



**HAL**  
open science

# COVID-19, vaccins et qualification d'une zone de répartition aseptique

Marie N'diaye

► **To cite this version:**

Marie N'diaye. COVID-19, vaccins et qualification d'une zone de répartition aseptique. Sciences pharmaceutiques. 2023. dumas-04412622

**HAL Id: dumas-04412622**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04412622>**

Submitted on 23 Jan 2024

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTE DE  
PHARMACIE DE MARSEILLE

Le 11 décembre 2023

PAR

Mlle N'DIAYE Marie

Née le 15/10/1991 à OUOUNDE (Sénégal)

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

**COVID-19, Vaccins et qualification d'une  
zone de répartition aseptique**

JURY :

Président : M. François DEVRED, Maitre de conférences

Membres : Mme Véronique ANDRIEU, Maitre de conférences  
Mme Djessica MZIOI, Docteur en Pharmacie  
Mme Rahma MOHAMED, Ingénieur qualité

# LISTE DES ENSEIGNANTS

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

## ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	M. Jean-Paul BORG
<i>Vice-Doyens :</i>	Mme Florence SABATIER-MALATERRE, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT, Mme Alexandrine BERTAUD
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGELFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE, Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Sylvie BUREAU
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Manon BONIFAY
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

<b>DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE</b> Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE
--

<b>PROFESSEURS</b>
--------------------

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC M. François DEVRED
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

**MAITRES DE CONFERENCES**

BIOPHYSIQUE	Mme Odile RIMET-GASPARINI Mme Pascale BARBIER Mme Manon CARRE M. Gilles BREUZARD Mme Alessandra PAGANO
GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE	M. Eric SEREE-PACHA Mme Véronique REY-BOURGAREL
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Pierre REBOUILLON M. Emmanuel CAUTURE Mme Véronique ANDRIEU Mme Marie-Pierre SAVELLI
BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE	M. Jérémy MAGALON Mme Carole SIANI Mme Muriel MASI

**ENSEIGNANT CDI**

ANGLAIS	Mme Angélique GOODWIN
---------	-----------------------

**A.H.U.**

PHARMACOTECHNIE	Mme Mélanie VELIER
-----------------	--------------------

**DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE**  
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

**PROFESSEURS**

BIOLOGIE CELLULAIRE	M. Jean-Paul BORG
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE Mme Laurence CAMOIN-JAU Mme Florence SABATIER-MALATERRE Mme Nathalie BARDIN M. Romaric LACROIX
MICROBIOLOGIE	M. Jean-Marc ROLAIN M. Philippe COLSON
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Nadine AZAS-KREDER

**MAITRES DE CONFERENCES**

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN Mme Sandra GHAYAD
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU Mme Alexandra WALTON

**A.H.U.**

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Amandine BONIFAY
----------------------------	----------------------

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

PRATIQUE OFFICINALE	M. Jérôme JOUVE Mme Emmanuelle TONNEAU-PFUG
---------------------	--

**DÉPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

**PROFESSEURS**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Sok Siya BUN

**MAITRES DE CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOGRAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	Mme Haïfa LAYACHI RAHABI M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

**A.H.U.**

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	M. Vincent NAIL
PHARMACIE CLINIQUE	Mme Maeva MONTALEYTANG Mme Charlotte BERARD

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Annie CILIA, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Yann COTTE, Pharmacien Assistant  
M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire  
Mme Céline HIRSCH, Pharmacien Conseil de l'Assurance Maladie  
Mme Christelle LABRANDE, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Florence LEANDRO-DIJON, Pharmacien adjoint  
Mme Nathalie MARTIN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie MERLIN, Pharmacien Assistant  
Mme Vanessa METZ, Pharmacien hospitalier  
Mme Alice PERINEAU, Pharmacien Assistant  
Mme Florence PEYRON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire  
M. Bertrand POURROY, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché  
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier  
M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 février 2023



## REMERCIEMENTS

### Aux membres du jury :

A Mme ANDRIEU, je vous remercie d'avoir été mon maître de thèse. Merci de votre patience, de vos conseils et de votre présence de la rédaction à la présentation de ce travail.

A Mr DEVRED, merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être président de mon jury. Sans votre participation, je n'aurais pas pu soutenir ma thèse ce jour.

A Djessica, infiniment merci. Tes conseils, ta disponibilité, tes encouragements m'ont permis de persévérer. Une joie de vivre qui se ressent et se transmet aisément.

A Rahma, c'est avec toi que j'ai commencé la qualification. Tu m'as tellement appris sur un sujet dont je ne connaissais que la théorie. De collègue, tu es devenue une amie très chère à mon cœur.

### A ma famille :

Maman, sans toi je n'aurais pas pu accomplir tout cela. Je te remercie de m'avoir toujours soutenu, d'avoir essuyé mes larmes et mes doutes et de m'avoir montré comment être forte et ambitieuse. Ton amour inconditionnel me donne des ailes et me donne le courage dont j'ai besoin pour affronter toutes les difficultés de la vie. Maintenant c'est à mon tour de te rendre fière.

A mes sœurs et à mon frère que je considère comme mes enfants. Merci de me faire rire et de me remonter le moral à chaque fois que j'en ai besoin. A tous nos moments passés à nous chamailler et nous réconcilier autour des bons gâteaux de Haby, des plats savoureux de Nayé, des blagues de Habsa et de la bienveillance de Daouda. Je suis la plus heureuse des grandes sœurs.

A Tonton Hamidou, à la fois mon oncle, mon meilleur ami, mon confident, mon psychologue, mon grand frère. Merci de t'être ruiné à la boutique du quartier à chaque sortie d'école. Que nos liens perdurent à l'infini.

Une immense pensée à mon grand-père et mon arrière-grand-mère. Vos prières m'ont accompagnée tout au long de ma vie. De ma naissance à aujourd'hui. Vos paroles restent gravées dans mon cœur à tout jamais. J'aurai tellement voulu vous avoir à mes côtés pour ce jour. Que vos âmes reposent en paix.

A Zawji, je n'y croyais plus et tu es arrivé. Même parcours, même histoire et même état d'esprit. On dit que les opposés s'attirent mais nous, ce sont nos ressemblances qui nous unissent. Ici, ou ailleurs que nos cœurs s'unissent à jamais.

### **A mes amies :**

- Du collège Arenc Bachas, presque 20 ans d'amitié et pas une ride. Que des bons moments, des taquineries à n'en plus finir et jamais de disputes.
- Du lycée Montgrand, vous ne le savez peut-être pas, mais vous avez eu un impact tellement fort dans ma vie, qu'il est indescriptible. Vous observer m'a conforté dans certains de mes choix, votre comportement m'a permis de m'améliorer.
- De la faculté de Aix Marseille, toutes unies dans la même galère. De nos rigolades remplies de stress en PACES à aujourd'hui et toujours liées dans l'adversité.
- De la faculté de Chatenay Malabry : un regard sur la feuille d'appel, le jour de la rentrée m'a permis de savoir qu'on allait être très proche. Je ne me suis pas trompée : Yayou Nafi.
- Des différentes missions que j'ai pu effectuer : les rescapées de la D\*M. Ces quelques mots suffisent, pas besoin de plus.

Des mamans, des épouses, des femmes en or ont partagé ma vie sans que je n'ai eu besoin de lever le petit doigt. « Certains diront que nous sommes juste de très bonnes amies mais nous sommes une famille ».

### **A Alésia et Stéphanie :**

Septembre 1998, débarque à Canet Barbès une petite sénégalaise timide et qui ne savait pas parler la langue de Molière. Seule dans son coin, Alésia et Stéphanie débarquent et lui tendent deux mains. A force de patience, de gentillesse et de bienveillance, la petite fille s'émancipe, rencontre des personnes formidables et accomplit de belles choses. Vous êtes le point de départ de mon parcours ici. A tout jamais dans mon cœur.

A toutes les personnes citées et à celles que je n'ai pas pu citer, il n'y a pas de mots assez forts pour vous témoigner ma gratitude. Merci d'avoir toujours été là pour moi.

# TABLE DES MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS .....	1
REMERCIEMENTS .....	7
TABLE DES MATIERES .....	9
ABREVIATIONS ET DEFINITIONS .....	13
LISTE DES FIGURES.....	16
LISTE DES TABLEAUX .....	17
INTRODUCTION .....	18
PREMIERE PARTIE : COVID-19 ET VACCINS ASSOCIES .....	20
I.    INTRODUCTION .....	21
II.   DEFINITIONS ET CARACTERISTIQUES DE LA COVID-19 .....	21
1. <i>Historique</i> .....	21
2. <i>Classification du SARS COV-2</i> .....	22
3. <i>Structure du SARS COV-2</i> .....	24
4. <i>Mode de transmission</i> .....	24
5. <i>Moyens de prévention</i> .....	25
6. <i>Dépistage de la maladie</i> .....	26
7. <i>Mécanisme d'action du SARS COV-2</i> .....	27
8. <i>Symptômes</i> .....	28
III.  LA VACCINATION .....	29
1. <i>Principe et mécanismes de la vaccination</i> .....	29
1.1.  Immunité innée.....	29
1.2.  Immunité adaptative.....	30
1.3.  Immunité collective.....	31
1.4.  La réponse vaccinale .....	31
1.4.1.  La réponse primaire .....	31
1.4.2.  La réponse secondaire .....	31
1.4.3.  Résumé .....	32
2. <i>Présentation des vaccins disponibles en France</i> .....	33
2.1.  Les vaccins à ARN messager.....	33
2.1.1.  Généralités.....	33
2.1.2.  Composition.....	33
2.1.3.  Fonctionnement .....	33
2.1.4.  Conservation.....	34
2.2.  Les vaccins à vecteur adénoviral .....	34
2.2.1.  Généralités.....	34
2.2.2.  Composition.....	34

2.2.3.	Fonctionnement .....	34
2.2.4.	Conservation.....	35
2.3.	<i>Les vaccins protéiques</i> .....	35
2.3.1.	Généralités.....	35
2.3.2.	Composition.....	35
2.3.3.	Fonctionnement .....	35
2.3.4.	Conservation.....	35
2.4.	<i>Schéma vaccinal</i> .....	36
3.	<i>Etapas de production des vaccins</i> .....	36
3.1.	Recherche et Développement .....	36
3.2.	Production.....	36
3.2.1.	Production de la substance active .....	36
3.2.2.	Production pharmaceutique.....	37
3.3.	La phase de contrôle et libération .....	37
3.4.	Distribution .....	37
DEUXIEME PARTIE : ZONE DE PRODUCTION ET QUALIFICATION.....		38
I.	INTRODUCTION.....	39
II.	REGLEMENTATION ET NORMES.....	40
1.	<i>Les Bonnes pratiques de Fabrication</i> .....	40
1.1.	Annexe 1 : Fabrication de médicaments stériles .....	41
1.2.	Annexe 15 : Qualification et validation .....	42
2.	<i>Les normes</i> .....	43
2.1.	Les normes générales .....	43
2.2.	Les normes spécifiques.....	44
III.	CONCEPTION DES ZAC .....	45
1.	<i>Exigences liées à la conception des ZAC</i> .....	45
1.1.	Système de traitement de l'air .....	45
1.1.1.	Composition des HVAC .....	45
1.1.2.	Dimensionnement de la CTA .....	48
1.2.	Pression .....	50
1.3.	Les surfaces.....	50
1.4.	Les matériaux.....	51
1.5.	Les SAS .....	52
2.	<i>Classification des ZAC</i> .....	53
2.1.	Classification particulière des locaux.....	53
2.2.	Classification microbiologique des ZAC .....	54
2.3.	Classification selon l'activité .....	54
3.	<i>Les différents types de ZAC</i> .....	55
3.1.	Les ZAC conventionnelles .....	55
3.2.	Les ZAC non conventionnelles .....	55
3.1.1.	Les isolateurs .....	55
3.1.2.	Les RABS : Système Barrière d'Accès Restreint - Restricted Access Barrier System.....	58
IV.	LA QUALIFICATION .....	60
1.	<i>Les étapes de la qualification</i> .....	60

1.1	Définition du besoin .....	60
1.2	La planification.....	60
1.3	Vérification .....	61
1.3.1.	Qualification de conception (QC) .....	61
1.3.2.	FAT.....	61
1.3.3.	SAT .....	62
1.3.4.	Qualification d'installation (QI).....	62
1.3.5.	Qualification opérationnelle (QO) .....	62
1.3.6.	Qualification de performance (QP).....	63
1.3.7.	Documents de la phase de vérification .....	63
1.4	Requalification ou Réévaluation périodique du statut validé .....	67
1.5	Decommissioning.....	68
2.	<i>Conclusion</i> .....	68
<b>TROISIEME PARTIE : CAS PRATIQUE DE LA QUALIFICATION D'UN ZONE REPARTITION ASEPTIQUE ....</b>		<b>69</b>
I.	CONTEXTE .....	70
1.	<i>Présentation de la zone de remplissage aseptique</i> .....	70
2.	<i>Caractéristiques physiques de la zone</i> .....	71
II.	QI/QO HVAC/CTA .....	72
1.	<i>QI de la CTA</i> .....	72
1.1	Tests à dérouler .....	72
1.2	Vérification du PID.....	72
1.3	Résultats .....	74
2.	<i>QO de la CTA</i> .....	74
2.1	Tests à dérouler .....	74
2.2	Test d'intégrité des filtres.....	74
2.3	Résultats .....	75
III.	QP .....	77
1.	<i>Pré-requis</i> .....	77
2.	<i>Configuration de la salle lors des QP</i> .....	77
3.	<i>Qualification particulière</i> .....	78
3.1	Méthodologie de réalisation .....	78
3.1.1.	Matériel .....	78
3.1.2.	Volume à prélever .....	79
3.1.3.	Détermination du nombre de points de prélèvement particulière .....	80
3.1.4.	Détermination de l'emplacement des points de prélèvement particulière .....	81
3.1.5.	Mode opératoire.....	85
3.2	Résultats .....	86
4.	<i>Qualification microbiologique</i> .....	87
4.1	Méthodes appliquées .....	87
4.1.1.	Détermination de l'emplacement des points de prélèvement microbiologique .....	88
4.1.2.	Incubation.....	93
4.1.3.	Stratégie d'identification des germes.....	93
4.2	Résultats .....	94
IV.	CONCLUSION .....	95
		11

CONCLUSION .....	96
SOURCES.....	97
ANNEXES.....	105
I.    ANNEXE 1 : MODE DE FONCTIONNEMENT DES VACCINS A ARNm ET A VECTEUR VIRAL.....	105
II.   ANNEXE 2 : SCHÉMA VACCINAL ANTI COVID-19 .....	106
III.  ANNEXE 3 : EXIGENCES RELATIVES AUX LOCAUX DANS L'ANNEXE 1 DES BPF, 2022.....	107
SERMENT DE GALIEN .....	114

## ABREVIATIONS ET DEFINITIONS

TERME	DEFINITION
<b>ACE2</b>	Enzyme de conversion de l'angiotensine 2 : métalloprotéase chargée de dégrader l'angiotensine 2 en angiotensine 1-7.
<b>AMDEC / FMECA</b>	Analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité / Failure Mode and Effect Critical Analysis
<b>ANSM</b>	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
<b>APR</b>	Analyse Préliminaire des Risques
<b>ARNm</b>	Adénosine RiboNucléique Messenger
<b>BPF</b>	Bonnes Pratiques de Fabrication
<b>CAPA</b>	Corrective Action Preventive Action / Action corrective Action Préventive
<b>CCU / URS</b>	Cahier des Charges Utilisateur / User Requirement Specification
<b>CF</b>	Conforme
<b>CTA</b>	Centrale de Traitement d'Air
<b>DPTE</b>	Double Porte de Transfert Etanche
<b>EMA</b>	European Medicine Agency / Agence Européenne des médicaments
<b>EPA</b>	Efficiency Particulate Air
<b>FAT</b>	Factory Acceptance Test
<b>GTC</b>	Gestion Technique Centralisée
<b>HACCP</b>	Hazard Analysis Critical Control Point
<b>HAZOP</b>	HAZard and OPerability analysis
<b>HEPA</b>	High-Efficiency Particulate Air
<b>INV</b>	Invalidé
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization / Organisation Internationale de Normalisation
<b>HVAC / CVC ou CVAC</b>	Heating, Ventilation, Air-Conditioning / Chauffage, Ventilation, Climatisation / Chauffage, Ventilation, Air Conditionné
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>Pa</b>	Pascal
<b>PID / P&amp;ID</b>	Piping and Instrumentation Diagram
<b>QC</b>	Qualification de conception
<b>QI</b>	Qualification d'Installation
<b>QO</b>	Qualification Opérationnelle
<b>QP</b>	Qualification de Performance
<b>RT-PCR</b>	Retro-Transcriptase – Polymerase Chain Reaction : technique permettant de réaliser une réaction en chaine par polymérase (PCR) à partir d'un échantillon d'ADN.
<b>SARS COV-2</b>	Syndrome respiratoire aigu sévère du Coronavirus 2 / Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
<b>SAT</b>	Site Acceptance Test
<b>TGEV</b>	Transmissible GastroEnteritis Virus
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonie
<b>ULPA</b>	Ultra Low Penetration Air

TERME	DEFINITION
<b>Vol/h</b>	Volume / heure
<b>THR</b>	Taux de Renouvellement Horaire
<b>ZAC</b>	Zone à atmosphère contrôlée
<b>Anticorps</b>	Protéines produites par le système immunitaire à la suite d'une exposition à un agent pathogène
<b>Antigène</b>	Macromolécule naturelle ou synthétique qui, reconnue par des anticorps ou des cellules du système immunitaire d'un organisme, peut déclencher une réaction immunitaire.
<b>Desquamation</b>	Phénomène de perte des couches superficielle de la peau
<b>Endocytose</b>	Processus par lequel une cellule ingère des molécules ou des particules à l'intérieur après fusion avec la membrane cellulaire
<b>Epithélium</b>	Tissu formé de cellules juxtaposées qui recouvre la surface du corps ou qui tapisse l'intérieur de tous les organes creux
<b>Exocytose</b>	Processus par lequel une cellule rejette des molécules ou des particules à l'extérieur, grâce à des vésicules qui les expulsent après fusion avec la membrane cellulaire.
<b>Filtration stérilisante</b>	Elimination de micro-organismes viables de fluides en faisant passer le fluide au travers d'un filtre dans les conditions spécifiées du processus, ce qui permet d'obtenir un filtrat stérile (Norme ISO 13408-2:2018).
<b>Flore commensale</b>	Ensemble complexe de micro-organismes, se situant sur la peau et les muqueuses, qui a pour but de protéger et d'assurer le bon fonctionnement de chacun des organes.
<b>Hémolyse</b>	Destruction des globules rouges présents dans le sang
<b>Hôte</b>	Organisme qui héberge un parasite ou un agent pathogène
<b>Hôte primaire</b>	Organisme chez lequel le parasite ou l'agent pathogène atteint sa maturité et effectue sa reproduction
<b>Hôte réservoir</b>	Organisme qui héberge un agent pathogène de manière durable sans que celui-ci ne nuise à sa condition, et à partir de laquelle débute le cycle de transmission d'une infection vers une espèce cible.
<b>Hôte secondaire</b>	Organisme chez lequel le parasite ou l'agent pathogène va subir une évolution et/ou va effectuer sa reproduction
<b>Interféron</b>	Molécules de signalisation permettant d'alerter les cellules voisines qu'une infection est en cours.
<b>Médicament</b>	« Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. ». (Article L.5111-1 du Code de Santé Publique)
<b>Plasmolyse</b>	Processus par lequel les cellules perdent de l'eau dans une solution hypertonique
<b>Soluté</b>	Corps dissous dans un solvant
<b>Taxonomie</b>	Discipline scientifique permettant de classer les êtres vivants



TERME	DEFINITION
<b>Valence</b>	Partie d'un vaccin correspondant à la protection contre un germe unique. Un vaccin multivalent peut protéger contre plusieurs germes occasionnant une même maladie (comme le vaccin 13-valent contre le pneumocoque) ou contre différentes maladies (comme le vaccin rougeole-oreillons-rubéole).
<b>Virions</b>	Particule infectieuse d'un virus formée d'un acide nucléique et de protéines

## LISTE DES FIGURES

Figure	Titre
<b>Figure 1</b>	Historique des épidémies humaines majeures liées aux coronavirus
<b>Figure 2</b>	Classification du SARS COV-2
<b>Figure 3</b>	Arbre phylogénétique des coronavirus
<b>Figure 4</b>	Structure du SARS COV-2
<b>Figure 5</b>	Affiche du ministère de la Santé sur les moyens de prévention contre la Covid-19
<b>Figure 6</b>	Modes de dépistage et méthodes de prélèvement
<b>Figure 7</b>	Mécanismes d'action du SARS COV-2
<b>Figure 8</b>	Les différentes phases de la réponse vaccinale
<b>Figure 9</b>	Mécanismes d'action de la vaccination
<b>Figure 10</b>	Structure du vaccin à ARNm de Pfizer
<b>Figure 11</b>	Structure du vaccin à ADN recombinant de AstraZeneca
<b>Figure 12</b>	Structure du vaccin protéique de Novavax
<b>Figure 13</b>	CTA tout air neuf
<b>Figure 14</b>	CTA avec mélange air neuf / air repris
<b>Figure 15</b>	CTA simple flux
<b>Figure 16</b>	CTA double flux
<b>Figure 17</b>	Flux d'air turbulent
<b>Figure 18</b>	Flux d'air laminaire
<b>Figure 19</b>	Aperçu d'un isolateur modulable de la société BioQuell
<b>Figure 20</b>	Les différentes fonctions d'un isolateur
<b>Figure 21</b>	RABS de TEMA Synergie
<b>Figure 22</b>	Différentes configurations de RABS
<b>Figure 23</b>	Les 7 principes de la méthodes HACCP
<b>Figure 24</b>	Les 12 étapes de la méthodes HACCP
<b>Figure 25</b>	Les étapes de la méthodes HAZOP
<b>Figure 26</b>	Exemple d'un Diagramme d'ISHIKAWA à 6 M
<b>Figure 27</b>	Cycle de la vie d'un système
<b>Figure 28</b>	Zone de répartition aseptique destinée à la production de vaccins anti Covid-19
<b>Figure 29</b>	Exemple de PID représentant un système HVAC
<b>Figure 30</b>	Logigramme décisionnel pour le Test d'intégrité des filtres
<b>Figure 31</b>	Exemple de compteur particulaire de la marque TSI
<b>Figure 32</b>	Découpage et emplacement des points de prélèvement particulaire, de la salle de répartition
<b>Figure 33</b>	Exemple de bio-collecteur
<b>Figure 34</b>	Gélose TSA 90mm de chez Thermo Fisher
<b>Figure 35</b>	Gélose TSA 90mm de chez Merck Millipore
<b>Figure 36</b>	Ecouvillon de type B
<b>Figure 37</b>	Découpage et emplacement des points de prélèvement microbiologique, exemple de salle de répartition

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre
<b>Tableau 1</b>	Symptômes de la Covid-19
<b>Tableau 2</b>	Vaccins anti-covid disponibles en France
<b>Tableau 3</b>	Présentation des 11 parties composant l'Annexe 1 des BPF
<b>Tableau 4</b>	Présentation des chapitres composant l'Annexe 15 des BPF
<b>Tableau 5</b>	Différents niveaux de normes
<b>Tableau 6</b>	ISO 14644, les normes générales
<b>Tableau 7</b>	ISO 14644, les normes spécifiques
<b>Tableau 8</b>	Composants d'une CTA
<b>Tableau 9</b>	TRH recommandés dans la norme ISO 14644-1 selon la classe des salles
<b>Tableau 10</b>	Classification des filtres THE selon la norme EN 1822
<b>Tableau 11</b>	Exigences relatives à certaines surfaces (Annexe 1 des BPF, 2022)
<b>Tableau 12</b>	Taux de particules autorisé en fonction de la classe des locaux
<b>Tableau 13</b>	Taux de microorganismes autorisé en fonction de la classe des locaux
<b>Tableau 14</b>	Type d'activité autorisé en fonction de la classe des locaux
<b>Tableau 15</b>	Récapitulatif des caractéristiques des zones à qualifier
<b>Tableau 16</b>	Exemple de non-conformités relevées lors de la vérification du PID
<b>Tableau 17</b>	Récapitulatif des non-conformités du Test Emery
<b>Tableau 18</b>	Détermination du volume à prélever pour les particules de 5µm
<b>Tableau 19</b>	Points de prélèvement particulière en fonction de la surface de la salle propre
<b>Tableau 20</b>	Argumentaire des emplacements définies pour la qualification particulière
<b>Tableau 21</b>	Récapitulatif des résultats obtenus pour la classification particulière
<b>Tableau 22</b>	Argumentaire des emplacements définies pour la qualification microbiologique de la salle de répartition aseptique
<b>Tableau 23</b>	Limites d'alerte appliquées lors de la QP microbiologique
<b>Tableau 24</b>	Récapitulatif des résultats obtenus lors de la QP microbiologique de la salle de répartition aseptique

## INTRODUCTION

En novembre 2019 apparait dans la ville de WUHAN (province de Hubei dans la Chine centrale) une nouvelle épidémie qui s'est rapidement propagée à travers le monde pour devenir l'une des pandémies les plus graves du XXI<sup>ème</sup> siècle. Cette maladie nommée la Covid-19 ou Coronavirus 19 est provoquée par un virus jusqu'alors peu connu : le SARS-CoV-2.

Les moyens déployés par l'OMS, les gouvernements et les professionnels de santé ont permis de très vite mettre en place des mesures de prévention et surtout d'acquérir davantage de données sur cette maladie extrêmement contagieuse. Grâce à cette implication liée à l'état d'urgence sanitaire mondiale, de nombreux laboratoires ont pu mener des actions de Recherche et Développement afin de trouver et proposer des solutions thérapeutiques efficaces contre la Covid-19. C'est ainsi qu'ont été développés et mis sur le marché différents types de vaccins innovants permettant de lutter contre les formes les plus graves de cette pandémie.

Comme nous le savons, la plupart des vaccins sont des médicaments injectables dont la production se fait en plusieurs étapes en partant du développement à la fabrication de la substance active en passant par le remplissage aseptique du produit fini dans les articles de conditionnement. Une fois produits, les vaccins sont distribués dans différents lieux d'administration tels que les hôpitaux, les centres de vaccination ou encore les officines.

Toutes ces étapes de fabrication, notamment le remplissage aseptique, sont réalisées dans des zones spécifiques appelées Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC) répondant à des exigences strictes définies dans les textes réglementaires qui sont les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et dans les normes internationales telles que les normes ISO. L'objectif de la réglementation est de garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des vaccins. Les industriels doivent donc démontrer le respect de ces exigences à travers différentes pratiques parmi lesquelles la qualification et la validation des locaux, des systèmes, équipements et procédés impliqués dans la production des vaccins.

La qualification et la validation sont des activités étroitement liées qui s'inscrivent dans un cycle. Elles servent à démontrer par une batterie de tests la robustesse, la reproductibilité et la fiabilité des systèmes mis en place. Elles permettent également de donner une confiance aux autorités compétentes, aux clients et surtout aux patients qui sont les utilisateurs finaux des produits de santé.

L'objectif de cette présente thèse est de répondre à la question :

*Comment mettre en place et qualifier une zone destinée au remplissage aseptique de vaccins anti Covid-19.*

Dans la première partie nous ferons une présentation de la Covid-19 : ses caractéristiques, ses symptômes et les moyens déployés pour limiter sa progression. Nous traiterons également des vaccins mis sur le marché français : leur composition, leur mode d'action et les étapes nécessaires à leur fabrication.

Dans la seconde partie nous verrons les exigences réglementaires inhérentes aux zones de remplissage aseptique et à la qualification.

Enfin dans la troisième et dernière partie nous traiterons d'un cas pratique de qualification d'une zone de remplissage aseptique.

# PREMIERE PARTIE : COVID-19 ET VACCINS ASSOCIES

## I. INTRODUCTION

Depuis l'apparition de la Covid-19 et son évolution en pandémie, de nombreuses ressources ont été déployées par tous les acteurs de la santé afin :

- D'identifier l'agent infectieux responsable de la Covid-19
- De déterminer les caractéristiques de cet agent infectieux : structure, taxonomie, mode de contamination, symptômes et moyens de prévention
- De développer des traitements efficaces pour lutter contre la propagation du virus et l'incidence de l'apparition des formes graves

Cette mobilisation a permis d'isoler le virus responsable de la maladie : le SARS COV-2 de la famille des coronavirus et de mettre sur le marché 3 types de vaccins efficaces contre les formes les plus graves.

L'objectif de cette première partie est de décrire la maladie, de présenter les différents vaccins disponibles sur le marché français et d'expliquer le circuit de fabrication de ces vaccins.

## II. DEFINITIONS ET CARACTERISTIQUES DE LA COVID-19

### 1. Historique

Présents depuis plusieurs années, les coronavirus sont une famille de virus touchant les animaux et les Hommes. Ils sont le plus souvent responsables d'affections des systèmes respiratoires et digestifs.

Les coronavirus ont d'abord été à l'origine de maladies touchant les animaux. Ainsi en 1937 la première maladie due à un coronavirus est identifiée chez les volailles. Ensuite une épidémie appelée TGEV (Coronavirus Gastro-Entérite Transmissible porcine) est détectée chez les porcs en 1946.

C'est en 1965 qu'est découvert le premier coronavirus infectant l'Homme : le B814.

En 1966 et 1967 les virus 229E et OC43 sont respectivement découverts. Ces virus sont responsables de rhumes bénins avec quelques rares cas de formes graves chez les personnes les plus fragiles.

Le terme de « coronavirus » apparaît officiellement dans la revue « Nature » en 1968 après son observation faite au microscope électronique par June Almeida et David Tyrrell. Cette appellation fait référence à la structure en couronne de cette famille de virus. (75)

Au XXI<sup>ème</sup> siècle les coronavirus provoquent 3 épidémies plus ou moins graves chez l'Homme :

- Le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère dû au **SRAS COV-1** apparu en 2002 en Chine. Cette épidémie a sévi dans environ 30 pays et a fait plus de 700 morts entre novembre 2002 et juillet 2003. L'épidémie prend fin en 2004. La contamination serait initiée par transmission inter-espèce avec la chauve-souris qui est considérée comme l'hôte primaire majoritaire des coronavirus. (2)
- Le Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient dû au **MERS COV** apparu en 2012 au Moyen-Orient (plus précisément en Arabie Saoudite) et présent principalement dans la péninsule arabique et en Corée du Sud. L'épidémie a touché près de 27 pays avec un taux de létalité de 43% soit 937 décès sur 2196 cas identifiés de 2012 à 2023. Il est à noter que cette épidémie est toujours présente au Moyen-Orient avec une faible transmission. Le MERS COV est un virus zoonotique entraînant une transmission inter-espèces avec un hôte réservoir majeur : le dromadaire. (3) (68)
- Le Syndrome Respiratoire Aigu Sévère dû au **SRAS COV-2** apparu en 2019 en Chine et responsable de la pandémie de ces trois dernières années. Tout comme le SRAS COV-1, l'hôte primaire de ce virus serait la chauve-souris. Le pangolin a longtemps été suspecté d'être l'hôte secondaire de cette maladie. Cependant aucune recherche n'a pu confirmer cette hypothèse. (69)



*Figure 1 : Historique des 3 épidémies humaines majeures liées aux coronavirus<sup>(3)</sup>*

## 2. Classification du SARS COV-2

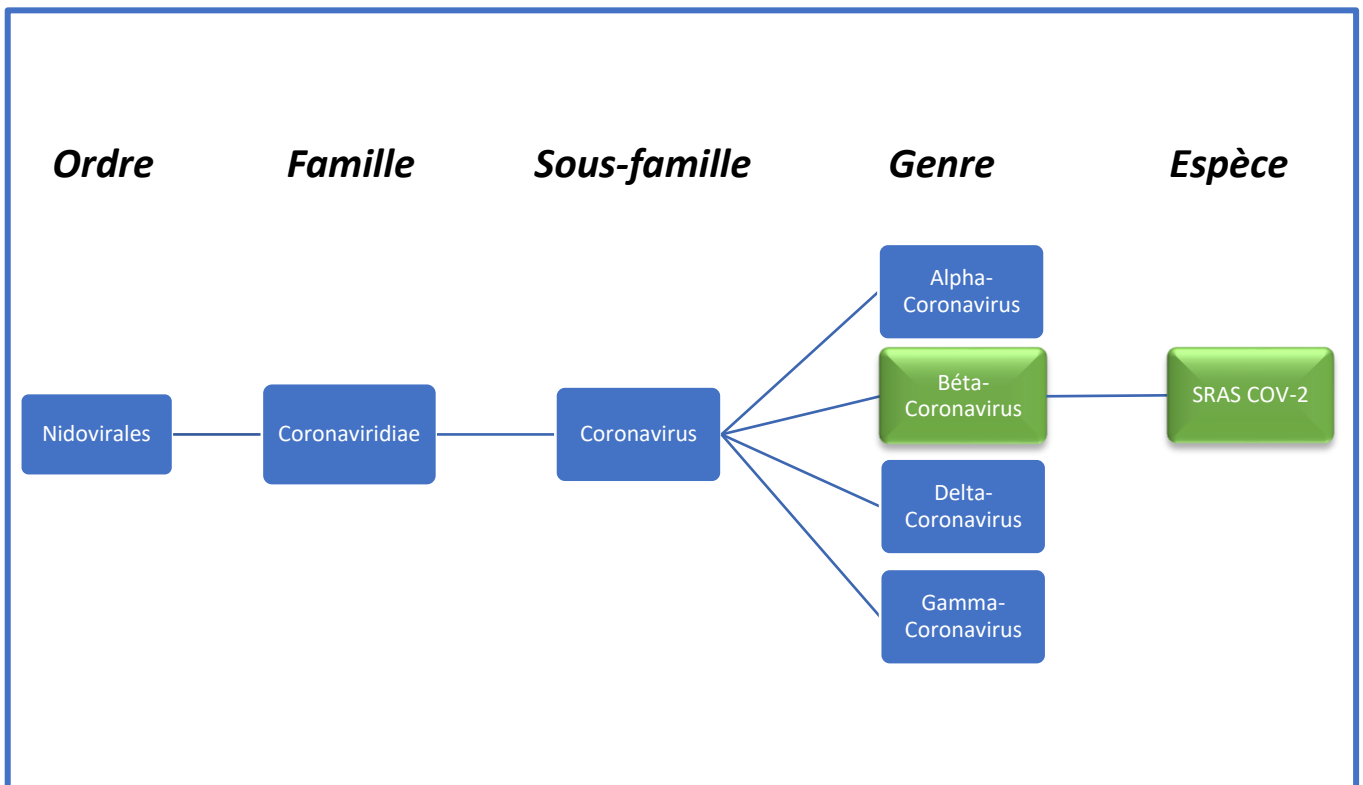
La classification de la Covid-19 est établie par l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). Ce virus appartient donc à :

- L'ordre des Nidovirales
- La famille des Coronaviridae,
- La sous-famille des Coronavirus.

Dans la taxonomie actuelle, il existe 4 genres de Coronavirus :

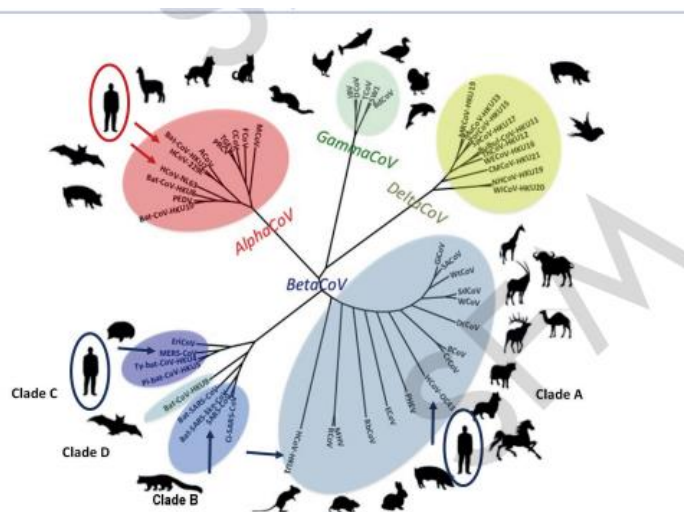
- Alpha-Coronavirus
- Beta-Coronavirus
- Gamma-Coronavirus
- Delta-Coronavirus





*Figure 2 : Classification du SARS COV-2<sup>(3)</sup>*

Tandis que les Alpha-coronavirus et Beta-coronavirus infectent principalement les mammifères, ainsi que les chauves-souris, les Gamma-coronavirus et les Delta-coronavirus touchent surtout les oiseaux. Le SARS Cov 2 appartient à la famille des Beta-Coronavirus.



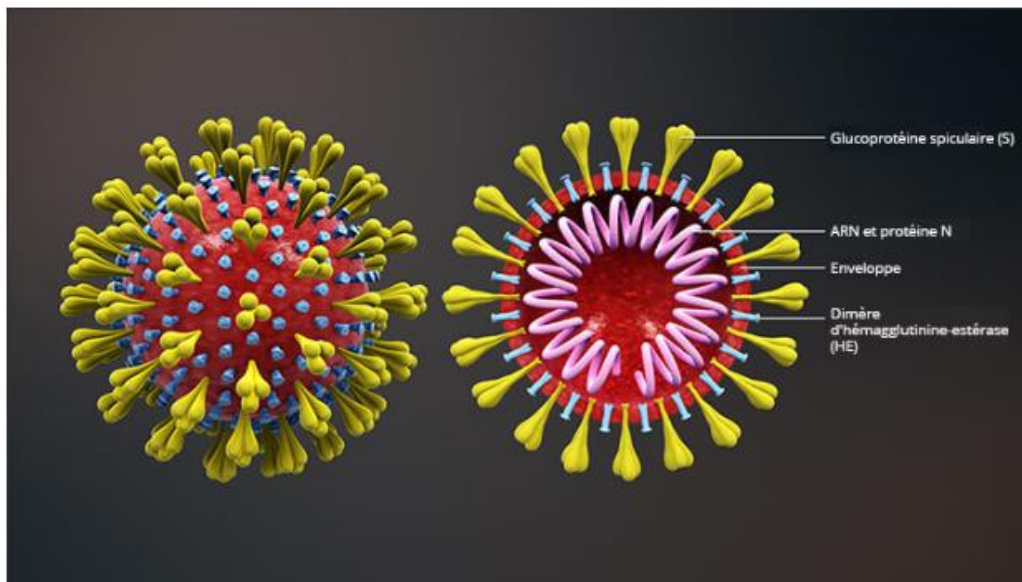
*Figure 3 : Arbre phylogénétique des coronavirus<sup>(3)</sup>*

### 3. Structure du SARS COV-2

Le SARS COV-2 est un virus enveloppé dont le diamètre varie entre 80 et 200 nanomètres. Son enveloppe est une bicouche lipidique qui se compose à la surface :

- De protéines de surface S ou Spike. Elles sont responsables de l'entrée du virus dans les cellules humaines infectées. Elles se fixent aux récepteurs AEC2.
- D'une protéine de membrane « M »
- D'une protéine d'enveloppe « E »

Le SARS COV-2 possède un génome Adénosine RiboNucléique Messenger monocaténaire ou ARNm non segmenté de polarité positive de 30 kb codant pour environ 15 gènes (3). Ce génome est assemblé à une capsidie pour former une nucléocapsidie (N) ou ribonucléoprotéine de symétrie hélicoïdale dans le virus. Cette nucléocapsidie permet la production d'une protéine : la protéine N.



*Figure 4 : Structure du SARS COV-2 (7)*

### 4. Mode de transmission

La Covid-19 se transmet de différentes manières (70) :

- Contamination par contact direct

Les personnes porteuses du virus, symptomatiques ou non, peuvent le répandre par l'intermédiaire de contacts rapprochés et à une distance de moins de 2 mètres. La transmission est d'autant plus importante que le contact se fait entre au minimum 2 personnes durant plus de 15 minutes.

- Contamination par l'air

La contamination par l'air se fait par l'intermédiaire de petites gouttelettes appelées aérosols. Ces aérosols sont émis lorsqu'une personne infectée tousse ou éternue. Ils peuvent se déposer sur les surfaces alentour. La contamination se fait alors par contact indirect.

Les particules porteuses du virus peuvent rester plusieurs minutes dans l'air et infectent les personnes par inhalation, ou si elles entrent directement en contact avec les yeux, le nez et la bouche.

Le risque de contamination par cette voie est favorisé par les espaces clos et non ventilés.

- Contamination par l'alimentation

Au début de la pandémie, une possible contamination par l'alimentation et notamment par l'ingestion de pangolin a été très rapidement réfutée. A ce jour aucune preuve d'un tel mode de transmission n'est avérée.

### 5. Moyens de prévention

Afin de lutter contre la prolifération du virus, des moyens de prévention ont été mis en place dès le début de la pandémie dans tous les pays. En France, le ministère de la santé a établi différentes consignes visant à limiter la propagation du virus. L'utilisation des moyens de prévention a fait l'objet d'une vaste campagne de communication dans les médias mais également dans les lieux de travail et dans les écoles.



Figure 5 : Affiche du ministère de la Santé sur les moyens de prévention contre la Covid-19 <sup>(57)</sup>

Les consignes générales de prévention sont (57) (70) :

- **Se laver et se décontaminer les mains** régulièrement : le lavage régulier des mains permet de diminuer l'accumulation du virus. Il peut se faire avec du savon et une solution de gel hydroalcoolique pour la décontamination.
- **Tousser ou éternuer dans le coude** afin d'éviter la dispersion d'aérosols dans l'air
- Utiliser un **mouchoir à usage unique**
- Porter un **masque chirurgical**. Tout d'abord controversé, le masque chirurgical permet de limiter la projection d'aérosols contaminés en cas de toux, d'éternuements ou simplement lors de la prise de parole. Il permet ainsi de se protéger et de protéger son entourage. Pour être efficace, il est recommandé de changer de masque toutes les 4h maximum.
- Mettre une **distanciation sociale** d'au moins 1 mètre. Cette mesure est appliquée dans tous les établissements : les centres commerciaux, les espaces communs des lieux de travail et des écoles, dans les restaurants et dans les transports en commun.

## 6. Dépistage de la maladie

Il existe deux types de tests à effectuer pour identifier le SARS COV-2.

### Les tests sérologiques (70)

L'objectif de ces tests est de détecter les anticorps produits suite à une infection au virus. Ils s'effectuent par l'intermédiaire d'un échantillon sanguin (prise de sang en laboratoire ou goutte de sang du bout des doigts).

Les résultats sont obtenus en quelques minutes.

### Les tests virologiques (70)

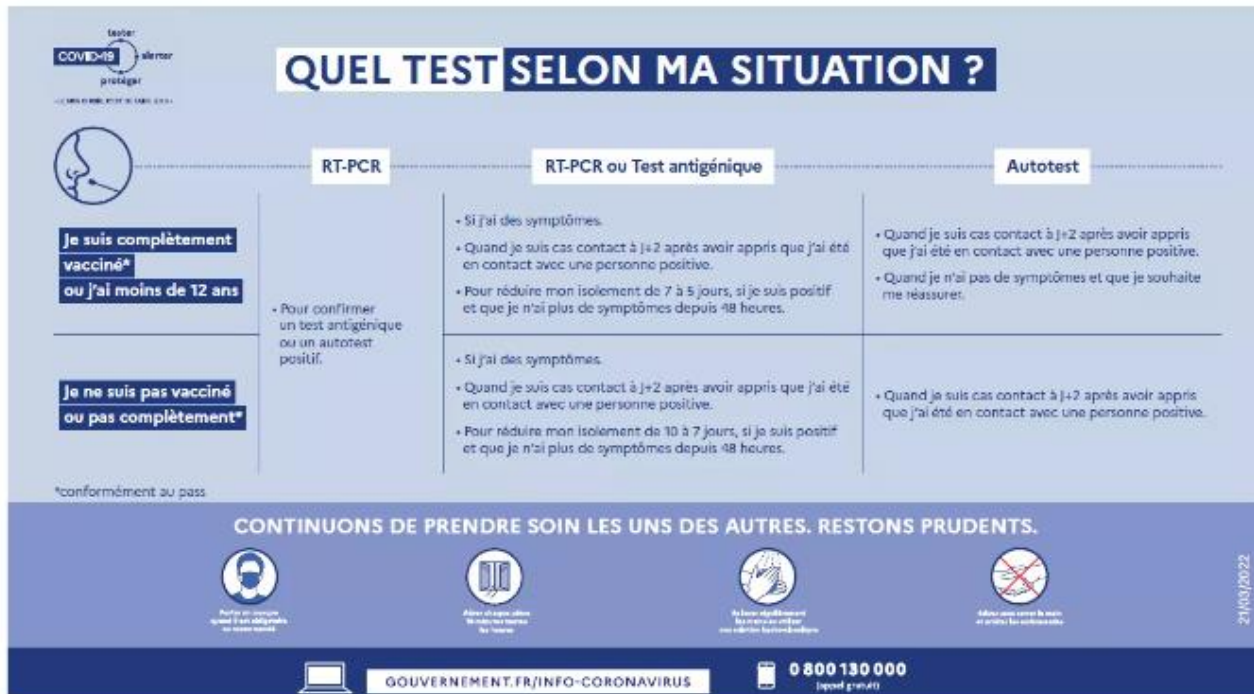
Les tests virologiques recherchent directement le virus par détection de ses composants. Il existe différentes techniques dans ce cas :

- RT-PCR : détecte l'ARNm du SARS COV-2. C'est le mode de dépistage le plus fiable.
- Les tests antigéniques et les autotests : détectent les protéines qui composent le SARS COV-2.

Pour ces tests virologiques les échantillons sont analysés après prélèvement pour lequel il existe différents modes :

- Prélèvement « nasopharyngé » : un écouvillon de 15 cm est inséré profondément dans la cavité située entre le nez et le pharynx
- Prélèvement « oropharyngé »
- Prélèvement « nasal » : un écouvillon de 2 à 3 cm est inséré dans le nez pour un prélèvement nasal antérieur. La taille de cet écouvillon est de 3 à 4 cm pour un prélèvement nasal profond.
- Prélèvement « buccal »

En cas de symptômes, il est préconisé de faire des tests par RT-PCR ou des tests antigéniques jugés plus fiables à ce jour. Afin de guider la population, le gouvernement a mis en place des préconisations sur le type de test à réaliser en fonction de l'état du patient.



*Figure 6 : Préconisation de l'Assurance Maladie sur le type de test à réaliser selon la situation du patient* <sup>(56)</sup>

## 7. Mécanisme d'action du SARS COV-2

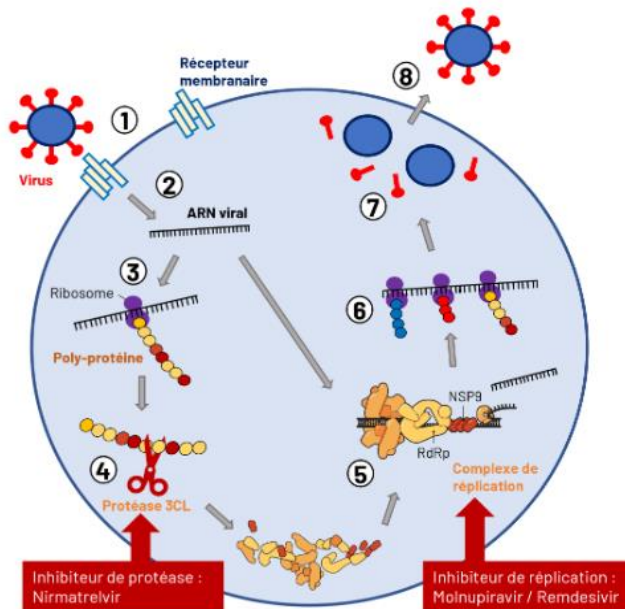
Lorsqu'une personne est infectée, le SARS COV-2 se propage dans la cellule hôte où elle se réplique grâce à son génome (ARNm) libérant ainsi plusieurs copies du virus qui pourront à leur tour se disséminer dans l'environnement.

Les étapes de la contamination sont (4) :

- **Liaison** du virus à la cellule : les protéines de surfaces S se fixent à leur récepteur : l'enzyme ACE2 présente en majorité dans les muqueuses des voies respiratoires et notamment dans les poumons (Etape 1, Figure 7).
- **Entrée** du virus dans la cellule hôte : l'entrée dans la cellule hôte se fait par endocytose. Une fois dans la cellule, le virus libère son génome : l'ARNm (Etape 2, Figure 7).
- **Réplication** du virus : afin de se répliquer le virus détourne le mécanisme de la cellule hôte en bloquant les interférons via la protéine N. L'ARNm est alors transcrit en protéines virales par les ribosomes de la cellule hôte. Cette réplication va être à l'origine de la production de plusieurs autres virus appelés virions. (Etapas 3, 4, 5 et 6, Figure 7).



- **Assemblage** des virions : les différentes protéines alors produites s'assemblent par bourgeonnement dans le réticulum endoplasmique. Cette étape est orchestrée par la protéine E. (Etape 7, Figure 7).
- **Libération** des virus : les copies des virus sortent de la cellule hôte et se propagent dans l'environnement par l'intermédiaire de différents types de vecteurs. La libération est réalisée par exocytose. Cette étape est orchestrée par la protéine E. (Etape 8, Figure 7).



*Figure 7 : Mécanismes d'action du SARS COV-2 (4)*

## 8. Symptômes

Dans la plupart des maladies, un délai d'incubation est observé. Il s'agit du temps écoulé entre la contamination et l'apparition des premiers symptômes de la pathologie. Pour la Covid-19, ce délai varie entre 2 et 14 jours avec une moyenne de 5 jours. (5)

Les principaux symptômes sont similaires à ceux d'une grippe saisonnière. Il existe néanmoins des symptômes plus caractéristiques.

Très Fréquents	Fréquents	Caractéristiques du Covid-19	Graves
Fatigue Fièvre Toux Difficultés à respirer	Courbature ou mal de dos Mal de gorge Écoulement nasal Nausée Vomissement Diarrhée	Perte de l'odorat (anosmie) Perte du goût (agueusie)	Difficulté à oxygéner le sang Coma

*Tableau 1 : Symptômes de la Covid-19 (70)*

Il est à noter que la personne infectée devient contaminante au bout de 3 jours et reste contaminante jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour environ. (70)

### III. LA VACCINATION

La vaccination est l'une des actions de santé publique les plus efficaces et les plus simples à mettre en place malgré les réticences existantes. Cette action a pour but de diminuer le taux d'incidence d'une maladie infectieuse dans une population. La vaccination procure à la fois une protection individuelle et une protection de groupe aussi appelée immunité collective (35).

En France, la campagne de vaccination contre la Covid-19 débute le 27 décembre 2020 afin de :

- Prévenir les formes graves de la maladie,
- Diminuer le taux d'hospitalisation et de décès liés à cette épidémie
- Maintenir les activités essentielles du pays

#### 1. Principe et mécanismes de la vaccination

Le principe de base de la vaccination est d'induire une réponse immunitaire de l'organisme d'un individu face à un agent infectieux donné en injectant ce même agent sous forme atténuée ou inactivée.

La réponse vaccinale se calque donc sur le schéma de l'immunité naturelle. On entend par immunité naturelle la cascade de réactions induite par la pénétration d'un organisme étranger au sein d'un individu.

Cette immunité est divisée en 2 catégories qui malgré leur différence se complètent : l'immunité innée dite non spécifique et l'immunité adaptative dite spécifique. Ainsi l'administration d'un vaccin va mobiliser les acteurs de l'immunité innée et de l'immunité adaptative (33).

##### 1.1. Immunité innée

Présente dès la naissance, elle constitue la première barrière de défense. Elle se met immédiatement en place et ne conserve pas de mémoire. C'est pourquoi elle est caractérisée de non spécifique. Elle fait intervenir 2 types de modules :

- Les modules **constitutifs** composés de la peau et des muqueuses. Ces 2 acteurs forment ce qu'on appelle la barrière cutanéomuqueuse en contact direct avec les agents pathogènes. Elle a pour rôle d'empêcher ces agents de pénétrer dans les cellules de l'hôte. Pour cela la peau et les muqueuses vont faire intervenir des mécanismes biologiques, mécaniques ou physiques.
  - La peau : c'est un épithélium multi-stratifié et kératinisé. Elle entoure toute la surface d'un individu. Afin de protéger l'organisme, la peau met en place des barrières :

- Mécanique : par l'intermédiaire d'une faible perméabilité limitant la pénétration des agents extérieurs et par la desquamation
  - Chimique : par l'intermédiaire de protéines et de peptides pouvant entraîner une rupture mécanique des membranes bactériennes, une destruction enzymatique ou une séquestration des nutriments de l'agent pathogène.
  - Biologique : par l'intermédiaire de la flore commensale
- Les muqueuses : ce sont des épithéliums uni ou multi-stratifiés non kératinisés sécrétant du mucus. Ce mucus possède de par sa texture visqueuse des propriétés mécaniques permettant d'inhiber l'adhésion des corps étrangers, de les emprisonner et de les éliminer lors d'une expectoration par exemple. (71)
- Les modules **non constitutifs ou induits** : c'est le résultat d'une série de réactions. Les éléments de ce module sont divers et variés et ont pour rôle d'empêcher la prolifération des agents pathogènes. Différents types de cellules et de protéines sont impliquées dans ce module. Lors de l'activation de l'immunité innée, les éléments ci-dessous interviennent :
    - Les cellules phagocytaires (mastocytes et polynucléaires neutrophiles) qui induisent la phagocytose des agents pathogènes. Cela consiste à ingérer et détruire le corps étranger.
    - Les protéines du système du complément
    - Les cellules dendritiques qui réalisent la phagocytose et qui, une fois matures, deviennent des CPA (Cellules Présentatrices d'Antigènes). Ces CPA vont jouer un rôle très important dans l'immunité adaptative. (32)

## 1.2. Immunité adaptative

Elle constitue la 2<sup>nd</sup>e barrière de défense. Elle est mise en place quelques jours après le contact de l'organisme avec l'agent pathogène mais reste plus durable que l'immunité innée. Elle est dotée d'une mémoire et fait intervenir plusieurs acteurs dont les 3 principaux sont :

- Les lymphocytes B qui produisent les anticorps
- Les lymphocytes T « killer » intervenant dans la lyse des cellules infectées
- Les lymphocytes T « helpers » ou auxiliaires qui commandent l'action des lymphocytes B et des lymphocytes T « killer »

L'immunité adaptative est à l'origine de deux types de réponses : la réponse humorale et la réponse cellulaire. La réponse humorale est mise en œuvre en cas d'agression faite par un organisme de type extracellulaire (bactérie, toxine, parasite, virus). La réponse cellulaire est mise en œuvre face à des cellules infectées par des agents intracellulaires, des cellules cancéreuses ou des greffons.

### **Mécanisme de l'immunité adaptative**



Les CPA, qui présentent des fragments d'antigène à leur surface, migrent vers les ganglions lymphatiques où ils vont activer les LT CD4.

Les LT CD4 activent :

- Pour la réponse humorale, les LT CD8 cytotoxique. Ces lymphocytes se différencient ensuite en en LT CD8+ active qui participent à la destruction de l'agent infectieux et en LT CD8+ mémoire qui s'activeront lors d'une prochaine attaque du même agent.
- Pour la réponse cellulaire, les Lymphocyte B qui deviendront soit des plasmocytes producteurs d'anticorps soit des Lymphocytes B mémoires. (32)

### 1.3. Immunité collective

L'immunité collective correspond à l'immunisation d'une fraction significative de la population contre un virus donné. L'objectif des campagnes de vaccination contre la Covid-19 vise à obtenir une bonne immunité collective afin d'éradiquer la pandémie sans tenir compte d'un éventuel caractère saisonnier de la maladie.

### 1.4. La réponse vaccinale

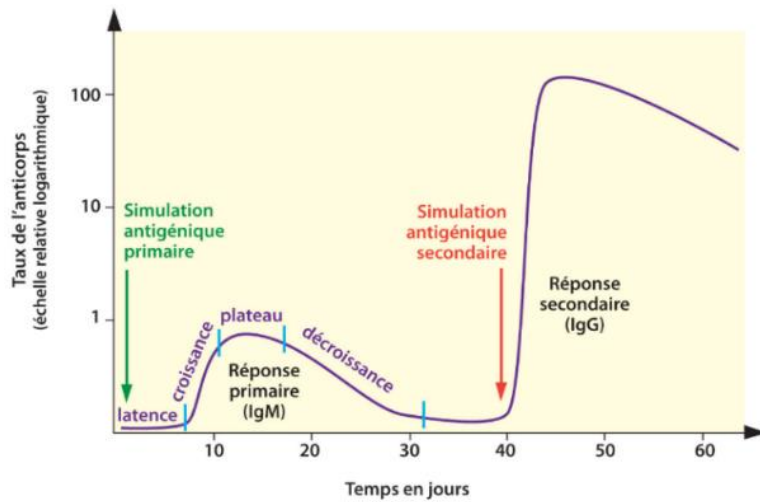
#### 1.4.1. La réponse primaire

Il s'agit de la primo-vaccination. Elle se déroule en 3 temps (32) :

- Phase de latence : temps d'attente entre l'administration du vaccin et l'apparition des anticorps et pouvant durer 2 à 7 jours
- Phase de croissance : augmentation exponentielle du taux d'anticorps avec un taux maximum atteint après 4 jours à 4 semaines
- Phase de décroissance : déclin du taux d'anticorps plus ou moins long

#### 1.4.2. La réponse secondaire

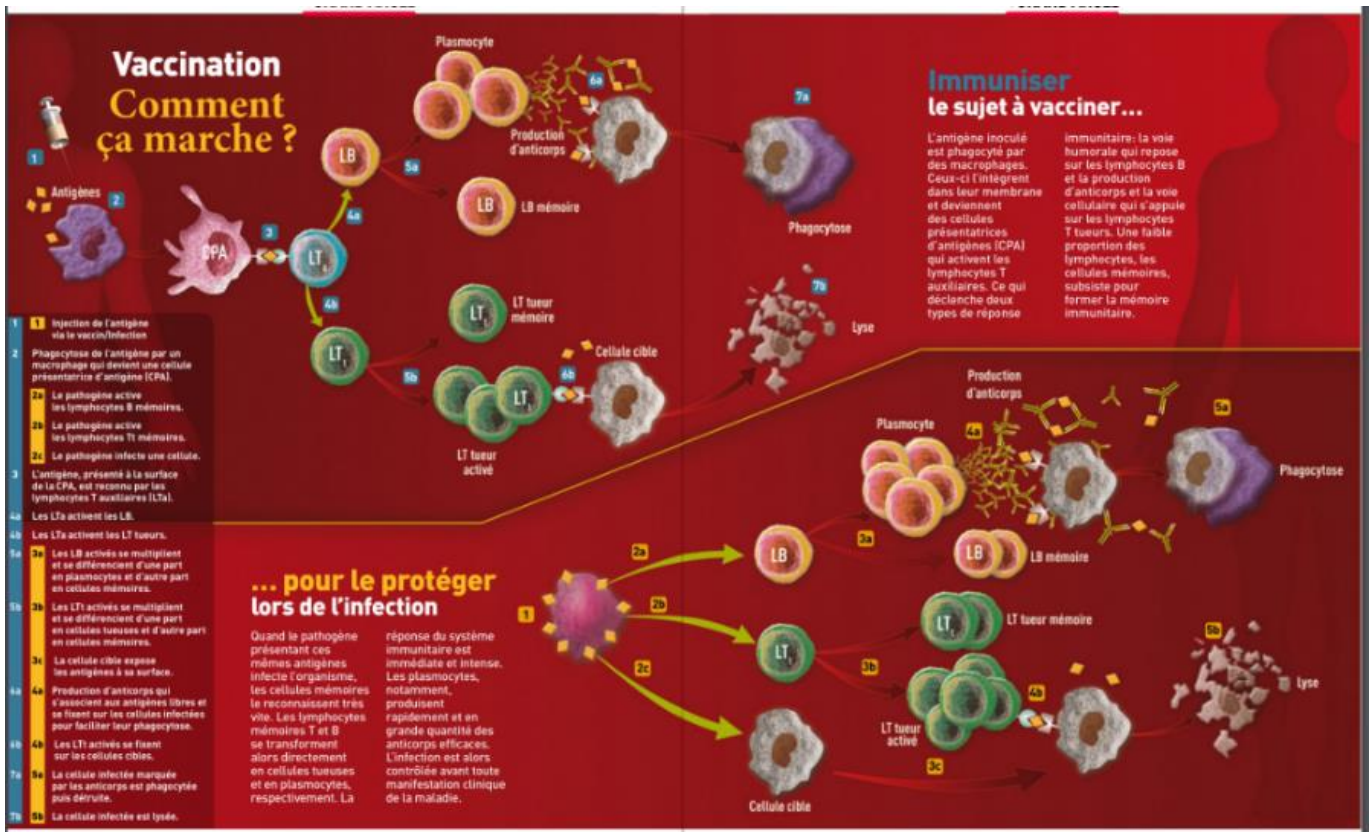
Il s'agit de la réponse induite après la réintroduction de l'antigène par infection ou par l'intermédiaire de l'administration d'une dose de rappel. C'est une réponse rapide induisant la production d'un fort taux d'anticorps grâce à l'intervention des lymphocytes mémoires.



**Figure 8 : Les différentes phases de la réponse vaccinale** <sup>(32)</sup>

### 1.4.3. Résumé

Le schéma ci-dessous récapitule tous les mécanismes mis en place lors de la vaccination.



**Figure 9 : Mécanismes d'action de la vaccination** <sup>(34)</sup>

## 2. Présentation des vaccins disponibles en France

Depuis 2020, plusieurs vaccins ont pu être développés et mis sur le marché français. Les plus répandus sont présentés dans le tableau ci-dessous (8) (64) :

Type de vaccin	Nom du vaccin	Laboratoire distributeur
Vaccin à ARNm	COMIRNATY®	Pfizer/BioNtech
	SPIKEVAX®	Moderna
Vaccins à ADN recombinant	VAXZEVRIA®	AstraZeneca
	COVID-19 VACCINE®	Janssen
Vaccin protéique	NUVAOXID®	Novavax

*Tableau 2 : Vaccins anti-covid disponibles en France*

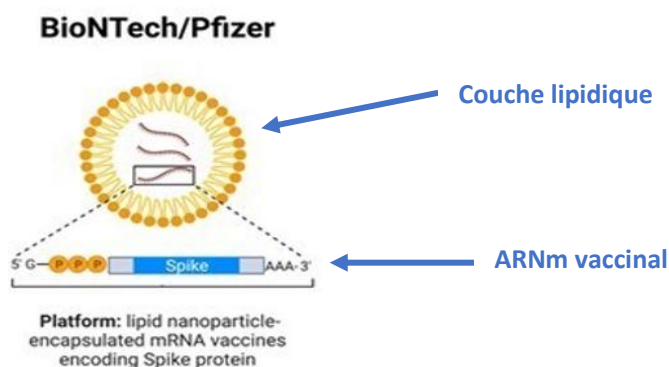
### 2.1. Les vaccins à ARN messenger

#### 2.1.1. Généralités

L'ARNm ou ARN messenger joue un rôle primordial dans la production de protéines au sein de l'organisme. Il permet la transcription du génome humain en protéines. Les vaccins à ARNm utilisent donc ce procédé pour lutter contre la maladie.

#### 2.1.2. Composition

Ces vaccins sont composés d'une séquence reproduisant les propriétés de la protéine de surface Spike et sont entourés d'une nanoparticule lipidique ou bulle de graisse permettant de protéger l'ARNm à l'image de la nucléocapside virale. Du fait que ces vaccins sont très ciblés, ils ne nécessitent pas d'adjuvant.



*Figure 10 : Structure du vaccin à ARNm de Pfizer (67)(65)*

#### 2.1.3. Fonctionnement

Une fois administré, l'ARNm est traduit dans le cytoplasme de la cellule hôte en protéine Spike inoffensive (voir Annexe 1).

Contrairement aux idées reçues, les vaccins à ARNm ne provoquent pas de modifications génétiques car l'ARNm ne pénètre pas dans le noyau de la cellule hôte, porteur des chromosomes et donc de l'information génétique d'un individu. (41)

#### 2.1.4. Conservation

En raison de la fragilité des vaccins à ARNm, leur stockage doit s'effectuer à de très basses températures.

Pour le COMIRNATY®, la conservation dépend de son état. Lorsqu'il est congelé, il se conserve pendant au maximum 2 ans à une température comprise entre -90°C et -60°C. Décongelé, le vaccin se conserve à une température comprise entre 2°C et 8°C pendant 2 ans maximum. (8)

### 2.2. Les vaccins à vecteur adénoviral

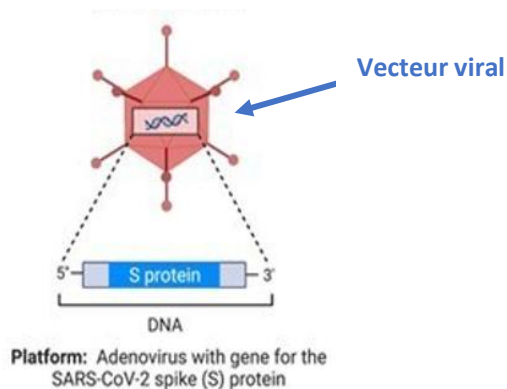
#### 2.2.1. Généralités

Les adénovirus sont une famille de virus très répandus. Ce sont des virus à ADN sans enveloppe et souvent utilisés comme vecteur non répliatif.

#### 2.2.2. Composition

Sur le marché actuel, on peut retrouver 2 vaccins de ce type :

- VAXZEVRIA® : Il s'agit d'un vaccin monovalent composé d'un ADN recombinant fabriqué à partir de cellules embryonnaires humaines, d'un vecteur adénoviral non répliatif issu du chimpanzé et de différents adjuvants (8)
- COVID-19 VACCINE® : il s'agit d'un vaccin monovalent composé d'un ADN recombinant d'un vecteur adénoviral humain (Ad26) et de différents adjuvants. (41)



**Figure 11 : Structure du vaccin à ADN recombinant de AstraZeneca** <sup>(65)(66)</sup>

#### 2.2.3. Fonctionnement

Un fragment d'ADN recombinant est injecté dans l'organisme par l'intermédiaire d'un vecteur adénoviral. Les cellules de l'hôte vont ensuite transcrire cet ADN en ARNm puis en protéines du virus notamment la protéine Spike (Voir Annexe 1).

#### 2.2.4. Conservation

Le VAXVERIA® se conserve au réfrigérateur à une température comprise entre 2 °C et 8 °C pendant maximum 9 mois si le flacon n'est pas ouvert. (8)

Le COVID-19 VACCINE® se conserve entre 2 °C et 8 °C lorsqu'il est décongelé et entre -25 °C et -15 °C sous forme congelé. Le flacon non ouvert peut être conservé maximum 30 jours. (30)

### 2.3. Les vaccins protéiques

#### 2.3.1. Généralités

Les vaccins protéiques ou « sous unitaire » ne se basent pas sur le génome du virus. Ils utilisent un fragment virale purifié qui, une fois injecté, est à l'origine d'une réponse immunitaire.

#### 2.3.2. Composition

Utilisé en France depuis mars 2022, NUVAOXID® est un vaccin composé de la protéine S insérée dans une nanoparticule lipidique et d'un adjuvant appelé Matrix-M. L'adjuvant permet de renforcer la réponse immunitaire induite par le vaccin. (72)

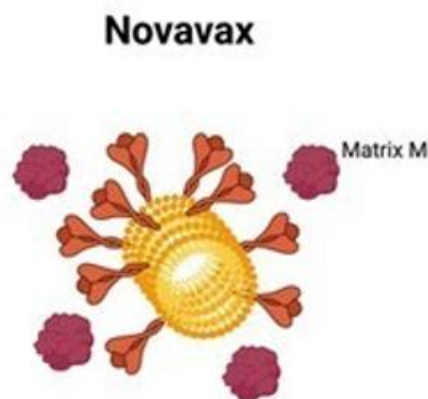


Figure 12 : Structure du vaccin protéique de Novavax <sup>(65)</sup>

#### 2.3.3. Fonctionnement

Ce type de vaccin apporte directement la protéine Spike dans l'organisme hôte permettant ainsi de favoriser la réponse immunitaire des lymphocyte B et T et stimuler la production d'anticorps neutralisants. (36)

#### 2.3.4. Conservation

NUVAOXID® se conserve à une température comprise entre 2°C et 8°C pendant une durée maximale de 9 mois. (8)

## 2.4. Schéma vaccinal

Le schéma vaccinal est un protocole qui définit le nombre et l'intervalle des injections nécessaires à l'obtention d'une immunité protectrice suffisante. En fonction de la situation des personnes, les vaccins peuvent être plus ou moins utilisés. Il faut alors tenir compte de l'âge et de l'état de santé de l'individu. Le schéma vaccinal est présenté en annexe 2.

## 3. Etapes de production des vaccins

La commercialisation d'un vaccin est un processus très complexe nécessitant une forte expertise. Ce cycle se compose de plusieurs grandes étapes. (31) (72)

### 3.1. Recherche et Développement

Cette étape permet :

- De déterminer les caractéristiques de la maladie telle que la composition de l'agent infectieux, la détermination des vecteurs pathogènes ou l'identification des symptômes
- D'isoler la protéine ou le gène d'intérêt,
- De déterminer le type de vaccin à produire
- D'élaborer les procédés de fabrication à petite échelle

### 3.2. Production

L'objectif est de fabriquer le vaccin à une échelle industrielle.

#### 3.2.1. Production de la substance active

Cette phase comprend :

- La constitution des banques de germes. Elle regroupe les virus et bactéries ayant des propriétés constantes et dépourvus de mutation pour garantir la qualité du vaccin.
- La mise en culture qui nécessite une surveillance des paramètres critiques :
  - Température
  - Durée
  - Pression
  - Composition du milieu de culture
  - Nombre de germes
  - Aération du milieu
- La récolte qui consiste à extraire l'antigène produit du milieu de culture.
- La purification et l'amplification permettant de retirer les impuretés de la substance et à la concentrer via des procédés physiques tels que la centrifugation

- L'inactivation qui consiste à retirer les propriétés pathogènes par l'intermédiaire de la chaleur ou d'agents chimiques et de conserver la capacité à activer le système immunitaire. Cette étape n'est pas obligatoire.
- La fabrication des éventuelles valences

### 3.2.2. Production pharmaceutique

L'objectif est d'obtenir un produit prêt à être distribué sur le marché. Cette étape comprend :

- La formulation caractérisée par la mise en solution des différents composants du vaccin :
  - La substance active
  - Les adjuvants si besoin
  - Les excipients tels que les conservateurs et/ou les stabilisants
- La filtration stérilisante. Cette étape permet d'obtenir un produit stérile. La solution est filtrée au moyen d'un filtre destiné à retenir les microorganismes potentiellement présents. Des filtres de 0,22µm sont généralement utilisés lors de cette étape. Dans certains cas, la filtration stérilisante est remplacée par une stérilisation terminale effectués avec des procédés validés (chaleur, irradiation, oxyde d'éthylène). Dans cette situation, la stérilisation est réalisée après remplissage du conditionnement primaire ou après lyophilisation. (Annexe 1 des BPF, 2022).
- La répartition aseptique. Il s'agit du remplissage dans les articles de conditionnement primaire stériles, généralement des flacons en verre et des bouchons, et dans un environnement permettant de garantir la stérilité du produit fini.
- La lyophilisation qui n'est pas obligatoire et qui consiste à retirer l'eau contenue dans le produit
- Le conditionnement secondaire. Les flacons de vaccin sont mis en boîtes et étiquetés selon les réglementations en vigueur

### 3.3. La phase de contrôle et libération

Les lots de produit fini sont analysés par le laboratoire et les autorités, afin de garantir la qualité du produit libéré. Pour cela, chaque lot est accompagné d'un dossier de lot qui récapitule toutes les étapes de fabrication et trace tous les événements ayant eu lieu. Le vaccin obtient ensuite une autorisation de distribution.

### 3.4. Distribution

Le vaccin ainsi libéré est acheminé aux différents points de distribution : pharmacies, hôpitaux ou centres de vaccination. Lors de cette étape, les conditions de conservation doivent être scrupuleusement respectées afin de ne pas détériorer la qualité du produit.



# DEUXIEME PARTIE : ZONE DE PRODUCTION ET QUALIFICATION



## I. INTRODUCTION

Les vaccins sont directement administrés dans le sang par voie intraveineuse ou intramusculaire dans la majorité des cas. Ce sont donc des médicaments injectables qui doivent par conséquent répondre à plusieurs exigences en termes de qualité. Ils doivent être :

- **Stériles** : exempts de microorganismes viables et revivifiables
- **Exempts d'endotoxines** : les endotoxines sont des lipopolysaccharides issus de spores bactériennes
- **Apyrogènes** : les pyrogènes sont des toxines ayant la capacité de provoquer de la fièvre chez les patients. Les pyrogènes sont produites par les parois des endotoxines. Ils peuvent être endogènes (cytokines, interleukines) ou exogènes (endotoxines des Gram -, entérotoxines des Gram +, toxines des levures, des moisissures, relargables des matières plastiques...).
- **Neutre** : afin d'éviter les phénomènes de douleur à l'injection, les préparations injectables doivent avoir un pH proche du pH physiologique. Le pH de la préparation doit donc être compris entre 3 et 9.
- **Limpide** : absence de particules au sein de la préparation injectable. Les particules peuvent être à l'origine de thrombus dans les vaisseaux sanguins. Il est donc essentiel de s'assurer de l'absence de particules visibles à l'œil nu. De plus des contrôles sont réalisés pour vérifier que la quantité de particules invisibles ne dépasse pas les limites définies dans la Pharmacopée Européenne (Chapitre 2.9.19. Contamination particulaire : particules non visibles et texte 5.17.2. Recommandations relatives à l'essai de contamination particulaire : particules visibles).
- **Isotonique** : le produit injecté doit avoir la même concentration en soluté que l'organisme du patient afin d'éviter tout phénomène d'hémolyse et de plasmolyse.

La neutralité, la limpidité et l'isotonie sont des critères inhérents aux produits et obtenus lors de la phase de formulation. Ils ne font donc pas partis du scope de cette thèse.

En revanche les attributs qualité de stérilité, d'endotoxines et de pyrogénécité sont obtenus grâce à la maîtrise de la contamination au niveau de l'environnement et du procédé de remplissage mis en place.

Afin de répondre à ces attributs, la production de vaccins s'effectue obligatoirement dans des Zones à Atmosphère Contrôlée (ZAC) et selon des procédés de remplissage validés. Bien qu'il existe différents types de ZAC (conventionnelles et technologies barrières) toutes obéissent à des règles très strictes définies dans les textes réglementaires tels que les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et les normes ISO. Il existe également des guides qui facilitent et aident à la compréhension de ces textes.

## II. REGLEMENTATION ET NORMES

La réglementation et les normes ont pour objectif d'harmoniser les pratiques et de définir un cadre commun à tous les industriels du monde pharmaceutique. Dans cette présente thèse nous nous focaliserons sur les BPF et la norme ISO 14644.

### 1. Les Bonnes pratiques de Fabrication

Les BPF font partie de la catégorie des réglementations, c'est-à-dire des textes élaborés par les autorités administratives et/ou gouvernementales (Etat, Sénat, collectivités) et issus de projets de loi et/ou de règlements. L'application d'une réglementation est obligatoire et imposée par les autorités.

Les BPF ont été mises en place par l'ANSM à la suite de différents scandales sanitaires. Elles constituent un ensemble de règles que tout établissement pharmaceutique doit respecter pour garantir la mise sur le marché de produits efficaces, sûrs et avec un haut niveau de qualité.

Les BPF sont composés de 4 parties et de différentes annexes.

- Partie I : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments à usage humain
- Partie II : Bonnes pratiques de fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments
- Partie III : Documents relatives aux bonnes pratiques de fabrication
- Partie IV ; Guide des bonnes pratiques de fabrication spécifiques aux médicaments de thérapie innovante
- Annexes : regroupant les lignes directrices particulières. Elles sont au nombre de 19.

Dans le cadre de cette thèse nous traiterons de l'annexe 1 « Fabrication de médicaments stériles » et de l'annexe 15 « Qualification et validation »

1.1. Annexe 1 : Fabrication de médicaments stériles

Cette annexe définit toutes les exigences concernant la fabrication de médicaments stériles. Publiée pour la première fois en 1971 et mise à jour en 2022 (avec une version draft en 2020), elle se compose de 11 parties présentées dans le tableau ci-dessous :

Chapitre		Contenu
Numéro	Titre	
1	SCOPE	Le scope cette annexe a été modifié afin d'inclure les autres produits pour lesquels les principes de l'annexe peuvent s'appliquer
2	PRINCIPE	Principes généraux applicables aux médicaments stériles
3	SYSTEME QUALITE PHARMACEUTIQUE	Exigences spécifiques au système qualité pharmaceutique appliqués aux médicaments stériles
4	LOCAUX	Exigences concernant la conception et la qualification des locaux, y compris les Technologies Barrières.
5	EQUIPEMENTS	Exigences concernant la conception et l'opération des équipements
6	UTILITES	Exigences concernant les utilités telles que l'eau, les gaz et l'air
7	PERSONNEL	Exigences concernant la formation, les connaissances, les compétences et la qualification du personnel
8	PRODUCTION ET TECHNOLOGIES SPECIFIQUES	Présentation : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Des différentes approches en matière de procédé aseptique et de stérilisation terminale.</li> <li>- De la stérilisation des produits, des équipements et du conditionnement,</li> <li>- Des différentes technologies telles que la lyophilisation et les BFS (Blow – Fill – Seal)</li> </ul>
9	SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE ET SURVEILLANCE DES PROCEDES	Présentation : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Des exigences du monitoring environnemental en fonction de la conception des systèmes</li> <li>- Des limites d'alerte et d'action</li> <li>- De la revue des tendances</li> </ul>
10	CONTROLE QUALITE	Exigences concernant le contrôle qualité des produits stériles
11	GLOSSAIRE	Définition des termes utilisés dans l'annexe

Tableau 3 : Présentation des 11 parties composant l'Annexe 1 des BPF

1.2. Annexe 15 : Qualification et validation

Chapitre		Contenu
Numéro	Titre	
1	ORGANISATION ET PLANIFICATION DE LA QUALIFICATION ET DE LA VALIDATION	Modalités organisationnelles des activités de qualification et de validation Importance de la planification
2	DOCUMENTATION, INCLUANT LE PDV	Règles documentaires à appliquer lors des activités de qualification et de validation
3	ETAPES DE LA QUALIFICATION POUR LE MATERIEL, LES INSTALLATIONS, LES UTILITES ET LES SYSTÈMES	Toutes les étapes de la qualification et leurs objectifs respectifs
4	RE-QUALIFICATION	Importance de la mise en place d'une périodicité de re-qualification
5	VALIDATION DU PROCÉDÉ	Règles inhérentes à la validation des procédés Description des différents types de validation Contenu de la documentation associée à la validation
6	VÉRIFICATION DU TRANSPORT	Exigences liées à la validation des conditions de transports
7	VALIDATION DU CONDITIONNEMENT	Exigences liées à la qualification des équipements de conditionnement
8	QUALIFICATION DES UTILITES	Exigences liées à la qualification des utilités utilisées lors de la production de médicaments : air, eau, gaz, vapeur et tous les éléments en lien avec les HVAC
9	VALIDATION DES MÉTHODES D'ANALYSE	Exigences liées à la validation des méthodes d'analyses appliquées par les laboratoires de contrôle qualité à toutes les étapes du cycle de vie du médicament.
10	VALIDATION DU NETTOYAGE	Exigences liées à la validation des méthodes de nettoyage mise en place : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tests à effectuer,</li> <li>- Critères d'acceptation à prendre en considération</li> <li>- Nombre de tests nécessaires</li> <li>- Éléments de documentation</li> </ul>
11	CONTRÔLE DES CHANGEMENTS	Gestion des changements
12	GLOSSAIRE	Définitions en lien avec la qualification et la validation

Tableau 4 : Présentation des chapitres composant l'Annexe 15 des BPF

## 2. Les normes

Par définition, les normes ont un caractère volontaire. Leur application n'est pas obligatoire. Elles traduisent l'engagement des entreprises à satisfaire un niveau de qualité et de sécurité reconnu et approuvé. L'élaboration d'une norme est faite par des experts techniques afin de caractériser les règles de l'art. Il existe 3 niveaux de normes associés à un ou plusieurs organismes de normalisation :

Niveau	Organisme de normalisation
National	AFNOR
Européen	CEN
International	ISO

*Tableau 5 : Différents niveaux de normes*

Dans le cadre des salles propres, la norme de référence la plus utilisée est la norme ISO 14644. Elle est composée de 13 parties que l'on peut diviser en 2 grandes catégories :

### 2.1. Les normes générales

Elles décrivent les éléments contribuant à la maîtrise de la contamination en ZAC

NUMERO	TITRE	CONTENU
ISO 14644-3	« Méthodes d'essai »	Méthodes d'essai relatives au bon fonctionnement d'une ZAC dans le but de satisfaire à la classification des locaux
ISO 14644-4	« Conception, construction et mise en place fonctionnement »	Exigences pour la conception et la construction des ZAC (partie publiée en 2001)
ISO 14644-5	« Exploitation »	Exigences de base pour l'exploitation des ZAC (Publiée en 2004)
ISO 14644-6	« Vocabulaire »	Termes et définitions relatives aux salles propres et aux environnements maîtrisés
ISO 14644-7	« Dispositifs séparatifs (postes à air propre, boîtes à gants, isolateurs et mini-environnements)	Conception et exigences liées aux technologies barrières
ISO 14644-13	« Nettoyage des surfaces afin d'obtenir des niveaux de propreté par rapport aux classifications particulaire et chimique »	Lignes directrices concernant le nettoyage et la désinfection des locaux et équipement en ZAC Exigences concernant l'évaluation des méthodes de nettoyage afin de respecter la classification de la ZAC (Publiée en 2017)
ISO 14644-14	« Évaluation de l'aptitude à l'emploi des équipements par la détermination de la concentration de particules en suspension dans l'air »	Méthodologie permettant d'évaluer la capacité des équipements à être utilisés en ZAC classé selon la norme ISO 14644-1 (Publiée en 2016)

*Tableau 6 : ISO 14644, les normes générales*

## 2.2. Les normes spécifiques

Elles sont consacrées à un type de contaminant en ZAC.

NUMERO	TITRE	CONTENU
ISO 14644-1	« Classification de propreté particulaire de l'air »	Exigences concernant la classification particulaire des locaux : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Spécifications liées à la concentration de particules dans l'air : nombre de particules par volume d'air</li> <li>- Méthode normalisée pouvant être appliquée lors des essais</li> </ul> La nouvelle version de 2015 fournit une approche de traitement statistique pour la sélection et le nombre de point de prélèvement ainsi que pour l'évaluation des données recueillies.
ISO 14644-2	« Surveillance du maintien des performances de la salle propre pour la propreté particulaire de l'air »	Exigences liées au maintien de la qualité de l'air dans les ZAC
ISO 14644-8	« Classification de la propreté chimique de l'air »	Procédés d'évaluation permettant de déterminer les différents niveaux de la propreté chimique de l'air dans les ZAC.
ISO 14644-9	« Evaluation de la propreté des surfaces en fonction de la concentration de particules »	Cette partie définit un mode opératoire pour évaluer les niveaux de propreté particulaire des surfaces en ZAC.
ISO 14644-10	« Évaluation de la propreté chimique des surfaces »	Exigences concernant la classification chimique des surfaces en ZAC : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Spécifications</li> <li>- Méthode pouvant être appliquée lors des essais des essais</li> </ul> (Mise à jour publiée en 2022)
ISO 14644-12	« Spécification de la propreté de l'air en fonction de la concentration des nanoparticules »	Surveillance de la propreté particulaire en termes de concentration en nanoparticules en ZAC (publiée en 2018).

Tableau 7 : ISO 14644, les normes spécifiques

### III. CONCEPTION DES ZAC

#### 1. Exigences liées à la conception des ZAC

Les exigences présentes dans les BPF sont disponibles en annexe 3.

##### 1.1. Système de traitement de l'air

Les HVAC (Heating, Ventilation, Air-Conditionning) pouvant être traduit par CVC (Chauffage, Ventilation, Climatisation) ou CVAC (Chauffage, Ventilation, Air Conditionné) sont des systèmes ayant 3 principaux objectifs :

- Traiter l'air : l'HVAC permet de remplacer l'air « pollué » d'une salle par un air plus « propre ». Elles ont donc pour but de renouveler l'air permettant par la même occasion de limiter les contaminants présents dans une pièce.
- Maintenir le niveau de température et humidité dans des valeurs prédéfinies.
- Assurer aux usagers des conditions de confort, d'hygiène et de sécurité tout en respectant la réglementation en vigueur

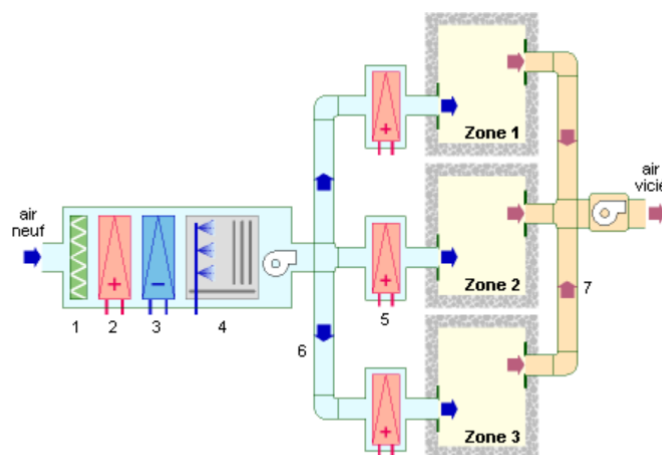
##### 1.1.1. Composition des HVAC

Les HVAC sont composées d'un réseau de gaines permettant la diffusion de l'air et d'une CTA (Centrale de traitement de l'air).

#### Les CTA

Il existe 3 types de configuration des CTA utilisés dans différents domaines d'activité :

- CTA tout air neuf : l'air extérieur pénètre dans la CTA pour être traité. Il est ensuite distribué dans les différents locaux. Enfin l'air vicié est rejeté à l'extérieur sans être repris.



*Figure 13 : CTA tout air neuf*<sup>(42)</sup>

- CTA air recyclé avec un pré-traitement d'air neuf
- CTA avec mélange air neuf / air repris : le traitement de l'air s'effectue sous la forme d'un cycle :
  - Traitement de l'air extérieur par la CTA
  - Distribution de l'air traité dans les locaux
  - Rejet de l'air vicié dans l'atmosphère
  - Réutilisation de l'air vicié selon les étapes ci-dessus

Pour ce genre de CTA, il est important de définir et de respecter un taux de renouvellement de l'air afin de limiter le risque de contamination.

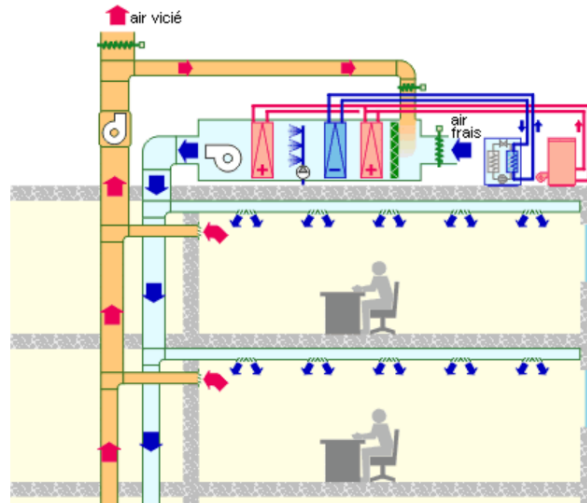


Figure 14 : CTA avec mélange air neuf / air repris <sup>(42)</sup>

En plus de ces 3 configurations, nous pouvons distinguer 2 types de CTA :

- CTA Simple flux : ne fait intervenir qu'un seul procédé selon le besoin
  - Traitement et soufflage d'air neuf : CTA air neuf
  - Traitement et soufflage d'air repris : CTA en recyclage
  - Extraction de l'air : CTA d'extraction

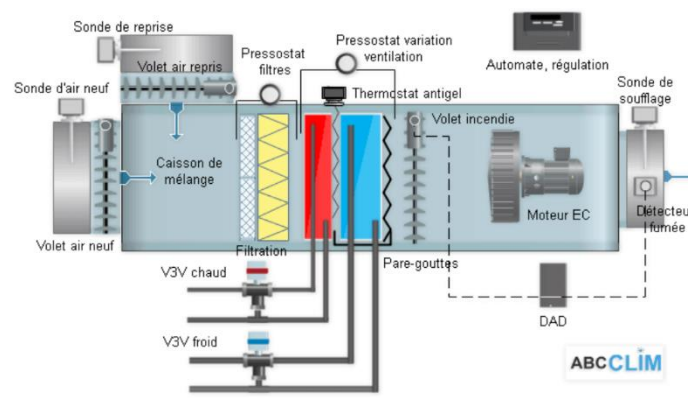
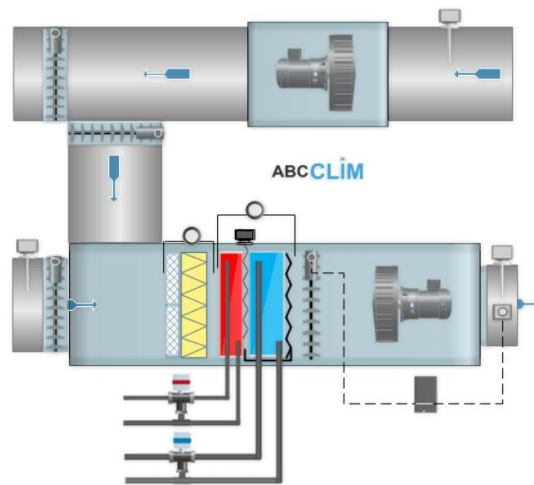


Figure 15 : CTA simple flux <sup>(54)</sup>



- CTA Double flux : combine soufflage (air neuf) et extraction avec selon les cas un caisson de mélange permettant le recyclage de l'air



*Figure 16 : CTA double flux* <sup>(54)</sup>

Les CTA sont des systèmes composés de plusieurs caissons contenant les équipements ci-dessous :

Equipement	Rôle
Batterie chaude	Chauffer l'air froid
Batterie froide	Refroidir l'air chaud
Ventilateur	Propulser l'air dans le local (soufflage) ou dans les gaines de reprise (extraction)
Filtre	Retenir les contaminants présents dans l'air
Préfiltre	Filtre à air monté en amont d'un autre filtre afin d'en réduire la charge
Système de récupération de la chaleur	Retenir la chaleur au travers d'un échangeur de récupération de la chaleur afin de réchauffer ou refroidir l'air introduit dans la CTA
Humidificateur	Réguler le taux d'humidité
Déshumidificateur	Condenser la vapeur d'eau
Caisson de mélange	Mélanger l'air neuf et l'air repris (recyclé)
Registre	Réguler la quantité d'air acheminé vers la CTA
Pièges à son	Compenser le bruit des équipements de la CTA notamment le bruit des ventilateurs
Capteurs de pression, température et hygrométrie	Surveiller les variations de pression, température et humidité
Système de gestion à distance ou GTC	Gérer la CTA en transmettant les données dans le logiciel associé

*Tableau 8 : Composants d'une CTA*

## Le réseau de gaines

En plus des éléments cités dans le tableau ci-dessus, les CTA sont associés à un réseau de gaines pouvant atteindre plusieurs centaines de mètres. On y retrouve des gaines de soufflage et des gaines de reprises.

Les gaines peuvent être composées de plusieurs trappes de visites utilisées pour leur entretien : le nettoyage et décontamination initiale et/ou périodique.

### 1.1.2. Dimensionnement de la CTA

Afin d'atteindre les valeurs cibles nécessaires au bon fonctionnement des locaux de production, les CTA doivent être dimensionnées. Ce dimensionnement concerne les paramètres ci-dessous :

### Taux de brassage horaire

Le taux de brassage correspond au nombre de fois que le volume d'air total de l'enceinte est renouvelé en une heure. Il permet de diminuer la concentration d'agents contaminants par dilution. La formule généralement utilisée est :

$$TRH = \frac{\text{Débit d'air soufflé}}{\text{Volume de la salle}}$$

Ce taux doit être suffisant pour éliminer la contamination particulaire produite dans le local (procédé de fabrication, personnes travaillant dans l'enceinte...). Plus la classe d'empoussièrement de la salle est petite, plus le TRH doit être important.

Classification de la salle		Taux de brassage (Vol/h)
ISO 8/D		15 à 20
ISO 7/C		20 à 40
ISO 6/B		40 à 80
ISO 5/ A	Au repos	80 à 150
	En activité	250 à 600

Tableau 9 : TRH recommandés dans la norme ISO 14644-1 selon la classe des salles

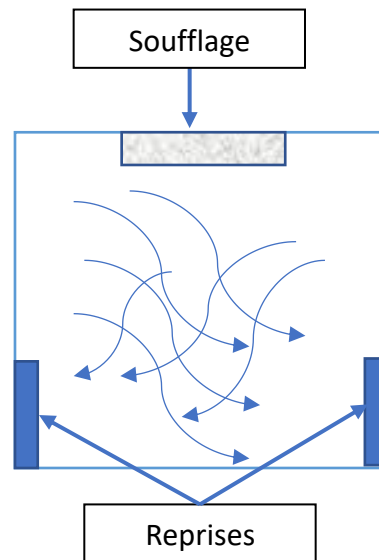
### Diffusion et reprise de l'air :

Une diffusion maîtrisée permet d'assurer une bonne évacuation des agents contaminants. Les ZAC disposent donc de bouches de soufflage très souvent installées au plafond et de bouches de reprise situées en partie basse du local. L'équilibrage de ces bouches en fonction

de la dimension du local est un paramètre important. Il permet de limiter la présence de zones mortes et d'éviter le déséquilibre de flux.

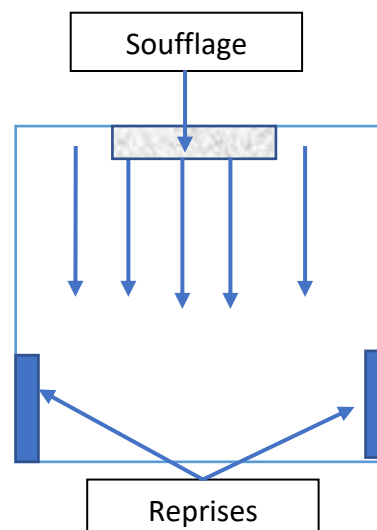
Le flux d'air peut être :

- **Turbulent ou non unidirectionnel** : régime de distribution où l'air soufflé dans la zone propre se mélange à l'air déjà présent par impaction



*Figure 17 : Flux d'air turbulent*

- **Laminaire ou unidirectionnel** : flux d'air maîtrisé traversant l'ensemble d'un plan de coupe d'une zone propre possédant une vitesse régulière et des coupes parallèles



*Figure 18 : Flux d'air laminaire*

## Filtration de l'air

Actuellement il existe 3 grandes catégories de filtres :

- Filtres de **moyenne efficacité** (grossiers) : retiennent les particules de taille supérieure à 1 $\mu$ m telles que le pollen ou les poudres.
- Filtres de **haute efficacité** (moyens et fins) : permettent l'épuration de l'air et sont souvent installés dans les CTA en amont des filtres THE.
- Filtres de **très haute efficacité** (THE) : installés au plus près du process. Ces filtres sont classés en 3 familles ayant chacune plusieurs niveaux d'efficacité.

Famille des filtres	Classes	Valeur globale		Valeur locale	
		Efficacité d'épuration (%)	Pénétration (%)	Efficacité d'épuration (%)	Pénétration (%)
EPA	E10	85	15	-	-
	E11	95	5	-	-
	E12	99,5	0,5	-	-
HEPA	H12	99,95	0,05	99,75	0,25
	H14	99,995	0,005	99,975	0,025
ULPA	U15	99,9995	0,0005	99,9975	0,0025
	U16	99,99995	0,00005	99,99975	0,00025
	U17	99,999995	0,000005	99,99999	0,000025

*Tableau 10 : Classification des filtres THE selon la norme EN 1822*

### 1.2. Pression

Afin d'éviter l'entrée d'air non filtré et de potentiels contaminants, une cascade de pression doit être assurée entre deux salles de différentes classes. Ce différentiel doit être d'au moins 10 pascals entre salles de niveaux différents (exigence 4.14, annexe 1 des BPF).

Il est à noter que dans le cas de manipulation de produits toxiques et afin de protéger davantage le personnel, les locaux de production doivent être maintenus en dépression.

### 1.3. Les surfaces

De manière générale les surfaces doivent respecter les critères suivants :

- Être lisses
- Être imperméables / étanches

- Être inertes au développement des microorganismes
- Ne pas générer de particules
- Être facilement nettoyables et résistantes aux produits d'entretien utilisés (désinfectants, détergents, sporicides par exemple)
- Être dépourvues de renforcements difficiles à nettoyer

Des caractéristiques supplémentaires peuvent être demandées en fonction du type de surface. Le tableau ci-dessous récapitule les exigences relatives à certaines surfaces (Annexe 1 des BPF, 2022) :

Surface	Caractéristiques
<b>Sol</b>	Assurer la continuité avec les murs/cloisons Être conducteur ou antistatique
<b>Murs/cloisons</b>	Avoir une capacité d'isolation thermique et phonique adaptée
<b>Plafond</b>	Être scellé de manière à empêcher la contamination de l'espace situé au-dessus d'eux
<b>Porte</b>	Éviter les renforcements qui ne peuvent pas être nettoyés. Les portes coulissantes ne sont pas souhaitables pour cette raison (Exigence 4.6, Annexe 1 des BPF).
<b>Eviers, drains et siphons de sol</b>	Interdits dans les zones de catégorie A et B Des Air break devraient être installés entre la machine ou l'évier et les drains des salles propres de niveau inférieur doivent être équipés de siphons ou de joints d'étanchéité conçus pour empêcher le reflux et doivent être régulièrement nettoyés, désinfectés et entretenus

*Tableau 11 : Exigences relatives à certaines surfaces (Annexe 1 des BPF, 2022)*

#### 1.4. Les matériaux

Les matériaux des ZAC doivent « être choisis de manière à minimiser la génération de particules et à permettre l'application répétée d'agents nettoyants, désinfectants et sporicides, le cas échéant. » (Exigence 4.7, Annexe 1 des BPF).

Les matériaux généralement utilisés dans la construction de ZAC sont :

- |   |                    |
|---|--------------------|
| - Aluminium                             | - Inox dépoli      |
| - Tôle PET (PolyÉrèphtalate d'Éthylène) | - Inox 304         |
| - PVC (PolyChlorure de Vinyle)          | - Joint caoutchouc |
| - Inox                                  | - Acier laqué      |
| - Tôle laquée                           | - Aluminium laqué  |
| - Alu anodisé (ALU 1100)                | - Compact          |

### 1.5 Les SAS

Les sas constituent une barrière physique et aéraulique entre deux zones de classe de propreté différente. Les Sas permettent la mise en place de différents flux de transfert notamment les flux personnel, matériel, matières ou déchets.

#### Types de sas

Les sas peuvent prendre la forme de :

- **Vestiaire (sas personnel)** : permet l'entrée du personnel dans les zones de production. Plusieurs configurations sont possibles, cependant le sas personnel est généralement scindé en 2 parties :
  - Une partie « sale » ou « ville » : zone dans laquelle le personnel quitte sa tenue de « ville » ou d'extérieur ou d'une zone de propreté moins élevée et se prépare à enfiler la tenue de production ou la tenue permettant l'intervention dans une zone de classe supérieure
  - Une partie « propre » ou « production » : zone dans laquelle le personnel est dans une tenue adaptée à la zone de production

En général, les installations de lavage des mains ne devraient être prévues que dans la première étape du vestiaire et ne pas être présentes dans les vestiaires donnant directement accès à la zone de classe B (Exigence 4.12, annexe 1 des BPF).

- **Local matière ou matériel (sas matière ou matériel)** : permettant le transfert de matériels et/ou de matières et/ou d'équipements préalablement approuvés.
- **Passe-plat ou passe-chariot** : zone destinée au transfert d'éléments préalablement définis et approuvés. Les passe-plats/passe-chariots s'apparentent à des trappes permettant la liaison entre deux zones différentes.

Il est à noter que tout transfert d'une zone de classe inférieure vers une zone de classe supérieure doit respecter des procédures de nettoyage et désinfection adaptées aux risques inhérents à la zone.

## Conception des sas

Les sas doivent disposer :

- D'un contrôle d'accès empêchant toute personne non autorisée à pénétrer dans une zone définie
- D'un système d'interlockage des portes afin d'empêcher l'ouverture simultanée de deux portes et de limiter les risques de contamination croisée
- D'une séparation physique ou à minima d'une séparation temporelle procédurée
- D'une ventilation efficace
- D'une signalisation adaptée
- De mobilier adapté à l'habillement du personnel, au respect des règles d'hygiène et au transfert de matériel

## 2. Classification des ZAC

Il existe 4 classes de ZAC définies selon le niveau de particules, le seuil de contamination microbiologique et la criticité des activités qui s'y déroulent.

### 2.1. Classification particulière des locaux

La classification particulière des ZAC est disponible dans l'annexe 1 des BPF et dans la norme ISO 14644-1 :

Classe		Au repos		En activité	
BPF	ISO	Particules $\leq 0,5\mu\text{m}$	Particules $\leq 5\mu\text{m}$	Particules $\leq 0,5\mu\text{m}$	Particules $\leq 5\mu\text{m}$
A	5	3 520	3 520	20	20
B	5/7	35 200	352 000	29	2 900
C	7/8	352 000	3 520 000	2 900	29 000
D	8	3 520 000	Non défini	29 000	Non défini

Tableau 12 : Taux de particules autorisé en fonction de la classe des locaux

## 2.2. Classification microbiologique des ZAC

La classification microbiologique des ZAC est disponible dans l'annexe 1 des BPF :

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

*Tableau 13 : Taux de microorganismes autorisé en fonction de la classe des locaux*

## 2.3. Classification selon l'activité

La classification des ZAC selon les activités qui s'y déroulent est disponible dans l'annexe 1 des BPF :

Classe	Activité	
<b>A</b>	Réalisation des opérations à haut risque	Remplissage aseptique des produits qui ne sont pas stérilisés dans leur récipient final Manipulation des matières premières et accessoires stériles qui ne seront pas soumis ultérieurement à stérilisation ou à filtration stérilisante Transfert, avant bouchage, de récipients partiellement clos, tels que ceux qui sont utilisés pour la lyophilisation
<b>B</b>	Zone environnante de la classe A pour la préparation et la répartition aseptique hors isolateur	Préparation des solutions destinées à être filtrées
<b>C</b>	Réalisation des étapes les moins critiques de la fabrication de produits stériles remplis de manière aseptique ou pour servir d'environnement aux isolateurs	Préparation des solutions destinées à être filtrées Remplissage des produits destinés à être stérilisés dans leur récipient final
<b>D</b>	Idem classe C	Préparation de solutions et d'accessoires aux fins de remplissage Manipulation d'accessoires après nettoyage

*Tableau 14 : Type d'activité autorisé en fonction de la classe des locaux*



### 3. Les différents types de ZAC

#### 3.1 Les ZAC conventionnelles

Les zones conventionnelles sont représentées par les locaux au sens propre du terme c'est-à-dire des pièces qui respectent le seuil de contamination microbiologique et particulaire en fonction de la classe revendiquée. Ces zones ne sont pas étanches et permettent le contact entre le personnel impliqué dans la fabrication et le produit. Elles permettent ainsi une grande liberté de manipulation. Pour la répartition aseptique, les zones conventionnelles sont représentées par une zone de classe A dans un environnement proche de classe B à minima. Compte-tenu du risque important de contamination dans ces zones, il est essentiel de respecter des règles très stricts d'habillement, de comportement et de nettoyage.

#### 3.2 Les ZAC non conventionnelles

On entend par ZAC non conventionnelle toutes les technologies barrières assimilées à une zone propre. Il s'agit en majorité des isolateurs et des RABS.

##### 3.1.1. Les isolateurs

D'après la norme ISO 14644-7, un isolateur est un « *Appareil qui emploie des techniques de barrière étanche pour effectuer la séparation entre une ambiance interne et l'ambiance externe ou environnante* ».

Il s'agit donc d'un équipement étanche, avec un environnement interne de classe A et placé dans un environnement de classe C minimum pour les isolateurs ouverts et de classe D pour les isolateurs fermés. Il existe plusieurs modèles d'isolateur en fonction de l'utilisation prévue et du besoin du site.



Figure 19 : Aperçu d'un isolateur modulable de la société BioQuell <sup>(47)</sup>

L'isolateur présenté ci-dessus est un appareil modulable fabriqué par la société BioQuell. Il se compose de différents modules ayant chacune une fonction définie. (48)

- M1 : Module d'entrée des consommables et des articles de conditionnement
- M2 : Module d'ouverture (exemple : retrait du Tyveck des articles de conditionnement ou des sachets)
- M3 : Module de remplissage
- M4 : Module de fermeture
- M5 : Module de sortie

Les isolateurs ont 4 fonctions principales (74) :

### **Barrières physiques**

Ce sont des séparations matérielles constituant une limite et une protection pour le produit et le personnel. Les matériaux les plus souvent utilisés pour constituer cette barrière sont l'inox, les matières plastiques et le PVC. La composition de l'isolateur est définie en tenant compte de :

- La nettoyabilité des matériaux
- La résistance physique
- La compatibilité chimique avec les produits fabriqués et les produits de décontamination

### **Traitement de l'air et des surfaces**

Un isolateur dispose, comme les ZAC conventionnelles, d'un système de traitement d'air permettant le renouvellement de l'air et la maîtrise des paramètres physiques. Ce système contient également des filtres adaptés. Le flux est laminaire et unidirectionnel.

Pour assurer la maîtrise de la contamination microbiologique, un système de bio-décontamination est intégré à l'isolateur.

Dans la majorité des cas, l'isolateur est bio-décontaminé par l'intermédiaire d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peroxyde d'hydrogène) diffusé sous forme de vapeur. Ce procédé doit être qualifié et validé afin d'attester de son efficacité.

### **Manipulation**

Afin de permettre la manipulation des produits sans porter atteinte à l'intégrité de l'appareil, l'isolateur dispose de systèmes d'intervention. On distingue ainsi :

- Le couple gant-manchette : moyen le plus utilisé de nos jours. Le personnel manipule le produit en insérant ses mains dans une paire de gants dont la surface est interne à l'isolateur.
- L'hémi-scaphandre : permet une amplitude de mouvement plus importante que les gants. Le personnel intervient dans l'isolateur en introduisant son buste dans l'hémi-scaphandre.
- Le scaphandre

## Système de transfert

Lorsque l'isolateur est utilisé après sa bio-décontamination, il est interdit d'ouvrir les portes afin de ne pas rompre l'intégrité et d'éviter de contaminer le système. Le transfert d'éléments (entrée ou sortie) se fait au moyen de systèmes de transfert dont les plus fréquents sont :

- Les portes DPTE : permet le transfert rapide des éléments
- Les mouse-holes : correspondent à des trappes permettant la sortie d'éléments de l'isolateur vers la zone adjacente. La présence de mouse-hole s'accompagne d'une surpression empêchant l'entrée de contaminants dans l'isolateur.
- Les isolateurs de transfert : ce sont de petits isolateurs disposant des mêmes caractéristiques que les isolateurs de remplissage (traitement d'air, procédé de décontamination, barrières physiques étanches) destinés à transférer des consommables, du petit matériel et tout autre élément dans l'isolateur de remplissage en cours de production et de façon discontinue. Les isolateurs de transfert sont indépendants et ne sont pas solidaires de l'isolateur de répartition. La connexion isolateur de transfert – isolateur de remplissage peut se faire au moyen de portes DPTE.

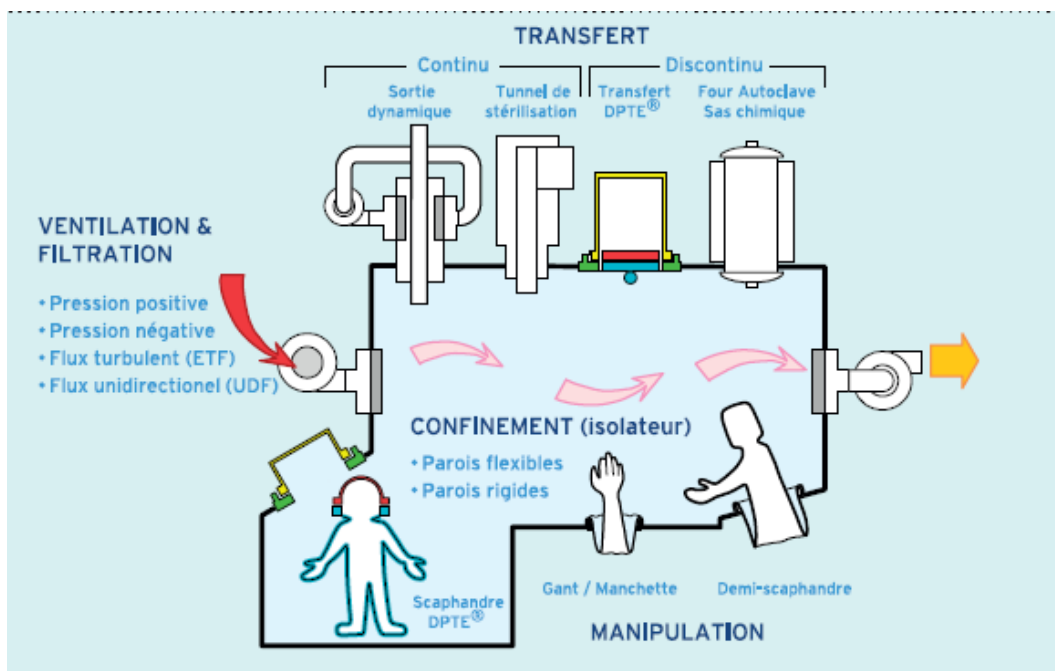


Figure 20 : Les différentes fonction d'un isolateur <sup>(55)</sup>

### 3.1.2. Les RABS : Système Barrière d'Accès Restreint - Restricted Access Barrier System

Les RABS sont une technologie barrière qui s'apparente plus aux ZAC conventionnelles qu'aux isolateurs. (74)

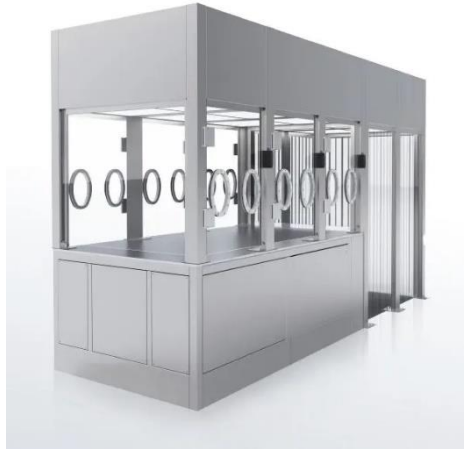


Figure 21 : RABS de TEMA Sinergie <sup>(58)</sup>

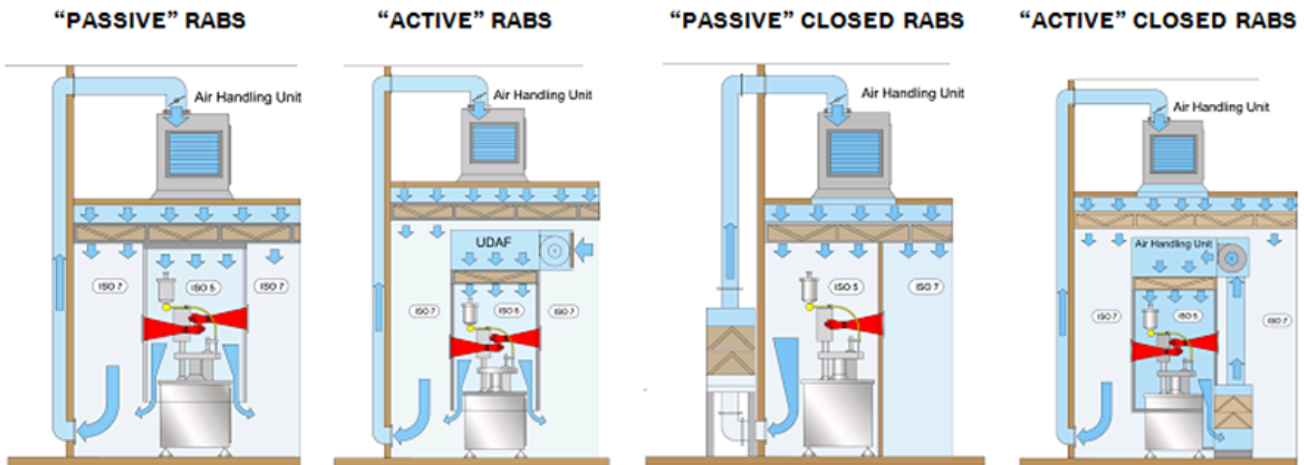
Ces systèmes sont :

- Non étanches
- Composés de systèmes de transfert et de systèmes permettant la manipulation des produits (couple gant-manchette, hémi-scaphandres, scaphandres...)
- Dépourvus de système de décontamination des surfaces
- Installés dans des zones de classe B à minima

Les RABS peuvent être :

- Ouverts : l'air vicié est rejeté dans la salle environnante
- Fermés : ils sont séparés de la salle environnante par une barrière physique complète. Ainsi l'air vicié issu du RABS sera recyclé et non rejeté dans la salle environnante. Ces systèmes sont surtout utilisés pour la manipulation de produits à haut risque tels que les cytotoxiques.
- Passifs : ils utilisent la ventilation de la zone adjacente
- Actifs : ils possèdent leur propre système de ventilation

Dans la production de médicaments stériles, les RABS les plus utilisés sont les RABS dits « ouverts ».



*Figure 22 : Différentes configurations de RABS <sup>(49)</sup>*

## IV. LA QUALIFICATION

La qualification est à distinguer de la validation. La validation permet d'établir par des évidences objectives et documentées qu'un procédé donne un résultat conforme aux exigences prédéfinies. Il s'agit d'une opération consistant à confirmer une hypothèse, une attente ou une théorie. La validation est généralement appliquée au procédé tel que le nettoyage ou l'analyse.

La qualification est une opération destinée à démontrer l'aptitude d'un système à satisfaire aux exigences spécifiées. Elle s'applique généralement aux équipements, utilités et aux locaux.

Dans cette thèse nous discuterons uniquement de la qualification.

### 1. Les étapes de la qualification

#### 1.1 Définition du besoin

La définition du besoin est une étape clé de la qualification. C'est une démarche pluridisciplinaire faisant intervenir différents services (maintenance, utilisateur, laboratoire de contrôle qualité, assurance qualité...). Elle permet d'établir les aspects techniques et fonctionnels du besoin tout en tenant compte des exigences réglementaires en vigueur.

La définition du besoin aboutit à un document appelé CCU (Cahier des Charges Utilisateur) précis, clair et concis. Ce document regroupe l'ensemble des critères nécessaires et suffisants pour élaborer un système répondant aux objectifs établis par l'utilisateur.

#### 1.2 La planification

Il est primordial dans les activités de qualification de planifier les différentes phases. Cette étape est matérialisée par un Plan de Validation (PDV) ou Validation Master Plan (VMP) applicable sur le site pharmaceutique. Le PDV est un document organisationnel détaillant :

- La politique générale de qualification et requalification
- Le type de qualification
- Les rôles et responsabilités de chaque intervenant dans le processus
- Les éléments de formalisation documentaire
- Les ressources allouées à la qualification
- La stratégie de maintien en état qualifié des systèmes
- Le récapitulatif des installations, des équipements, des systèmes et des procédés
- La maîtrise des changements et la gestion des déviations
- Les recommandations pour la détermination des critères d'acceptation
- Les références aux documents existants

Afin d'avoir un document clair, précis et complet et compte tenu du nombre de systèmes à qualifier, le PDV peut être scindé en :

- PDV mère
- PDV filles correspondant à chaque système à qualifier

### 1.3 Vérification

La vérification correspond à toutes les activités permettant d'établir au moyen de preuves documentées que le système testé répond à toutes les exigences du cahier des charges préalablement établi, aux exigences réglementaires en vigueur et qu'il est conforme aux besoins des utilisateurs. Lors de cette phase de vérification, on distingue toutes les étapes d'exécution de la qualification.

#### 1.3.1. Qualification de conception (QC)

Il s'agit de la « Vérification documentée attestant que la conception proposée pour les installations, les systèmes et les équipements convient pour l'objectif visé ». Lors de cette étape toutes les solutions proposées sont étudiées en tenant compte des exigences réglementaires et des spécifications du CCU. Elle aboutit au refus, à l'acceptation ou à la modification des éléments du projet et permet ainsi de justifier les critères de choix.

En terme documentaire, il n'y a pas de document précis exigé par la réglementation. Chaque entreprise est donc libre de formaliser cette étape selon ses critères.

#### 1.3.2. FAT

Le système peut faire l'objet de tests de vérification chez le fournisseur et avant la livraison au client. Ces tests ne sont pas obligatoires et sont souvent demandés pour les systèmes intégrant une nouvelle technologie ou ayant un process complexe.

Certains tests de FAT peuvent être capitalisés dans les étapes de QI et/ou QO à condition de démontrer que le transport et l'installation n'ont aucun impact sur la fonctionnalité du système.

Les FAT comprennent à minima :

- Contrôle de la conformité à la commande et au dossier technique
- Vérification dimensionnelle
- Vérification fonctionnelle en marche normale et dégradée
- Vérification de la conformité des écrans de supervision
- Vérification du repérage du matériel
- Vérification de la présence et de la conformité de la documentation

A cette étape le système est sous la responsabilité du fournisseur.

### 1.3.3. SAT

Les tests de FAT peuvent être complétés par des SAT qui sont des essais de vérification réalisés sur le site client.

Les SAT comprennent à minima :

- Vérification de l'installation et de la connexion aux utilités
- Vérification du dossier technique
- Vérification fonctionnelle en marche normale et dégradée avec les utilités du client
- Vérification du repérage du matériel
- Séquence de démarrage et d'arrêt

A l'issue des SAT et sauf réserve émis par l'utilisateur, le système devient la propriété du client enclenchant ainsi le début de la garantie.

### 1.3.4. Qualification d'installation (QI)

Il s'agit de la vérification du système sans le mettre en fonctionnement. La QI a pour but de s'assurer que le système est correctement installé et qu'il est conforme aux spécifications du CCU. Il doit comprendre à minima :

- Vérification de la bonne installation des composants, de l'instrumentation, des équipements, de la tuyauterie et des utilités par rapport aux schémas techniques et aux spécifications
- Vérification de la conformité de l'installation par rapport aux critères prédéfinis.
- Vérification de la présence et de la conformité de la documentation fournie avec le système
- Collecte, compilation et vérification des instructions de fonctionnement du fournisseur et des exigences de maintenance
- Etalonnage des instruments de mesure
- Vérification des matériaux de construction

### 1.3.5. Qualification opérationnelle (QO)

La QO est déroulée à la suite de la QI et permet de vérifier le système lorsqu'il est mis en fonctionnement. Selon les stratégies de qualification mises en place et la complexité des éléments qualifiés celle-ci peut être couplée à la QI ou à la QP.

L'objectif est de vérifier que le système fonctionne dans le pire des cas (worst-case). Ainsi la QO est réalisée dans les conditions les plus défavorables envisageables lors d'une utilisation de routine. A cette étape, le futur produit n'est pas impliqué. On effectue souvent dans cette étape des :

- Tests développés à partir de la connaissance des procédés, des systèmes et des équipements pour garantir que le système fonctionne comme prévu



- Tests visant à confirmer les limites supérieures et inférieures de fonctionnement et / ou les conditions les plus défavorables

#### 1.3.6. Qualification de performance (QP)

L'objectif de la QP est de vérifier le bon fonctionnement du système dans les conditions réelles d'utilisation. L'entreprise doit fournir la preuve documentée que le processus, exploité selon les paramètres établis, peut fonctionner efficacement et de manière reproductible pour produire un médicament répondant à des spécifications et attributs de qualité prédéterminés.

Cette démonstration comprend les tests et les conditions nécessaires pour confirmer que le système est robuste, capable et répétable et permet d'autoriser son usage en routine.

La QP est déroulée à la suite de la QI et de la QO. Elle peut être couplée à la QO. Elle doit comprendre à minima :

- Tests utilisant les matériaux de production, des substituts qualifiés ou un produit de simulation présentant un comportement équivalent dans des conditions de fonctionnement normales ou en conditions worst-case
- Tests couvrant la plage de fonctionnement du procédé visé, sauf indication contraire

#### 1.3.7. Documents de la phase de vérification

Toutes les vérifications effectuées sur les systèmes qualifiés doivent être tracées. Cette traçabilité est assurée au travers de divers documents établis en amont, au cours ou en aval des qualifications.

#### **Analyse de risques**

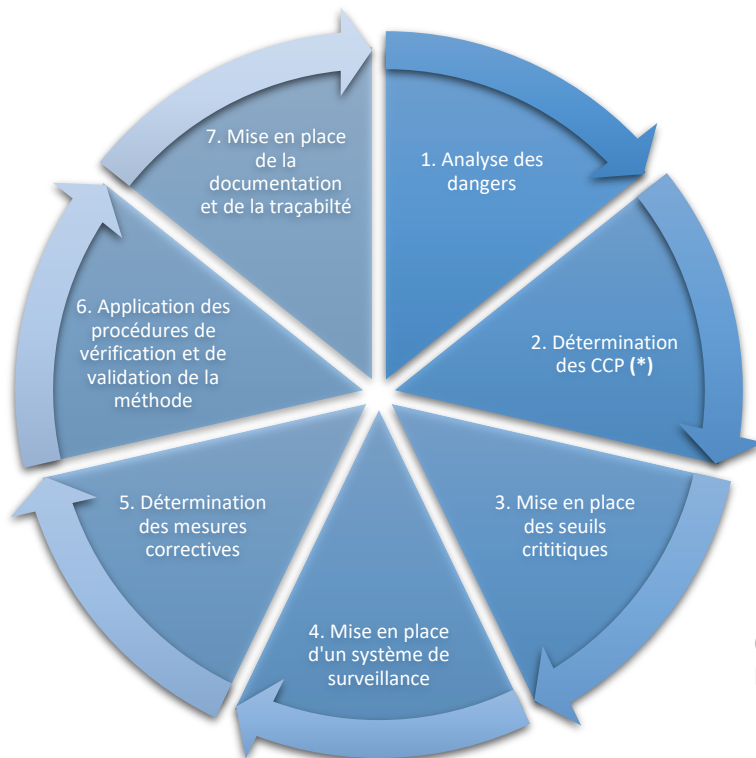
Bien que les analyses de risques puissent intervenir bien en amont de la phase de vérification, elles sont souvent utilisées pour déterminer les situations les plus à risques permettant ainsi de définir les configurations « worst-case » à prendre compte lors de la qualification. Il existe plusieurs méthodes de détermination des risques présentées de façon succincte ci-dessous :

- AMDEC ou FMECA

Méthode préventive d'évaluation de la défaillance en se basant sur l'expérience et la connaissance d'un système. Cette méthode permet de prendre en considération les défaillances, leurs causes potentielles et leurs effets. Lors d'une AMDEC, l'évaluation est établie au moyen d'une analyse qualitative (observation des relations de cause à effet de la défaillance d'un système) et quantitative (cotation basée sur la gravité, la fréquence et la détectabilité).

- HACCP

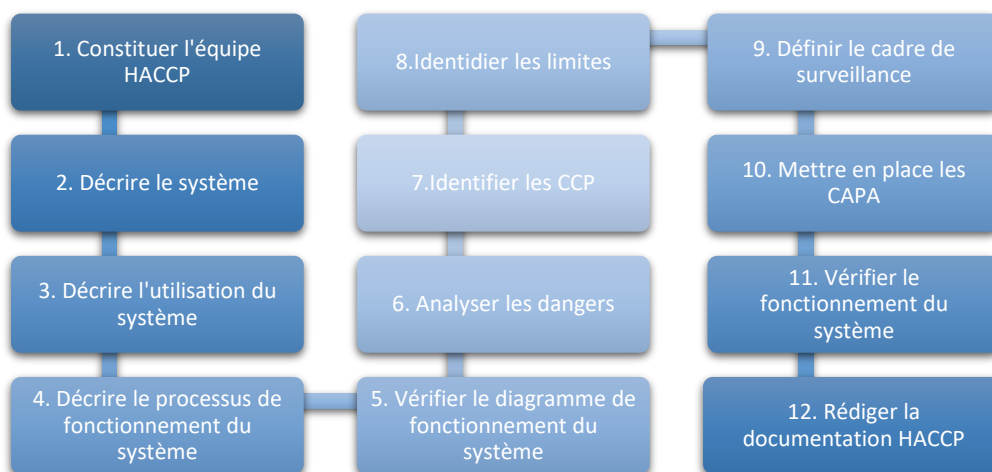
Méthode ayant pour objectif de prévenir, réduire ou éliminer à un niveau acceptable les dangers chimiques, physiques et biologiques. Elle se base sur 7 principes.



(\*) CCP = Critical Control Point – Point critique de contrôle

*Figure 23 : Les 7 principes de la méthode HACCP <sup>(21)(22)</sup>*

Les 7 principes ci-dessus sont établis en 12 étapes présentées dans le schéma suivant :



*Figure 24 : Les 12 étapes de la méthode HACCP <sup>(29)</sup>*

La mise en place de cette méthode peut nécessiter la décomposition du système en plusieurs sous-systèmes.

- HAZOP

Méthode permettant d'identifier, d'évaluer et de contrôler les dangers en se basant sur l'association d'un mot clé à un risque identifié sur un paramètre du système. La construction de ce type d'analyse de risque se fait selon 4 étapes principales :



*Figure 25 : Les étapes de la méthodes HAZOP <sup>(23)</sup>*

- APR (24)

Méthode qualitative et inductive visant à identifier les dangers d'un système et leurs causes ainsi qu'à évaluer les conséquences de ces derniers. Cette méthode permet également de définir les moyens permettant d'atténuer ces dangers.

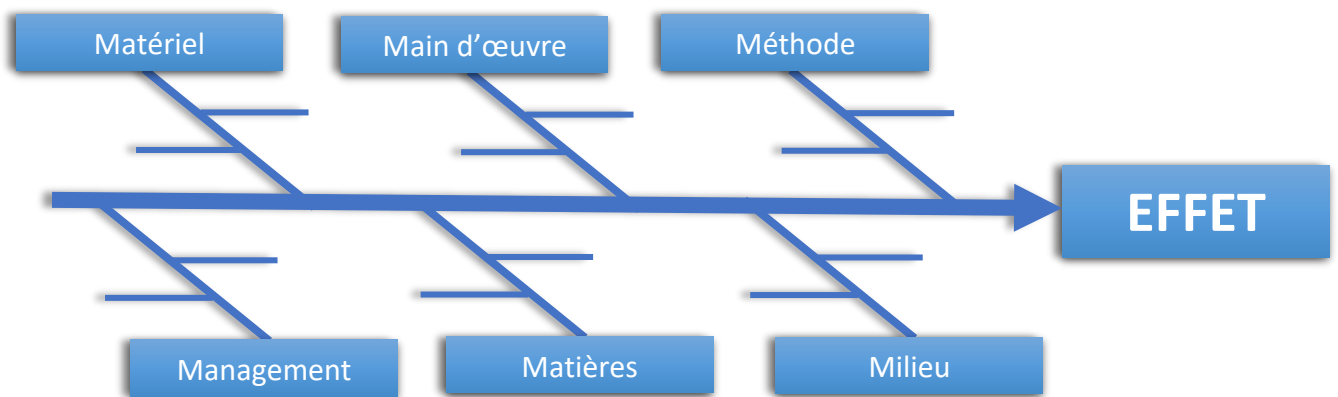
1.4. Diagramme d'Ishikawa (25) (26)

Méthode visuelle permettant d'identifier toutes les causes probables d'une défaillance. Les causes sont classées en 5 catégories :

- Milieu : conditions physiques des locaux et de l'environnement
- Matériel : équipement, matériel impliqué (qualification, étalonnage, utilisation...)
- Main d'œuvre : personnel (formation, habilitation...), interventions humaines (type d'interventions, nombre de personnes impliquées)
- Méthode : mode opératoire, protocole et procédures appliqués
- Matières : matières premières, composition des éléments utilisés

Dans certaines entreprises, le diagramme d'Ishikawa peut être adapté et avoir une ou deux catégories de plus :

- Management : méthode d'encadrement, délégation, organigramme
- Moyens financiers : budget alloué, coûts



*Figure 26 : Exemple d'un Diagramme d'ISHIKAWA à 6 M*

### **Protocole**

Les protocoles sont les documents à dérouler lors de l'exécution des qualifications. Ils comprennent à minima :

- Une référence unique
- Le type de qualification effectué : QC, QI, QO, QP
- Les référentiels à prendre en compte
- Le périmètre de l'exécution
- Les rôles et responsabilités de chaque intervenant
- Les conditions d'exécution
- Les méthodes à appliquer pour les tests et les mesures
- Les critères d'acceptation
- Les fiches de tests adaptés et comprenant une partie pour la personne exécutant les tests et une partie réservée au vérificateur
- Les modalités de gestion des anomalies

Une fois rédigé, le protocole doit être vérifié et approuvé dans la plupart des cas par l'Assurance qualité du site.

### **Fiches d'anomalies (écarts et déviations)**

Au cours de l'exécution des tests, différents événements sont susceptibles d'apparaître :

- Résultats non conformes
- Non-respect du protocole
- Erreur dans le protocole
- Données brutes manquantes

Dans ce cas, le personnel ayant détecté l'évènement doit rédiger une fiche d'anomalie. En fonction du type d'écart et du système documentaire de l'entreprise, il existe différentes fiches d'anomalies :

- Fiche d'observation : ces fiches sont établies lorsqu'une erreur est constatée dans le protocole telle que l'absence d'unités de mesures ou la présence d'une erreur de saisie
- Fiche d'écart ou de non-conformité : mise en place lors de l'obtention de résultats non conformes
- Fiche de déviation : rédigée dans le cas où un élément du protocole n'a pas été respecté comme l'utilisation du mauvais produit, du mauvais matériel ou de la mauvaise méthode d'analyse.

### **Rapport**

A l'issue de chaque qualification, un rapport doit être rédigé afin de donner un statut validé ou non au système. Le rapport doit contenir à minima :

- Une référence unique
- Un renvoi au protocole auquel il est associé
- Une synthèse des résultats obtenus en tenant compte des anomalies ayant pu survenir tout au long de la qualification
- Une conclusion avec soit :
  - Une autorisation ou non du passage à l'étape suivante telle que le passage de la QI à la QO ou le passage de la QO à la QP
  - Une autorisation ou non de l'utilisation du système

Il est à noter que seule l'assurance qualité du site peut donner les autorisations citées ci-dessus.

Tout comme les protocoles, les rapports font mention de l'identité d'un rédacteur, d'un vérificateur et d'un approbateur.

#### 1.4 Requalification ou Réévaluation périodique du statut validé

Tout système qualifié doit faire l'objet d'une requalification périodique de son statut validé. Cette fréquence est définie en fonction de la criticité du système et en tenant compte des éléments ci-dessous :

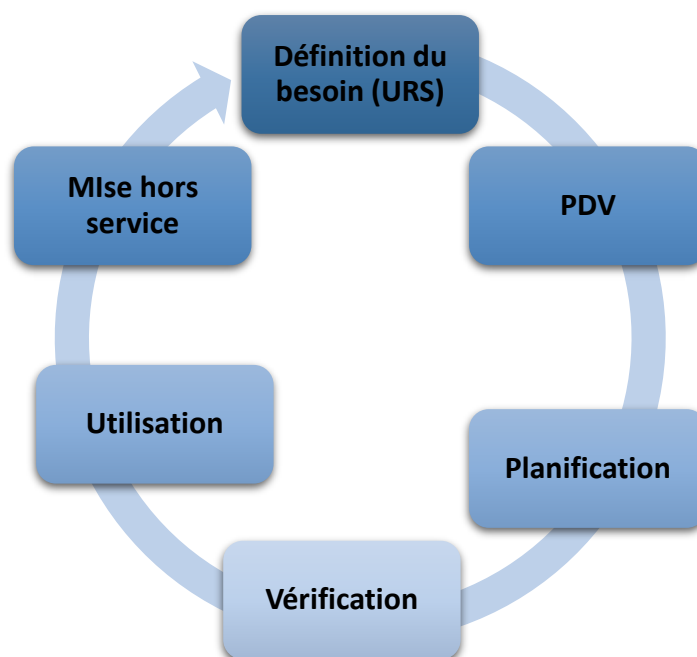
- Analyse des tendances : les tendances permettent de démontrer l'efficacité du système dans son utilisation de routine. Pour les ZAC, les tendances se basent sur les données obtenues lors des contrôles environnementaux effectués périodiquement (particules et microorganismes) et sur les résultats des CAPA mises en place.
- Revue systématique des changements et des déviations associés au système

## 1.5 Decommissioning

Le « decommissioning » correspond au retrait du système. Comme toute activité pharmaceutique, cette étape doit être tracée conformément au système qualité du site et au PDV. Tout decommissioning doit obligatoirement faire l'objet d'un change control.

## 2. Conclusion

La qualification d'un système est un cycle continu. C'est une étape primordiale dans la fabrication de médicaments sûrs et efficaces.



*Figure 27 : Cycle de la vie d'un système*

# TROISIEME PARTIE : CAS PRATIQUE DE LA QUALIFICATION D'UN ZONE REPARTITION ASEPTIQUE

## I. CONTEXTE

Le laboratoire que nous allons nommer « X » pour des raisons de confidentialité est un établissement ayant toujours produit des formes sèches : gélules, comprimés, capsules. Cependant, face à l'émergence de la Covid-19, celui-ci décide de mettre en place une zone de remplissage aseptique dans l'optique de fabriquer des traitements stériles pour la lutte contre la Covid-19. La fabrication se fait à l'échelle clinique et parmi les traitements envisagés on trouve des vaccins.

### 1. Présentation de la zone de remplissage aseptique

Dans cette partie nous allons nous concentrer sur la zone de remplissage aseptique. La conception des locaux a été réalisée à partir d'une zone de production déjà existante mais inutilisée depuis quelques temps. Ainsi une qualification de la zone est nécessaire. Les modifications apportées sont couvertes par un change control.

La zone de remplissage aseptique est composée :

- D'un couloir de classe D
- D'un sas personnel entrée
- D'un sas personnel sortie

Les sas entrée et sortie sont séparés mais sont construits de la même manière et possèdent les mêmes caractéristiques. Ils sont de classe C.

- D'un sas matériel entrée
- D'un sas matériel sortie

Les sas matériels sont également de classe C.

- D'un isolateur de répartition en surpression et de classe A
- De mobilier : armoire de stockage, chariot et bureaux

La zone est alimentée par une CTA double flux utilisant de l'air neuf et de l'air recyclé.



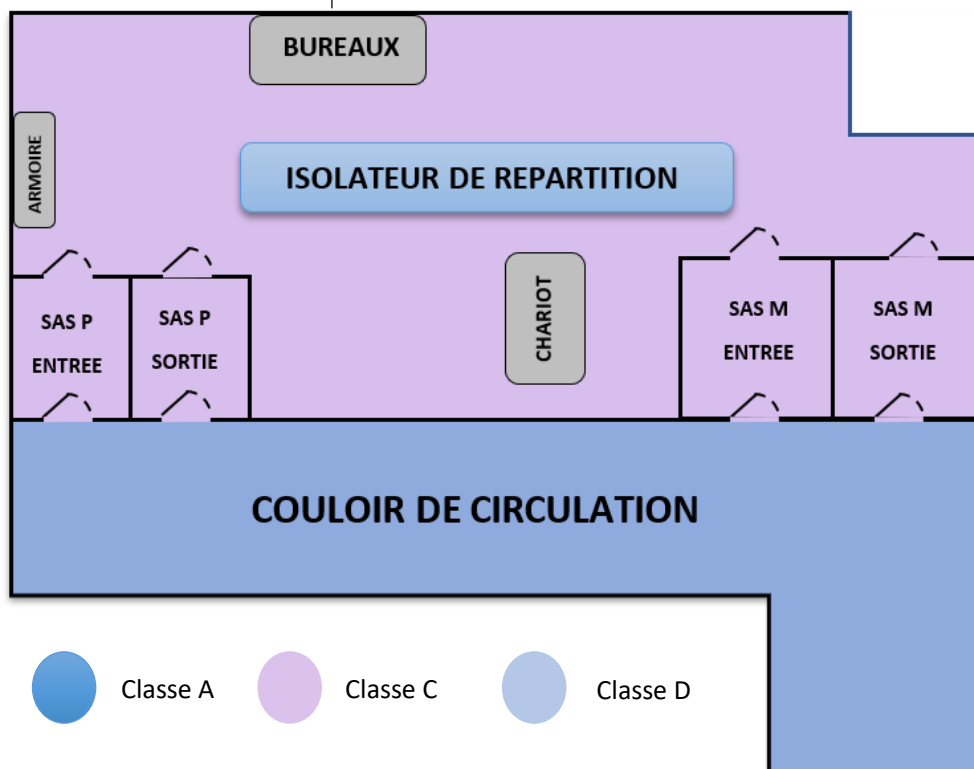


Figure 28 : Zone de répartition aseptique destinée à la production de vaccins anti Covid-19

## 2. Caractéristiques physiques de la zone

Les caractéristiques de la zone à qualifier sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Local	Surface (m <sup>2</sup> )	Hauteur (m)	Volume (m <sup>3</sup> )	Température (°C)	Humidité (%)	Pression différentielle (Pa)	TRH (Vol/h)
Sas personnel entrée	4,85	2,50	12,13	20+/-3	30%<HR<60%	45	30
Sas personnel sortie	4,95	2,50	12,38	20+/-3	30%<HR<60%	15	30
Sas matériel entrée	5,12	2,50	87,50	20+/-3	30%<HR<60%	45	30
Sas matériel sortie	5,10	2,50	12,80	20+/-3	30%<HR<60%	15	30
Salle de répartition aseptique	35,00	3,00	15,30	20+/-3	30%<HR<60%	30	30
Couloir de circulation	45,00	2,50	112,5	20+/-3	30%<HR<60%	30	30

Tableau 15 : Récapitulatif des caractéristiques des zones à qualifier

## II. QI/QO HVAC/CTA

### 1. QI de la CTA

#### 1.1 Tests à dérouler

Comme indiqué plus haut, la QI consiste à vérifier l'installation du système. Pour les CTA les tests à dérouler sont les suivants :

- Vérification des pré-requis :
  - Obtention de l'autorisation de passage en QI à la suite des FAT et/ou des SAT, le cas échéant à la suite de la QC. Ces étapes doivent être conformes ou acceptées en l'état sans la présence d'éléments bloquants.
  - D'autres critères peuvent être intégrés au pré-requis comme la réalisation des plans de prévention. Tout dépend de la stratégie mise en place par le site.
- Vérification documentaire :

On vérifie que toute la documentation liée à la CTA est présente et conforme. Les documents nécessaires sont :

- Les plans notamment les PID
  - Les fiches techniques
  - L'analyse fonctionnelle
  - Les certificats de conformité notamment ceux des filtres
  - Les certificats d'étalonnage (exemple : certificat d'étalonnage des sondes de température, pression et hygrométrie, des appareils de mesures)
  - Les schémas électriques
  - Le manuel d'utilisation contenant toutes les précautions d'emploi et des recommandations d'entretien
- Vérification de la présence et des caractéristiques des composants : quantité, matériaux utilisés, emplacement, dimensions

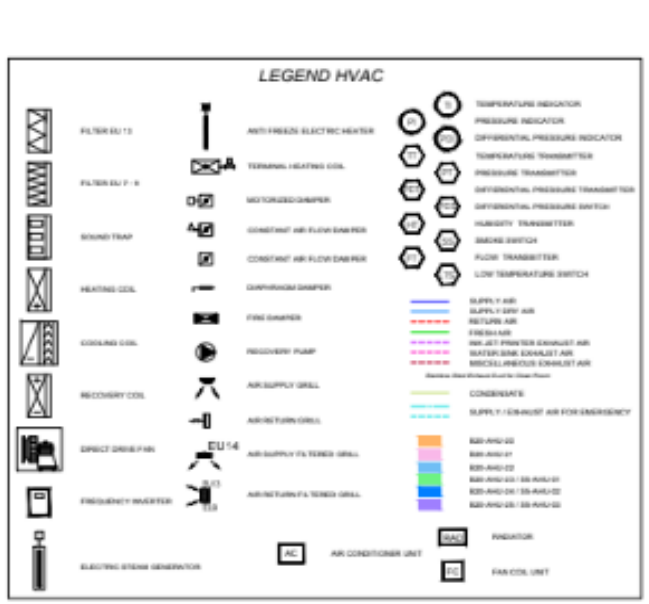
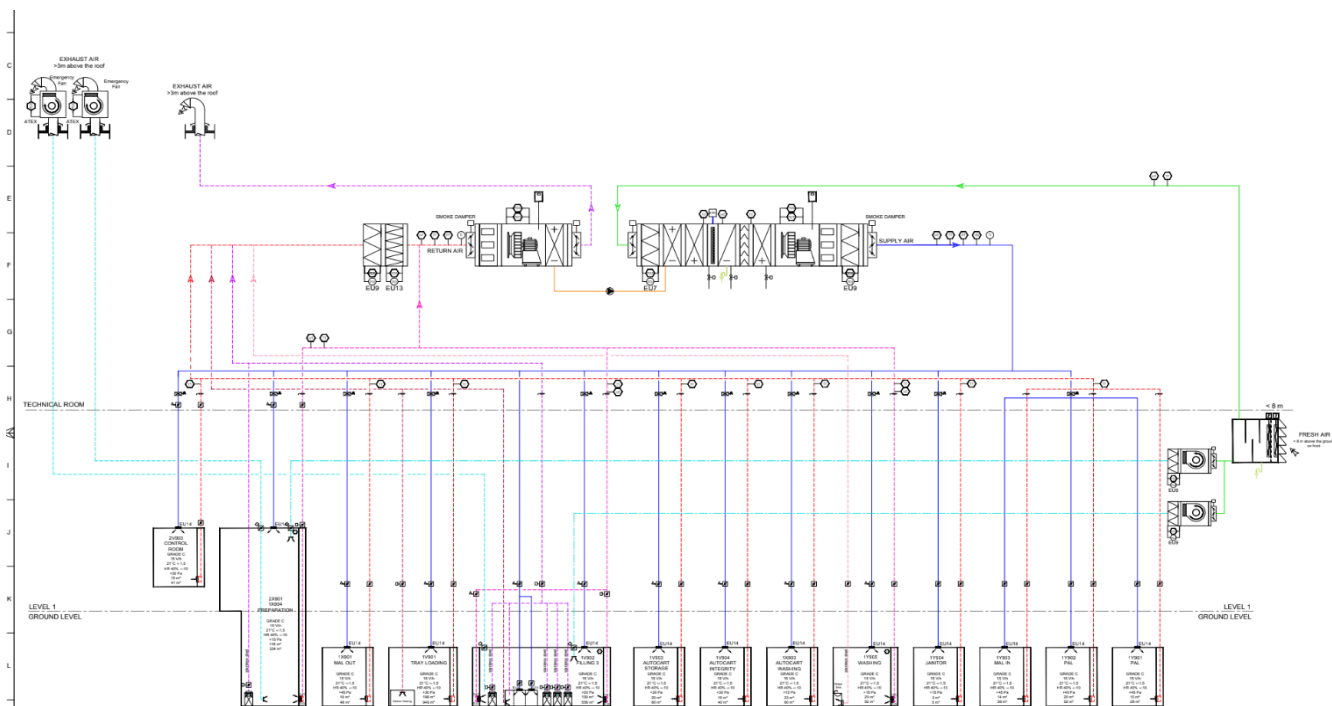
#### 1.2 Vérification du PID

Le PID est un schéma représentatif du système de traitement d'air. Il doit comprendre :

- Les différents équipements comme les ventilateurs, les batteries, les registres, les filtres mais aussi les vannes et les capteurs,
- Leur identification,
- Leur emplacement tel que mise en place sur le site.

On doit également retrouver du point de vue bonnes pratiques documentaires :

- Les légendes,
- La cartouche contenant : la référence du document, l'historique des versions, l'identité du rédacteur, du vérificateur et de l'approbateur
- Le schéma avec les composants (vannes, registres, batterie, déshumidificateurs...), les connexions entre chaque élément et les identifications associées.



**Figure 29 : Exemple de PID représentant un système HVAC**

### 1.3 Résultats

Lors de la vérification des différentes versions du PID, plusieurs non-conformités ont été identifiées et traitées selon la stratégie du site :

Non-conformité	Criticité	CAPA
Erreur d'identification des filtres	Mineur	Correction dans la nouvelle version du PID
Type de vanne non conforme : la vanne installée ne correspond pas au schéma	Mineur	
Absence d'identification physique sur le système de traitement d'air : capteur de pression, batterie chaude et ventilateur	Mineur	Mise en place d'un TAG d'identification des éléments cités
Erreur de versioning et format de date non conforme	Mineur	Correction dans la nouvelle version du PID

Tableau 16 : Exemple de non-conformités relevées lors de la vérification du PID

## 2. QO de la CTA

### 2.1 Tests à dérouler

Les tests de QO à réaliser sont :

- Vérification des prérequis : obtention de l'autorisation de passage en QO à la suite d'une QI conforme et sans incidents bloquants
- Vérification des registres de soufflage et de reprise
- Mesure des pressions différentielles, de la température et de l'humidité relative des salles
- Mesure des vitesses d'air de soufflage et de reprise
- Calcul du taux de renouvellement horaire (TRH)
- Mesure des débits d'extraction
- Tests d'intégrité des filtres par test Emery
- Schémas aérauliques ou tests de fumée des salles

### 2.2 Test d'intégrité des filtres

Ce test permet de vérifier :

- La bonne installation des filtres
- L'absence de fuite sur tous les composants des filtres (cadres, joints, systèmes de support...)

Il existe 2 méthodes de test présentées dans la norme 14644-3 :

- Méthode photométrique
- Méthode réalisée à l'aide d'un compteur discret de particules

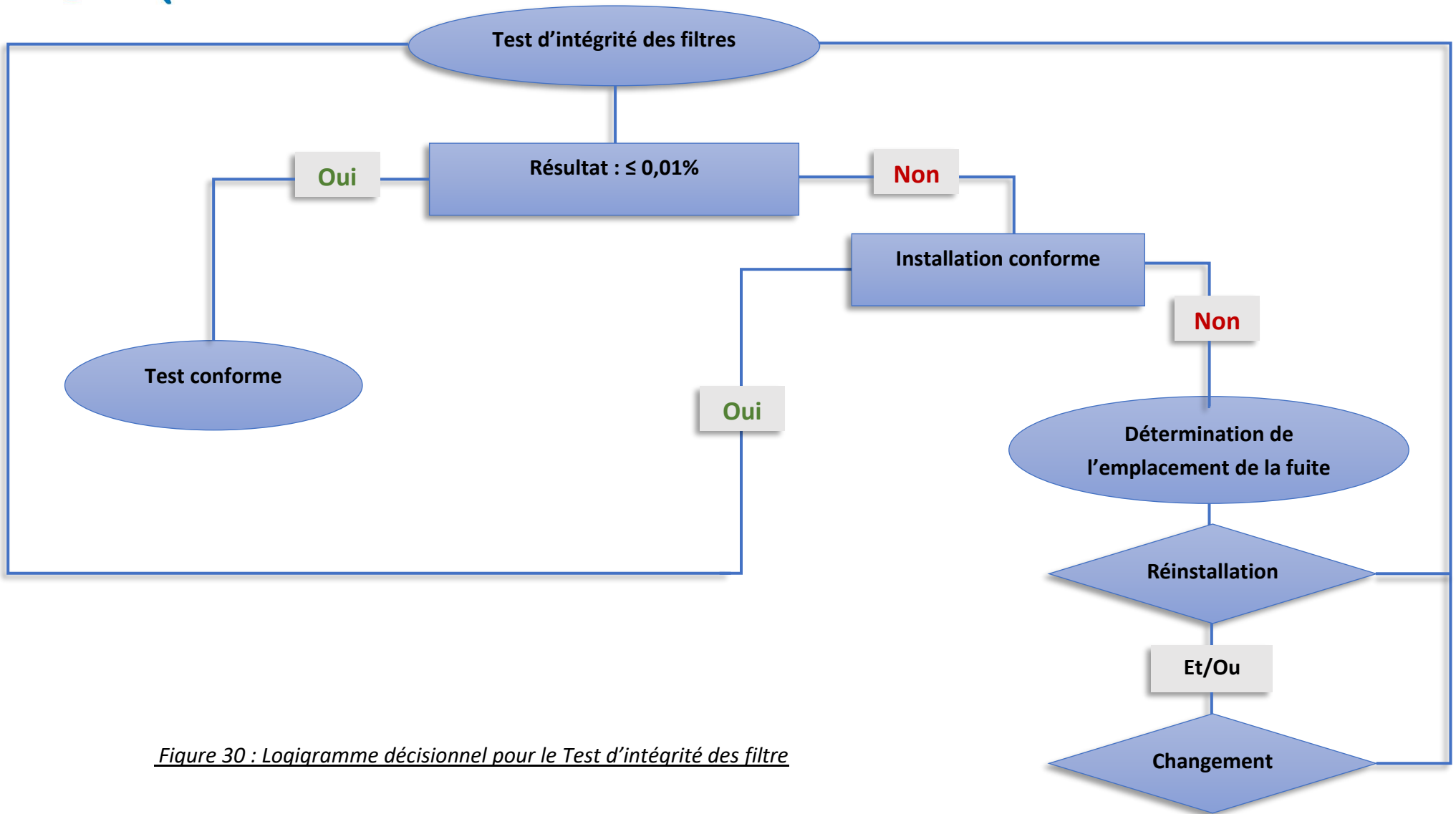
Dans le cas présenté, la méthode photométrique est utilisée. Ce test consiste à réaliser une mesure comparative entre la concentration d'un aérosol calibré polydispersé (Emery 3004) en amont du filtre et celle mesurée en aval au moyen d'une sonde photométrique. L'aérosol est diffusé de manière continue et la mesure est faite par balayage pour les filtres terminaux et par mesure globale pour les filtres de la CTA.

La concentration en aérosol est comprise entre 10 et 100 mg/m<sup>3</sup>.

Pour que le test soit conforme, le taux de pénétration doit être inférieur ou égal à 0,01%.

### 2.3 Résultats

Sur l'ensemble des filtres testés, 3 filtres se sont révélés être non conformes. Afin de déterminer les actions à mettre en place en cas de non-conformité, un logigramme a été édité.



*Figure 30 : Logigramme décisionnel pour le Test d'intégrité des filtre*

Les résultats de ces 3 filtres sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Filtre	Pourcentage de pénétration	Non-conformité	CAPA
<b>Résultats après exécution du test</b>			
F1	0,0400	Filtre endommagé	Changement de filtre
F2	0,0200	Montage défectueux du filtre	Réinstallation du filtre
F3	0,0450	Filtre endommagé	Changement de filtre
<b>Résultats après mise en place des CAPA</b>			
F1	0,0002	Test conforme	CAPA efficace
F2	0,0002	Test conforme	CAPA efficace
F3	0,0002	Test conforme	CAPA efficace

*Tableau 17 : Récapitulatif des non-conformités du Test Emery*

### III. QP

#### 1. Pré-requis

Les éléments ci-dessous doivent être mis en place avant l'exécution des essais :

- Obtention de l'autorisation de passage en QP à la suite d'une QO conforme et sans incidents bloquants
- Procédures et modes opératoires en place : habillage, nettoyage, flux, méthodes et procédés de fabrication
- Intervenants formés et habilités : producteurs, préleveurs, agents de nettoyage, personnel de maintenance...
- Mise à blanc et désinfection des locaux préalablement réalisées et conformes.

#### 2. Configuration de la salle lors des QP

La QP est réalisée dans les conditions réelles de fabrication et selon les 2 configurations de la salle :

- Au repos

« Etat dans lequel tous les systèmes de traitement de l'air et les installations sont en fonctionnement, mais sans personnel et avec des équipements non utilisés. Les limites particulières pour l'état au repos doivent être atteintes après un bref temps d'épuration d'environ 15 à 20 minutes après la fin des opérations. » (Annexe 1, BPF, 2022). La QP au repos est déroulée sur 1 run. La QP au repos est conforme lorsque le run est conforme.

- En activité

« Etat dans lequel tous les équipements et installations fonctionnent et le personnel travaille conformément au procédé de fabrication. » (Annexe 1, BPF, 2022).

La QP en activité se déroule en 3 runs. La qualification est considérée conforme lorsqu'on obtient 3 runs consécutifs et conformes.

La QP peut être réalisée lors de la fabrication des lots tests (water run ou lot technique). Le cas échéant une simulation des activités peut être mise en place à condition d'être représentative des conditions de fabrication de routine.

### 3. Qualification particulière

#### 3.1 Méthodologie de réalisation

##### 3.1.1. Matériel

La qualification particulière est réalisée à l'aide d'un compteur de particules étalonné et permettant le dénombrement des particules présentes dans l'air de la salle. Plusieurs tailles de particules peuvent être mesurées. Dans le cas des ZAC pharmaceutiques, on considère les particules de taille supérieure ou égale à  $0,5\mu\text{m}$  et à celles dont la taille est supérieure ou égale à  $5\mu\text{m}$ .



Figure 31 : Exemple de compteur particulaire de la marque TSI <sup>(50)</sup>

Les compteurs particuliers génèrent les résultats obtenus sous formes de tickets qui seront collés sur les fiches de tests correspondantes, photocopiés et joints dans le protocole en tant que données brutes.



### 3.1.2. Volume à prélever

Le volume à prélever est déterminé au moyen de la formule présentée dans la norme ISO 14644-1 :

$$V_s = (20 \div C_{u,m}) \times 1000$$

Avec :

- 20 : nombre de particules qui seraient comptées si la concentration en particules atteignait la limite de la classe visée
- $V_s$  : volume minimal d'échantillonnage (exprimé en L)
- $C_{u,m}$  : nombre maximum de particules autorisé dans la classe particulaire visée pour la taille de particule la plus élevée (exprimé en particules/m<sup>3</sup>)

Il est à noter que le volume minimum acceptable est de 2L pour chaque point. La mesure se fait sur une durée de 1 minute.

Par exemple pour déterminer le volume à prélever dans le cas d'une salle de classe C et pour des particules de 5 $\mu$ m nous avons :

Classe particulaire	Critères d'acceptation : Particules de 5 $\mu$ m (part/m <sup>3</sup> )		Vs (L)			
	Au repos	En activité	Au repos		En activité	
			Calcul	Résultat	Calcul	Résultat
C	3 520 000	29 000	$\frac{20}{3\,520\,000} \times 1000$	0,006	$\frac{20}{3\,520\,000} \times 1000$	0,690

Tableau 18 : Détermination du volume à prélever pour les particules de 5 $\mu$ m

La capacité du compteur utilisé étant de 28,3L/min, le volume prélevé est équivalent à 28,3L pendant 1 minute.

### 3.1.3. Détermination du nombre de points de prélèvement particulière

En fonction de la surface de la salle à qualifier, il existe un nombre de points de prélèvements minimum à respecter ( $N_L$ ). Ce nombre garantit qu'au moins 90 % de la surface de la salle ne dépassent pas les limites de classe, avec un indice de confiance d'au moins 95%. La norme 14644-1 donne le tableau d'aide ci-dessous :

Surface de la salle propre (m <sup>2</sup> ) inférieure ou égale à	Nombre minimal de points de prélèvement ( $N_L$ )
2	1
4	2
6	3
8	4
10	5
24	6
28	7
32	8
36	9
52	10
56	11
64	12
68	13
72	14
76	15
104	16
108	17
116	18
148	19
156	20
192	21
232	22
276	23
352	24
436	25
636	26
1 000	27
> 1 000	Voir la Formule (A.1)
NOTE 1 à l'article: Si la surface de la zone considérée tombe entre deux valeurs dans le tableau, il convient de retenir la plus grande.	
NOTE 2 à l'article: Dans le cas d'un flux unidirectionnel, la surface à prendre en compte peut être considérée comme étant le plan de coupe perpendiculaire au sens d'écoulement de l'air. Dans tous les autres cas, la surface considérée sera le plan horizontal de la salle propre ou de la zone propre.	

**Tableau 19 : Points de prélèvement particulière en fonction de la surface de la salle propre** <sup>(20)</sup>

Le nombre de points à prélever peut être augmenté en fonction de la criticité de la salle. Cette augmentation doit être préalablement justifiée.

### 3.1.4. Détermination de l'emplacement des points de prélèvement particulière

La disposition des points de contrôle est déterminée selon les étapes suivantes :

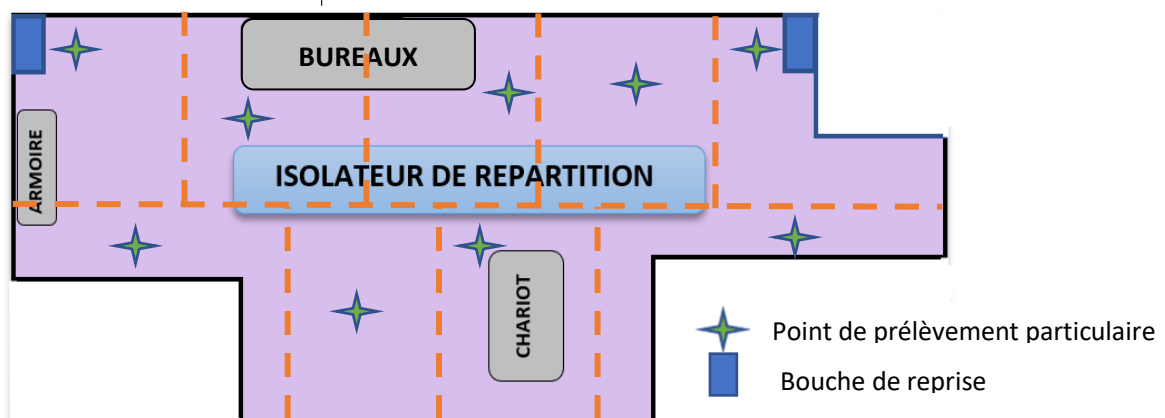
- Découpage préalable la salle en plusieurs parties égales selon le nombre de points de prélèvement minimum.
- Mise en place du point de prélèvement au niveau de l'emplacement le plus critique de la zone.

Une argumentation a été établie pour justifier l'emplacement des contrôles particuliers. Cette justification est déterminée à l'aide d'une analyse de criticité tenant compte :

- Du flux d'air
- Des résultats des schémas aérauliques réalisés lors des phases de QO : les zones mortes étant critiques, un point de contrôle est placé à leur niveau.
- Du type d'activité réalisé dans le local
- Du contact produit : il existe 3 types de contact
  - Direct : situation dans laquelle un élément donné (équipement, matériel, articles de conditionnement, local...) est directement liée au produit
  - Indirect : situation dans laquelle un élément donné (équipement, matériel, articles de conditionnement, local...) est lié à un autre élément critique qui lui est en contact direct avec le produit
  - Sans contact : situation dans laquelle un élément donné (équipement, matériel, articles de conditionnement, local...) n'a aucun lien avec le produit
- Et des différents flux : personnel, matériel et matière

Les positions des points de prélèvement restent inchangées entre le run au repos et les runs en activité.

Le schéma ci-dessous présente le découpage réalisé pour la salle de répartition aseptique et les emplacements des points de prélèvement définis :



**Figure 32 : Découpage et emplacement des points de prélèvement particulière de la salle de répartition**

Le tableau ci-dessous présente les différents emplacements sélectionnés et leur justification :

Salle	Surface (m <sup>2</sup> )	Nombre de points	Référence du point	Emplacement	Justification
Sas personnel entrée	4,85	3	SPE01	Au centre, en face de la porte d'entrée	Contact avec une zone de classe inférieure Flux personnel impliquant des mouvements de portes et l'habillage du personnel
			SPE02	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			SPE03	Au centre	Flux personnel
Sas personnel sortie	4,95	3	SPS01	Au centre, en face de la porte d'entrée	Contact avec une zone de classe inférieure, flux personnel impliquant des mouvements de portes et déshabillage du personnel
			SPS02	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			SPS03	Au centre	Flux matériel Flux personnel
Sas matériel entrée	5,12	4*	SPM01	A proximité de la porte	Contact avec une zone de classe inférieure Flux matériel impliquant des opérations de décontamination et d'ouverture de sachets pouvant générer des particules
			SPM02	Au centre	Flux matériel Flux personnel
			SPM03	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			SPM04	Au centre	Flux matériel Flux personnel

Salle	Surface (m <sup>2</sup> )	Nombre de points	Référence du point	Emplacement	Justification
Sas matériel sortie	5,10	4**	SPM01	Au centre	Flux matériel Flux personnel
			SPM02	A proximité de la porte	Flux matériel Flux personnel
			SPM03	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			SPM04	A proximité de la porte	Contact avec une zone de classe inférieure Flux matériel Flux personnel
Salle de répartition aseptique	35,00	9	SRA01	Au centre	Flux personnel Flux matériel Flux matière
			SRA02	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			SRA03	Au centre, entre le bureau 1 et l'entrée de l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
			SRA04	Au centre, entre le bureau 3 et le milieu l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
			SRA05	Au centre	Flux personnel Flux matériel Flux matière
			SRA06	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			SRA07	Au centre	Flux personnel Flux matériel, Flux matière

Salle	Surface (m <sup>2</sup> )	Nombre de points	Référence du point	Emplacement	Justification
Salle de répartition aseptique	35,00	9	SRA08	Au centre	Flux personnel Flux matériel Flux matière
			SRA09	Au centre, entre le chariot et l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
Couloir de circulation	45,12	10	CDC01	Au plus près de la bouche de reprise	Trajet du flux d'air
			CDC02	Au centre	Flux personnel Flux matériel
			CDC03	Au centre	Flux personnel Flux matériel
			CDC04	Au centre	Flux personnel Flux matériel
			CDC05	Au centre	Flux personnel, Flux matériel
			CDC06	Au centre	Flux personnel, Flux matériel
			CDC07	Au centre	Flux personnel, Flux matériel
			CDC08	Au centre	Flux personnel
			CDC09	A proximité du chariot	Risque de présence d'une zone morte
			CDC10	Au plus près de la bouche de reprise	Circuit du flux d'air

\* Le sas matériel entrée permet l'introduction de matériel entrant dans l'isolateur de répartition. Ce matériel pouvant être placé dans les zones critiques de l'isolateur, le nombre de points prélèvement est augmenté à ce niveau.

\*\*Le nombre de points de prélèvement dans le sas matériel sortie est augmenté afin de tenir compte de la similitude qu'il a avec le sas matériel entrée.

*Tableau 20 : Ar argumentaire des emplacements définis pour la qualification particulière*

### 3.1.5. Mode opératoire

Le mode opératoire de la QP particulière est le suivant :

- Vérifier le comptage à 0 du compteur particulière
- Vérifier l'état d'occupation de la salle :
  - Au repos : absence de personnel, équipements en place et en mode hors production, positionnement conforme du mobilier et selon les plans
  - En activité : présence du nombre de personne autorisé, équipements en mode production, mobilier en place, réalisation ou simulation des activités de routine
- Placer la sonde de prélèvement face à l'écoulement d'air
- Prélever le volume d'air préalablement défini
- Vérifier l'atteinte des critères d'acceptation :
  - Si les critères d'acceptation sont atteints : le test est conforme
  - Si un résultat non conforme est dû à un incident anormal identifié, alors la valeur du point de prélèvement concernée peut être éliminée et notée comme telle sur le rapport d'essai et un nouveau prélèvement peut être réalisé
  - Si un résultat non conforme est dû à une défaillance technique de la ZAC, il faut alors réaliser une investigation afin d'en identifier la ou les cause(s) et mettre en place des CAPA. Il faut également réaliser de nouveaux prélèvements au niveau du point de prélèvement non conforme, des points adjacents et de tout autre point impacté. (Norme ISO 14644).

### 3.2 Résultats

Le tableau ci-dessous présente la synthèse des résultats obtenus :

Salle	Référence du point	Au repos	En activité		
		Run 1	Run 1	Run 2	Run 3
Sas personnel entrée	SPE01				
	SPE02	CF	CF	CF	CF
	SPE03				
Sas personnel sortie	SPS01				
	SPS02	CF	CF	CF	CF
	SPS03				
Sas matériel entrée	SPM01				
	SPM02	CF	CF	CF	CF
	SPM03				
Sas matériel sortie	SPM01				
	SPM02	CF	CF	CF	CF
	SPM03				
Zone de répartition aseptique	SRA01				
	SRA02				
	SRA03				
	SRA04				
	SRA05	CF	CF	CF	CF
	SRA06				
	SRA07				
	SRA08				
	SRA09				
Couloir de circulation	CDC01				
	CDC02				
	CDC03				
	CDC04				
	CDC05	CF	CF	CF	CF
	CDC06				
	CDC07				
	CDC08				
	CDC09				
	CDC10				

Tableau 21 : Récapitulatif des résultats obtenus pour la classification particulière

Tous les essais étant conformes, les salles respectent les classes préalablement revendiquées.



## 4. Qualification microbiologique

### 4.1 Méthodes appliquées

#### **Aérobio-contamination active**

Ce contrôle permet de déterminer le niveau de contamination de l'air en circulation au moyen d'un collecteur d'air et d'une boîte de gélose TSA de 90 mm de diamètre. Il existe différents types de collecteurs. Dans notre cas, le collecteur utilisé est à impaction. Le volume prélevé est de 1m<sup>3</sup>.



*Figure 33 : Exemple de bio-collecteur* <sup>(53)</sup>

#### **Aérobio-contamination passive**

Cette méthode permet de mesurer le taux de contamination de l'air par sédimentation. Une boîte de gélose de 90mm de diamètre est déposée au point de prélèvement pendant maximum 4 heures. Au-delà de 4 heures, la gélose est changée.



*Figure 34 : Gélose TSA 90mm de Thermo Fisher* <sup>(61)</sup>

### **Biocontamination des surfaces**

Cette méthode permet de mesurer le taux de contamination des surfaces de la salle. Elle est réalisée avec :

- Une gélose de contact accompagnée d'un dispositif temporisé permettant de garantir la reproductibilité du prélèvement. Ce matériel est applicable uniquement sur les surfaces planes et lisses. Le diamètre de cette gélose est de 55mm.



*Figure 35 : Gélose TSA 90mm de chez Merck Millipore* <sup>(59)</sup>

- Un écouvillon de type B. Ce matériel est utilisé pour le prélèvement des surfaces non accessibles par gélose de contact. Le contenu de l'écouvillon est ensuite transféré sur une boîte de gélose de 90mm de diamètre. Le transfert écouvillon – gélose se fait selon une méthode bien définie.

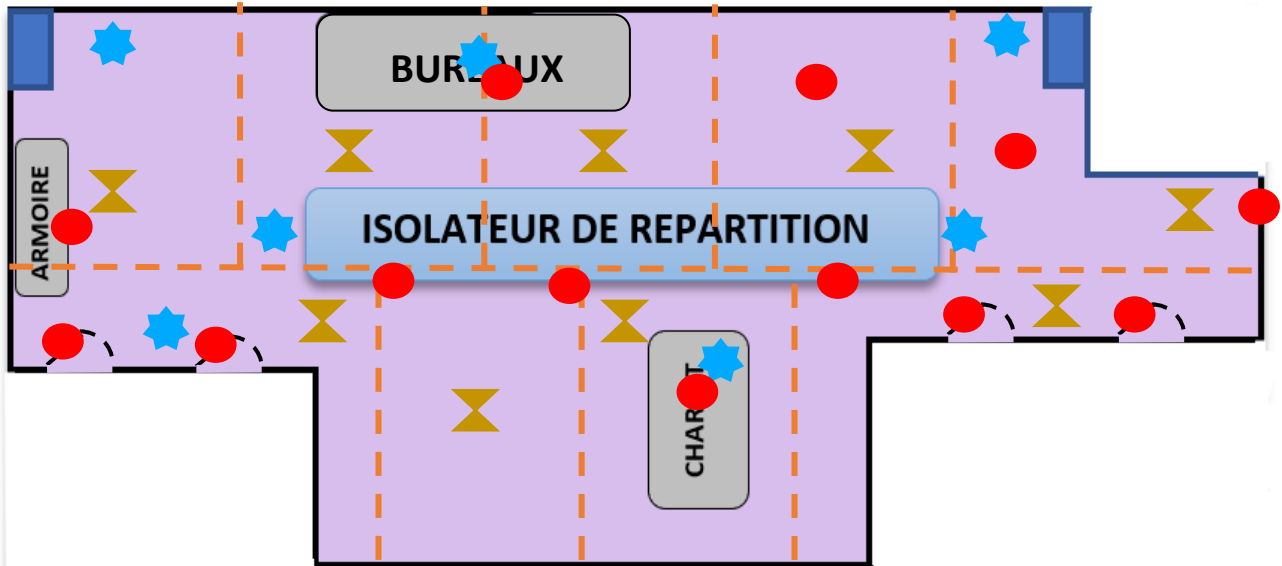


*Figure 36 : Ecouvillon de type B* <sup>(60)</sup>

#### *4.1.1. Détermination de l'emplacement des points de prélèvement microbiologique*

Tout comme la qualification particulière, les points de prélèvement microbiologique doivent être placés selon une justification documentée. Elle est réalisée sous forme d'argumentaire. Comme pour la qualification particulière, la justification est établie à partir d'une analyse de criticité tenant compte des mêmes paramètres cités précédemment. Le critère « efficacité du nettoyage-désinfection » est également pris en compte dans l'analyse de criticité. Les points de prélèvements au repos et en activité sont identiques.

Le schéma ci-dessous reprend le découpage réalisé pour la qualification particulière et présente l'emplacement des points de prélèvements microbiologique la salle de répartition aseptique



- Surface
- ★ Aéro-biocontamination Passive
- ✕ Aéro-biocontamination Active
- Bouche de reprise

*Figure 37 : Découpage et emplacement des points de prélèvement microbiologique, exemple de salle de répartition*

Le tableau ci-dessous présente les points de prélèvement, le type de prélèvement et la justification associée pour la salle de répartition aseptique.

Salle	Type de prélèvement	Référence du point	Emplacement	Justification
Salle de répartition aseptique	Aéro-biocontamination active	ABA-SRA01	Au plus près de l'entrée de l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
		ABA-SRA02	Devant l'armoire de stockage	Flux personnel Flux matériel
		ABA-SRA03	Entre le bureau 1 et l'entrée de l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
		ABA-SRA04	Entre le bureau 2 et le milieu de l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
		ABA-SRA05	Au plus près de la sortie de l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matière Partie de l'isolateur permettant la répartition aseptique. C'est donc la partie la plus critique de l'isolateur.
		ABA-SRA06	A l'angle de la salle	Flux personnel Flux matériel
		ABA-SRA07	Entre les 2 sas matériel (entrée et sortie)	Flux personnel Flux matériel
		ABA-SRA08	Entre le chariot et l'isolateur de répartition	Flux personnel, Flux matériel
		ABA-SRA09	Au centre	Flux personnel Flux matériel

Salle	Type de prélèvement	Référence du point	Emplacement	Justification
Salle de répartition aseptique	Aéro-biocontamination passive	ABP-SRA01	A l'angle, entre les sas personnel (entrée et sortie) et l'armoire de stockage	Flux personnel Flux matériel
		ABP-SRA02	A l'angle, entre la bouche de reprise et le bureau 1	Flux personnel Flux matériel Trajet du flux d'air
		ABP-SRA03	A l'extrémité de l'entrée de l'isolateur de répartition	Flux personnel Flux matériel Flux matière
		ABP-SRA04	Sur le bureau 2	Flux personnel, Flux matériel Activité de bureautique pouvant générer des contaminants
		ABP-SRA05	A l'extrémité de la sortie de l'isolateur	Flux personnel, Flux matériel
		ABP-SRA06	A l'angle au niveau de la bouche de reprise	Flux personnel, Flux matériel Trajet du flux d'air
		ABP-SRA07	Sur le chariot	Flux personnel, Flux matériel
	Surface	CDS-SRA01	Sur la porte du Sas personnel entrée – Côté salle de répartition	Flux personnel Risque de propagation de la contamination Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA02	Sur la porte du Sas personnel sortie – Côté salle de répartition	Flux personnel Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA03	Sur l'armoire de stockage	Flux personnel, Flux matériel Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA04	Sur le bureau 2	Flux personnel et matériel Vérification de l'impact des activités de bureautique Vérification du nettoyage-désinfection

Salle	Type de prélèvement	Référence du point	Emplacement	Justification
Salle de répartition aseptique	Surface	CDS-SRA05	Sur la vitre externe du centre de l'isolateur de répartition	Flux personnel, Flux matériel, Flux matière Zone la plus critique de l'isolateur, réalisation de l'étape de répartition aseptique Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA06	Au sol du centre de la salle	Flux personnel, Flux matériel Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA07	Au sol du centre de la salle	Flux personnel, Flux matériel Risque de propagation de la contamination Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA08	Sur le mur, à l'angle de la salle	Flux personnel, Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA09	Sur la porte du Sas matériel entrée – Côté salle de répartition	Flux matériel, Risque de propagation de la contamination, Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA10	Sur la porte du Sas matériel sortie – Côté salle de répartition	Flux matériel – Risque de propagation de la contamination, Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA11	Sur le chariot	Flux personnel, Flux matériel Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA12	Sur la vitre externe de la sortie de l'isolateur de répartition	Flux personnel, Flux matériel Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA13	Au sol, au centre de la salle	Flux matériel Risque de propagation de la contamination Vérification du nettoyage-désinfection
		CDS-SRA13	Sur la vitre externe de l'entrée de l'isolateur de répartition	Flux personnel, Flux matériel, Flux matière Vérification du nettoyage-désinfection

ABA : Aérobio-contamination Active - ABP : Aérobio-contamination Passive - CDS : surface

Tableau 22 : Argumentaire des emplacements définies pour la qualification microbiologique de la salle de répartition aseptique

#### 4.1.2. Incubation

A la fin des prélèvements, les géloses sont incubées à 20-25°C pendant 7 jours afin de permettre la croissance des bactéries. Elles sont ensuite incubées à 30-35°C pendant les 7 jours suivants afin de vérifier l'absence de levures et de moisissures. Une lecture intermédiaire est réalisée à l'issue des 7 premiers jours. La lecture finale se fait au 14<sup>ème</sup> jour. Les lectures correspondent à des dénombrements des germes potentiellement présents sur le milieu de culture.

#### 4.1.3. Stratégie d'identification des germes

Afin de faciliter l'identification des germes, une limite d'alerte est établie. Elle correspond à la moitié des critères d'acceptation présentés dans le chapitre 2.2 « Classification selon le niveau de contamination microbiologique ».

Classe particulière visée	Aérobiocontamination active Nombre de microorganismes/m <sup>3</sup>		Aérobiocontamination passive Nombre de microorganismes / boîte de Pétri (diamètre 90mm)		Biocontamination de surface Nombre de microorganismes / gélose count tact ou écouvillon	
	Normes GMP	Limite d'alerte	Normes GMP	Limite d'alerte	Normes GMP	Limite d'alerte
<b>C</b>	<b>≤ 100</b>	<b>&gt; 50</b>	<b>≤ 50</b>	<b>&gt;25</b>	<b>≤ 25</b>	<b>&gt; 13</b>
<b>D</b>	<b>≤ 200</b>	<b>&gt; 100</b>	<b>≤ 100</b>	<b>&gt;50</b>	<b>≤ 50</b>	<b>&gt; 25</b>

Tableau 23 : Limites d'alerte appliquées lors de la QP microbiologique

L'identification des germes est réalisée :

- Au genre lorsque la limite d'alerte n'est pas atteinte
- A l'espèce lorsque la limite d'alerte est atteinte

Les résultats obtenus permettront d'avoir des données sur la flore bactérienne de la salle.

## 4.2 Résultats

Le tableau ci-dessous présente le récapitulatif des résultats obtenus pour la salle de répartition :

Salle	Référence du point	Au repos		En activité		
		Run 1	Run 2	Run 1	Run 2	Run 3
Salle de répartition aseptique	ABA-SRA01	CF	CF	CF	CF	CF
	ABA-SRA02					
	ABA-SRA03					
	ABA-SRA04					
	ABA-SRA05					
	ABA-SRA06					
	ABA-SRA07					
	ABA-SRA08					
	ABA-SRA09					
	ABA-SRA10	CF	CF	CF	CF	CF
	ABP-SRA01					
	ABP-SRA02					
	ABP-SRA03					
	ABP-SRA04					
	ABP-SRA05					
	ABP-SRA06					
	ABP-SRA07					
	CDS-SRA01	INV	CF	CF	CF	CF
	CDS-SRA02	INV				
	CDS-SRA03	INV				
	CDS-SRA04	INV				
	CDS-SRA05	INV				
	CDS-SRA06	INV				
CDS-SRA07	INV					
CDS-SRA08	INV					
CDS-SRA09	INV					
CDS-SRA10	INV					
CDS-SRA11	INV					
CDS-SRA12	INV					
CDS-SRA13	INV					

**Tableau 24 : Récapitulatif des résultats obtenus lors de la QP microbiologique de la salle de répartition aseptique**

Comme indiqué ci-dessus, le 1<sup>er</sup> run de qualification microbiologique au repos a été invalidé pour les prélèvements de surfaces. L'investigation menée a conduit à l'identification d'une cause : défaut de fermeture de 3 boîtes de gélose ayant entraîné leur ouverture lors de leur



acheminement au laboratoire de contrôle qualité. Une sensibilisation des équipes a été faite avant de réaliser un autre run qui s'est avéré conforme.

#### IV. CONCLUSION

Les résultats obtenus ont permis de qualifier la zone et de poursuivre les étapes de mise en place de la zone de production telle que la réalisation de lots techniques GMP et des APS aussi appelé MFT. Les données de qualification particulière et microbiologique seront utilisées pour établir le plan de prélèvement du monitoring de routine.

## CONCLUSION

Malgré le bouleversement social et économique qu'elle a provoqué dans le monde entier, la Covid-19 a permis de faire accélérer la recherche et le développement en matière de vaccins. Elle a ainsi permis l'émergence et la mise sur le marché de nouvelles technologies vaccinales telles que les vaccins à ARNm jusqu'ici en phase de recherche.

Cette épidémie a également permis pour beaucoup de laboratoires pharmaceutiques d'élargir leur domaine de compétence par l'installation de zones de production aseptique avec l'application de toutes les exigences que cela implique. La plupart, ont pris conscience de la difficulté de mener à bien ce type de projet en un laps de temps très court tout en garantissant la qualité, la sécurité et l'efficacité des traitements fabriqués.

La mise à en place d'une zone de production aseptique est complexe d'où l'importance d'avoir des locaux adaptés et très bien conçus. La conception et la qualification des ZAC est donc primordiale dans ce processus. La réussite de ce genre projet réside donc dans :

- La bonne définition des besoins
- Le choix des bons équipements et des bons paramètres
- La vérification minutieuse de la conformité aux exigences
- La réactivité et la capacité à mettre en place des actions efficaces pour résoudre les différents problèmes rencontrés.

A l'heure actuelle, la phase de pandémie est terminée, néanmoins l'incidence de la Covid-19 augmente sur certaines périodes et de nouveaux variants apparaissent continuellement. Il est donc important de poursuivre les efforts fournis depuis l'apparition de la Covid-19. Ainsi de nouvelles solutions sont en cours de développement :

- Amélioration des vaccins sur le marché afin de couvrir le plus de variants possibles et ainsi en augmenter l'efficacité
- La fabrication d'antiviral oral
- Le développement d'anticorps monoclonaux et d'un immunosuppresseur

Certaines de ces solutions ont eu un avis positif de l'EMA. C'est le cas notamment de l'immunosuppresseur Kineret de Swedish Orphan.

## SOURCES

- 1) *Pandémies, des origines à la Covid-19*, Berche, Patrick), Perez, Stanis, mars 2021, 522 pages
- 2) « *Le SRAS-CoV, un coronavirus à l'origine d'une épidémie mondiale d'une ampleur considérable* », Consulté le 30/09/2023 :  
<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/infection-a-coronavirus/articles/le-sras-cov-un-coronavirus-a-l-origine-d-une-epidemie-mondiale-d-une-ampleur-considerable>
- 3) « *Coronavirus* », Astrid VABRET, Meriadeg AR GOUILH, Consulté le 26/10/2023 :  
[https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38\\_CORONAVIRUS\\_TVM2019.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38_CORONAVIRUS_TVM2019.pdf)
- 4) *Que peut-on attendre des antiviraux dans le traitement de la Covid-19, quels sont les mécanismes d'action ?*, Consulté le 26/10/2023:  
<https://sfpt-fr.org/covid19-foire-aux-questions/1579-180-que-peut-on-attendre-des-antiviraux-dans-le-traitement-de-la-Covid-19,-quels-sont-les-m%C3%A9canismes-d%E2%80%99action>
- 5) *Signes, symptômes et gravité de la COVID-19 : Guide à l'intention des cliniciens*, Consulté le 30/09/2023 :  
<https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/maladies/2019-nouveau-coronavirus/document-orientation/signes-symptomes-gravite.html>
- 6) *Les tests de dépistage RT-PCR du Covid-19*, Consulté le 30/09/2023 :  
<https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/Covid-19/tests-de-depistage-du-Covid-19/les-tests-de-depistage-rt-pcr>
- 7) « *Coronavirus et Neurologie : rien de spécifique (mais une population sensible)* », Consulté le 26/10/2023 :  
<https://www.echosciences-grenoble.fr/communautes/atout-cerveau/articles/coronavirus-et-neurologie>
- 8) *Vidal*, Consulté le 11/11/2023 :  
<https://www.vidal.fr/medicaments/>
- 9) « *Répartition aseptique sous Isolateur ou open RABS ? Evaluation des coûts totaux : Investissement et fonctionnement* », Dominique SIERAKOWSKI, Philippe JEROME, février 2012, Consulté le 15/10/2023 :  
[https://www.a3p.org/wpcontent/uploads/2012/02/article\\_scientifique\\_vague33\\_0pdf\\_articles\\_33pdf5.pdf](https://www.a3p.org/wpcontent/uploads/2012/02/article_scientifique_vague33_0pdf_articles_33pdf5.pdf)

- 10) « Analyse comparative des technologies "isolateur" et "RABS" (Restricted Access Barrier System) dans le cadre de la répartition aseptique », Antoine Peccave, 23 janvier 2015, Consulté le 24/09/2023 :  
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01108988/document>
- 11) « Bonnes Pratiques de Fabrication », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://ansm.sante.fr/uploads/2023/02/01/20230201-guide-bpf-2022.pdf>
- 12) « Annexe 1 des BPF », 2022
- 13) Normes ISO 14644
- 14) Guide ISPE: Sterile product Manufacturing Facilities, volume 3, Avril 2018
- 15) « Conception d'une usine pharmaceutique « Les zones à atmosphère contrôlée », Dr BENABDALLAH-KHODJA. A, octobre 2021, Consulté le 14/10/2023 :  
<https://facmed.univ-constantine3.dz/wp-content/uploads/2021/10/Conception-dune-usine-pharmaceutique-ZAC-.pdf>
- 16) « La classification de propreté particulaire et la qualification des zones à atmosphères contrôlées : exemple d'un site de production de médicaments stériles injectables », Régis Callewaert, 23 novembre 2015, Consulté le 29/10/2023 :  
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01232245/document>
- 17) « Centrale de traitement de l'air (CTA) : clim VRV et DRV », Consulté le 28/10/2023 :  
<https://www.guide-climatisation.com/clim/centrale-de-traitement-air/>
- 18) « Comment qualifier une CTA », Consulté le 28/10/2023 :  
<https://la-qualite-au-carre.com/comment-qualifier-une-centrale-de-traitement-air-cta/>
- 19) « La qualification des locaux en industrie pharmaceutique. Application à une salle de production de classe mixte » Yvan Bongiraud, 19 novembre 2021, Consulté le 14/10/2023 :  
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03436324/document>

- 20) « Mise en place d'une démarche de gestion des risques qualité sur un site pharmaceutique exploitant », Adeline Roix, 26 avril 2021, Consulté le 30/10/2023 :  
[https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03207990/file/ROIX\\_Adeline.pdf](https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03207990/file/ROIX_Adeline.pdf)
- 21) « Hygiène alimentaire - Le plan de maitrise sanitaire : les prérequis et l'HACCP », Consulté le 29/10/2023 :  
<https://www.economie.gouv.fr/dacrf/hygiene-alimentaire-plan-maitrise-sanitaire-prerequis-et-lhaccp#>:
- 22) « Définition HACCP », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://eeat-haccp.io/guide-haccp/haccp/definition-haccp/>
- 23) « HAZOP : HAZard and OPerability (analyse de risques et de sécurité de fonctionnement) », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://safetyculture.com/fr/themes/hazop/#:~:text=D%C3%A9finition%20HAZOP%20%3A%20L'analyse%20des,dans%20les%20industries%20chimiques%2C%20pharmaceutiques%2C>
- 24) « Analyse Préliminaire des Risques », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://www.nord.gouv.fr/contenu/telechargement/42505/291275/file/APR+-#:~:text=DE%20LA%20DEMARCHE-,L'APR%20est%20une%20m%C3%A9thode%20couramment%20utilis%C3%A9e%20dans%20le%20domaine,en%20groupe%20de%20travail%20pluridisciplinaire>
- 25) « 5M & 7M – Diagrammes d'Ishikawa », Consulté le 30/10/2023 :  
<http://www.logistiqueconseil.org/Articles/Methodes-optimisation/5m-ishikawa.htm>
- 26) « Savoir utiliser le diagramme d'Ishikawa », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://www.manager-go.com/gestion-de-projet/dossiers-methodes/ishikawa-5m>
- 27) « HACCP définition : Les principes et les étapes à connaître », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://www.permis-de-exploitation.com/1245-l-definition-les-etapes-a-connaître.html#HACCP%20principe%201%C2%A0:%20L'E2%80%99analyse%20des%20dangers>

- 28) « Adaptation de la méthode HACCP à la prévention des risques en radiothérapie - Adaptation of the HACCP method to the prevention of risks in radiotherapy », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://www.sciencedirect-com.lama.univ-amu.fr/science/article/pii/S1278321819303300>
- 29) « Quelle est la définition de la méthode HACCP ? », Consulté le 30/10/2023 :  
<https://walter-learning.com/blog/restauration/haccp/definition>
- 30) "JCOVDEN - COVID-19 VACCINE JANSSEN", Consulté le 11/11/2023:  
<https://www.mesvaccins.net/web/vaccines/666-jcovden-Covid-19-vaccine-janssen>,
- 31) "Les étapes de fabrication d'un vaccin », Consulté le 26/10/2023 :  
<https://www.buzzcomptoir.com/2020/12/22/les-etapes-de-fabrication-dun-vaccin/>
- 32) « Principe de la vaccination - Principle of vaccination », Aurore Blin, Actualités Pharmaceutiques Volume 57, Issue 580, November 2018, Pages 47-49, Consulté le 28/10/2023 :  
<https://www.sciencedirect-com.lama.univ-amu.fr/science/article/pii/S0515370018303409>,
- 33) « Histoire et principes de la vaccination - History and principles of vaccination », Consulté le 26/10/2023 : <https://www.sciencedirect-com.lama.univ-amu.fr/science/article/pii/S0761842518309719?via%3Dihub>
- 34) « Recourir au vaccin ? Les clés pour comprendre. Partie 1 : du principe à la conception d'un vaccin », Consulté le 26/10/2023 :  
<https://popsciences.universite-lyon.fr/ressources/recourir-au-vaccin-les-cles-pour-comprendre-partie-1-du-principe-a-la-conception-dun-vaccin/>
- 35) « Vaccins et vaccinations - Un bénéfice individuel et collectif », Consulté le 28/10/2023 :  
<https://www.inserm.fr/dossier/vaccins-et-vaccinations/>
- 36) « Mode d'action des vaccins », Consulté le 28/10/2023 :  
<https://vaccination-info.eu/fr/propos-des-vaccins/mode-daction-des-vaccins>,
- 37) « Principes-et-bases-immunologiques-de-la-vaccination », Consulté le 28/10/2023 :  
<https://professionnels.vaccination-info-service.fr/Aspects-scientifiques/Principes-et-bases-immunologiques-de-la-vaccination/Principes-immunologiques-de-la-vaccination>
- 38) « Immunologie et vaccinologie de base : Guide canadien d'immunisation », Consulté le 28/10/2023 :

<https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/publications/vie-saine/guide-canadien-immunisation-partie-1-information-cle-immunisation/page-14-immunologie-vaccinologie-base.html>,

- 39) *Key concepts in immunology*; M. Moser, O. Leo; *Vaccine*, 28 (2010)
- 40) « *Rôle et importance du pharmacien dans la vaccination contre la COVID-19 à l'officine* », Julie Léonelli, 06 décembre 2021, Consulté le 27/10/2023 :  
<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03555277/document>
- 41) « *Vaccins et COVID-19 : synthèses des résultats (sécurité, effets indésirables et efficacité contre le SRAS-CoV-2)* », Consulté le 28/10/2023 :  
[Vaccins et COVID-19 : synthèses des résultats \(sécurité, effets indésirables et efficacité contre le SRAS-CoV-2\) - Quoi dans mon assiette](#)
- 42) *Système tout air, à débit constant, mono-gaine*, Consulté le 26/10/2023  
<https://energieplus-lesite.be/techniques/climatisation8/systemes-d-emission-de-froid/systemes-sur-l-air/systeme-tout-air-a-debit-constant-mono-gaine/>
- 43) « *Les sas de la conception à l'exploitation – Salles propres, environnements maîtrisés et zones de confinement* », Guide Aspec ; Mars 2013
- 44) « *Basic Clean Room Requirements | Designs for GMP Clean Rooms* », Consulté le 28/10/2023 :  
<https://www.pharmout.net/basic-cleanroom-requirements/>
- 45) « *Les salles propres selon la nouvelle norme ISO 14644 : Conception & surveillance* », Stéphane ORTU , 5 octobre 2016, Consulté le 28/10/2023:  
[https://www.hopitech.org/wp-content/uploads/FlashConfs/2016/pdf/Stephane%20Ortu\\_57.pdf](https://www.hopitech.org/wp-content/uploads/FlashConfs/2016/pdf/Stephane%20Ortu_57.pdf)
- 46) *Filtration de l'air en salle propre, 1<sup>er</sup> décembre 2012* », Consulté le 15/10/2023 :  
<http://sallespropres.fr/Archives-article/Fiche/1147/Filtration-de-l-air-en-salle-propre>,
- 47) « *Bioquell Qube* », Consulté le 15/10/2023 :  
<https://pdf.directindustry.fr/pdf/bioquell/bioquell-qube/61087-868927.html>
- 48) *Manuel d'utilisation Bioquel Qube*, 2019

- 49) "CLEANROOM ISOLATORS", 09 juillet 2014, Consulté le 30/10/2023 :  
<https://mikewilliamsonvalidation.wordpress.com/tag/rabs/>
- 50) AeroTrak-Plus Portable Particle Counter A100 Series, Consulté le 11/11/2023 :  
<https://tsi.com/products/cleanroom-particle-counters/portable-particle-counters/aerotrak-plus-portable-particle-counter-a100-series/>
- 51) "Traitement de l'air en Salles propres », Consulté le 11/11/2023 :  
<https://www.france-air.com/wp-content/uploads/2022/09/Traitement-de-lair-en-Salle-Propre-comp.pdf>,
- 52) « Contrôle de la qualité de l'air en salles propres », Consulté le 30/10/2023 :  
[https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2009/06/article\\_scientifique\\_vague28\\_Opdf\\_articles\\_La-Vague-28-VF-23-26.pdf](https://www.a3p.org/wp-content/uploads/2009/06/article_scientifique_vague28_Opdf_articles_La-Vague-28-VF-23-26.pdf)
- 53) « Contrôles particuliers et microbiologiques de l'air et contrôles microbiologiques des surfaces dans les établissements de santé », Le Gallou Florence, Didier Lepelletier, août 2017, Consulté le 30/10/2023 :  
[https://www.researchgate.net/profile/Le-Gallou-Florence-2/publication/319767881\\_Contr%C3%B4les\\_particuliers\\_et\\_microbiologiques\\_de\\_l'air\\_et\\_contr%C3%B4les\\_microbiologiques\\_des\\_surfaces\\_dans\\_les\\_etablissements\\_de\\_sant%C3%A9](https://www.researchgate.net/profile/Le-Gallou-Florence-2/publication/319767881_Contr%C3%B4les_particuliers_et_microbiologiques_de_l'air_et_contr%C3%B4les_microbiologiques_des_surfaces_dans_les_etablissements_de_sant%C3%A9)
- 54) Centrale de traitement d'air (CTA), fonctionnement, Consulté le 26/10/2023 :  
<https://www.abcclim.net/centrale-traitement-air.html>
- 55) Les isolateurs : de l'étanchéité à la traçabilité, D. Papin, Getinge La Calhène, et D. Meyer, Getinge Life Sciences, 1 janvier 2011, Salles Propres n° 0072, Consulté le 30/10/2023 :  
<http://sallespropres.fr/Archives-article/Fiche/755/Les-isolateurs-%253A-de-l-etancheite-a-la-tracabilite>
- 56) Informations au public, Consulté le 11/11/2023 :  
<https://www.hauts-de-france.ars.sante.fr/informations-au-public>, 21 juillet 2022
- 57) Alerte coronavirus : pour se protéger et protéger les autres [Affiche 62x100cm], Consulté le 11/11/2023 :  
<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/infection-a-coronavirus/documents/affiche/alerte-coronavirus-pour-se-protoger-et-protoger-les-autres-affiche-62x100cm>



58) RABs, Consulté le 12/11/2023 :

<https://www.temasinerqie.com/barrier-isolation-technology/rabs/>

59) TSA avec LTHThio cont.-ICR+, Consulté le 12/11/2023 :

[https://www.merckmillipore.com/FR/fr/product/TSA-with-LTHThio-cont.-ICR,MDA\\_CHEM-146783?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F#](https://www.merckmillipore.com/FR/fr/product/TSA-with-LTHThio-cont.-ICR,MDA_CHEM-146783?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F#)

60) Écouvillon stérile en tube plastique avec tige en PS/PP, Consulté le 12/11/2023 :

<https://metzcare.com/products/ecouvillon-sterile-en-tube-unitaire>

61) BD Gélose de soja Trypticase™, Consulté le 12/11/2023 :

<https://www.fishersci.fr/shop/products/trypticase-soy-agar/11860842>

62) Traitement aseptique des produits de santé — Partie 2 : Filtration stérilisante, Norme ISO 13408-2:2018

63) Pharmacopée Européenne, 11<sup>ème</sup> édition, Janvier 2023

64) Conférence « Covid-19 – Situation actuelle et à venir & les différents types de vaccins », Pr. Marc DE RIDDER, 23 février 2022

65) Current COVID 19- Vaccines & Immune responses, Consulté le 11/11/2023 :

<https://mt.mahidol.ac.th/wp-content/uploads/PDF/Oter/2021/64year-foundation-day.pdf>

66) One and Done, Gertrud U. Rey, 04 mars 2021, Consulté le 11/11/2023 :

<https://virology.ws/2021/03/04/one-and-done/>

67) Les vaccins à ARN risquent-il de modifier le génome ? Yvan PANDELE, 11 décembre 2020, Consulté le 11/11/2023 :

<https://www.heidi.news/sante/les-vaccins-a-arn-risquent-il-de-modifier-le-genome>

68) Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) - Saudi Arabia, 29 août 2023, Consulté le 11/11/2023 :

<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON484>

69) *Coronavirus humains : une histoire d'émergences oubliées, avortées ou abouties*, Henri Agut, 04 mai 2023, Consulté le 11/11/2023 :

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-04081726>,

70) Dossier « Coronavirus COVID-19 », Consulté le 11/11/2023 :

<https://www.vidal.fr/maladies/voies-respiratoires/coronavirus-Covid-19/contamination.html>

71) *L'immunité innée*, Matthieu SIMON, 07 septembre 2009, Consulté le 11/11/2023 :

<https://www.cours-pharmacie.com/immunologie/limmunité-innée.html>

72) *Comment les vaccins sont-ils développés ?*, Consulté le 12/11/2023 :

<https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/Covid-19-vaccines/how-are-vaccines-developed>

73) *La fabrication d'un vaccin, un processus très encadré* *The development of a vaccine - a highly regulated process*, Aurore Blin, Volume 60, Issue 606, May 2021, Pages 45-48, Consulté le 12/11/2023 :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0515370021001646>,

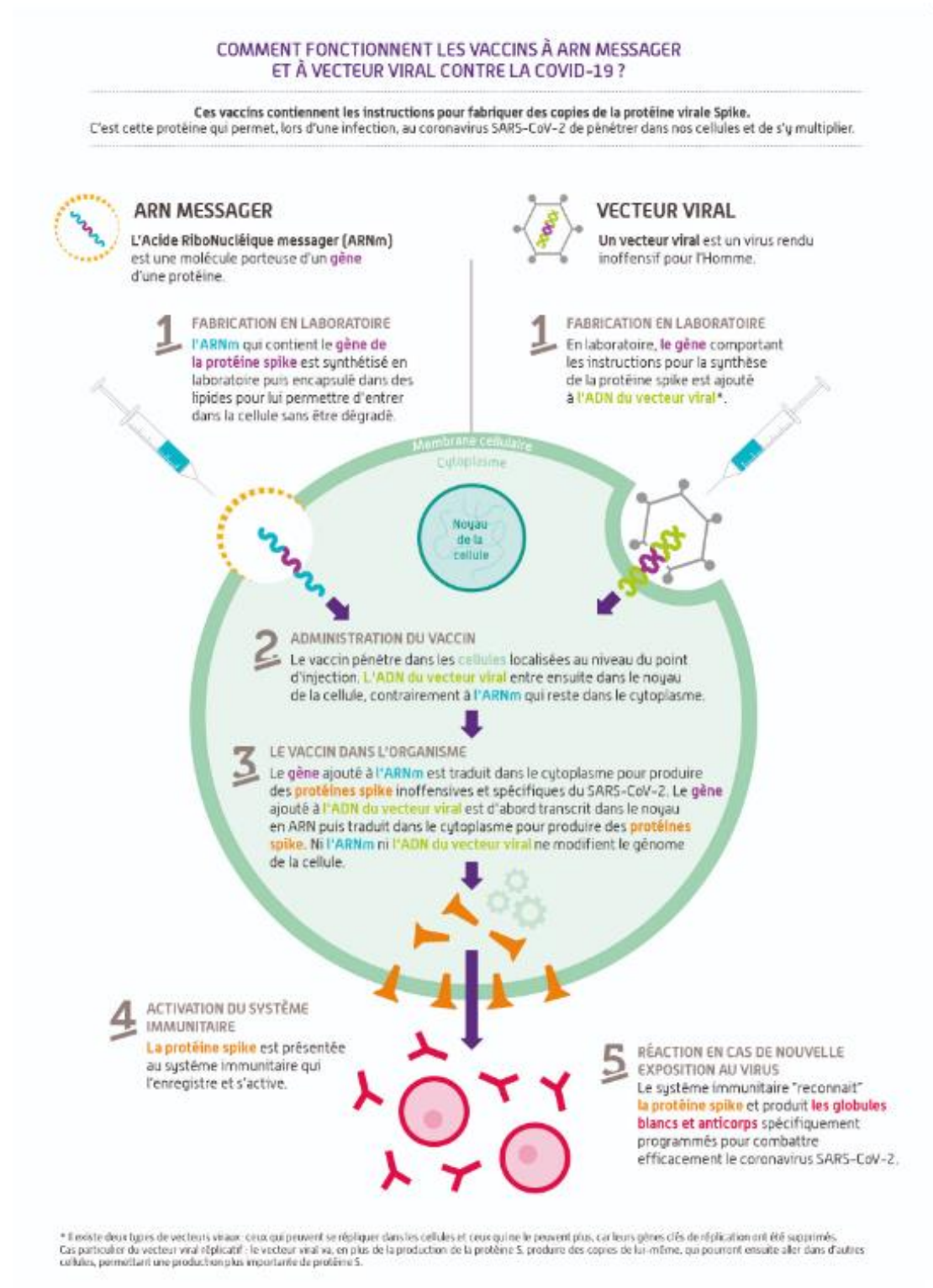
74) *Guide de l'ultrapropreté (GUP) 2020-2022, 8<sup>ème</sup> édition, 2019*

75) *Il était une fois les coronavirus*, PAR MARC GOZLAN, 27 mars 2020, Consulté le 11/11/2023 :

<https://www.lemonde.fr/blog/realitesbiomedicales/2020/03/27/il-etait-une-fois-les-coronavirus%E2%80%A8/>

## ANNEXES

### I. ANNEXE 1 : MODE DE FONCTIONNEMENT DES VACCINS A ARNm ET A VECTEUR VIRAL



## II. ANNEXE 2 : SCHÉMA VACCINAL ANTI COVID-19

**accin COVID-19**  
TOUS VACCINÉS, TOUS PROTÉGÉS

### La vaccination QUEL VACCIN SELON MA SITUATION ?

Mon âge	Ma situation	Pfizer-BioNTech	Moderna	Janssen	Novavax
<b>0 à 4 ans INCLUS</b>		Mon enfant ne peut pas se faire vacciner			
<b>5 à 11 ans INCLUS</b>	Quelle que soit la situation de mon enfant*	✓ <small>(Sous précautions spécialement destinées aux enfants)</small>			
<b>12 à 17 ans INCLUS</b>	Quelle que soit la situation de mon enfant*	✓			
<b>18 à 29 ans INCLUS</b>	Quelle que soit ma situation	✓			✓
	J'ai une contre-indication aux vaccins à ARNm				✓
<b>30 à 54 ans INCLUS</b>	Quelle que soit ma situation	✓	✓		✓
	J'ai une contre-indication aux vaccins à ARNm				✓
<b>55 ans ET PLUS</b>	Quelle que soit ma situation	✓	✓		✓
	J'ai une contre-indication aux vaccins à ARNm			✓ <small>(pour les personnes à risque de forme grave de Covid-19)</small>	✓

**N.B. :**

- La vaccination est possible en centres de vaccination et auprès de nombreux professionnels de santé : pharmaciens, médecins (généralistes ou spécialistes), médecins du travail, infirmiers, sages-femmes, chirurgiens-dentistes. Elle est également possible en laboratoire de biologie médicale, à domicile ou encore peut être organisée sur le lieu de soin des personnes.
- Les personnes ayant déjà eu le Covid-19 ne reçoivent qu'une seule injection dans le cadre de leur schéma de primo-vaccination, sur la base d'un justificatif (test PCR ou antigénique positif de plus de 2 mois) ou à la suite d'un test rapide d'orientation diagnostique (TROD) positif.
- La vaccination des femmes enceintes est recommandée dès le premier trimestre.
- Les autorités scientifiques recommandent le recours à un vaccin à ARNm (Pfizer-BioNTech ou Moderna) en priorité lorsque c'est possible.

Pour connaître la liste des situations particulières et toutes les modalités de vaccination, rendez-vous sur : [www.solidarites-sante.gouv.fr/vaccin-covid-19](http://www.solidarites-sante.gouv.fr/vaccin-covid-19)

version : 28 février 2022

### III. ANNEXE 3 : EXIGENCES RELATIVES AUX LOCAUX DANS L'ANNEXE 1 DES BPF, 2022

ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
4.1	The manufacture of sterile products should be carried out in appropriate cleanrooms, entry to which should be through change rooms that act as airlocks for personnel and airlocks for equipment and materials. Cleanrooms and change rooms should be maintained to an appropriate cleanliness standard and supplied with air which has passed through filters of an appropriate efficiency. Controls and monitoring should be scientifically justified and should effectively evaluate the state of environmental conditions of cleanrooms, airlocks and pass-through hatches.
4.2	The various operations of component preparation, product preparation and filling should be carried out with appropriate technical and operational separation measures within the cleanroom or facility to prevent mix up and contamination.
4.3	Restricted Access Barrier Systems (RABS) or isolators are beneficial in assuring required conditions and minimizing microbial contamination associated with direct human interventions in the critical zone. Their use should be considered in the CCS. Any alternative approaches to the use of RABS or isolators should be justified.
4.4	For the manufacture of sterile products there are four grades of cleanroom.  Grade A: The critical zone for high risk operations (e.g. aseptic processing line, filling zone, stopper bowl, open primary packaging or for making aseptic connections under the protection of first air). Normally, such conditions are provided by a localised airflow protection, such as unidirectional airflow work stations within RABS or isolators. The maintenance of unidirectional airflow should be demonstrated and qualified across the whole of the grade A area. Direct intervention (e.g. without the protection of barrier and glove port technology) into the grade A area by operators should be minimized by premises, equipment, process and procedural design.  Grade B: For aseptic preparation and filling, this is the background cleanroom for the grade A (where it is not an isolator). Air pressure differences should be continuously monitored. Cleanrooms of lower grade than grade B can be considered where isolator technology is used (see) paragraph 4.20).  Grade C and D: These are cleanrooms used for carrying out less critical stages in the manufacture of aseptically filled sterile products or a background for isolators. They can also be used for the preparation /filling of terminally sterilized. (See section 8 for the specific details on terminal sterilisation activities).
4.5	In cleanrooms and critical zones, all exposed surfaces should be smooth, impervious and unbroken in order to minimize the shedding or accumulation of particles or micro-organisms.
4.6	To reduce accumulation of dust and to facilitate cleaning there should be no recesses that are difficult to clean effectively therefore projecting ledges, shelves, cupboards and equipment should be kept to a minimum. Doors should be designed to avoid recesses that cannot be cleaned (Sliding doors may be undesirable for this reason).
4.7	Materials used in cleanrooms, (both in the construction of the room and for items used within the room), should be selected to minimize generation of particles and to permit the repeated application of cleaning, disinfectant and sporicidal agents where used.
4.8	Ceilings should be designed and sealed to prevent contamination from the space above them.
4.9	Sinks and drains should be prohibited in the grade A and grade B areas. In other cleanrooms, air breaks should be fitted between the machine or sink and the drains. Floor drains in lower grade cleanrooms should be fitted with traps or water seals designed to prevent back flow and should be regularly cleaned, disinfected and maintained.
4.10	The transfer of equipment and materials into and out of the cleanrooms and critical zones is one of the greatest potential sources of contamination. Any activities with the potential to compromise the cleanliness of cleanrooms or the critical zone should be assessed and if they cannot be eliminated, appropriate controls should be implemented.



ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
4.11	<p>The transfer of materials, equipment, and components into the grade A or B areas should be carried out via a unidirectional process. Where possible, items should be sterilised and passed into these areas through double-ended sterilisers (e.g. through a double-door autoclave or depyrogenation oven/tunnel) sealed into the wall. Where sterilisation upon transfer of the items is not possible, a procedure which achieves the same objective of not introducing contamination should be validated and implemented, (e.g. using an effective transfer disinfection process, rapid transfer systems for isolators or, for gaseous or liquid materials, a bacteria-retentive filter). The removal of items from the grade A and B areas (e.g. materials, waste, environmental samples...) should be carried out via a separate unidirectional process. If this is not possible, time-based separation of movement (incoming/exiting material) by procedure should be considered and controls applied to avoid potential contamination of incoming items.</p>
4.12	<p>Airlocks should be designed and used to provide physical separation and to minimize microbial and particle contamination of the different areas, and should be present for material and personnel moving between different grades. Wherever possible, airlocks used for personnel movement should be separated from those used for material movement. Where this is not practical, time-based separation of movement (personnel /material) by procedure should be considered. Airlocks should be flushed effectively with filtered air to ensure that the grade of the cleanroom is maintained. The final stage of the airlock should, in the “at rest” state, be of the same cleanliness grade (viable and total particle) as the cleanroom into which it leads. The use of separate change rooms for entering and leaving the grade B area is desirable. Where this is not practical, time-based separation of activities (ingress/egress) by procedure should be considered. Where the CCS indicates that the risk of contamination is high, separate change rooms for entering and leaving production areas should be considered. Airlocks should be designed as follows:</p> <p>i. Personnel airlocks: Areas of increasing cleanliness used for entry of personnel (e.g. from the grade D area to the grade C area to the grade B area). In general hand washing facilities should be provided only in the first stage of the changing room and not be present in changing rooms directly accessing the grade B area.</p> <p>ii. Material airlocks: used for materials and equipment transfer.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Only materials and equipment that have been included on an approved list and assessed during validation of the transfer process, should be transferred into the grade A or grade B areas via an airlock or pass-through hatches. Equipment and materials (intended for use in the grade A area) should be protected when transiting through the grade B area. Any unapproved items that require transfer should be pre-approved as an exception. Appropriate risk assessment and mitigation measures should be applied and recorded as per the manufacturer's CCS and should include a specific disinfection and monitoring programme approved by quality assurance.</li> <li>• Pass-through hatch should be designed to protect the higher grade environment, for example by effective flushing with an active filtered air supply.</li> <li>• The movement of material or equipment from lower grade or unclassified area to higher grade clean areas should be subject to cleaning and disinfection commensurate with the risk and in line with the CCS.</li> </ul>

ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
4.13	<p>For pass-through hatches and airlocks (for material and personnel) the entry and exit doors should not be opened simultaneously. For airlocks leading to the grade A and grade B areas, an interlocking system should be used. For airlocks leading to grade C and D areas, a visual and/or audible warning system should be operated as a minimum. Where required to maintain area segregation, a time delay between the closing and opening of interlocked doors should be established.</p>
4.14	<p>Cleanrooms should be supplied with a filtered air supply that maintains a positive pressure and/or an airflow relative to the background environment of a lower grade under all operational conditions and should flush the area effectively. Adjacent rooms of different grades should have air pressure difference of a minimum of 10 Pascals (guidance value). Particular attention should be paid to the protection of the critical zone. The recommendations regarding air supplies and pressures may need to be modified where it is necessary to contain certain materials (e.g. pathogenic, highly toxic or radioactive products or live viral or bacterial materials). The modification may include positively or negatively pressurized airlocks that prevent the hazardous material from contaminating surrounding areas. Decontamination of facilities (e.g. the cleanrooms and the heating, ventilation, and air conditioning (HVAC) systems) and the treatment of air leaving a clean area, may be necessary for some operations. Where containment requires air to flow into a critical zone, the source of the air should be from an area of the same or higher grade.</p>
4.15	<p>Airflow patterns within cleanrooms and zones should be visualised to demonstrate that there is no ingress from lower grade to higher grade areas and that air does not travel from less clean areas (such as the floor) or over operators or equipment that may transfer contamination to the higher grade areas. Where unidirectional airflow is required, visualisation studies should be performed to determine compliance, (see paragraphs 4.4 &amp; 4.19). When filled, closed products are transferred to an adjacent cleanroom of a lower grade via small egress point, airflow visualization studies should demonstrate that air does not ingress from the lower grade cleanrooms to the grade B. Where air movement is shown to be a contamination risk to the clean area or critical zone, corrective actions, such as design improvement, should be implemented. Airflow pattern studies should be performed both at rest and in operation (e.g. simulating operator interventions). Video recordings of the airflow patterns should be retained. The outcome of the air visualisation studies should be documented and considered when establishing the facility's environmental monitoring programme.</p>
4.16	<p>Indicators of air pressure differences should be fitted between cleanrooms and/or between isolators and their background. Set-points and the criticality of air pressure differences should be considered within the CCS. Air pressure differences identified as critical should be continuously monitored and recorded. A warning system should be in place to instantly indicate and warn operators of any failure in the air supply or reduction of air pressure differences (below set limits for those identified as critical). The warning signal should not be overridden without assessment and a procedure should be available to outline the steps to be taken when a warning signal is given. Where alarm delays are set, these should be assessed and justified within the CCS. Other air pressure differences should be monitored and recorded at regular intervals.</p>

ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
4.17	Facilities should be designed to permit observation of production activities from outside the grade A and B areas (e.g. through the provision of windows or remote cameras with a full view of the area and processes to allow observation and supervision without entry). This requirement should be considered when designing new facilities or during refurbishment of existing facilities.
4.18	Isolators or RABS, which are different technologies, and the associated processes, should be designed to provide protection through separation of the grade A environment from the environment of the surrounding room. The hazards introduced from entry or removal of items during processing should be minimized and supported by high capability transfer technologies or validated systems that robustly prevent contamination and are appropriate for the respective technology.
4.19	<p>The design of the technology and processes used should ensure appropriate conditions are maintained in the critical zone to protect the exposed product during operations.</p> <p>i Isolators:</p> <p>a. The design of open isolators should ensure grade A conditions with first air protection in the critical zone and unidirectional airflow that sweeps over and away from exposed products during processing.</p> <p>b. The design of closed isolators should ensure grade A conditions with adequate protection for exposed products during processing. Airflow may not be fully unidirectional in closed isolators where simple operations are conducted however turbulent airflow should be minimized and not increase risk of contamination of the exposed product. Where processing lines are included in closed isolators, grade A conditions should be ensured with first air protection in the critical zone and unidirectional airflow that sweeps over and away from exposed products during processing</p> <p>c. Negative pressure isolators should only be used when containment of the product is considered essential and risk control measures are applied to ensure the critical zone is not compromised.</p> <p>ii RABS:</p> <p>The design of RABS should ensure grade A conditions with unidirectional airflow and first air protection in the critical zone. A positive airflow from the critical zones to the supporting background environment should be maintained.</p>
4.20	<p>The background environment for isolators or RABS should ensure the risk of transfer of contamination is minimized.</p> <p>i. Isolators:</p> <p>a. The background environment for open isolators should generally correspond to a minimum of grade C. The background for closed isolators should correspond to a minimum of grade D. The decision on the background classification should be based on risk assessment and justified in the CCS.</p> <p>b. Key considerations when performing the risk assessment for the CCS of an isolator should include (but are not limited to); the bio-decontamination programme, the extent of automation, the impact of glove manipulations that may potentially compromise 'first air' protection of critical process points, the impact of potential loss of barrier/glove integrity, transfer mechanisms used and activities such as set-up or maintenance that may require the doors to be opened prior to the final bio-decontamination of the isolator. Where additional process risks are identified, a higher grade of background should be considered unless appropriately justified in the CCS.</p> <p>c. Airflow pattern studies should be performed at the interfaces of open isolators to demonstrate the absence of air ingress.</p> <p>ii. RABS:</p> <p>The background environment for RABS used for aseptic processing, should correspond to a minimum of grade B and airflow pattern studies should be performed to demonstrate the absence of air ingress during interventions, including door openings if applicable.</p>



ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
4.21	<p>The materials used for glove systems (for both isolators and RABS), should be demonstrated to have good mechanical and chemical resistance. The frequency of glove replacement should be defined within the CCS.</p> <p>i. Isolators:</p> <p>a. For isolators, leak testing of the glove system should be performed using a methodology demonstrated to be suitable for the task and criticality. The testing should be performed at defined intervals. Generally glove integrity testing should be performed at a minimum at the beginning and end of each batch or campaign. Additional glove integrity testing may be necessary depending on the validated campaign length.</p> <p>Glove integrity monitoring should include a visual inspection associated with each use and following any manipulation that may affect the integrity of the system.</p> <p>For manual aseptic processing activities where single unit or small batch sizes are produced, the frequency of integrity verification may be based on other criteria, such as the beginning and end of each manufacturing session.</p> <p>b. Integrity / leak testing of isolator systems should be performed at defined intervals.</p> <p>ii. RABS:</p> <p>For RABS, gloves used in the grade A area should be sterilised before installation and sterilised or effectively bio-decontaminated by a validated method prior to each manufacturing campaign. If exposed to the background environment during operation, disinfection using an approved methodology following each exposure should be completed. Gloves should be visually examined with each use, and integrity testing should be performed at periodic intervals.</p>
4.22	<p>Decontamination methods (cleaning and bio-decontamination, and where applicable inactivation for biological materials) should be appropriately defined and controlled. The cleaning process prior to the bio-decontamination step is essential; any residues that remain may inhibit the effectiveness of the decontamination process. Evidence should also be available to demonstrate that the cleaning and bio- decontamination agents used do not have adverse impact on the product produced within the RABS or isolator.</p> <p>i. For isolators</p> <p>The bio-decontamination process of the interior should be automated, validated and controlled within defined cycle parameters and should include a sporicidal agent in a suitable form (e.g. gaseous or vaporized form). Gloves should be appropriately extended with fingers separated to ensure contact with the agent. Methods used (cleaning and sporicidal bio-decontamination) should render the interior surfaces and critical zone of the isolator free from viable microorganisms.</p> <p>ii. For RABS</p> <p>The sporicidal disinfection should include the routine application of a sporicidal agent using a method that has been validated and demonstrated to robustly include all areas of the interior surfaces and ensure a suitable environment for aseptic processing.</p>
4.23	<p>Cleanrooms and clean air equipment such as unidirectional airflow units (UDAFs), RABS and isolators, used for the manufacture of sterile products, should be qualified according to the required characteristics of the environment. Each manufacturing operation requires an appropriate environmental cleanliness level in the operational state in order to minimize the risk of the product or materials being handled. Appropriate cleanliness levels in the “at rest” and “operational” states should be maintained.</p>
4.24	<p>Cleanrooms and clean air equipment should be qualified using methodology in accordance with the requirements of Annex 15. Cleanroom qualification (including classification) should be clearly differentiated from operational environmental monitoring.</p>

ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
4.25	<p>Cleanroom and clean air equipment qualification is the overall process of assessing the level of compliance of a classified cleanroom or clean air equipment with its intended use. As part of the qualification requirements of Annex 15, the qualification of cleanrooms and clean air equipment should include (where relevant to the design/operation of the installation):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>i. Installed filter system leakage and integrity testing.</li> <li>ii. Airflow tests - Volume and velocity.</li> <li>iii. Air pressure difference test.</li> <li>iv. Airflow direction test and visualisation.</li> <li>v. Microbial airborne and surface contamination.</li> <li>vi. Temperature measurement test.</li> <li>vii. Relative humidity test.</li> <li>viii. Recovery test.</li> <li>ix. Containment leak test.</li> </ol> <p>Reference for the qualification of the cleanrooms and clean air equipment can be found in the ISO 14644 series of standards.</p>
4.26	<p>Cleanroom classification is part of the cleanroom qualification and is a method of assessing the level of air cleanliness against a specification for a cleanroom or clean air equipment by measuring the total particle concentration. Classification activities should be scheduled and performed in order to avoid any impact on process or product quality. For example, initial classification should be performed during simulated operations and reclassification performed during simulated operations or during aseptic process simulation (APS).</p>
4.27	<p>For cleanroom classification, the total of particles equal to or greater than 0.5 and 5 µm should be measured. This measurement should be performed both at rest and in simulated operation. The maximum permitted total particle concentration for each grade is given in Table 1.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(a) Classification including 5µm particles may be considered where indicated by the CCS or historical trends.</li> <li>(b) For grade D, in operation limits are not predetermined. The company should establish in operation limits based on a risk assessment and routine data where applicable.</li> </ol>
4.28	<p>For classification of the cleanroom, the minimum number of sampling locations and their positioning can be found in ISO 14644 Part 1. For the aseptic processing area and the background environment (the grade A and grade B areas, respectively), additional sample locations should be considered and all critical processing areas such as the point of fill and container closure feeder bowls should be evaluated. Critical processing locations should be determined by documented risk assessment and knowledge of the process and operations to be performed in the area.</p>
4.29	<p>Cleanroom classification should be carried out in the “at rest” and “in operation” states.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>i. The definition of “at rest” state is the condition whereby the installation of all the utilities is complete including any functioning HVAC, with the main manufacturing equipment installed as specified but not operating and without personnel present in the room.</li> <li>ii. The definition of “in operation” state is the condition where the installation of the cleanroom is complete, the HVAC system fully operational, equipment installed and functioning in the manufacturer’s defined operating mode with the maximum number of personnel present performing or simulating routine operational work.</li> <li>iii. The total particle limits given in Table 1 above for the “at rest” state should be achieved after a “clean up” period on completion of operations and line clearance/cleaning activities. The “clean up” period (guidance value of less than 20 minutes) should be determined during the qualification of the rooms, documented and adhered to in procedures to reinstate a qualified state of cleanliness if disrupted during operation.</li> </ol>
4.30	<p>The speed of air supplied by unidirectional airflow systems should be clearly justified in the qualification protocol including the location for air speed measurement. Air speed should be</p>

ITEM	EXIGENCES (ANGLAIS)
	<p>designed, measured and maintained to ensure that appropriate unidirectional air movement provides protection of the product and open components at the working position (e.g. where high risk operations occur and where product and/or components are exposed). Unidirectional airflow systems should provide a homogeneous air speed in a range of 0.36 – 0.54 m/s (guidance value) at the working position, unless otherwise scientifically justified in the CCS. Airflow visualization studies should correlate with the air speed measurement.</p>
4.31	<p>The microbial concentration of the cleanrooms should be determined as part of the cleanroom qualification. The number of sampling locations should be based on a documented risk assessment and the results obtained from room classification, air visualization studies and knowledge of the process and operations to be performed in the area. The maximum limits for microbial contamination during qualification for each grade are given in Table 2. Qualification should include both at rest and in operation states.</p> <p>Table 2: Limits for microbial contamination during qualification</p> <p>(a) Settle plates should be exposed for the duration of operations and changed as required after a maximum of 4 hours. Exposure time should be based on recovery studies and should not allow desiccation of the media used.</p> <p>Note 1: All methods indicated for a specific grade in the table should be used for qualifying the area of that specific grade. If one of the methods tabulated is not used, or alternative methods are used, the approach taken should be appropriately justified.</p> <p>Note 2: Limits are applied using Cfu throughout the document. If different or new technologies are used that present results in a manner different from Cfu, the manufacturer should scientifically justify the limits applied and where possible correlate them to Cfu.</p> <p>Note 3: For qualification of personnel gowning, the limits given for contact plates and glove prints in Table 7 should apply.</p> <p>Note 4: Sampling methods should not pose a risk of contamination to the manufacturing operations.</p>
4.32	<p>The requalification of cleanrooms and clean air equipment should be carried out periodically following defined procedures. The requirement for requalification of cleanroom areas is as follows:</p> <p>Table 3: Minimum test requirements for the requalification of cleanrooms</p> <p>* performed according to a risk assessment documented as part of the CCS. However, required for filling zones supplied with unidirectional airflow (e.g. when filling terminally sterilised products or background to grade A and RABS). For grades with non-unidirectional airflow, a measurement of recovery testing should replace velocity testing.</p> <p>For grade A &amp; B areas, the maximum time interval for requalification is 6 months.</p> <p>For grade C &amp; D areas, the maximum time interval for requalification is 12 months.</p> <p>Appropriate requalification consisting of at least the above tests should also be carried out following completion of remedial action implemented to rectify an out-of-compliance equipment or facility condition or after changes to equipment, facility or processes as appropriate. The significance of a change should be determined through the change management process. Examples of changes to be considered include but are not limited to the following:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i Interruption of air movement which affects the operation of the installation.</li> <li>ii Change in the design of the cleanroom or of the operational setting parameters of the HVAC system.</li> <li>iii Special maintenance which affects the operation of the installation (e.g. change of final filters).</li> </ul>

## SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes Condisciples.  
**D'**honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

**D'**exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

**De** ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

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

**Que** les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.