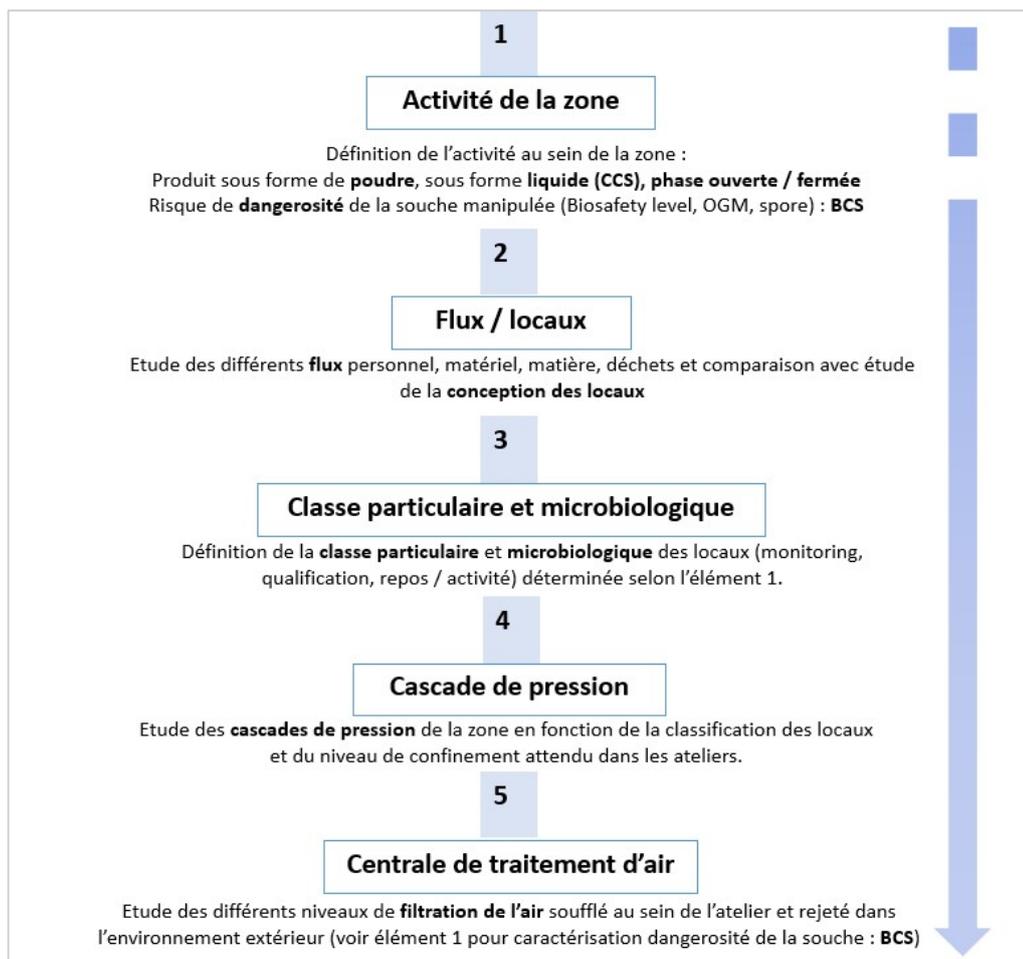


Schéma 12 : Schéma représentatif stratégie de maîtrise de contamination

6.2.1 Etude de l'activité de la zone

L'analyse BCS a démontré le caractère dangereux de la souche produite. Le niveau de confinement du produit doit répondre à la réglementation correspondante au BSL2.

Dans notre cas, l'analyse de risque concernera une partie du processus de fabrication de la « **Drug substance** ». En effet, le broyage du lyophilisat arrive après lyophilisation du résultat de la fermentation. La poudre sera ensuite conditionnée par sac polyéthylène (PE), avant d'être conservés au frigo (condition de stockage variant selon la souche produite). A ce stade de fabrication le produit est sous **forme sèche en phase ouverte**. Cependant au sein de l'atelier le produit peut également se trouver sous forme liquide (chargement du produit dans le lyophilisateur).

Equipements présent : Dans cet atelier on retrouve la porte de sortie du lyophilisateur, un broyeur (composé d'un bâti fixe comprenant le moteur, de pièces démontables : trémie, pièces de broyage), des balances. Nous traiterons uniquement le broyeur dans cette analyse de risque.

6.2.2 Etude des flux personnel, matière, déchets, matériel

Les flux entrants du personnel, des matières, du matériel et les flux sortants de ces derniers et des déchets nous sont donnés dans la figure suivante :

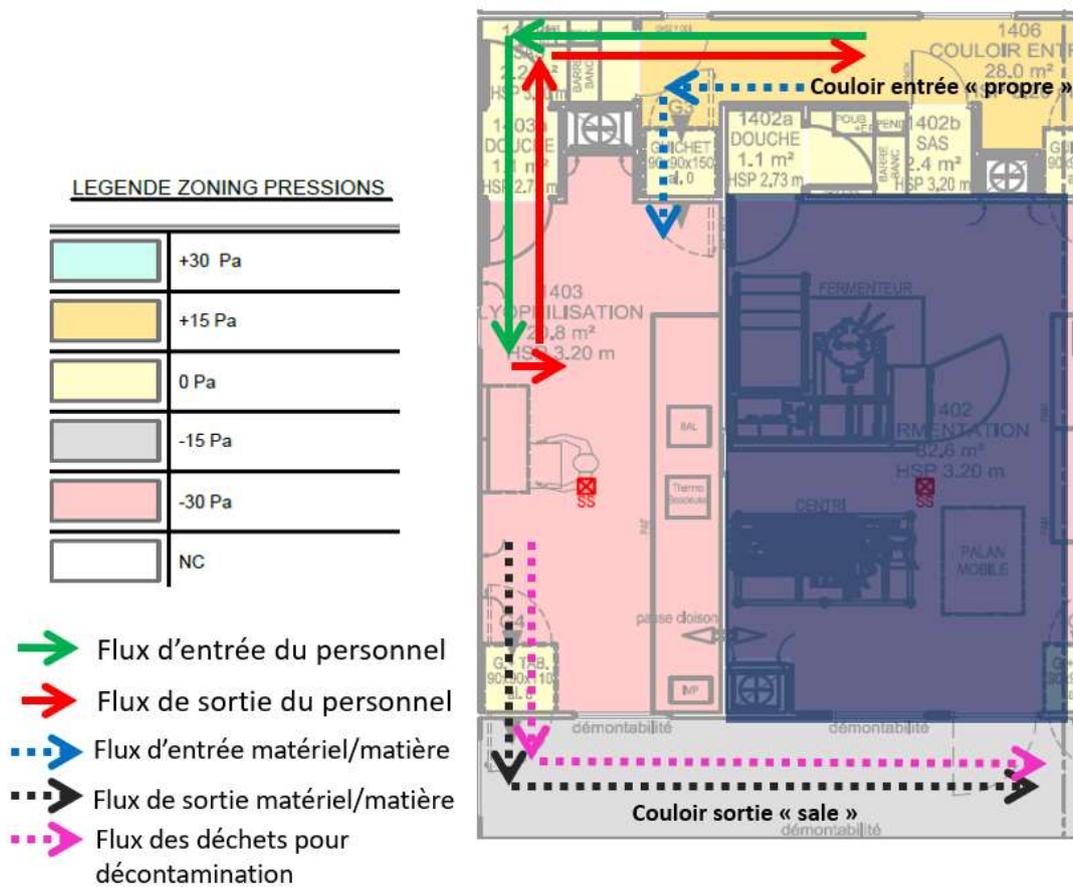


Schéma 13 : Schéma flux de la zone de broyage (flux personnel, matériel, matière, déchets)

Concernant les flux personnel : le personnel de production arrive par un couloir « propre » et entre dans l'atelier par un SAS de sur-habillage puis une douche à air. Le personnel sort par cette douche à air avant de passer dans le SAS de déshabillage (même que le SAS de sur-habillage).

Concernant le flux de matériel et matière, ces flux se confondent, le matériel propre et les matières premières sont acheminées au sein de l'atelier par l'intermédiaire d'un SAS ou guichet de transfert de matériel et de matière. Le produit fini et le matériel sale transitent par le guichet de sortie donnant sur le couloir sale de transfert à la laverie. Le produit fini est retransféré dans le couloir de production par un guichet présent dans le couloir sale de transfert à la laverie.

Les déchets suivent le même flux que le matériel sale, transfert au sein de la laverie pour subir une décontamination.

Ces données seront prises en compte lorsque de l'identification des potentielles risques associés aux différents flux. Ils devront respecter le niveau de confinement entraîné par le degré de dangerosité de la souche.

6.2.3 Etude des classes de propreté et cascades de pression

Le local de broyage est placé en ISO 6 classe B de propreté, cette classification a été établie en fonction des activités réalisées au sein de l'atelier. La qualification de ce local a été réalisée au repos. En activité nous obtenons un nombre de particule dans l'air conforme à une classe C puis un retour en classe B au repos, la mesure du temps de recouvrement (test recovery) est conforme et fait état des lieux dans le dossier de qualification.

Cette zone a été placée en classe C (activité) en raison de l'activité de broyage, générant un certain nombre de particule sous forme de poudre et par la forme liquide (chargement lyophilisateur) ainsi que par la dangerosité des souches manipulée dans cet atelier, on exigera un nombre de particules dans l'air et une marge de contamination microbiologique faible (classe C) en raison de la présence du produit en phase ouverte. Il sera donc nécessaire de respecter un certain nombre de norme en termes de qualification et de monitoring de l'environnement.

Le SAS douche à air est placé en ISO 7 classe C, et le SAS personnel d'entrée et de sortie en ISO 8 classe D de propreté (**voir annexe 3**).

Le local de broyage est placé en dépression (-30 Pa) par rapport au SAS « douche à air » adjacent et au guichet entrée matériel et sortie matériel, eux même en pression

Le local de broyage doit être soumis à une hygrométrie < 30% avec une température de 21°C +/- 2°C.

La centrale de traitement d'air est commune à toute la zone de production. Le niveau de filtration au niveau de la CTA dans chacune des pièces concernées nous est donné en **annexe 3**.

Pour rappel l'analyse de risque CCS reprend l'ensemble des risques liés à la contamination croisée.

Plusieurs causes vont pouvoir être identifiées, l'utilisation de la méthode des 6M est utilisé par le groupe de travail pour s'assurer que l'ensemble des potentiels risques de contaminations croisées sont identifiés. Pour cela la constitution du groupe de travail doit être effectuée.

6.3 Constitution du groupe de travail

Dans le cas de notre étude le groupe de travail devra comprendre un membre de la production du service « Drug substance », très souvent il s'agit de l'adjoint de production qui participe à l'analyse de risque, il est possible également de faire appel à des opérateurs de production. Le groupe de travail comprendra également un représentant qualification/validation équipements/locaux/système informatisé, un représentant de la qualification/validation du nettoyage et de la désinfection. On demandera également à un représentant de la maintenance/métrologie de faire partie du groupe de travail. Toute autre intervenant d'un autre service peut également être sollicité si le besoin existe.

6.4 Analyse de risque CCS / BCS

Mise en place de l'analyse de risque à proprement dite, utilisation de l'outil Excel (sous forme de tableau dans cet exemple) afin de tracer dans un document et part étape du processus les différents modes de défaillances (risque), les causes correspondantes (identifiées par la méthode des 6M), les moyens actuellement mis en place contre le mode de défaillance identifié et les différents moyens de détection du risque. En fonction de l'ensemble de ces données nous appliquerons la cotation (voir **annexe 2**) au

préalablement établie afin de déterminer le score de criticité final et une couleur associée. Des CAPA seront mises en place ou non selon la grille de criticité établie au préalable.

Le processus de broyage sera divisé en trois parties : début d'opération, activité de production et fin d'opération.

6.4.1 Début d'opération

En début d'opération il conviendra d'étudier l'ensemble des risques associés au contrôle de l'environnement reprenant l'ensemble des éléments de l'analyse CCS et BCS. Ensuite les risques liés aux flux personnel seront pris en compte : notamment sur le sens des flux, l'hygiène du personnel, l'habilitation du personnel (attention, pour la manipulation de souche à caractère BSL2 une formation est spécifiquement demandée, cette formation comprend les risques sécurité, environnement et processus de fabrication). Puis nous étudierons l'ensemble des flux matériel et matières entrant dans l'atelier : flux généraux d'entrée du matériel, vérification des dates de nettoyage du matériel, stérilisation du matériel.

6.4.1.1 Contrôle environnementaux du local de broyage

Le contrôle environnement du local de broyage reprend l'ensemble des éléments repris dans l'analyse CCS de la zone. L'analyse de risque AMDEC permet de mettre en exergue les risques liés à une défaillance du système de contrôle de l'environnement, notamment dans le maintien des cascades de pression, de la classe particulière au repos et en activité et classe microbiologique et que les moyens mis en place permettent de s'assurer de ce maintien.

Nous évaluerons également le risque autour de la conception du local notamment sur l'étanchéité (production d'une souche BSL2), sur le schéma aéraulique de la pièce et le taux de brassage de la pièce ou sur la conception en elle-même du local (aspect des murs, présence de potentielles zones de rétention).

Numéro Risque	Sous activité du processus	Mode de défaillance	Causes	Moyens actuels mis en place	Moyen de détection	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
1	Vérifications environnementales conditions particulières	L'air du local du broyage n'est soumis à aucun traitement et aucun contrôle. Risque de contamination du local et de la production	Méthode	Le local de broyage est amené à accueillir du produit en phase ouverte sous forme de poudre, le local est placé en classe B de propreté au repos et C en activité entouré de SAS classe C. Des contrôles particuliers et microbiologiques sont réalisés tous les mois pour s'assurer du maintien du seuil particulière et microbiologique. Une centrale de traitement d'air de renouvellement de 100% de l'air couvre l'atelier et les SAS adjacents. Une filtration H14 (99,999% de rétention des particules >0,5µm) est placée en soufflage du local de broyage et des SAS adjacents. Des prélèvements d'air sont effectués à chaque fin de production après nettoyage de la pièce et désinfection aérienne afin de s'assurer qu'aucune contamination par le milieu n'est possible. Cependant l'emplacement de ces prélèvements d'air ont été déterminés arbitrairement et ne reflètent pas la dispersion de particules en activité.	Classe particulière et contrôles mensuels Installation de la CTA et filtration Prélèvements aériens en fin de campagne de production dans cet atelier.	3	3	2	18
2	Vérifications environnementales conditions particulières	Absence de contrôle de la centrale de traitement d'air dégradation de la qualité de l'air dans le temps	Méthode	Une maintenance est effectuée sur la centrale de traitement d'air et sur les filtres. Les filtres H14 sont régulièrement soumis à un test d'intégrité et sont changés après chaque production de souches à risques (BSL2, OGM, spore). Les fréquences des maintenances sont tracées dans le système de traitement des données de maintenance (GMAO), on retrouve également cette information dans une instruction qualité.	GMAO, instruction	2	3	1	6
3	Vérifications environnementales conditions particulières	Risque de contamination du local par le matériel de comptage particulière	Matériel	Le matériel utilisé par la métrologie pour effectuer le comptage particulière subit un nettoyage et une désinfection avant d'entrer en zone à atmosphère contrôlée. Ce nettoyage et cette désinfection doivent être validée et décrit dans une instruction qualité, le personnel doit être formé à cette pratique.	Aucun moyen de détection de ce risque à ce jour.	4	3	2	24
4	Vérifications environnementales conditions particulières	Risque de contamination du local par prélèvement aérien	Méthode	Les pratiques de prélèvement font parties intégrante du processus de formation du personnel du contrôle qualité. Elles doivent respectées des conditions aseptiques et suivre la procédure décrite dans l'instruction en vigueur des prélèvements.	Formation du personnel, instruction	2	3	1	6
5	Vérifications environnementales conditions particulières	Aucun contrôle sur le schéma aéroulique du local risque de mauvaise circulation de l'air	Méthode	Lors de la qualification des locaux un certain nombre d'information font parties des vérifications à effectuer dans le cadre du protocole de validation. Un test à la fumée est réalisé pour suivre le schéma aéroulique (entrée de l'air bouche de soufflage et reprise). Le schéma aéroulique du local de broyage a été réalisé selon le protocole de qualification.	Qualification/validation	2	3	1	6
6	Vérifications environnementales conditions particulières	Local non hermétique risque de contamination particulière et biologique	Milieu	Lors de la qualification des locaux un certain nombre d'information font parties des vérifications à effectuer dans le cadre du protocole de validation. Un test à la fumée est réalisé pour attester de l'étanchéité des locaux. Les locaux ont été conçus selon les normes en vigueur (plafond étanches, mur en sandwich, revêtement au sol). Une des mesures en plus pour assurer l'étanchéité du local et le confinement de ce dernier (risque biologique) est le maintien des cascades de pression de la zone à atmosphère contrôlée. Le local de broyage est en sous pression par rapport aux SAS adjacents et à la zone technique supérieure un delta de 30Pa assure ce différentiel. Les sondes de pression font parties intégrantes du processus de métrologie, elles sont suivies par le logiciel SIRIUS (alarme en cas de non-conformité).	Qualification/validation, cascade de pression et logiciel SIRIUS	2	3	1	6
7	Vérifications environnementales conditions particulières	Taux de brassage d'air insuffisant risque de contamination particulière	Milieu	Le taux de renouvellement d'air/brassage est assuré par la centrale de traitement de l'air, dans un atelier de classe B le taux de renouvellement d'air est testé lors de la qualification des locaux.	Qualification/validation	2	3	1	6
8	Vérifications environnementales conditions particulières	Conception du local source de contamination	Milieu	Lors de la qualification du local l'état visuel du local est vérifié : aucune anfractuosités des surfaces, facilité de nettoyage de ces dernières : surfaces lisses, pas de trou dans les plafonds/murs.	Qualification/validation	2	3	1	6

6.4.1.2 Etude des flux personnel

Numéro Risque	Sous activité du processus	Mode de défaillance	Causes	Moyens actuels mis en place	Moyen de détection	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
9	Flux entrant du personnel	Risque de contamination par l'entrée du personnel	Méthode	Le personnel de production entre dans le local de production par un SAS personnel de sur-habillage. Il revêt un sur-habillage spécifique à l'atelier. Dans le cadre de manipulation de souche à caractère BSL2 le niveau de sécurité exige un sur-habillage spécifique : l'opérateur revêt par-dessus sa tenue de coton de production : une combinaison intégrale TYVEK de protection, des gants de niveau III, des lunettes de protection. Un masque de protection FFP2, conformément à la réglementation de sur-habillage de production des souches de niveau de confinement 2. Le SAS d'entrée est muni de porte asservies ne pouvant s'ouvrir simultanément. L'opérateur de production passe ensuite par une douche à air qui va permettre d'enlever les particules potentiellement portée par l'individu.	SAS de sur-habillage (détection visuel du sur-habillage) / douche à air	2	3	1	6
10	Flux entrant du personnel	Risque de contamination par l'entrée du personnel	Main d'œuvre	Le personnel de production est formé aux bonnes pratiques de fabrication, lors de sa formation la prise de connaissance des flux personnel, de sur-habillage et d'hygiène avant d'entrer dans une zone de production sont prises en compte. Le personnel se lave les mains avant d'entrer en zone de production. En cas de non-respect du sur-habillage détection visuel du risque.	Visuel	2	3	1	6
11	Flux entrant du personnel	Risque de contamination croisée par l'entrée du personnel par utilisation de la douche à air non décontaminée depuis la dernière production	Milieu	Après chaque nouvelle utilisation la douche à air est nettoyée et désinfectée, elle subit le programme de désinfection aérienne. Une qualification de la douche à air est effectuée selon le protocole de qualification. Une validation du nettoyage de cette douche à air est également effectuée ND22001. Des prélèvements sont effectués après nettoyage pour s'assurer de la conformité du nettoyage.	Qualification, validation N&D, prélèvements	2	3	1	6
12	Flux entrant du personnel	Contamination du local par l'air extérieure par l'entrée du personnel	Milieu	Afin d'éviter le risque de contamination du local par le milieu extérieur lors de l'entrée des opérateurs des cascades de pression sont mises en place afin de créer un delta de pression assurant le confinement du local, les particules sont repoussées vers les SAS. Les opérateurs de production effectuent une vérification de ce delta de pression avant l'entrée en zone de production en cas de non-conformité une détection sonore est mise en place (alarme), la valeur du delta de pression est un paramètre critique relevé dans le cadre du dossier de lot.	Sonore, dossier de lot	1	3	1	3
13	Flux entrant du personnel	Entrée du personnel en provenance d'une autre zone de broyage de souche à risque transportant sur lui de potentielles particules d'une autre zone de production (contamination croisée)	Méthode/Main d'œuvre	Lors de broyage pulvérulent de souche à risque le personnel de production à interdiction de transiter dans une autre zone de production lorsque les activités sont terminées selon l'instruction de manipulation de souches à risques en vigueur. Malgré la présence de SAS personnel et de douche à air afin d'éviter tout risque biologique de contamination croisées.	Instruction, formation	2	3	1	6
14	Flux entrant du personnel	Opération de production de souches à risques par du personnel non formé	Méthode	Lors de production de souche de niveau BSL2 le personnel reçoit une formation spécifique (réalisée par assurance qualité, HSE et R&D) afin de maîtriser en amont l'ensemble des risques et des précautions à employer. Une liste de personnel habilitée doit être établie et mise à la disposition en cas de nécessité, seul ce personnel sera habilité à rentrer dans l'atelier en cas de production de souche BSL2.	Habilitation, listing personnel	2	3	1	6

6.4.1.3 Etude des flux matériel/matières

Numéro Risque	Sous activité du processus	Mode de défaillance	Causes	Moyens actuels mis en place	Moyen de détection	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
15	Flux matériel	Risque de contamination du matériel propre lors de son transfert dans l'atelier	Méthode	Le matériel est récupéré au sein du stock de matériel propre. Après autoclavage et prélèvement pour s'assurer du bon nettoyage de ce dernier le matériel est doublement ensaché et identifié. Ce matériel est déposé par les opérateurs de production dans les guichets de matériel avant d'être récupéré dans l'atelier par le personnel de production. La première sachet est retirée dans le guichet d'entrée du matériel, la face externe de cette dernière est désinfectée. La deuxième sachet est retirée dans l'atelier, la face externe de cette dernière est également désinfectée. Description du flux du matériel dans l'instruction de l'atelier. Les articles de conditionnement subissent le même chemin.	Visuel, instruction	2	3	1	6
16	Flux matériel	Risque d'introduction dans le local de matériel sale, risque de contamination croisée	Matériel	Le flux de l'atelier production ne permet pas de croisée du matériel sale avec du matériel propre. Lors des transferts le matériel est identifié. Détection visuelle de ce risque. Description des flux dans l'instruction de l'atelier de broyage et de la zone de production.	Flux, instruction	2	3	1	6
17	Flux matériel	Introduction de matériel d'une autre zone de production dans le local de broyage (risque de contamination croisée)	Méthode	Le matériel une fois nettoyé est ensaché et identifié, sur l'identification on retrouve la destination de ce matériel (local de broyage), une vérification est effectuée par les opérateurs de production pour éviter l'introduction de mauvais matériel dans le mauvais local, cette vérification fait partie de la formation du personnel et est réalisée dans le cadre du dossier de lot.	Instruction, dossier de lot, formation	2	3	1	6
18	Flux matériel	Utilisation de matériel nettoyé dont la date limite d'utilisation est dépassée	Méthode	Aucune date limite d'utilisation n'a été déterminée sur le matériel de l'atelier de broyage, risque de recontamination après non-utilisation du matériel durant un temps donné.	Aucun moyen de détection de ce risque à ce jour.	4	3	2	24
19	Flux matériel	Utilisation de matériel sale au sein de l'atelier	Méthode	Une fois les opérations de production réalisées, le vide de ligne est effectué. Ce vide de ligne est décrit dans l'instruction de l'atelier de broyage. L'ensemble du matériel de nettoyage doit être transmis à la laverie ou nettoyé sur place selon les instructions en vigueur et la validation du nettoyage des équipements. Une vérification de l'état de propreté des équipements et matériel est effectué dans le cadre du dossier de lot. Lorsqu'un équipement est nettoyé et désinfecté les opérateurs de production apposent une étiquette de nettoyage (date de nettoyage, VISA opérateur, niveau de nettoyage, numéro de lot) et remplissent le Logbook correspondant à l'équipement. L'étiquette de nettoyage est jointe au dossier de lot de la prochaine production pour attester de l'utilisation de matériel propre.	Instruction, formation, dossier de lot, étiquette, Logbook	2	3	1	6
20	Flux matériel	Aucune présence de poubelle/DASRI pour la gestion des déchets, risque de contamination du produit par une mauvaise gestion de déchet	Méthode/matériel	Les opérateurs de production s'assurent avant de démarrer une production du bon stock de poubelle/déchet avant de démarrer. Cette vérification est réalisée dans le cadre du dossier de lot. La gestion des DASRI et poubelle est réalisée par la logistique pour s'assurer de ne jamais être en pénurie.	Formation opérateur, dossier de lot, gestion logistique	2	3	1	6
21	Flux entrant des matières premières	Risque de contamination par l'entrée des matières premières	Matières	La substance active est déjà présente dans le lyophilisateur au sein de l'atelier de broyage.	Néant	0	0	0	0

6.4.2 Production : déchargement lyophilisateur et broyage du produit

Numéro Risque	Sous activité du processus	Mode de défaillance	Causes	Moyens actuels mis en place	Moyen de détection	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
22	Broyage	Risque de contamination du produit par le milieu ambiant	Milieu	Les conditions environnementales ont précédemment été étudiées.	Cf contrôle environnemental	NA	NA	NA	NA
23	Broyage	Risque de déversement accidentel du produit	Main d'œuvre	En cas de déversement accidentel de produit au sol, les opérateurs de production sont formés aux bonnes pratiques. Une instruction spécifique en cas d'accident de déversement décrit précisément la procédure à réaliser (maîtrise du déversement, nettoyage et désinfection de la zone, émission d'une anomalie)	Instruction, formation	2	3	1	6
24	Broyage	Risque de contamination du produit par mauvaise méthode de broyage	Méthode	Le personnel de production est formé aux bonnes pratiques de fabrication, son habilitation permet d'attester de la réalisation de la bonne méthode de broyage. Cette méthode est décrite spécifiquement dans l'instruction de broyage.	Instruction, formation	2	3	1	6
25	Broyage	Contamination du produit par les opérateurs de production	Main d'œuvre	Le personnel de production possède un sur-habillage de protection, dont des gants. Entre chaque nouvelle opération les mains des opérateurs sont décontaminées à l'éthanol pour éviter tout risque de contamination. Un contrôle est effectué sur le produit fini pour s'assurer de la non-contamination de ce dernier. Les risques de contamination du produit sur une forme sèche sont moins importants que sur une forme liquide.	Contrôle produit fini, sur-habillage opérateur : visuel, instruction (lavage des mains)	2	3	1	6
26	Broyage	Contamination du produit par le broyeur	Matériel	Voir étude des flux matériel et méthodologie de nettoyage du matériel (validation N&D de la méthodologie de nettoyage)	Cf contrôle environnemental	NA	NA	NA	NA
27	Broyage	Contamination du produit par résidu de produit chimique sur le broyeur	Matériel	La recherche de trace chimique sur le matériel après nettoyage est réalisée lors de la validation de la N&D de la méthode de nettoyage du matériel. Le nettoyage des pièces du broyeur fait partie intégrante du système de qualification/validation de N&D	Validation N&D	2	3	1	6
28	Broyage	Contamination physique (broyage d'un élément autre)	Matière	En cas de contamination physique aucun système n'a été mis en place pour retenir de potentiel débris (plastique, bois autre) Uniquement détection visuel / sonore.	Visuel/sonore	2	3	1	6
29	Broyage	Contamination du produit par contact direct avec la sachet de conditionnement	Matériel	Les sachets de conditionnement sont des sachets non stériles. Elles sont reçues dans leur conditionnement à la logistique et livrées dans les ateliers ensachés. Ces sachets suivent le processus de libération (contrôle de l'article au sein du contrôle qualité, vérification de la libération par le pharmacien au moment de la libération des lots). Des contrôles de contaminants sont réalisés sur le produit final avant libération du lot pour s'assurer de la non-contamination.	Aucun moyen de détection de ce risque à ce jour.	4	3	2	24
30	Broyage	Risque de contamination du local et des opérateurs de production par broyage de poudre	Matière	Le broyeur est équipé d'une trémie d'alimentation fermée hermétiquement en cours de broyage. Le système étant contrôlé par un automatisme. Ce système permet de réduire considérablement la dispersion de poudre dans le local. En fin de production un nettoyage de la pièce est effectué ainsi qu'une désinfection aérienne de la zone. De plus filtration de l'air de la pièce et renouvellement de l'air. Des prélèvements d'air sont effectués en fin d'opération après nettoyage et désinfection aérienne. Masque de protection, en cas de production de souche à risque (BSL2) un suivi thérapeutique des opérateurs est effectué lors des prochains mois.	Système de trémie, filtration CTA, prélèvement aérien	2	3	1	6

6.4.3 Fin d'opération

6.4.3.1 Nettoyage du local

Numéro Risque	Sous activité du processus	Mode de défaillance	Causes	Moyens actuels mis en place	Moyen de détection	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
31	Nettoyage de clôture d'opération	Mauvais nettoyage du local risque de contamination de la production suivante	Méthode/Main d'œuvre	La méthodologie de nettoyage du local est validée, des prélèvements sont réalisés en fin de production après désinfection aérienne et nettoyage pour s'assurer du bon nettoyage, en respect de la fiche de safety de la souche produite. Après le nettoyage le cahier de suivi de l'atelier est rempli et cette action est tracée dans le dossier de lot. Les opérateurs effectuent le vide de ligne (gestion des déchets, du matériel sale vers la laverie), ce vide de ligne est décrit dans l'instruction. Les SAS adjacents sont également nettoyés et subissent la désinfection aérienne avec l'atelier de broyage. Les opérateurs de production sont formés au nettoyage du local et des SAS Une fois le local nettoyé un affichage est apposé à l'entrée du local pour notifier du statut de nettoyage de l'atelier (date, type de nettoyage, VISA)	Prélèvements, instruction, fiche de safety, formation, validation du nettoyage	2	3	1	6
32	Nettoyage de clôture d'opération	Présence d'anfractuosités aux parois du local de production risque de relargage de particule	Méthode	Lors de la qualification des locaux il a été vérifié qu'aucune anfractuosité n'était présente dans les zones de production. Les surfaces des murs sont lisses pour éviter tout relargage possible de potentielles particules, ainsi que les portes.	Visuel, qualification des locaux	2	3	1	6
33	Nettoyage de clôture d'opération	Mauvais nettoyage des équipements	Méthode/Main d'œuvre	Une partie des pièces du broyeur sont nettoyées directement sur place (parties non en contact produit, qui ne se déplace pas), les parties démontables et en contact produits sont transférées à la laverie pour subir une décontamination, un nettoyage et une stérilisation finale. La méthodologie de nettoyage du broyeur est tracée dans l'instruction et les opérateurs de production sont formés au bon nettoyage, en respect de la fiche d'identité de la souche produite. Le Logbook du broyeur est rempli pour confirmer le bon nettoyage de ce dernier, après nettoyage une étiquette est apposée sur l'équipement pour attester du bon nettoyage. Des prélèvements de surface sont effectués sur le matériel du broyeur en contact direct produit pour s'assurer de la conformité du nettoyage.	Validation méthodologie de nettoyage, fiche safety, prélèvements, instruction, formation personnel	2	3	1	6
34	Nettoyage de clôture d'opération	Contamination par l'eau de rinçage utilisée pour le nettoyage des surfaces du local	Matière/méthode	L'eau de rinçage utilisée pour nettoyer les surfaces du local est une eau purifiée en provenance de la station de purification de l'eau, une boucle d'eau est installée en amont de son arrivée dans l'atelier. Le système de boucle d'eau est qualifié.	Qualification, eau purifiée	2	3	1	6
35	Nettoyage de clôture d'opération	Désinfection aérienne défectueuse	Matériel	La désinfection aérienne de l'atelier fait partie intégrante du système de qualification/validation : des tests avec bioindicateurs sont effectués dans les locaux à des points stratégiques établis dans le protocole de qualification (requalification périodique de la désinfection aérienne)	Qualification de la désinfection aérienne	2	3	1	6

6.4.3.2 Flux personnel / flux matériel / flux matière

Numéro Risque	Sous activité du processus	Mode de défaillance	Causes	Moyens actuels mis en place	Moyen de détection	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
37	Flux matériel	Risque de contamination du zone propre par sortie du matériel	Matériel	Le matériel sale est sorti de l'atelier par le SAS de transfert de sortie de matériel, le matériel propre et le matériel sale ne se croisent pas, le matériel transit par le couloir "dédié sale" jusqu'au SAS de décontamination (SAS H202, autoclave) avant d'être nettoyé en laverie. Ce flux est décrit dans l'instruction des flux du matériel de la zone.	Visuel, sens du flux, instruction	2	3	1	6
38	Flux matériel	Contamination de l'environnement propre par la sortie du dossier de lot	Matériel	Le dossier de lot est un format papier autoclavable, il est sorti de l'atelier en même temps que le matériel sale et subira une décontamination avant d'être ramené dans les bureaux de production.	Autoclavage	2	3	1	6
39	Flux matière	Risque de contamination par la sortie des matières potentiellement contaminées	Matière	La seule matière est le produit fini, le produit fini transit par le SAS de sorti de matériel sale. Le produit est contenu dans les saches hermétiques. Des contrôles sont effectués sur le produit fini.	Difficilement détectable	3	3	2	18
40	Flux personnel	Risque de contamination de l'environnement extérieur par la sortie du personnel	Méthode	Les opérateurs de production retirent le sur-habillage de protection après être passés dans le SAS douche à air. Cette pratique est décrite dans l'instruction des flux personnel de la zone de broyage.	Sur-habillage, douche à air	2	3	1	6
41	Flux déchets	Risque de contamination de l'environnement extérieur par le flux des déchets	Méthode	Les déchets sont sortis avec le matériel sale en direction du SAS de décontamination, ils sont ensuite traités comme tous les autres déchets (transit vers le local de déchets). Cette pratique est décrite dans l'instruction des flux des déchets de la zone de production.	Décontamination, instruction	2	3	1	6
42	Utilités	Risque de déversement dans les effluents des BSL2 par les eaux de nettoyage	Méthode	Les canalisations en sortie de l'atelier sont reliées à un système de traitement thermique des effluents permettant de neutraliser les souches résistantes. Ce système est qualifié et validé.	Traitement thermique des effluents, qualification/validation	2	3	1	6

6.5 Plan d'action et mise en place des CAPA

Une fois la première cotation du risque réalisé, la criticité résultante doit être strictement inférieure à 27, si cette dernière est comprise entre 12 et 27 une action ou un renforcement du monitoring sera recommandé, entre 6 et 12 le risque est « modéré », il peut être renforcé pour plus de sécurité si besoin, en dessous de ces valeurs aucune action n'est requise.

Par décision commune du groupe de travail des actions sont mises en place et distribuées aux services concernés. L'action mise en place doit permettre de redéfinir une cotation pour le risque, prenant en compte l'action mise en place pour évaluer la robustesse de cette dernière.

Numéro Risque	Commentaire	Action mise en place	Détection	Gravité	Fréquence	Criticité
1	Les moyens mis en place permettent de détecter le risque, cependant les prélèvements étant fait à des endroits déterminés arbitrairement la fréquence du risque ne peut être réduite à 1. Criticité = 18, mise en place d'une action corrective	Mise en place d'une qualification des emplacements de prélèvements à effectuer dans local (EMPQ) inter production	2	3	1	6
2	Aucun moyen de détection de ce risque, cependant le contrôle particulière étant réalisé mensuellement fréquence du risque à 2. Criticité = 24, mise en place d'une action corrective	Validation du nettoyage du matériel de comptage particulière et description dans une instruction de la méthodologie. Formation du personnel de la maintenance à ces pratiques.	2	3	1	6
18	Gravité et fréquence réduite car ce risque n'arrive que très fréquemment au vu de l'enchaînement des campagnes de production. Criticité = 24, mise en place d'une action corrective	Détermination par la qualification/validation N&D d'une DLU du matériel du local de broyage	2	3	1	6
24	Gravité et fréquence réduite car à ce jour les contrôles sur le produit fini ne révèlent pas de contamination à ce niveau. La poudre sous forme sèche présente moins de risque de contamination. Criticité = 24, mise en place d'une action corrective	Réalisation d'essais de prélèvement de flore totale sur les saches de conditionnement de la poudre afin de déterminer la charge bactérienne.	2	3	1	6
39	Criticité = 18, mise en place d'une action corrective	Mise en place d'une action de désinfection de la sache externe du produit finis avant son transfert en logistique pour conservation au froid. Les opérateurs de production doivent être formés à cette pratique. Nécessité d'ajouter cette notion dans l'instruction des flux du produits finis.	2	3	1	6

L'action corrective fait partie intégrante du système qualité d'amélioration continue d'une industrie pharmaceutique. L'analyse de risque permet d'assurer le suivi de ces CAPA.

En ce qui concerne le risque 1 : la mise en place de la qualification et validation de l'emplacements des prélèvements du local de broyage, cette action est donnée au service de qualification/validation du nettoyage et désinfection. Il en est de même pour le risque 2 et 18.

Cette action permettra de déterminer et qualifier les différents emplacements des prélèvements à effectuer dans cette zone selon la méthodologie « worst case » pour s'assurer que ces derniers soient représentatifs des conditions de flux aériens.

Concernant le risque 24 : Réalisation d'essais de prélèvement de flore totale sur les saches de conditionnement de la poudre afin de déterminer la charge bactérienne, cette action est donnée au service du contrôle qualité pour réaliser des prélèvements.

Ainsi cette analyse permettra de déterminer la charge initiale sur ces saches et de voir l'impact sur le produit fini. Dans ce cas seulement un essai de prélèvement est demandé car la gravité du risque est réduite par le fait que nous sommes en phase poudre, la probabilité de contamination du produit est moindre. Dans le cas où les essais donneraient des résultats non conformes, une nouvelle CAPA pourra être réalisée pour étudier la mise en place de sache stérile ou des prélèvements systématiques sur les saches actuels. La première solution étant la solution de choix étant donné les problématiques de logistique et de cout engendrés par la mise en place de prélèvements supplémentaires à réaliser pour chaque sache, de plus cela pourrait engendrer un risque supplémentaire de contamination.

Enfin l'action corrective découlant du risque 39 est confié au service de production directement, au plus proche des opérateurs de production pour la réalisation de cette action. Le flux du produit fini transite par un couloir « sale » de passage de matériel souillé en direction de la laverie.

Après le passage dans le couloir « sale » avant transfert dans un guichet pour transfert en logistique, la face externe de la sache de conditionnement du produit devra être désinfectée pour réduire tout risque de transport de potentielles particules de produit dans

une zone non contaminée. Pour s'assurer de la bonne détection de ce risque, en plus de la détection visuelle (suivre l'opérateur pour observer la pratique), cette nouvelle pratique devra être décrite dans une instruction qualité et l'opérateur devra être formé et prouver de sa formation par un formulaire de formation à cette nouvelle pratique, engageant sa responsabilité en cas de non-respect des pratiques.

L'analyse de risque de cette zone devra être approuvée par l'ensemble des membres du groupe de travail et devra être signée par un représentant qualité et production. Ce document sera amené à être modifié en fonction des modifications apportées à cette zone (modification des pratiques de fabrication, de nettoyage du matériel etc...). Dans certains cas cette analyse de risque pourra être mise à jour en cas d'ouverture d'anomalie (déviation du système) ou encore par l'ouverture d'un change control ayant un impact sur la zone (ajout d'équipement, travaux dans la zone ect...).

7 Intérêts et limites des analyses de risques

L'analyse des risques de contamination au sein d'un atelier de production multisouche est avant tout un outil qualité, préventif, d'amélioration continue. La gestion du risque au sein d'une industrie pharmaceutique fait partie intégrante du système de management du risque par l'appréciation et la maîtrise du risque (ICHQ9).

Le but de ces analyses de risque est de mieux connaître le système dans sa globalité, de comprendre son processus et de l'environnement entourant un processus. Cela permet de donner une logique à l'ensemble des pratiques mises en place d'un point de vue qualité mais également process de fabrication.

L'identification préventive des risques permet d'anticiper un certain nombre de dérive et permet de consolider le système qualité. Tandis que l'identification des risques à posteriori d'une dérive permet de prendre en compte un élément qui n'aurait au préalable jamais été pris en compte, permettant de réduire la fréquence de ce risque.

Ce document final est un outil très important lors d'audit, il permet de justifier que l'ensemble des risques ont été pris en compte et traités. Dans le cas ou certain risque ne pourrait être corrigé, exposant le produit, un individu ou l'environnement à une situation

critique, l'analyse de risque permettra alors d'être un élément moteur dans la prise de décision de continuité de l'activité ou non.

L'analyse de risque permet également de justifier la mise en place de nouvelles pratiques par la création de CAPA, cela permet également de répondre parfois à des écarts d'audit.

La vision de la FDA et la prise en compte des stratégies CCS et BCS permet de prendre en compte dans l'analyse de risque l'impact de l'environnement de production et de le mettre en parallèle avec la dangerosité du produit fabriqué. Cela permet également de répondre aux nombreuses exigences réglementaires engendrées par la manipulation de souches à risques.

Cependant, les analyses de risque possèdent de certaines limites. En effet, la recherche des causes et l'identification des défaillances sont très intuitives, une connaissance parfaite de l'ensemble du système et du terrain est nécessaire, les membres du groupe de travail doivent être au courant de l'ensemble des pratiques et de la technique pour s'assurer que l'ensemble des éléments ont bien été pris en compte. Cet exercice devient difficile et fastidieux dans les cas de système technique complexes. La cotation peut être très subjective s'il manque des informations, il est également possible d'apporter des justifications qui tourneront dans le sens voulu pour adapter la cotation d'une situation souhaitée. Il s'agit d'un travail très long et consommateur de ressources, consulté bien souvent uniquement que pour les audits suscitant un intérêt moindre des personnes autre que la personne responsable des analyses de risques.

La clé du succès pour réaliser des analyses de risques permettant d'identifier, d'anticiper et de corriger des défaillances est la bonne constitution du groupe de travail, avoir une grille de cotation permettant de prendre en compte un ensemble d'information et un choix de CAPA efficace.

8 Conclusion

La fabrication dans des ateliers multi-souches de PBV est acceptable lorsqu'une stratégie de contrôle efficace des contaminations croisées a été établie au préalable et qu'une analyse des risques fait état des lieux de l'identification de l'ensemble des risques et que des mesures sont prises pour éviter le risque. La connaissance des caractéristiques principales de tous les organismes (ex : pathogénicité, détectabilité, nettoyabilité ect...) dans une même installation (BCS), la surveillance environnementale spécifique aux micro-organismes utilisés font partie intégrante de la stratégie de contrôle de la contaminations microbiologique, particulière (CCS).

L'évolution et la généralisation de l'annexe 1 des BPF comprend la rédaction des analyses de risques BCS, CCS, ces dernières vont à l'avenir devenir une exigence réglementaire généralisée à l'ensemble des industries pharmaceutiques. Dans le but de prouver qu'une stratégie de maîtrise des contaminations a été établie, que l'ensemble des systèmes sont maîtrisés, que tous les processus ont été pensés et réfléchis. La perfection étant dans la réalité très difficile à obtenir lors de processus de fabrication, ces analyses de risques permettent de mettre en lumière les défaillances pour prouver qu'elles ont été étudiées, justifiées ou corrigées.

A terme il s'agira du document support des audits internes, externes clients, fournisseurs, il permettra de reprendre l'ensemble des informations pouvant être demandée pour justifier de la qualité du produit, de la qualité et de la robustesse des processus de fabrication. A ce jour il s'agit d'un document demandé par la FDA et qui tend à être demandé de plus en plus par les autorités Françaises (ANSM) et Européenne (EMA).

Le doyen de l'UFR de Pharmacie,

Christiane FORESTIER

Le Président du Jury,

Ghislain GARRAIT

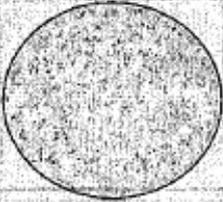
9 Bibliographie

1. Early Clinical Trials with Live Biotherapeutic Products: Chemistry, Manufacturing, and Control Information; Guidance for Industry. :20.
2. Live Biotherapeutic Products (LBPs): unprecedented quality requirements by the Ph. Eur. Commission | EDQM - European Directorate for the Quality of Medicines [Internet]. [cité 17 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/news/live-biotherapeutic-products-lbps-unprecedented-quality-requirements-ph-eur-commission>
3. Cordaillat-Simmons M, Rouanet A, Pot B. Live biotherapeutic products: the importance of a defined regulatory framework. *Exp Mol Med.* sept 2020;52(9):1397-406.
4. Darbaky Y, Evrard B, Patrier S, Falenta J, Garcin S, Tridon A, et al. Oral probiotic treatment of *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35® prevents visceral hypersensitivity to a colonic inflammation and an acute psychological stress. *J Appl Microbiol.* janv 2017;122(1):188-200.
5. Futura la rédaction de. Définition | Microbiote | Futura Santé [Internet]. Futura. [cité 17 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-microbiote-12710/>
6. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J.* mai 2016;92(1087):286-300.
7. Fernández MF, Reina-Pérez I, Astorga JM, Rodríguez-Carrillo A, Plaza-Díaz J, Fontana L. Breast Cancer and Its Relationship with the Microbiota. *Int J Environ Res Public Health.* 14 août 2018;15(8):E1747.
8. Dapoigny M, Piche T, Ducrotte P, Linaud B, Cardot J-M, Bernalier-Donadille A. Efficacy and safety profile of LCR35 complete freeze-dried culture in irritable bowel syndrome: A randomized, double-blind study. *World J Gastroenterol WJG.* 7 mai 2012;18(17):2067-75.
9. van de Wijgert JHHM, Verwijs MC, Agaba SK, Bronowski C, Mwambarangwe L, Uwineza M, et al. Intermittent *Lactobacilli*-containing Vaginal Probiotic or Metronidazole Use to Prevent Bacterial Vaginosis Recurrence: A Pilot Study Incorporating Microscopy and Sequencing. *Sci Rep.* 3 mars 2020;10(1):3884.
10. Éditions L fr. Diversité, origine et évolution du microbiote humain | Lelivrescolaire.fr [Internet]. [cité 26 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.lelivrescolaire.fr/page/6095142>
11. Microbiote intestinal (flore intestinale) · Inserm, La science pour la santé [Internet]. Inserm. [cité 17 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/microbiote-intestinal-flore-intestinale/>

12. Figure-workflow.png (Image PNG, 590 × 514 pixels) [Internet]. [cité 26 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.genomescan.nl/wp-content/uploads/2019/06/Figure-workflow.png>
13. Morabito D. Production d'acide lactique par *Lactobacillus casei* sur lactoserum : études cinétiques, modélisation et simulation de procédé intégré [Internet] [phdthesis]. Institut National Polytechnique de Lorraine; 1994 [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01751330>
14. ICH guideline Q9 on quality risk management. :20.
15. Devaux P. Le Processus de Révision de l'Annexe 1 des GMP Européennes arrive. :7.
16. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 6th Edition | CDC Laboratory Portal | CDC [Internet]. 2021 [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>
17. Directive 2000/54/EC - biological agents at work | Safety and health at work EU-OSHA [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://osha.europa.eu/fr/legislation/directives/exposure-to-biological-agents/77>
18. CNRS : CNPS - cahier de prevention CNRS - risques biologiques [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.dgdr.cnrs.fr/sst/cnps/guides/risquebio.htm>
19. Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en oeuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes - Légifrance [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000465273/>
20. Arrêté du 2 juin 1998 relatif aux règles techniques auxquelles doivent satisfaire les installations soumises à autorisation au titre de la rubrique 2680-2 de la Nomenclature des installations classées pour la protection de l'environnement - Légifrance [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000000389425/>
21. manueduconfine2019.pdf [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: http://www.hautconseilbiotechnologies.fr/fr/system/files/file_fields/2019/07/10/manueduconfine2019.pdf
22. Tableau 9 - EPI.pdf [Internet]. [cité 20 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.dgdr.cnrs.fr/sst/cnps/guides/doc/risquebio/Tableau%209%20-%20EPI.pdf>

23. manueduconfine2019.pdf [Internet]. [cité 12 janv 2022]. Disponible sur: http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr/fr/system/files/file_fields/2019/07/10/manueduconfine2019.pdf
24. Centrale de traitement de l'air (CTA) : le guide complet [Internet]. Guide pour choisir sa climatisation. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.guide-climatisation.com/clim/centrale-de-traitement-air/>
25. 2885.pdf [Internet]. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://picscheme.org/docview/2885>
26. Test EMERY - DOP | Expertise Sapien [Internet]. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.sapien.fr/prestations/test-emery-dop>
27. Bonnes pratiques de fabrication de médicaments à usage humain - ANSM [Internet]. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/documents/referance/bonnes-pratiques-de-fabrication-de-medicaments-a-usage-humain>

Annexe I : Fiche de sécurité de souche microbiotique

biose®		FICHE D'IDENTITÉ [REDACTED]				
Projet	[REDACTED]	Référence interne	[REDACTED]			
Client	[REDACTED]	Référence client	[REDACTED]			
Project Managers	[REDACTED]	Ingénieurs Process	[REDACTED]			
Rapport de safety associé : ENR/RE/RV/20-092						
Caractéristiques de la souche			Petits bacilles Gram			
Origine	Fèces humaines					
Pathogénicité	BSL2 ⚠					
OGM	Non					
Structures de résistance	Biofilms ⚠					
Produit final						
Croissance et méthodes de numération						
Croissance	[REDACTED]					
Conditions de manipulation	Anaérobie (mais numérations pouvant être réalisées en aérobie)					
Conditions d'incubation	Anaérobie					
Diluant utilisé	[REDACTED]					
Nettoyage & Désinfection						
Matrice	Produit à utiliser			Produit back up		
	« Nom du produit à utiliser »	Concentration	Temps de contact (min)	« Nom du produit back up »	Concentration	Temps de contact (min)
Liquide	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
DS	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
DP	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
Aspect des colonies sur milieu gélosé						
BBA						
[REDACTED]						
						
Remarques :						

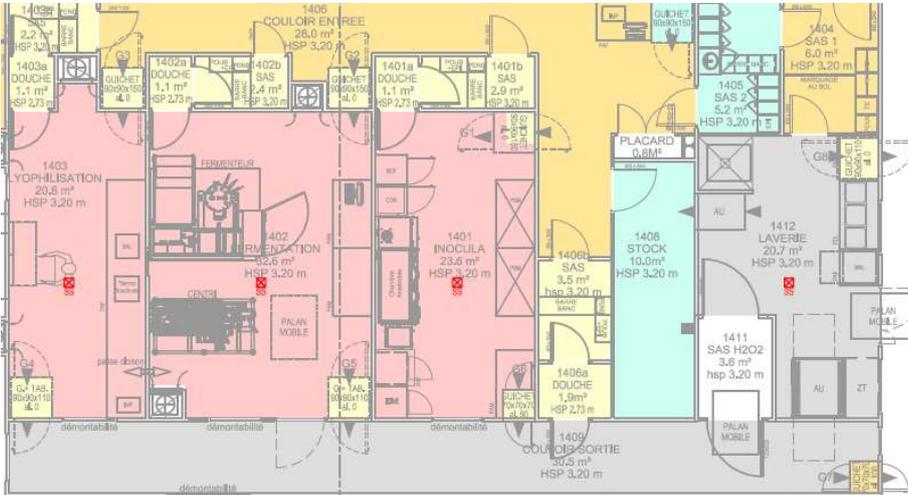
Annexe II : Cotation et criticité de la mise en pratique

Critères de gravité (G) : Gravité de la contamination		
Niveau	Évaluation	Critères
1	Mineure	Risque minimal sur le produit et sans effet pour le patient
2	Modérée	Risque avec modérée impact sur la qualité du produit et/ou effet négligeable pour le patient
3	Très importante	Risque élevé d'impact sur le produit et/ou effet possible pour le patient
4	Significatif	Risque élevé d'impact sur le produit et/ou effet indésirable élevé pour le patient
Critères d'occurrence (O) : Probabilité de contamination		
Niveau	Évaluation	Critères
1	Rare	Probabilité de contamination du produit rare ou absent
2	Modérée	Probabilité de contamination du produit peu fréquent
3	Forte	Probabilité de contamination du produit fréquent
4	Systématique	Probabilité de contamination du produit systématique
Critères de détection (D) : Probabilité de détection de la contamination		
Niveau	Évaluation	Critères
1	Certaine	Détection systématique par moyen de contrôle automatique et/ou à fréquence élevée
2	Forte	Détection régulière par moyen de contrôle automatique et/ou par détection humaine
3	Faible	Détection peu probable de la contamination
4	Très improbable	Aucun moyen de détection de la contamination

Définition du seuil de criticité :

Criticité résultante (D x O x G)	
Niveau	Évaluation
$R < 6$	Risque faible et acceptable => Aucune action n'est requise
$6 \leq R < 12$	Risque modéré => Monitoring actuel acceptable, pouvant être renforcé pour plus de sécurité
$12 \leq R < 27$	Risque important => Renforcement du monitoring et/ou action recommandé
$R \geq 27$	Risque inacceptable => Renforcement du monitoring et/ou action à mettre en place en priorité

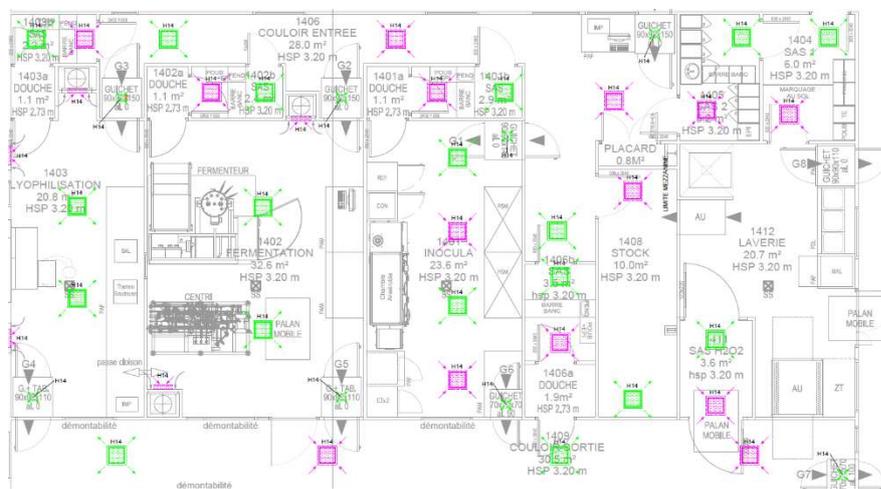
Annexe III : Cascade de pression, classe particulière et filtration de la zone de broyage



LEGENDE ZONING PRESSIONS	
	+30 Pa
	+15 Pa
	0 Pa
	-15 Pa
	-30 Pa
	NC



LEGENDE ZONING CLASSE ISO	
	ISO 6 Classe B
	ISO 7 Classe C
	ISO 8 Classe D
	NC



LEGENDE	
	BOUCHE DE SOUFFLAGE AVEC FILTRE H14
	BOUCHE DE SOUFFLAGE SANS FILTRE
	BOUCHE DE REPRISE AVEC FILTRE H14
	BOUCHE DE REPRISE SANS FILTRE
	GRILLE DE REPRISE BASSE AVEC FILTRE H14
	CARTOUCHE FILTRANTE H14