

# La Vague

LE MAGAZINE DE LA PHARMA ET DES BIOTECHS

N° 44 | Janvier 2015



## Technologies Barrières



- **Résultats du vote sur les propositions du GIC A3P**
- **De nouveaux chemins dans la mesure Carbone Organique Total**
- **Cytotoxic Chemical contamination risks and protective measures at hospital pharmacies**
- **Cahier Pratique : Mise en place d'un système de biodécontamination sur une unité de biotechnologie**

# Sommaire

<b>L'édito</b>   La Vigilance comme CREDO .....	3
<b>Quoi de neuf</b>   A3P, une nouvelle équipe .....	4
<b>Billet d'humeur</b>   Quel bel avenir... ? .....	5
<b>Retour sur évènement</b>   Congrès 2014, quel succes ! .....	6
<b>Résultats du vote des Propositions du GIC A3P de modifications envisageables de l'Annexe 1</b> .....	7
<b>Stéridico</b>   F comme valeurs ... de FTz .....	9
<b>Évènement A3P</b>   Technologies Barrières .....	11
<b>Technologie/Process</b>   Biofilms : les bactéries résistent ! .....	13
<b>Technologie/Process</b>   Identification individuelle par séquençage d'une bactérie et d'une moisissure présentes en mélange .....	15
<b>Technologie/Process</b>   Lyophilisation : comment utiliser la mesure manométrique de la température (MTM) pour comprendre l'influence de la température de nucléation sur la résistance au transfert de matière d'un produit .....	15
<b>Technologie/Process</b>   L'activité des désinfectants sur les champignons communs de salles propres ....	19
<b>Cahier Pratique</b>   Mise en place d'un système de biodécontamination sur une unité de biotechnologie.....	23
<b>Retour d'expérience</b>   Interview d'Alexandre Guerry .....	27
<b>Technologie/Process</b>   De nouveaux chemins dans la mesure Carbone Organique Total (COT ou TOC) ....	29
<b>Technologie/Process</b>   Cytotoxic Chemical contamination risks and protective measures at hospital pharmacies .....	33
<b>Management</b>   "Rien n'est permanent sauf le changement, partage d'expérience et de petits trucs..."	36
<b>Agenda</b>   Évènements & formation.....	38

## La Vague

Revue de liaison des adhérents de l'Association A3P.

A3P Association  
30, rue Pré Gaudry - 69007 Lyon  
Tél. 04 37 28 30 40  
E-mail : a3p@a3p.asso.fr

• Directeur de la Publication :  
Didier MEYER, Vice-Président A3P  
E-mail : dgastonmeyer@gmail.com  
• Rédactrice en Chef :  
Monique DECRULLE  
E-mail : m.decrulle@wanadoo.fr  
• Membres du Comité de rédaction :  
G. ECOTIERE, F. MOREL, J. NAVELLOU,  
E. PETAT  
• Coordinateur technique :  
Frédéric ESTASSY  
E-mail : festassy@a3pservices.com  
• Graphisme : A3P Services  
E-mail : storgue@a3pservices.com

• Imprimeur / Routeur :  
2PRINT - 42000 Saint-Étienne

• ASSOCIATION RÉGIE PAR LA LOI DE 1901.  
DÉPÔT LEGAL : Janvier 2014  
ISSN 1298-0471  
N° de siret 388 277 923 000 40

Les articles publiés dans la revue n'engagent que la responsabilité de leurs auteurs. Tous droits réservés.

## Une Gamme d'Équipements sur Mesure

# Sécurité



### Isolateur de Confinement et de Pesée

**Applications : pesée, dosage, production de principes actifs (API), manipulations sous atmosphère contrôlée, conditionnement aseptique, etc.**

- Configurations et matières sur mesure
- Avec ou sans système de biodécontamination avec agent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou APA intégré
- Filtration HEPA ou ULPA
- Dispositif de portes avec interlocks pour une optimisation du confinement et de la sécurité



# Flexibilité

### Sas de Transfert avec Système de Biodécontamination Intégré

**Application : Transfert aseptique des produits d'une zone non contrôlée vers une zone propre**

- Configurations et matières sur mesure
- Système de biodécontamination avec agent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou APA intégré
- Centralisation des fonctions de contrôle et de traçabilité des données
- Filtration HEPA ou ULPA
- Dispositif de portes avec interlocks pour une optimisation du confinement et de la sécurité

# Innovation



**JCE BIOTECHNOLOGY**



JCE BIOTECHNOLOGY  
Bioparc Vichy Hauterive - Avenue de Saint-Yorre - F - 03270 Hauterive - France  
Tél. +33 (0) 470 595 140 - Fax +33 (0) 470 591 112  
contact@jcebiotechnology.com

[www.jcebiotechnology.com](http://www.jcebiotechnology.com)

**FABRICANT DE SOLUTIONS PERSONNALISÉES EN ISOTECHNIE**  
SÉCURITÉ ET PRÉVENTION DE LA CONTAMINATION

L'édito

# La Vigilance comme CREDO



Gérard Ecotière  
Président A3P  
gerard.ecotiere@laposte.net

**2014** restera une année charnière pour notre Association. Des décisions importantes, prises par notre Conseil d'Administration nous ont conduit à nous installer au cœur des biotechnologies à Lyon. Les inévitables conséquences (départs de collaborateurs, arrivée d'une nouvelle équipe) ont été gérées humainement et professionnellement. C'était un devoir moral que nous avons, envers ceux qui nous ont longtemps accompagné.

Tous nos événements 2014 (Microbiologie, Journées techniques, Congrès des biotechnologies, Congrès International de Biarritz), ont été un succès, parfois au delà de nos espérances. Nos bureaux de Lyon, bien plus qu'un lieu de travail, sont un atout formidable pour notre développement.

Alors, beate satisfaction... Surtout pas. Tout sportif vous le confiera, s'il est une chose difficile d'arriver en haut de l'affiche, il en est une autre bien plus ardue, que d'y rester.

Soyons donc vigilants.  
Les manœuvres stratégiques de l'industrie pharmaceutique, n'en sont pas à leur terme et les évolutions vers les biotechnologies n'en sont qu'à leur début.  
Ne pas être en permanence à l'écoute de cette réalité, serait une erreur.

Nous nous devons sans cesse, d'être vigilants, et d'anticiper, comprendre et accompagner la logique de ces mouvements.

- Les anticiper pour pouvoir nous y adapter le plus rapidement possible.
- Les comprendre pour prévoir au mieux les besoins qu'ils génèrent.
- Les accompagner en mettant en œuvre les moyens qu'ils nécessitent.

Nous avons les armes pour réussir.  
Un Conseil d'Administration formé d'une équipe forte, expérimentée, motivée et curieuse.

A3P Services constituée de huit permanents, levier indispensable pour supporter la logistique de notre développement, et qui va œuvrer dans des locaux particulièrement adaptés.

Et puis tous nos adhérents, 1100 dans le monde, un réservoir scientifique et technique inégalé, où nous puisons articles, conférences et ateliers.

Nous négocierons donc le virage des biotechnologies avec succès.

Nous avons su le faire par le passé chaque fois que ce monde passionnant et exigeant du propre et du stérile a évolué.

Le succès oui ! ..... Mais si nous savons rester vigilants.

**Je vous présente  
tous mes vœux  
pour l'année 2015**

Quoi de Neuf !

# A3P, une nouvelle équipe à votre service



un Réseau, des Services, une Association

A3P  
30, rue Pré-Gaudry 69007 Lyon  
Tél. +33 (0)4 37 28 30 40  
a3p@a3pservices.com



Frédéric ESTASSY  
Directeur A3P Services  
[festassy@a3pservices.com](mailto:festassy@a3pservices.com)

Sherpa de l'Association



Grégoire DURAND  
Directeur associé A3P Services  
[gdurand@a3pservices.com](mailto:gdurand@a3pservices.com)

«Je participe au développement de l'Association A3P, plus particulièrement dans le secteur des Biotechnologies et l'outil web.»



Nina CHATRE  
Chargée de Projets  
[nchatre@a3pservices.com](mailto:nchatre@a3pservices.com)

«Je m'occupe de l'organisation et de la logistique des événements en Suisse (TechTime, Forums, etc.) et ceux sur les biotechnologies. Je gère la base «contacts» Suisse et le suivi des adhésions suisses.»



Anastasia MENTEAU  
Chargée de Projets  
[amenteau@a3pservices.com](mailto:amenteau@a3pservices.com)

«Je suis chargée de l'organisation des événements en France : Congrès A3P de Biarritz, Journées Technologies Barrières, Journées Lyophilisation et Particules, Rencontres Microbiologiques et Trophée Golf.»



Marion PROVINI  
Chargée de Projets  
[mprovini@a3pservices.com](mailto:mprovini@a3pservices.com)

«J'ai en charge la gestion administrative et logistique d'A3P Formation en étant le soutien auprès des formateurs et je suis aussi le contact privilégié pour les locations des différents espaces de réunion d'A3P.»



Sophie TORGUE  
Chargée de Communication  
[storgue@a3pservices.com](mailto:storgue@a3pservices.com)

«Garant de l'image et des missions de l'Association, je crée les supports de communication pour son développement et augmenter sa notoriété.»



Salima HAMRICHE  
Assistante de Direction  
[shamriche@a3pservices.com](mailto:shamriche@a3pservices.com)

«Je suis en charge de la partie administrative et comptable du groupe A3P. Soutien logistique dans l'organisation des réunions internes d'A3P.»



Mathieu GRISARD  
Chargé Événementiel Junior  
[mgrisard@a3pservices.com](mailto:mgrisard@a3pservices.com)

«Je gère et développe le programme A3P Tremplin, qui a pour objectif de référencer et d'accompagner les étudiants Pharma dans leur future insertion professionnelle.»



Victor MAUCHAMP  
Assistant administratif  
[vmauchamp@a3pservices.com](mailto:vmauchamp@a3pservices.com)

«Je gère et j'actualise la base «Contacts» de l'association», véritable outil de communication et de promotion pour nos activités.»

Billet d'Humeur

# Quel bel avenir...



Anne Rigoulot  
SANOFI PASTEUR  
anne.rigoulot@sanofipasteur.com

L'année 2014 aura été marquée par le déménagement d'A3P à Lyon.

Plusieurs articles lui ont été consacrés afin d'en expliquer les raisons, les avantages de la localisation, les bénéfices sur le développement de l'Association et pour les adhérents et enfin présenter les nouveaux locaux. Ces derniers ayant été conçus avec comme fil conducteur : modernité, originalité et élégance, dans l'objectif de maintenir les valeurs principales de l'Association qui sont le développement des compétences, le partage scientifique et la convivialité.

Donc aujourd'hui tout le monde sait, A3P est bien installée à Lyon, rue Pré-Gaudry et va pouvoir se développer. Mais connaissez-vous l'histoire du Pré-Gaudry ?

La rue Pré-Gaudry n'est pas une rue anodine, c'est un lieu chargé d'histoire industrielle mais aussi le lieu d'accueil d'un fabuleux destin entrepreneurial méritant d'être présenté car présageant un très bel avenir pour A3P.

En 1890, la société des forces motrices du Rhône décide de la construction d'une usine hydroélectrique sur le fleuve afin d'assurer l'approvisionnement en courant électrique de la ville

de Lyon. Devant l'importance du chantier, les industriels décident d'acheter des terrains dans le quartier de Gerland et plus particulièrement sur les Prés Gaudry, afin d'y implanter une usine. Ils fondent en 1897 la société des câbles électriques qui réunit techniciens suisses et investisseurs lyonnais ; une collaboration industrielle entre pays francophones prometteuse... ça ne vous rappelle rien ?

Avec l'essor de l'électricité, l'entreprise connaît ensuite un important développement que l'avènement des transports collectifs à Lyon ne fait qu'accroître. En 1920 la société se renomme Compagnie Générale des câbles de Lyon et fusionne avec la CGE (Compagnie Générale d'Electricité) continuant ainsi à se développer et à croître en étant toujours à la pointe des nouvelles technologies. Partie d'une petite fabrique de câbles, l'entreprise Française est devenue le leader mondial dans son secteur ; aujourd'hui, présente à la bourse de Paris, elle peut se targuer d'être plus que centenaire.

**Que peut-on souhaiter de mieux, à A3P, qu'une longévité analogue ?**

## AMENAGEMENT DES BUREAUX A3P



Bur des raisons fonctionnelles, le projet d'architecture intérieure tendance-avancée fut rapidement écarté à la demande dubitative du Président.

Et à vous tous chers lecteurs, je vous souhaite, pour 2015, au moins une aussi belle année qu'A3P a connu en 2014 et un très beau développement personnel et professionnel.

## Retour sur événement

# Congrès 2014, quel succes !



Monique Decrulle  
Rédactrice en Chef  
m.decrulle@wanadoo.fr

Tous les atouts se trouvaient réunis pour que ce 27<sup>ème</sup> congrès soit une réussite : congressistes plus nombreux, conférences axées sur 3 thèmes qui suscitent toujours beaucoup de questions, à savoir : maîtrise de la contamination, utilités pharmaceutiques et dispositifs médicaux ainsi qu'une table ronde basée sur la révision de l'annexe 1, avec la présentation des travaux menés par le GIC (groupe d'intérêt commun) dédié d'A3P, ces travaux consistant à mettre en concordance différents points de l'annexe 1 avec les nouvelles technologies.

Mais encore fallait-il que le déclic nécessaire à l'harmonie du déroulement des différentes phases du congrès se fasse.

Et là, oui le succès a été au rendez vous sur toute la ligne : conférences écoutées avec attention, suivies de nombreuses questions ; lors des pauses visites des stands sur lesquels les congressistes s'attardaient volontiers compte tenu des nouveautés présentées et de leurs démonstrations .

Le clou du congrès fût comme à l'accoutumée les ateliers. Cette journée consacrée aux problèmes que toute activité de production pharmaceutique pose sur tous les plans : humain, réglementaire, matériels ; problèmes pas toujours évidents à résoudre, le but de ces ateliers étant de permettre les échanges nécessaires entre participants, chacun faisant part de sa propre expérience afin d'apporter ou de proposer une solution.

Ravi de ce bilan 2014, A3P ne va pas en rester là, il n'est pas dans son habitude de procrastiner. Au contraire, prévoir ce que sera l'actualité de demain, aller de l'avant, innover au maximum, étendre ses activités, voilà les principaux défis qu'A3P se lance, pour ne surtout pas vous décevoir, vous tous qui nous faites confiance, un vrai challenge à relever.

Avant de terminer, n'oublions pas que ce succès tient avant tout à vous, congressistes sans oublier l'esprit d'équipe qui anime le Conseil d'Administration et l'énergie qu'A3p Services et sa toute nouvelle équipe a déployée depuis des mois malgré une année riche en changements : déménagement, installation dans les nouveaux locaux à Lyon et recrutement de nouveaux collaborateurs.



© A3P

Fort de l'encouragement que vous nous avez témoigné en venant si nombreux, A3P met toutes ses forces pour que votre 28<sup>ème</sup> congrès soit un nouveau succès. Venez aux nouvelles sur [www.A3P.org](http://www.A3P.org) et rendez vous en novembre 2015 à Biarritz bien sûr.



© A3P

Retour sur événement

# Résultats du vote sur les propositions du GIC A3P de modifications envisageables de l'Annexe 1



Synthèse des résultats du vote interactif de la table ronde du jeudi 16 octobre lors du congrès A3P de Biarritz.



Roland Guinet  
RGmp Compliance  
rolandguinet@hotmail.fr

## 1- CHANGEMENT DE TITRE :

CHANGE OF TITLE

Bonnes Pratiques de Fabrication des *Produits Pharmaceutiques* Stériles au lieu de Bonnes Pratiques de Fabrication des *Médicaments* Stériles.  
Good Manufacturing Practices of Sterile Pharmaceutical Products *instead of* Good Manufacturing Practices of Sterile Medicinal Products

OUI / YES	85%
NON / NO	12%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	2%

## 2- CHANGEMENT DE PLAN :

CHANGE OF CONTENT

Plan reprenant les chapitres des Bonnes Pratiques en général avec dans l'ordre :  
Content following the chapters in most common GxP with :

- Système de Gestion de la Qualité / Quality System Management
- Personnel / Personnel
- Locaux et matériels / Premises and equipment
- Documentation / Documentation
- Production / Production
- Contrôle de la Qualité / Quality Control
- Sous-traitance et externalisation / Externalised activities
- Réclamations et rappels / Complaints and Recalls
- Auto-inspections / Self control

OUI / YES	81%
NON / NO	7%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	12%

## 3-CLASSIFICATION DES ZONES ET DES DISPOSITIFS D'ATMOSPHÈRE CONTROLÉE :

CLEAN ROOM AND CLEAN AIR DEVICE CLASSIFICATION

Ajouter la *qualification microbiologique* à la qualification particulière.  
Add *microbiological qualification* to particle classification.

OUI / YES	34%
NON / NO	58%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	8%

## 4- SURVEILLANCE DES PRODUCTIONS UTILISANT DES TECHNOLOGIES BARRIÈRES

MONITORING OF PROCESSES USING BARRIER TECHNOLOGIES

La *surveillance et la simulation de procédés aseptiques* utilisant des technologies barrières (Isolateurs, RABS clos en opération) *peuvent être différentes* de celles en zones classiques A/B avec intervention humaine directe.

The *monitoring and the simulation of aseptic processes* using barrier technologies (Isolators, closed RABS in operation) *could be different* of those used for classical A/B zones processes with direct human intervention.

OUI / YES	70%
NON / NO	11%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	19%

## 5- SURVEILLANCE MICROBIOLOGIQUE

MICROBIOLOGICAL MONITORING

La surveillance microbiologique devrait recommander des *fréquences, quand* (début, milieu, fin d'opération, toute la durée) ainsi que *le programme d'incubation*.

The *microbiological monitoring* should indicate *frequencies, when* (beginning, middle, end, full duration) as well as the *incubation program*.

OUI / YES	62%
NON / NO	37%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	1%

## 6- TECHNOLOGIE DU FLACON FERMÉ

CLOSED VIAL TECHNOLOGY

*Introduire un chapitre spécifique sur la technologie du flacon fermé* après celui de la technologie de formage/remplissage/scellage.

*Introduction of a specific chapter for the closed vial technology* after the Blow/fill/seal technology chapter.

OUI / YES	67%
NON / NO	16%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	16%

## 7 - PRÉPARATION ASEPTIQUE EN SYSTÈME CLOS

### ASEPTIC PREPARATION USING CLOSED SYSTEM

Le chapitre préparation aseptique devrait être modifié pour indiquer que « La préparation des solutions, la manipulation et le remplissage des produits fabriqués aseptiquement doit se faire à un poste de travail de classe A dans un local de classe B. *Lorsque ces opérations sont entièrement réalisées en système clos validé, un environnement autre que A/B est autorisé.* »

The aseptic preparation chapter should be modified indicating that « Preparation of solutions, handling and filling of aseptically prepared products should be done in a grade A environment with a grade B background. *For operations using only validated closed systems, a grade C background is acceptable.*

OUI / YES	95%
NON / NO	2%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	2%

## 8 – COMPOSANTS STÉRILES PRÊTS À L'EMPLOI

### READY-TO-USE STERILE COMPONENTS

Lorsque des composants stériles sont introduits en classe A et que *le délai entre la stérilisation et l'utilisation n'est pas aussi court que possible* (Annexe 1.79), ils doivent disposer d'une possibilité de *vérifier lors de l'usage le maintien de l'intégrité de chaque packaging garantissant le maintien de sa stérilité*, comme par exemple un emballage sous vide.

For sterile components introduced in Grade A with a *delay between sterilisation and use not as short as possible* (Annex 1.79), there should be a mean to *verify at the point of use the integrity of each packaging and thus the sterility of components, such as a packaging under vacuum.*

OUI / YES	28%
NON / NO	54%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	19%

## 9- FILTRATION STÉRILISANTE OBLIGATOIRE LORSQUE POSSIBLE

### STERILE FILTRATION MANDATORY IF APPLICABLE

La filtration stérilisante doit être utilisée pour les produits stériles non stérilisables dans leur récipient final mais qui peuvent être filtrés sur filtre de rétention microbienne, sinon cela doit être justifié.

A sterile filtration *must be used* for sterile products which cannot be sterilised in the final container but *which can be sterile filtered* with a microbial retention filter, or this should be justified.

OUI / YES	72%
NON / NO	17%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	11%

## 10- CONTRÔLE D'INTÉGRITÉ DES FILTRES STÉRILISÉS AVANT USAGE

### INTEGRITY TEST OF THE STERILISED FILTERS BEFORE USE

Le contrôle d'intégrité des filtres stérilisés avant usage *est confirmé* car il a été démontré que des filtres intègres après usage avaient pu laisser passer des micro-organismes en début de filtration et devenir intègres par rétention de matériel durant la filtration.

The integrity test of the sterilised filters before use *is maintained* since it was observed that for some filters, conform for integrity after use, some micro-organisms went through the filters at the beginning of the filtration and then the leak was closed by material retention during the filtration.

OUI / YES	47%
NON / NO	39%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	14%

## 11 - MÉTHODES MICROBIOLOGIQUES RAPIDES

### RAPID MICROBIOLOGICAL METHODS

L'utilisation des méthodes microbiologiques rapides validées est *recommandée*. Pour les produits stériles de durée de vie courte utilisée avant connaissance du résultat du contrôle de stérilité, l'utilisation d'une méthode microbiologique rapide validée est *exigée si applicable pour ces produits*.

The implementation of rapid microbiological methods is *encouraged*. For sterile products with a short shelf life, used before obtention of the sterility test result, the implementation of a validated rapid microbiological method *is mandatory if applicable for these products*.

OUI / YES	84%
NON / NO	9%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	7%

## 12-1 TECHNIQUES DE CONTRÔLE 100%

### 100% TESTING METHODOLOGIES

Il est recommandé de soumettre les récipients clos à un contrôle d'intégrité à 100%, lorsque cela est possible.

It is recommended to subject closed containers to *100% integrity testing*, where applicable.

OUI / YES	53%
NON / NO	39%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	8%

## 12-2 TECHNIQUES DE CONTRÔLE 100%

### 100% TESTING METHODOLOGIES

Recommandation d'utiliser des techniques de contrôles à 100% pour *le contrôle d'humidité résiduelle des produits lyophilisés*.

It is recommended to subject freeze dried products to *100% residual humidity check*.

OUI / YES	18%
NON / NO	63%
PAS D'AVIS / NO CHOICE	19%

Depuis le GIC A3P Annexe 1 s'est de nouveau réuni et a décidé que l'ensemble des changements proposés, excepté le contrôle d'humidité à 100% des produits lyophilisés, soit intégré au document selon le Nouveau Plan pour l'Annexe 1 et soit traduit en axes stratégiques de modification dans le document de proposition de modifications pour les associations et les agences.



**A** vos agendas pour des rendez-vous sur ces propositions du GIC A3P Annexe 1

**Les 22 et 23 janvier à Lille, lors des Journées de la Qualité Pharmaceutique, le GIC (Roland GUINET et Jean-François DULIERE) présenteront les objectifs et les propositions de révision.**

Ensuite plusieurs communications sont programmées en Europe :

- **PDA Berlin Microbiology, les 17 et 18 février 2015** : Roland GUINET « Possible modifications of microbiological requirements in the new Annex 1. »

- **Pharma Congress à Düsseldorf, les 24 et 25 mars 2015** : Aseptic Processing – Jean-Denis

Mallet « Towards a renewed or a brand new Annex 1 » - Roland GUINET « Technological modifications proposed by the GIC A3P for a new Annex 1 »

- **ISPE Europe International annual meeting à Francfort, du 4 au 6 mai 2015**, avec Roland GUINET et Jean-François DULIERE.

# Stéridico

## F comme valeurs ... de $F_T^Z$



Dominique Weill  
STERIGENE  
dominique.weill@sterigene.com

Chacun aura compris que ce sont d'autres valeurs F que celles de Fiabilité, Fidélité ou Fertilité qui nous intéressent de partager ici avec la communauté. Bien comprendre la définition de nos valeurs : une nécessité utile car bien que bardées de valeurs guide, il nous faut bien les discerner pour qu'elles jouent leur rôle de balises sur la voie de nos prises de décision. A l'heure où le prix est souvent plus important que la valeur, le concept et son environnement sont moins précis mais plus justes que le chiffre absolu.

Comment créer des unités servant à la comparaison des nombreux cycles de traitements thermiques, si ce n'est avec une échelle partagée, un langage commun, une quantification modélisée. C'est pourquoi ci-après seront rappelées les définitions précises, presque toutes officielles des différentes déclinaisons de la valeur  $F_T^Z$  communément employées dans nos professions.

Définition de la fonction $F_T^Z$ : fonction permettant la quantification et la comparaison des effets de traitements thermiques .							
Les valeurs ci-dessous décrites représentent des cas particuliers dérivés de la fonction $F_T^Z$ exprimant une correspondance directe entre la quantification du traitement thermique et un effet spécifique propre à chaque valeur, tel que désinfection, cuisson, stérilisation, dépyréto-génatrice ou autres..							
$F_T^Z = \int_{sd}^{tt} 10^{(T_{ref}-T)/z} .dt \text{ ou } \Delta t \sum 10^{(T_{ref}-T)/z}$							
où sd = température seuil de départ; tt= temps de traitement; Tref= température référence; z = facteur de thermostabilité <span style="float:right">Dominique WEILL 23/06/2012 STERIGENE</span>							
	Noms de la valeur	Définitions	Température de référence (en °C)	Valeur z (en K <sup>(1)</sup> )	unité	Microorganismes de référence (2) et données référentes	Valeurs et couples : Temps/Température communément pratiqués
Ao	désinfectrice	quantifie en terme de temps équivalent, en seconde à 80°C, la thermodestruction sélective de microorganismes ayant une valeur z de 10 K, selon les objectifs prédéfinis.	80	10	s	<b>Pseudomonas aeruginosa + protéinase</b> (0,006 ≤ D ≤ 0,08 @70°C) 5,07 min @ 55 °C 0,08 min @ 65 °C	Selon ISO 15883-4(2014) <b>valeur mini 600</b> <b>soit 10 min @80°C *</b>  *très supérieur à 15 sec @72°C en pasteurisation
Co (ou VC)	cuisatrice	quantifie les effets d'un traitement thermique modifiant les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits.	100	25	min	personnalisés pour chaque produit	10 ≤ z ≤ 44 K (moy. usuelle de z : 25 K) Tref =70°C jambon et 80°C poissons L'écart VC <sub>oeur</sub> - VC <sub>surface</sub> révèle l'homogénéité du traitement
Fo (ou VS)	stérilisatrice pour chaleur humide	quantifie la thermodestruction par la chaleur humide des microorganismes viables	121,1 (250°F)	10	min	Pharma : <b>Geobacillus stearothermophilus</b> (1,6 ≤ D <sub>121</sub> ≤ 3 @121°C) Food : <b>Clostridium sporogenes</b> (1 ≤ D ≤ 3 @121°C) ou <b>Clostridium botulinum</b> D=1 et neurotoxine	Fo ≥ 20 <b>20 min@ 121,1°C</b>
FH	stérilisatrice pour chaleur sèche	quantifie la thermodestruction par la chaleur sèche des microorganismes viables	160	20	min	<b>Bacillus atrophaeus*</b>  *anciennement Bacillus subtilis variété niger	Selon NF-EN-ISO 20857 F <sub>H</sub> <sup>(3)</sup> ≥ 20 <b>20 min@ 160°C *</b>  *anciennement 170°C
Fr	dépyréto-génatrice	quantifie la thermodestruction par la chaleur sèche des substances pyrétogènes*  *générateur de fièvre	250 ou encore parfois 170	54	min	<b>Endotoxines</b> d'Escherichia coli	<b>Reduction 4 log<sub>10</sub></b> <b>FT ≥30 avec T<sub>ref</sub> 250°C</b> <b>30 min@250°C</b> ou <b>4 min @300°C</b> ou <b>1 min @ 330°C</b> ou FT ≥ 1000 avec Tref 170°C 1000 min@ 170°C (4)
Po (ou VP)	pasteurisatrice	quantifie la thermodestruction des microorganismes pathogènes aux températures inférieures à 100°C	70	10	min	<b>Enterococcus faecalis</b> (D <sub>70</sub> =3) ou <b>Streptococcus faecalis</b>	<b>P<sub>70</sub><sup>(5)</sup></b> (ou P <sub>65</sub> <sup>(6)</sup> boissons) <b>Réduction mini 4 log<sub>10</sub></b> ex : 30 min @60°C ; 15 sec @ 72°C ; nombreux barèmes Résiduelles : germes lactiques, saprophytes et psychrotrophes
Uo (ou UV)	upérisatrice*	quantifie la thermodestruction instantanée et continue des microorganismes viables dans les liquides par la chaleur humide ≥ à 140°C .	121,1	10	min	Spore de <b>Clostridium botulinum</b>	<b>Uo ≥ 12; Réduction 12 log<sub>10</sub></b> 1 sec@ 150°C <b>3,2 sec@ 145°C (=U.H.T.)</b> 5 sec@ 143°C

(1) variation absolue de température exprimée en K selon le S.I.  
(2) une collection ou souche(s) de cultures est reconnue par un dépôt international selon le Traité de Budapest sur 4-3 Reconnaissance internationale du dépôt des micro-organismes aux fins de brevets, et le règlement.  
(3) nommée F<sub>H</sub> valeur à tort et corrigé par ISO 11139:2014

\*upérisation =ultra-pasteurisation; U.H.T. Upérisation à Haute Température / Ultra High Temperature

### Définitions complémentaires de terminologie selon la norme ISO 11139 (la version 2014 devrait être harmonisée sous accords de Vienne en EN-ISO 11139 en 2015):

1)  $A_0$  = Mesure de la létalité microbiologique délivrée par un procédé de désinfection, exprimée en terme de temps équivalent en secondes à 80°C avec un microorganisme de référence ayant une valeur  $z$  de 10 K.

2)  $F_0$  = quantifie la thermodestruction par la chaleur humide des microorganismes viables.

*NB : Mesure de la létalité microbiologique délivrée par un procédé de stérilisation à la chaleur humide, exprimée en terme de temps équivalent en minutes à 121,1°C avec un microorganisme de référence ayant une valeur  $z$  de 10 K.*

3)  $F_H$  = Mesure de la létalité microbiologique délivrée par un procédé de stérilisation à la chaleur sèche, exprimée en terme de temps équivalent en minutes à 160°C avec un microorganisme de référence ayant une valeur  $z$  de 20 K.

4)  $F_{BIO}$  = Expression de la résistance d'un indicateur biologique, calculée comme le produit du logarithme de la population initiale de microorganismes et de sa valeur  $D$ .

Elle quantifie donc uniquement la thermodestruction par la chaleur des microorganismes présents sur un indicateur biologique (BI), sans aucune relation avec un niveau d'assurance de stérilité.

Ex : pour un BI chargé de  $10^6$  Geobacillus stearothermophilus ayant  $D_{121°C} = 2.5$  min,

le  $F_{BIO}$  sera égal à  $6 \times 2.5 = 15$

5)  $F_T$  = Mesure de la réduction de substances pyrogènes délivrée par un procédé de dépyrogénéation à la chaleur sèche, exprimée en terme de temps équivalent en minutes à 250°C avec des endotoxines de référence ayant une valeur  $z$  de 54 K.

Ainsi ces valeurs comparées permettent d'optimiser des phases parfois critiques, telles que chauffage ou refroidissement, la durée des cycles et des consommations énergétiques, aussi bien en désinfection thermique qu'en cuisson, stérilisation ou autres.

Concernant la thermodestruction des microorganismes, la cinétique de la réaction chimique dépendant d'un seul réactif : la quantité d'éléments biologiques indésirables, celle-là se trouve être chimiquement de premier ordre et elle suit donc quelques lois à bien considérer sur le plan pragmatique.

#### A) Loi de l'effet "Durée"

L'effet attendu (action) est proportionnel au temps d'exposition (Intégrale des surfaces définies par le couple temps-température). La valeur  $D$  (en min) ou temps d'exposition permettant la réduction de 90% du réactif, répétée  $n$  fois abaisse chaque fois la possibilité de retrouver un potentiel viable dans le réactif.

Au delà des paramètres imposés, plus la durée est longue, plus l'assurance de stérilité est grande et plus la Probabilité de Survie d'un Microorganisme Viable (PSMV) est faible;

et donc plus on réduit le risque associé à la PSMV, induit par la faible significativité de la représentativité de l'échantillonnage des mesures (nombres de sondes) au regard de l'extrapolation à l'ensemble de la population des points (ou produits).

Pour chaque procédé un temps de contact minimal est requis entre le fluide caloporteur et les microorganismes.

#### B) Loi de l'effet "température"

Par altération de la thermo résistance des germes, plus la température est élevée, plus la cinétique s'accélère et inversement. Pour une même quantité de réactifs ou microorganismes, une variation de température en plus ou en moins d'une valeur  $z$  accélère ou diminue la vitesse de la réaction par convention d'un facteur 10.

#### C) Loi de l'effet "concentration"

Plus le support ou produit contenant les microorganismes est concentré et hypertonique plus la déshydratation cytoplasmique accroît la résistance des germes. Les valeurs  $D$  et  $z$  sont à déterminer, de manière extrapolable, pour chaque concentration.

#### D) Loi relative aux effets des "variables diverses"

L'analyse de risque doit évaluer la criticité des paramètres tels que pH, ions  $Ca^{2+}$ , ions  $Cl^-$ , conservateurs, inhibiteurs, etc... reconnus pour impacter très notablement les valeurs  $D$  et  $z$  selon la flore spécifique et le milieu l'entourant.

En conclusion, ces valeurs utiles car toujours relatives entre elles, demeurent toujours des approximations même si elles sont dorénavant calculées avec une très, voire trop grande précision.

Rappelons la maxime de Benjamin Franklin : Une grande partie des misères de l'humanité est due aux estimations erronées qu'elle fait quant à la valeur des choses.

**Amis lecteurs, l'important est de contribuer ! Si vous souhaitez réagir, enrichir, participer : bienvenus au SteriDico.**

Évènement

# Technologies Barrières - 17 & 18 mars 2015 au Vaudreuil



Roland Guinet  
RGmp Compliance  
rolandguinet@hotmail.fr



Jacques Navellou  
AXYS NETWORK  
jnavellou@axys-network.com

Les technologies barrières, isolateurs et RABS (Restricted Access Barrier System) clos en opération, sont une des solutions permettant d'éviter le risque le plus important de contamination microbienne lors des procédés aseptiques qui est l'intervention humaine directe.

**Les Journées A3P Technologies Barrières ont pour premier objectif de rappeler ce que l'on peut appeler une technologie barrière en particulier pour les RABS.**

Les différentes utilisations de ces technologies barrières seront ensuite évoquées pour éviter la contamination microbienne des produits aux différentes étapes de fabrication aseptique et lors du contrôle de stérilité, mais aussi pour protéger l'environnement et l'opérateur lorsque les produits fabriqués sont toxiques ou dangereux.

Tous les aspects de préparation, de bio-décontamination, de transfert, de contrôle d'intégrité, d'utilisation lot après lot ou en mode campagne, seront abordés par des spécialistes utilisant ces technologies barrières depuis de nombreuses années. Les contrôles environnementaux ainsi que les simulations de procédés aseptiques seront envisagés en tenant compte des spécificités de ces technologies barrières.

Enfin, les avantages et les inconvénients respectifs des isolateurs et des RABS clos en opération seront discutés ainsi que les propositions du GIC A3P Annexe 1 pour améliorer la réglementation actuelle appliquée à ces technologies.

**Des visites de sites utilisant ces technologies barrières permettront aux participants de bien visualiser les avantages et les inconvénients de ces procédés. Sont proposés à la visite le site Sanofi le Trait, le site Valdepharm à Val-de-Reuil et le site Aspen à Notre Dame de Bondeville (selon les disponibilités).**

Le développement de ces technologies barrières doit permettre de réduire le nombre encore trop élevé d'infections transmises par des produits injectables contaminés.



=> voir programme page suivante

# Programme



## Mercredi 17 mars 2015

8h30 Accueil des participants  
*Welcome of the participants*

9H  
**Technologies barrières : définitions et principes généraux**  
*Barrier technologies : definitions and general principles*  
James Drinkwater - PHSS Chairman  
F Ziel Head of Aseptic technologies & GMP Compliance

### Fonctionnement technologies barrières *Operating barrier technologies*

9H30  
**Fonctionnement en campagne isolateur**  
*Operating isolators in a campaign mode*  
Laurent Le Bott - Sanofi Le Trait

9H50  
**Fonctionnement d'un RABS barrières**  
*How to use RABS*  
Joerg Zimmerman - Vetter Pharma

10H10  
**Isolateur de confinement**  
*Containment isolator*  
Franck Pavan - Pierre Fabre

10H30 Pause - *Coffe Break*

11H30  
**Isolateurs / RABS pour bulk, formulation mélange**  
*Bulk, blending and final bulk preparation in Isolator/RABS*  
Fernando Rodriguez-Gonzalez - GSK

11H50  
**Isolateur test de stérilité**  
*Sterility test isolator*  
Nathalie Faure-Chanel - Sanofi Pasteur R&D

12H10  
**Maintenance et rétrofit**  
*Maintenance and retrofitting*  
Philippe Jérôme - Skan

12H30 Déjeuner / *Lunch*

### 14H00 Visites des sites de production (1 au choix) *Production site tour*

Aspen (Notre-Dame-de-Bondeville)  
Sanofi (Le Trait)  
Valdepharm (Val-de-Reuil)

18H Cocktail & dîner / *Cocktail & Diner*

## Jeudi 18 mars 2015

9H Accueil  
*Welcome*

### Mode d'utilisation des technologies barrières *Barrier Technologies utilisation*

9H30  
**Les systèmes de transfert**  
*Transfer systems*  
Eric Gohier - JCE Biotechnology

10H  
**Contrôle de gants**  
*Glove management*  
Johannes Rauschnabel - Bosch

10H30 Pause - *Coffee Break*

11H30  
**Stérilisation - biodécontamination, nettoyage, BI**  
*Sterilisation, biodecontamination, cleaning, BI*  
Thierry Girard & Jean-Luc Schneider -  
Getinge LaCalhène

### Maîtrise de l'assurance de stérilité *Sterility assurance control*

12H  
**Contrôles d'environnement**  
*Environmental monitoring*  
Benoit Ramond - Sanofi

12H30  
**Simulation de procédés aseptiques (MFT)**  
*Aseptic process simulation*  
Emmanuelle Bracq - Lilly

12H30 Déjeuner / *Lunch*

14h30  
**Comparaison avantages / inconvénients isolateur & RABS barrière**  
*Pros and Cons isolators and RABS*  
Dominique Sierakowski - Octapharma

**Proposition de modification annexe 1 - section Isolateurs**  
*Annex 1 modification isolator section*  
**Propositions du GIC Annexe 1**  
Roland Guinet - Responsable du GIC A3P

16H30 Fin / *End*



PAVILLON DES AULNES  
27 rue Bernard Chedeville  
27100 - LE VAUDREUIL  
A 1 heure de Paris, 25 min de Rouen



Informations & inscription [www.a3p.org](http://www.a3p.org)

Technologie / Process

# Biofilms : les bactéries résistent !

La qualité microbiologique des surfaces est une problématique récurrente dans les secteurs industriels et de santé.



Romain Briandet  
MICALIS  
UMR1319 INRA AgroParisTech

Des traitements de nettoyage/désinfection sont régulièrement appliqués pour assurer l'hygiène des surfaces dans ces environnements mais ils ont parfois une efficacité limitée, ce qui peut engendrer des problèmes particulièrement importants sur le plan de la santé publique. Ceci peut s'expliquer par le fait que les normes d'évaluation de l'efficacité bactéricide des désinfectants sont basées sur des protocoles qui ne reflètent pas la réalité du terrain. En effet, ces tests sont basés en particulier sur l'utilisation de cellules en suspension ou déposées et séchées, occultant l'état « biofilm ». Hors, quelques soient les matériaux utilisés pour les équipements industriels ou médicaux, les bactéries présentes dans l'environnement peuvent, en milieu humide, adhérer aux surfaces et former des biofilms. La formation de ces structures engendre une résistance accrue des cellules incluses vis-à-vis des traitements de désinfection. Un apport de connaissances scientifiques sur ces édifices biologiques tridimensionnels et notamment sur les mécanismes impliqués dans leur résistance est donc primordial afin d'optimiser les traitements de désinfection.

## Les défis d'une résistance collective.

Si le biofilm a pendant de nombreuses années été considéré comme un agrégat de cellules et d'exopolymères organiques, on sait aujourd'hui que c'est un véritable assemblage biologique avec un haut degré d'organisation dans lequel les microorganismes forment des communautés 3D structurées et coordonnées assurant des fonctions spécifiques (Figure 1).



Fig 1 : Le biofilm, une cité microbienne (T. Ikehila)

Les travaux scientifiques sur le sujet montrent un lien étroit, qu'il soit direct ou indirect, entre l'architecture de l'édifice biologique et sa résistance à l'action des antimicrobiens<sup>(1)</sup>. En effet, la multiplication des cellules adhérentes et la production d'une matrice mucoïde extracellulaire conduisent au développement d'une structure tridimensionnelle complexe dans laquelle les biocides peuvent rencontrer des problèmes de diffusion/réaction limitant leur efficacité. La structure tridimensionnelle gouverne également la mise en place de gradients en nutriments, en oxygène et en produits métabolites qui entraînent l'apparition d'une hétérogénéité chimique et nutritionnelle dans le biofilm. En réponse à leur microenvironnement local, les cellules peuvent alors évoluer vers des phénotypes de tolérance par des modifications physiologiques et/ou l'expression de gènes spécifiques. La résistance globale de la communauté bactérienne apparaît donc être un processus multifactoriel structure-dépendant qui implique des phénomènes locaux<sup>(2)</sup>.

Les informations sur la mise en place de cette architecture et la réactivité spatio-temporelle des antimicrobiens au sein de ces structures hétérogènes pourraient donc aider à mieux comprendre les mécanismes impliqués dans leur résistance.

## Visualisation en temps réel de l'action d'un biocide dans un biofilm.

Actuellement, la plupart des méthodes de mesure de l'action d'antimicrobiens dans les biofilms sont destructives et ne prennent pas en compte l'hétérogénéité spatiale de ces biostructures. Afin d'aller plus loin dans la compréhension des mécanismes de résistance des biofilms, nous nous sommes intéressés à **une méthode d'investigation «4D» non-invasive en temps réel reposant sur la microscopie confocale laser à balayage**. Cette technique est basée sur le suivi en

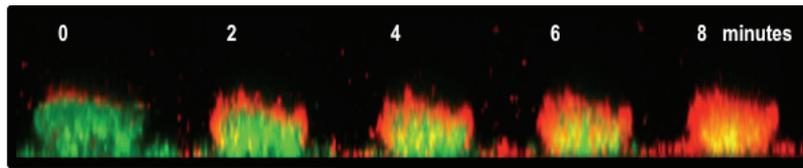


Figure 2: Visualisation directe de l'action du chlorure de benzalkonium sur un biofilm de *P. aeruginosa* (vert=vivant, contre marquage en rouge des cellules inactivées)

temps réel de la perméabilisation de la membrane bactérienne par l'agent antimicrobien par des marquages fluorescents spécifiques. Cette technique a ainsi permis de mettre en évidence le frein à la diffusion-réaction au sein d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* du chlorure de benzalkonium, désinfectant classiquement utilisé en industrie et dans le secteur médical (Figure 2).

Des mesures similaires réalisées avec d'autres principes actifs a permis de montrer que pour certains couples biofilm/désinfectant, la matrice représente un véritable «bouclier» capable d'interférer avec la réactivité du principe actif<sup>(3)</sup>. De plus, les cellules survivantes ont été soumises à des concentrations sub-inhibitrices de désinfectant lors d'un tel traitement. Ces expositions répétées peuvent générer certaines adaptations physiologiques qui repoussent encore plus loin la tolérance ultérieure du biofilm. *Ce qui ne tue pas endureci*, cet adage semble particulièrement approprié à la vie microbienne en biofilm !

Des torpilles bactériennes à l'assaut des biofilms ?

Nous venons de mettre en évidence l'existence de bactéries flagellées capables de s'infiltrer et de «vasculariser» les biofilms en creusant un réseau de galeries transitoires dans la matrice. Un résultat qui pourrait fournir un nouvel arsenal biologique pour lutter contre les biofilms impliqués dans les infections humaines. En effet, la perforation de la matrice des biofilms par des bactéries mobiles peut faciliter la pénétration et l'activité de subs-

tances toxiques<sup>(4)</sup>. Nous avons ainsi montré l'effet sensibilisant d'une pré-exposition de biofilms indésirables à un mélange de bactéries nageuses vis-à-vis de l'efficacité d'un désinfectant utilisé en hygiène industrielle. **Cette étude a également démontré la possibilité d'utiliser des bactéries nageuses et productrices de composés antimicrobiens pour infiltrer la matrice de biofilms indésirables, inactiver les agents pathogènes installés et occuper le nouvel espace libéré sur la surface.** Cette nouvelle stratégie biologique pourrait être utilisée pour la maîtrise microbiologique de surfaces industrielles, mais également dans la lutte d'infections chroniques cutanées, nasales ou digestives, par exemple en utilisant des cocktails de souches probiotiques sélectionnées sur des critères de nage et de synthèse de molécules antimicrobiennes, comme par exemple certaines souches de *Bacillus* productrices de bactériocines.

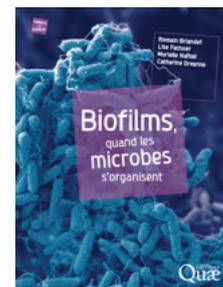
### Conclusion

Les travaux de recherche les plus récents ont permis d'apporter des éléments explicatifs quant aux mécanismes impliqués dans la formation des biofilms et leur résistance à l'action des agents antimicrobiens. Les résultats obtenus soutiennent le rôle primordial de l'architecture et de la matrice des biofilms dans les phénomènes de résistance. D'un point de vue sanitaire, il apparaît urgent de prendre en compte l'état biofilm et des conditions d'étude plus proches de la réalité des environnements industriels

et médicaux dans le développement et la validation de traitements antimicrobiens efficaces.

Les travaux présentés ont été réalisés grâce au soutien financé de l'ANR ALID GreenSwimmers, de DIM Astrea, le pôle de compétitivité MEDICEN Ile-de-France et le projet Européen FP7 SUSCLEAN.

Pour en savoir plus :



R. BRIANDET, L. FECHNER, M. NAÏTALI AND C. DREANNO. 2012. *Biofilms : Quand les microbes s'organisent.*

Editions QUAE, France



Dossier thématique de 25 pages, « Biofilm, la société des microbes »,

Biofutur Mars 2013 - n° 341.

### Références :

- (1) A. BRIDIER, R. BRIANDET, V. THOMAS, F. DUBOIS-BRISSONNET, 2011. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling*, 27(9) 1017-1032.
- (2) A. BRIDIER, P. SANCHEZ-VIZUETE, M. GUILBAUD, J.-C. PIARD, M. NAÏTALI & R. BRIANDET. Biofilm-associated persistence of foodborne pathogens. 2014. *Food Microbiology* (in press).
- (3) A. BRIDIER, F. DUBOIS-BRISSONNET, G. GREUB, V. THOMAS, AND R. BRIANDET. 2011. Dynamics of the action of biocides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 55(6): 2648–2654
- (4) A. HOURY, M. GOHAR, J. DESCHAMPS, E. TISCHENKO, S. AYMERICH, A. GRUSS & R. BRIANDET, 2012. Bacterial swimmers that infiltrate and take over biofilm matrix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(32):13088-93

Technologie / Process

# Identification individuelle par séquençage d'une bactérie et d'une moisissure présentes en mélange



Séverine Hopfner  
LILLY FRANCE  
hopfner\_severine@lilly.com

Notre système d'identification permet d'identifier les microorganismes sur la base du séquençage génétique de leur ADN. Un problème se pose pour certains prélèvements comprenant des moisissures en mélange avec des bactéries car il est souvent difficile de les isoler pour procéder à leur identification.

Nous avons pu démontrer que le prélèvement de colonies de moisissure et de bactérie en mélange pour une identification individuelle de la bactérie ou de la moisissure n'altère pas les résultats des identifications individuelles. Il est par conséquent possible d'identifier par séquençage ADN un seul microorganisme présent au sein d'un mélange de deux microorganismes quand celui-ci est constitué d'une bactérie et d'une moisissure.

## INTRODUCTION

Le système Analyseur génétique permet d'identifier les microorganismes (bactéries, levures, moisissures) sur la base du séquençage génétique de leur ADN. Les résultats générés sont indépendants de variables telles que le type de milieu de culture, les conditions de croissance du microorganisme, l'âge de la culture mais requièrent selon notre mode opératoire une culture pure.

Un problème se pose pour certains prélèvements présentant des moisissures : celles-ci sont parfois présentes sur les prélèvements en mélange avec des bactéries, ce qui rend difficile leur isolement préalable à identification.

L'analyse de la séquence d'ADN est basée sur un gène spécifique, universel et propre à chaque type de microorganismes, le gène 16S pour les bactéries et le gène D2LSU pour les moisissures et les levures.

**L'objectif de cette étude a été d'évaluer la possibilité d'identifier un seul type de microorganisme à partir d'un mélange de deux types de microorganismes dont l'un est une moisissure et l'autre une bactérie.**

## MODE OPERATOIRE

Les différents microorganismes, en culture pure et en mélange, sont identifiés au cours de plusieurs "runs" indépendants afin de valider la méthode.

### Les tests suivants ont été réalisés :

- Identification individuelle de chaque microorganisme testé en culture pure afin d'avoir un contrôle individuel d'identité ; cette identification nous permet d'effectuer un comparatif avec l'identification obtenue lors du traitement des mélanges de microorganismes.

- Préparation de mélanges bactérie-moisissure par ensemencement sur gélose d'une colonie de bactérie et d'une colonie de moisissure.

Après incubation et croissance franche des deux microorganismes, identification des microorganismes en mélange

- avec la méthodologie d'identification propre aux bactéries afin d'identifier la bactérie présente dans le mélange,

- avec la méthodologie d'identification propre aux moisissures afin d'identifier la moisissure présente dans le mélange.

*Our identification system identifies the microorganisms on the basis of their genetic DNA sequencing.*

*However, we encounter problems for samples with both mold and bacteria because it is often difficult to isolate these two types before identification.*

*We have been able to show that when identifying a mixture of mold and bacteria there is no alteration of the results for each individual identification. It is therefore possible to identify each microorganism present in a mixture of bacteria and mold.*

## RESULTATS ANALYTIQUES

Pour chaque série d'identification, plusieurs analyses consécutives sont réalisées.

Les résultats des identifications obtenus au cours de ces différentes analyses sont identiques.

	Résultat des Identifications individuelles		Résultat des Identifications du mélange	
	de la bactérie avec la méthodologie propre aux bactéries	de la moisissure avec la méthodologie propre aux moisissures	avec la méthodologie propre aux bactéries	avec la méthodologie propre aux moisissures
Série 1	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Allewia eureka</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Allewia eureka</i>
Série 2	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Eurotium rubrum</i> / <i>Eurotium herbariorum</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Eurotium rubrum</i> / <i>Eurotium herbariorum</i>
Série 3	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Fusarium anthophilum</i> / <i>Fusarium napiforme</i> / <i>Fusarium nygamai</i> / <i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Fusarium anthophilum</i> / <i>Fusarium napiforme</i> / <i>Fusarium nygamai</i> / <i>Fusarium proliferatum</i>
Série 4	<i>Microbacterium lacticum</i>	<i>Chaetomium globosum</i>	<i>Microbacterium lacticum</i>	<i>Chaetomium globosum</i>
Série 5	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	<i>Alternaria alternata</i> / <i>Cochliobolus carbonum</i> / <i>Stemphylium vesicarium</i>	<i>Herbaspirillum huttiense</i>	<i>Alternaria alternata</i> / <i>Cochliobolus carbonum</i> / <i>Stemphylium vesicarium</i>
Série 6	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> / <i>Cladosporium herbarum</i> / <i>Mycosphaerella aronici</i>	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i> / <i>Cladosporium herbarum</i> / <i>Mycosphaerella aronici</i>

## INTERPRETATION / CONCLUSION

Pour chaque souche testée, les critères individuels de validité et d'acceptation obtenus sont très proches si l'on compare les valeurs des identifications des souches isolées et celles des souches en mélange. Ils sont conformes à nos critères en vigueur dans notre laboratoire.

Les résultats des identifications obtenus pour les séries analytiques consécutives et pour les six microorganismes en mélange sont identiques à ceux obtenus lors des identifications individuelles.



Le prélèvement de colonies de moisissures et de bactéries en mélange n'altère pas les résultats des identifications individuelles. Il est par conséquent possible d'identifier individuellement une moisissure et une bactérie non isolables lors du traitement d'un mélange de ces deux microorganismes.

## Technologie / Process

# Lyophilisation : comment utiliser la mesure manométrique de la température (MTM) pour comprendre l'influence de la température de nucléation sur la résistance au transfert de matière d'un produit



Elysabeth Empis Sheppard  
Biopharmatech  
elysabeth@biopharmatech.fr

**B**ien qu'en général on se concentre plus sur la dessiccation pendant le processus de lyophilisation, il ne faut pas oublier que la congélation elle aussi joue un rôle décisif.



La structure des cristaux de glace détermine la structure du produit en train de sécher et va donc avoir une influence certaine sur la vitesse de séchage. Une structure ouverte avec de plus gros cristaux proches les uns des autres permettra à la vapeur de s'échapper plus facilement. Par contre avec des cristaux de petite taille et isolés les uns des autres, la vapeur va s'échapper plus difficilement du produit. La nucléation de la glace va se produire à des moments différents

suitant où le produit se trouve dans la chambre du lyophilisateur et sur les étagères. Cela cause donc des différences dans la vitesse de séchage d'un lot à l'autre et parfois même au sein d'un seul lot, ce qui peut bien sûr résulter en des produits de qualité variable.

**Il y a actuellement sur le marché des technologies qui permettent de contrôler de façon fiable la nucléation de la glace pendant la lyophilisation. L'une de ces méthodes est de pressuriser la chambre du lyophilisateur pendant la congélation et puis de la dépressuriser rapidement quand elle atteint la température requise de nucléation.**

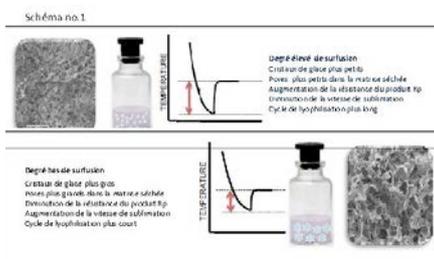


Schéma 1. graphe illustrant l'impact que peut avoir la température de super-refroidissement

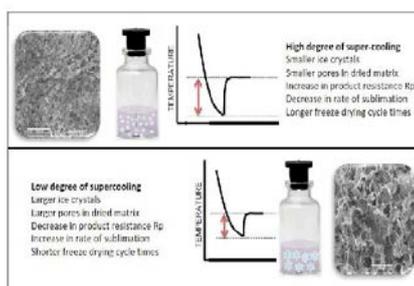


Figure 1. Illustration of the effect of the degree of supercooling

**Le schéma n°1 montre l'impact que peut avoir une nucléation contrôlée sur la dessiccation primaire.**

Plus la température de nucléation est élevée, moins il y a de surfusion. Un degré élevé de surfusion produit des cristaux de glace de petite taille, qui à leur tour ont pour résultat une morphologie de petits pores pendant et après la sublimation. Ces petits pores produisent une grande résistance ( $R_p$ ) au transfert de la matière (la vapeur d'eau s'échappant du produit par sublimation). A cause de cette grande résistance, la dessiccation primaire se fait relativement lentement.

La mesure manométrique de la température (MTM) est un des outils PAT (Technologie d'Analyse des Processus) actuellement disponible sur certains lyophilisateurs. La

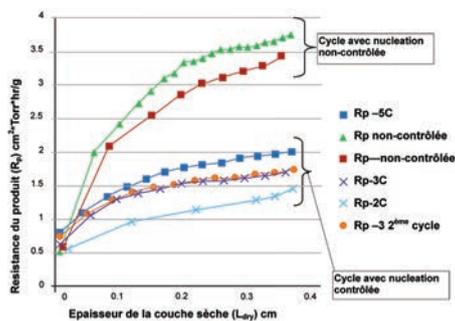
MTM peut s'utiliser en conjonction avec un logiciel de surveillance spécialisé pour en faire un outil automatisé qui identifie et contrôle les paramètres essentiels du processus pendant la phase de dessiccation. On s'en sert non seulement pour optimiser les cycles mais aussi pour calculer et déterminer les paramètres critiques du produit pendant le processus. On peut, par exemple, s'en servir pour déterminer la résistance du produit ( $R_p$ ) la vitesse de sublimation ( $dm/dt$ ) et l'épaisseur de la couche sèche ( $L_{dry}$ ) pendant la dessiccation primaire.

Durant la dessiccation primaire, la valve qui se trouve entre la chambre et le condenseur se ferme pendant 30 secondes à intervalles réguliers. L'augmentation de pression est alors enregistrée et les données ainsi obtenues sont analysées en régression

non linéaire et mises en équation, utilisant l'équation MTM. Ce traitement automatique des données permet d'évaluer et de transmettre instantanément la résistance du produit et la pression de vapeur de la glace à l'interface de la sublimation. Le logiciel peut aussi calculer d'autres paramètres, tels que la vitesse de sublimation et l'épaisseur de la couche sèche (Ldry) en utilisant une série bien connue d'équations de transfert de chaleur et de matière.

Certains lyophilisateurs réunissent même les deux technologies à la fois : la MTM automatisée et le contrôle de la nucléation. Cela offre la possibilité unique d'intégrer le contrôle de la nucléation au processus d'optimisation de cycle pour qu'il soit calculé et pris en compte par le logiciel MTM. Cela offre aussi l'avantage de pouvoir établir un lien entre les caractéristiques du produit et celles du processus et par conséquent de comprendre leur importance sur le résultat final.

Pendant une première série d'essais, on explore l'impact de la température de nucléation sur la résistance du produit en utilisant une solution aqueuse comprenant 5% de saccharose. Pour deux cycles, la nucléation n'a pas été contrôlée et les cycles ont été automatisés. Par la suite la même solution a été nucléée à -2°C, -3°C et -5°C et on a utilisé le logiciel pour évaluer et compléter les cycles.



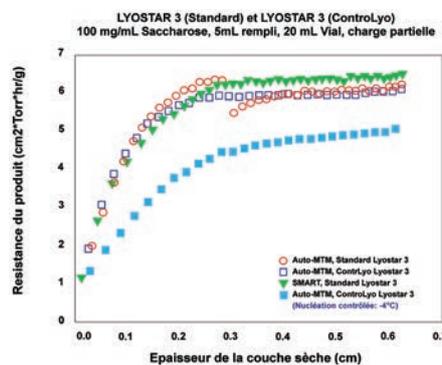
**Le schéma n°2 montre pour chaque essai le graphe de la résistance du produit (Rp) par rapport au graphe de l'épaisseur de la couche sèche (Ldry).** On observe une relation inversement proportionnelle entre la température de nucléation et la résistance : plus la température est élevée quand la nucléation s'amorce, moins le produit est résistant. Cela correspond bien à notre description préalable de la nucléation. Cependant il faut noter deux points importants sur le graphe :

1. On obtient exactement les mêmes données pour les deux cycles où la nucléation s'amorce à -3°C, comme en témoigne le chevauchement des deux graphes.

2. On observe des différences dans la résistance même avec seulement 1°C de différence pour la température de nucléation.

Comme nous l'avons déjà indiqué précédemment, **la résistance du produit est un des paramètres critiques le plus important en lyophilisation.** Dès le moment où on la mesure, on obtient une image instantanée des changements qui se produisent dans la morphologie du lyophilisat ou "cake" suivant les conditions de cycle utilisées. En analysant les données déterminant la résistance du produit, on peut détecter non seulement le rétrécissement du cake, l'effondrement et la fissuration, mais aussi les changements les plus subtils, comme par exemple la morphologie interne du lyophilisat (micro-effondrement). La température du produit (Tp-mtm) et sa résistance (Rp) sont directement liées à la température pendant la dessiccation primaire et à la qualité du produit final.

**Cet exemple est illustré sur le schéma n°3.** Dans cet exemple on a une série de 3 cycles faits l'un après l'autre dans le lyophilisateur sans contrôle de nucléation. A la fin de chaque



cycle on trace le graphe Rp par rapport au graphe Ldry. Le cycle avec les triangles verts  $\triangle$  et le cycle avec les carrés bleus  $\square$  sont les graphes typiques de résistance auxquels on s'attend. Le cycle avec les cercles rouges  $\circ$  révèle une anomalie qui s'est produite à peu près à mi-chemin de la dessiccation primaire. La résistance du produit chute singulièrement pendant une courte période, et puis reprend son cours normal avec un

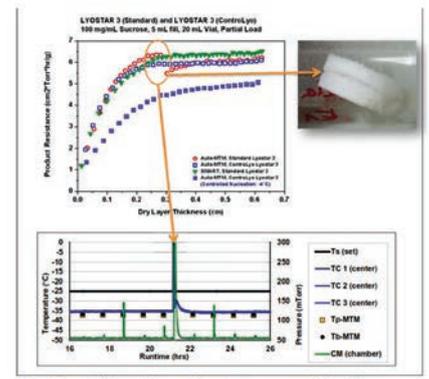


Figure 3 : Illustration of relationship between product resistance measurement and cake morphology

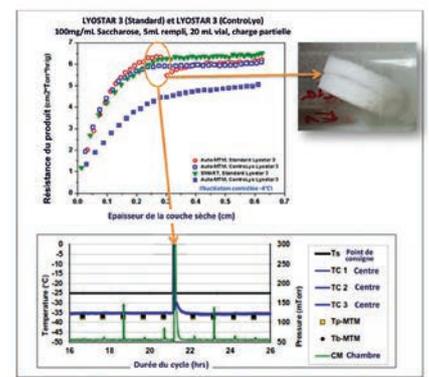


Schéma no.3 : illustration du rapport entre la mesure de résistance du produit et la morphologie du cake

graphe similaire aux autres. Pendant ce court intervalle de temps, la pression a augmenté dans la chambre. Ceci a provoqué une augmentation de la température du produit à l'interface de la sublimation et une perte de l'intégrité de la structure (effondrement) à cet endroit spécifique du lyophilisat. Une fois la pression retrouvée, la température du produit a diminué et est retournée en dessous de la température d'effondrement et le cycle a continué jusqu'au bout. Quand on examine le produit final, on peut voir que l'augmentation de température et l'effondrement qui ont eu lieu pendant la perte de pression, ont créé une couche différente du reste où la structure a perdu de son intégrité.

**Cet exemple nous donne l'occasion d'utiliser la résistance du produit comme un outil et de faire une analyse en cours de processus.**

**Si Rp par rapport à Ldry avait été signalé et visible en temps réel, l'anomalie qui s'est produite se serait tout de suite vue et on aurait su à l'avance que le lyophilisat allait être endommagé avec des anomalies morphologiques.**

## Technologie/Process

# L'activité des désinfectants sur les champignons communs de salles propres



Jim Polarine  
Steris Corporation  
jm\_polarine@steris.com



Frédéric Bar  
Steris Corporation  
frederic\_bar@steris.com

Aujourd'hui, dans les salles propres dotées d'équipement pharmaceutique, de matériel de biotechnologie et d'instruments médicaux, on observe une prévalence croissante des moisissures qui peut donner lieu à des campagnes de surveillance environnementale ou à des arrêts des opérations. Bien que la fermeture du site constitue le pire des cas, l'isolement fréquent des champignons au sein d'une salle propre peut présager d'un réservoir potentiel de contamination qui peut générer des problèmes sur le long terme.

De nombreuses sociétés pharmaceutiques et de biotechnologie font face à certains défis quand il s'agit de définir les limites acceptables des moisissures dans le cadre de leurs opérations en salle propre. Bien qu'un seuil de zéro ne soit pas réaliste, il existe une propension à définir des niveaux très faibles de moisissures dans la plupart des opérations afin de minimiser les problèmes à venir. Afin de maintenir les chiffres de moisissures sous ces niveaux cibles, il est essentiel de choisir des désinfectants qui démontrent une activité satisfaisante sur les champignons communs de salles propres. Les spores fongiques, comme les spores bactériennes peuvent constituer des challenges de taille pour de nombreux désinfectants couramment utilisés. Cet article donne un aperçu d'exemples de contrôles de contamination standard et propose une étude de l'activité de plusieurs désinfectants et sporicides vis-à-vis des champignons communs que l'on trouve lors d'opérations en salle propre sur du matériel pharmaceutique, des équipements de biotechnologie ou des instruments médicaux.

## Études de cas

Au fil des années, des problèmes de moisissures dans les salles propres, les chambres froides, les zones contrôlées, les espaces interstitiels et les nouvelles salles propres ont été signalés<sup>1</sup>. Des moisissures comme l'*Aspergillus* proviennent de diverses sources au sein de la salle propre, comme les plaques de bas de porte, les sacs, les incubateurs, les boîtes, les marqueurs, l'équipement d'intervention, les roues de chariot, les carreaux du plafond, le sol qui se dégrade et, dans certains cas, des dispositifs à jet haute pression pour l'application de germicides<sup>1</sup>. Les vibrations de la construction, des systèmes de gicleurs et des fixations de luminaires mal conçus ont également été l'origine d'invasions de moisissures dans les salles propres. Récemment, plusieurs sociétés pharmaceutiques et fabricants de vaccins en Europe ont connu une augmentation

de la présence de moisissures due à une augmentation des températures ambiantes et à des problèmes liés à des objets amenés dans ces salles. Comme les sources de contamination fongique sont extrêmement variées, il est impératif de prendre en considération tous les facteurs potentiels qui peuvent contribuer aux problèmes de moisissures, y compris la conception et la maintenance de l'installation, les objets amenés dans les salles blanches, les pratiques du personnel et l'adéquation des produits utilisés pour le nettoyage et la désinfection.

Ces derniers temps, l'*Aspergillus*, le *Penicillium*, le *Trychophyton*, le *Stachybotrys* ainsi que d'autres moisissures ont généré des problèmes d'invasion microbienne significative qui ont eu des impacts négatifs sur la production. Par exemple, l'*Aspergillus niger* a récemment engendré 35 millions de dollars de frais

de rénovation chez un gros fabricant de médicaments génériques par voie parentérale sur la Côte Ouest des Etats Unis. Ce fabricant a dû rénover ses panneaux en acier inoxydable et remplacer les sols pour solutionner les problèmes liés à des foyers de moisissures endémiques. Autre exemple récent, l'arrêt pendant plusieurs jours de la production dans une salle propre à cause d'une infestation importante de *Trichophyton* attribuée à un opérateur qui souffrait du pied d'athlète. *Le Penicillium* constitue une autre espèce de moisissure fréquemment isolée sur la base des données de surveillance environnementale au cours des opérations en salle propre. Il y a quelques années, un site avait recensé un certain nombre d'isolat de l'espèce *Penicillium* générant des infestations au cours de ses opérations, ce qui a mené à une recherche longue et très coûteuse. *Le Stachybotrys* a également posé problème dans certains établissements. Un site ayant recours à un dispositif de vaporisation par jet haute pression dans ses salles propres pour l'application de désinfectants a finalement fait des trous dans les cloisons et parois murales, ce qui a généré des infestations endémiques de *Stachybotrys* et d'*Aspergillus*.

Du matériel de colmatage a été placé sur les murs pour résoudre les problèmes, mais le nombre de trous et de colmatages sur le site était si important que le problème n'a jamais pu être résolu.

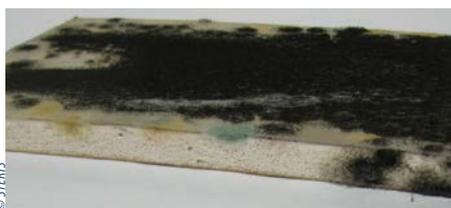


Figure 1 : Section de cloison inoculée d'*Aspergillus niger*.

**Ces exemples illustrent l'étendue des problèmes de moisissures et montrent pourquoi il est important d'utiliser les produits chimiques adéquats contre les moisissures afin garder ces infestations sous contrôle et de minimiser les frais des mesures correctrices ainsi que les pertes de productivité. À cette fin, une étude a été mise sur pied afin de fournir des données à propos des produits chimiques adéquats pour éliminer les champignons spécifiques aux salles propres. Cette étude a comparé l'activité de six désinfectants différents contre cinq espèces de moisissures très répandues.**

MATÉRIEL ET MÉTHODES



Figure 2 : Élaboration d'une procédure de mesure de temps pour l'élimination.

Culture et préparation de micro-organismes  
Des cultures d'*Aspergillus niger* ATCC 16404, d'*Aspergillus fumigatus* ATCC 96918, de *Penicillium notatum* ATCC 10108, de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, et de *Stachybotrys chartarum* ATCC 16275 ont été réalisées sur de la gélose de Sabouraud Dextrose (SDA) pendant une période de 7 à 10 jours à 24 °C. Le jour du test, 10 millilitres de tampon stérile de Butterfield ont été ajoutés à chaque tube de culture et on a délicatement frotté les particules de mycélium de la surface de la gélose à l'aide d'une œse stérile dans la suspension. Ces suspensions furent ensuite pipetées dans des dispositifs stériles pour broyage de tissus et furent macérées jusqu'à ce qu'à obtenir une certaine consistance. L'inoculum microbien de travail variait d'un organisme à l'autre selon une plage d'environ  $5 \times 10^4 - 3 \times 10^6$  CFU/ml.

Une mesure du temps pour l'élimination a été réalisée pour évaluer l'activité de divers désinfectants sur chaque organisme fongique. Dans le cadre de cette méthode, cent microlitres d'inoculum préparé est pipeté dans dix millilitres de désinfectant pour produire un ratio de 1:100. Pour le contrôle de l'inoculum, chaque organisme est également complété de dix millilitres de tampon. Cent millilitres de suspensions sont retirés et neutralisés dans 9,9 millilitres de milieu approprié à chacun des trois points suivants: 30 secondes, 60 secondes et 120 secondes.

Des dilutions sérielles au rapport 1:10 ont été réalisées et mises en plaques avec de la gélose Sabouraud Dextrose. Les plaques sont incubées à 30 °C pendant 5 à 7 jours.

Les valeurs  $\log_{10}$  des données CFU/ml ont été calculées pour les contrôles de base et les articles de test. Les valeurs de réduction  $\log_{10}$  représentent la différence entre le contrôle de base moyen  $\log_{10}$  et le  $\log_{10}$  des valeurs des articles en test.

RÉSULTATS

L'étude initiale a évalué l'activité de 8 produits disponibles sur le marché dans une étude de mesure de la durée d'élimination dans une suspension sur un large spectre de champignons, avec des temps de contact de 30 et 60 secondes.

TABLEAU 1

Produit	Aspergillus niger		Aspergillus fumigatus		Trichophyton mentagrophytes		Reduction Moy.		Penicillium notatum	
	30s - 60s	30s - 60s	30s - 60s	30s - 60s	30s - 60s	30s - 60s	30s - 60s			
Quat A	0,0	0,1	0,4	0,5	2,1	2,5	0,9	1,3	1,6	2,1
Quat B	2,1	2,2	2,4	3,1	2,0*	2,0*	3,7	2,4	3,8	4,0*
Quat C	0,4	0,5	0,5	0,6	0,2	0,1	0,6	0,9	0,6	0,6
Phénol A	1,1	1,2	0,6	0,6	2,4	3,1*	0,7	1,4	1,4	1,0
Phénol B	0,1	1,7	0,0	0,0	0,0*	0,0*	0,7	1,0	1,1	1,0
Base à 10 %	0,0	0,1	0,1	1,1	0,0*	0,0*	0,7	1,3	0,6	0,0*
Alcool isopropyle à 70 %	1,1	1,0	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,7*	0,7*
H2O2/ATA	1,1	0,2*	0,0*	0,0*	0,1*	0,1*	0,0	0,0*	0,7*	0,7*

\* Valeurs non-identifiables complètes

Les résultats ont indiqué une plage d'activité qui n'avait pas directement été corrélée à un type d'ingrédient actif spécifique, mais qui dépendait fortement de la formule. 5 produits sur 8 ont été relativement inefficaces comparés aux autres. Ces 5 produits moins efficaces étaient le Phénol A (phénol à pH élevé), le Phénol B (phénol à pH faible), le Quat

A (produit ammonium quaternaire avec 21 % d'alcool isopropylique), le Quat C (composés d'ammonium quaternaire/Biguanide), et de la Javel à 10 %. Cependant, deux d'entre eux ont pu éliminer complètement un champignon spécifique, le *Trichophyton mentagrophytes*.

En ce qui concerne le large spectre de produits, le *Trichophyton mentagrophytes* a généralement été le plus facile à tuer, alors que l'*Aspergillus niger* a été le plus difficile à éliminer. La Javel a été moins efficace que ce que l'on attendait. Initialement, nous pensions que de la Javel à 10 % pourrait être un des produits les plus performants, bien que nous sachions que l'hypochlorite de sodium présentait des problèmes de stabilité, de sélectivité et de compatibilité avec certains matériaux. Cependant, la plus faible activité de la Javel, tout particulièrement à des temps de contact plus courts, peut être le résultat de la présence d'éléments fongiques ou d'autres matières organiques dans la suspension de test<sup>2</sup>.

#### Les trois produits démontrant la meilleure activité à large spectre, par ordre d'activité croissante, étaient :

1. Quat B (ammonium quaternaire concentré)
2. Alcool isopropylique à 70 %
3. Peroxyde d'hydrogène/acide peracétique (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA)

La performance du Quat B semble directement liée à sa formule unique, comparée à d'autres solutions d'ammonium quaternaire utilisées lors de notre test. Ceci indique que la formule de produits quaternaires spécifiques peut avoir une grande influence sur leur efficacité sur certains champignons cibles. De plus, d'autres résultats de test suggèrent qu'une rotation dans l'utilisation de ces trois produits pourrait garantir à l'utilisateur une couverture antimicrobienne plus complète contre les multiples espèces de moisissures.

#### Tests supplémentaires

Les résultats de l'étude initiale de la mesure du temps d'élimination dans la suspension ont montré que l'*Aspergillus niger* représentait l'organisme/le champignon le plus résistant pour les produits à large spectre utilisés dans leur ensemble. Pour dessiner davantage le profil de résistance de l'*Aspergillus niger* face à ces nombreux produits, une série d'expériences en suspensions supplémentaires ont été menées avec un temps de contact rallongé à 120 secondes.

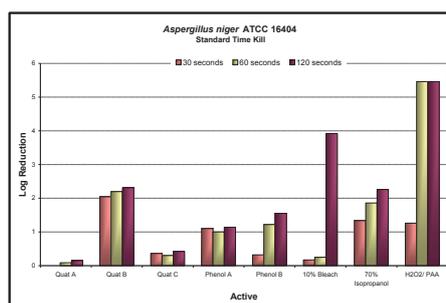


Figure 3 : Graphique illustrant l'étude de la mesure du temps d'élimination de l'*Aspergillus niger*

La figure 3 montre les résultats de ces études et nous procure des informations très précieuses. La performance de nombreux produits (Alcool isopropylique à 70 %, Phénol A, Quat A et Quat C) semblait baisser considérablement ou rester au même niveau par rapport à ce que nous avons observé lors des 30 premières secondes d'activité. Cette observation pourrait être due à la variation naturelle au sein d'une population fongique. La Javel à 10 % présentait un retard initial très long et était incapable d'arriver à une élimination complète avant un temps de contact de deux minutes. Cependant, l'activité de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA a tué rapidement la population entière d'*Aspergillus niger* en 60 secondes. Cette étude a confirmé qu'une rotation avec l'utilisation de l'alcool isopropylique à 70 %, du Quat B et de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA pouvait couvrir les exigences d'activité pour tuer efficacement un large spectre d'organismes fongiques. Les formules phénoliques testées ici ont démontré une activité contre l'*Aspergillus niger* supérieure à deux des produits d'ammonium quaternaire mais inférieure au Quat B ou à l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA. Néanmoins, l'on sait que les composés phénoliques ont démontré une excellente activité bactéricide et virucide, et sont utilisés de manière routinière lors des opérations en salle propre. De par son activité plus élevée et sa meilleure compatibilité avec les matériaux, la formule d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA est généralement préférée à la Javel à 10 %.

## CONCLUSION

Cette étude a révélé que différents agents antimicrobiens et formules antimicrobiennes démontrent une activité variable contre les moisissures. Il semble donc prudent de choisir un produit chimique antimicrobien adapté à des isolats de moisissures spécifiques des problématiques liées aux opérations dans nos salles propres. Les produits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA sont largement utilisés dans l'industrie aujourd'hui pour éliminer à la fois les moisissures et les spores

bactériennes dans les salles propres. Dans cette étude, les mélanges H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/APA ont démontré une excellente activité globale sur les espèces de moisissures testées. Les données indiquent également que d'autres formules démontrent une activité fongique, bien que cette activité ne soit pas directement mise en relation avec le type d'actif.

Un programme abouti de nettoyage et de désinfection contrôle les populations de moisissures et évite les infestations qui peuvent avoir un impact sérieux sur les opérations et la productivité. La pratique approuvée dans les salles propres aujourd'hui consiste à utiliser un ou plusieurs désinfectants sur les murs, les sols, les plafonds et l'équipement, et d'appliquer un sporicide pour éliminer les spores fongiques et bactériennes<sup>3</sup>. Il faut noter que l'industriel doit avoir conscience que les rotations proposées ci-dessus permettent un maintien de la salle propre et de son contenu sous contrôle en continu. Toutes démarches palliatives préventives en cas de suspicion d'excursion à l'aide d'autres technologies d'apport ponctuel de sporicide en phase gazeuse ou nébulisée doivent être considérées comme un constat d'échec et un surcoût d'exploitation que ne manqueront pas de relever respectivement les auditeurs internationaux et les directions de site.

**En plus de la prise en considération de facteurs comme la conception et la maintenance de l'installation, les pratiques du personnel, la formation et les objets amenés dans les salles propres, il est essentiel d'investir dans la recherche des produits antimicrobiens efficaces contre des isolats spécifiques de moisissures. Ces activités contribueront à limiter la croissance fongique et ses conséquences nuisibles.**

#### Références :

1. Barnett, C., Polarine J., and Lopolito P. (2007) Control Strategies for Fungal Contamination in Cleanrooms Controlled Environments September 2007
2. Klein, D.A. et al. (May 2006) Disinfectant Testing Against *Aspergillus niger*. Poster presented at: Annual Meeting of the American Society of Microbiologists. Poster Q-407.
3. USP 37 <1072> Disinfectants and Antiseptics

Assurance Qualité pour les Eaux à usage Pharmaceutique  
Application boucles d'eau froide et chaude

*AMI Inspector Pharmacon*



Made in Switzerland 

- Température de l'échantillon jusque 95°C
- Ajustement et contrôle du débit d'échantillon
- Fonction Assurance Qualité Intégré (mode tendance, standard, critique ou utilisateur)
- Seuil d'alarme intégré selon l'USP 645.



*AMI LineTOC*



- Analyseur en ligne pour la mesure du TOC (Total Organic Carbon) dans l'eau pure et extra pure
- Mesure sans réactifs du TOC par oxydation UV et un différentiel de conductivité
- Système répondant aux exigences USP <643>, <645> et EP 2.2.44.

**CONSULTEZ NOUS !**

[communication@swan-france.fr](mailto:communication@swan-france.fr)



[www.swan.ch](http://www.swan.ch)

## Cahier Pratique

# Mise en place d'un système de biodécontamination sur une unité de biotechnologie



Fabien Guerrin  
ARECO  
f.guerrin@areco.fr

Après le classement comme Cancérigène Mutagène toxique pour la Reproduction (CMR) du formol, le marché de la désinfection des surfaces par voie aérienne s'est fragmenté. Aujourd'hui, l'intégration des systèmes de Désinfection des Surfaces par Voies Aériennes (DSVA) se professionnalise, l'occasion de faire un bilan et de dérouler les points à prendre en compte pour une installation réussie et efficace.

**Ce cahier pratique s'adresse à ceux qui, de près ou de loin, seront confrontés à la mise en place et au déploiement de solution de DSVA sur des zones aseptiques. Ce cahier fournit un certain nombre de conseils et de retours d'expérience de la définition des SBU (Spécification Besoins Utilisateurs) jusqu'à la maintenance.**

Différentes technologies de DSVA (Nébulisation, buses sous pression, flash évaporation) sont disponibles sur le marché.

Le cas d'école qui sera étudié ici se présente sous la forme d'une suite composée de plusieurs salles (sas personnel, sas déchets et laboratoires de production biotech). Dans notre cas, la zone définie est de type L3 et classée B. Les filtres terminaux et de reprises conseillés et choisis sont de type H14, les soufflages sont au plafond et les reprises en parties basses.

Ladite zone doit pouvoir être traitée séparément de l'ensemble des zones de production adjacentes, et doit intégrer une unité de désinfection fonctionnant avec un biocide (qui pourra idéalement évoluer dans le temps). Le besoin fait apparaître l'intérêt d'une décontamination de la zone mais également de l'ensemble aéraulique (gainés, filtres, traitement d'air,...) qui peut également être contaminé et qui doit faire l'objet d'un

certificat de non contamination pour les entreprises ou les équipes amenées à travailler sur les réseaux.

Ce type de bio-décontamination entraîne un certain nombre de questionnement et des pratiques différentes des solutions traditionnelles en zone. Comme pour chaque projet, la DSVA avant d'être déployée doit être réfléchi en termes d'objectifs à atteindre, d'organisation interne, de temps, indisponibilité des zones, de reproductibilité des résultats des cycles effectués, d'analyse de risque de perte de production,... Bref, un ensemble de questions à se poser et à valider.

Quelle technologie de diffusion utiliser ? L'analyse des différentes technologies permet de définir le tableau comparatif suivant.

	Nébulisation	Buses sous pression	Flash évaporation
Taille de gouttes	2,5µm En phase d'évaporation	10µm à 30µm	Vapeur en phase de condensation
Dispersion des tailles	Faible	Importante	Importante
Homogénéité	Très bonne	Mauvaise	A vérifier
Evaporation	Rapide	Lente	Très rapide
Traitement Multisalle	Possible	Impossible avec une seule machine	Dépend de la solution retenue
Traitement Aéraulique	Dépend de la solution retenue	Non	Non
Machines en zone	Dépend de la solution retenue	Machine dans la salle	Dépend de la solution retenue
Manipulation par opérateurs	Dépend de la solution retenue	Dépend de la solution retenue	Dépend de la solution retenue
Besoin de compresseur ou air comprimé	Non	Oui	Non
Echauffement du biocide	Non	Non	Oui, Plaque à 140°C
Consommation d'énergie	Faible	Forte	Forte
Biocide propriétaire	Dépend de la solution retenue	Oui	Oui
Type de produit	Multi-produit (H2O2, H2O2 + Adjuvant)	H2O2 + adjuvant	H2O2
Traçabilité	Dépend de la solution retenue	Non	Oui

Figure 3 : Tableau comparatif des différentes technologies

Le système choisi pour être déployé, sur le cas étudié, est un système installé in situ dans les locaux techniques et qui injecte le biocide directement en sortie de centrale de traitement d'air (CTA). Ce système basé sur la technologie de nébulisation par ultrason permet une évaporation extrêmement rapide du biocide et une diffusion ne risquant pas de colmater les filtres absolus.

**Les intérêts trouvés à cette technologie sont multiples :**

- Désinfection de l'ensemble du réseau aéraulique (Central de Traitement d'Air - CTA, gaines, filtres HEPA, zone)
- Traitement en dynamique
- Reproductibilité des cycles car ne nécessitant pas de manipulation d'appareils, de ventilateurs,...
- Traçabilité des cycles et monitoring à distance
- Gain de temps et gain de productivité
- Sécurité des personnels

La position des bouches de soufflages et de reprises est importante pour le balayage de l'air dans la zone pendant la production mais également pendant la phase de bio-décontamination, pour la répartition du biocide dans les zones.

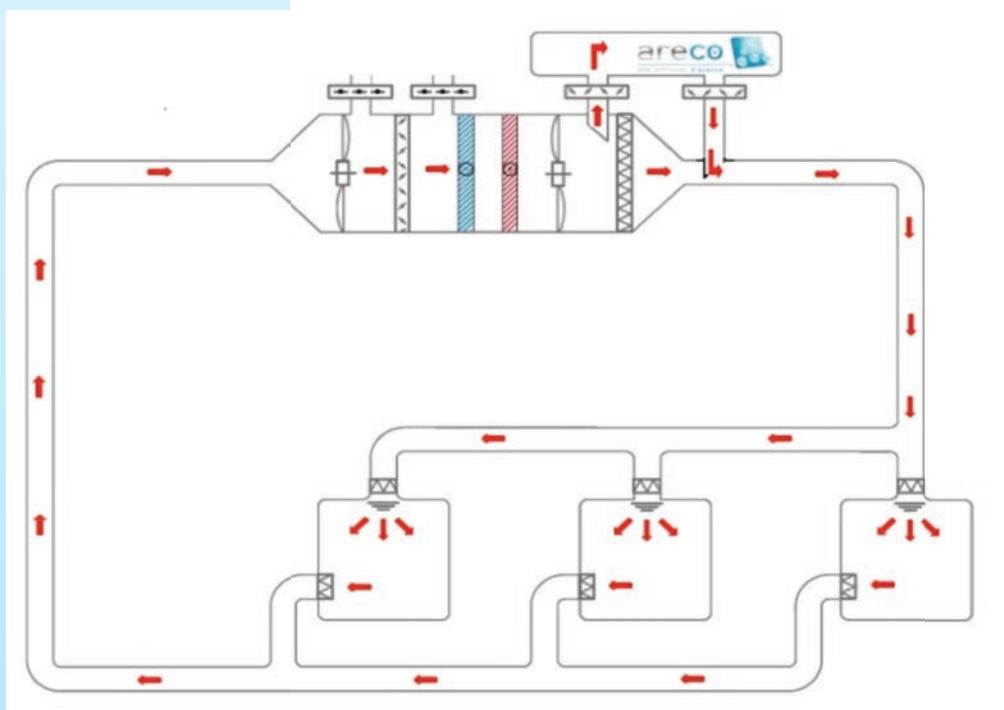


Figure 4 : Schéma de principe

Le principe de fonctionnement est de microcondenser le biocide sur les surfaces à traiter. Pour cela, la première phase consiste à mettre dans les conditions environnementales recherchées la zone (température et hygrométrie souhaitée).

Ces conditions atteintes, l'injection du biocide commence avec la batterie chaude en fonctionnement et la CTA en recyclage total. Une partie du flux d'air est dérivé et traverse le module de désinfection pour emporter le biocide nébulisé et l'évaporer. Le flux d'air chaud chargé de vapeur de biocide arrivant sur les surfaces froides la microcondensation se forme. Après un temps de contact permettant au biocide d'agir, la CTA passe en tout air neuf permettant d'évacuer le biocide hors des zones.

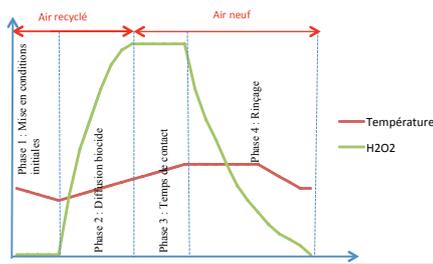


Figure 5 : Cycle de désinfection

Un réseau aéraulique spécifique doit-il être utilisé ?

Les gaines en acier galvanisé sont tout à fait compatibles à ce type de traitement.

Les gaines PVC peuvent également être utilisées mais attention au relargage possible ralentissant la phase de rinçage. Les CTA et leurs composants (batterie, courroie d'entraînement, ventilateur, sondes,...) restent standards, il n'y a pas d'obligation de changement. Les filtres absolus (H14, U15) des principaux fabricants sont compatibles  $H_2O_2$ . Une attention doit être portée au lutage (fixation du média sur le support), des certificats de compatibilités doivent être demandés aux fabricants.

### Quels impacts sur les matériaux ?

Les compatibilités des matériaux à des traitements de DSA sont fonction du type de biocide choisi. Effectivement, ce risque existe avec l'utilisation d'oxydant comme l' $H_2O_2$  ou l'acide péraétique. De nombreux cas de mauvaise utilisation ou d'utilisation sur des locaux non adaptés ont entraîné des détériorations sur les enveloppes des zones ou sur les process de fabrication.

Si le biocide arrive à entrer en contact avec le métal des cloisons, une réaction exothermique se produit engendrant des cloques très rapidement.

Toutefois, il existe des solutions éprouvées et des procédés de bio-décontamination qui permettent, heureusement, de fortement réduire ces impacts.

Les facteurs importants influençant la tenue sont :

- Le biocide utilisé ( $H_2O_2$  ;  $H_2O_2$  + adjuvants en phase acide)
- La technologie de diffusion
- La quantité de biocide injectée
- La qualité de l'enveloppe et sa constitution

### Quelles sont les contraintes d'intégration de l'équipement sur le réseau Heating Ventilation Air Conditioning (HVAC) ?

Les impacts sont de l'ordre de la mécanique et de l'automatisme.

Concernant la mécanique il faut prévoir l'emplacement au sol nécessaire et le raccordement à la gaine de ventilation. 2 piquages sont à prévoir. Une platine de lancement de cycle est à prévoir en sortie de zone, permettant aux opérateurs de lancer le cycle mais également de voir si la zone est accessible ou non.

Enfin, il faut prévoir le réseau d'amenée du biocide du lieu de stockage à la machine de diffusion si ces lieux sont distants.

Concernant l'automatisme, les liaisons électriques entre les différents automates, permettant un fonctionnement complètement autonome, doivent être raccordées. Une programmation spécifique de l'HVAC est à prévoir lors du cycle de désinfection.

La mise en sécurité via la boucle d'arrêt d'urgence doit inclure le système de bio-décontamination.

### Quels reports d'informations (monitoring) pouvons-nous envisager ?

Plusieurs niveaux de remontées d'information sont envisageables. En premier lieu, les reports d'alarmes doivent être effectués sur le PC sécurité pour assurer leurs prises en compte. Le système de bio-décontamination peut renvoyer des points de mesures ou d'état à la GTC permettant une visualisation en temps réel des cycles. Enfin, pour assurer la traçabilité des cycles l'enregistrement des données et leur récupération doivent être sécurisés et infalsifiables.

### Quels points de contrôles lors de l'installation sont nécessaires ?

Plusieurs vérifications sont nécessaires et il est difficile de faire une liste exhaustive. Toutefois les principaux points sont :

- L'étanchéité des gaines qui doit être vérifiée, la classe définie lors des SBU doit être tenue. Ceci pour limiter les fuites dans les zones adjacentes.

- Tout le réseau hydraulique nécessaire à l'alimentation en biocide doit être éprouvé pour éviter tout risque de rupture engendrant un risque pour le personnel.



Figure 1 : Détérioration plafond



Figure 2 : Détérioration cloison

### Implication d'une décontamination globale sur les qualifications ?

Les protocoles de réception et de qualification doivent être rédigés et validés par les différentes parties prenantes avant toute réalisation.

La complexité du matériel de désinfection n'est pas très importante, la phase de FAT (Factory Acceptance Tests) n'est, à priori, pas utile.

Une fois les phases d'installation et de réceptions terminées, les qualifications (QC, QI, QO, QP) doivent être déroulées. Chaque phase doit être documentée et faire l'objet d'un PV permettant de passer à la phase suivante. Le système étant intégré, l'ensemble des interfaçages avec les autres lots doit être testé et validé. L'automatisation du cycle de décontamination doit faire l'objet d'une phase de programmation spécifique de l'HVAC, cette phase doit être également qualifiée.

La totalité de l'analyse fonctionnelle doit être déroulée y compris les sécurités et les scénarios de replis.

Concernant les qualifications de production il est impératif, sur les zones de confinement de qualifier les cycles de désinfection sur les souches microbiennes en lien avec l'activité du laboratoire.

Une déclaration de conformité à la norme NFT 72-281 ou une qualification sur *Geobacillus stearothermophilus* est passablement insuffisante. La requalification de performance annuelle d'un tel

système est recommandée.



©Atreco

Figure 6 : Photo d'installation

### Comment assurer une maintenance aisée ?

Concernant le plan de maintenance d'un tel système, plusieurs points sont à contrôler sur la machine de diffusion elle-même à une fréquence semestrielle ou annuelle. En fonction du mode de maintenance choisit, il est important de s'assurer que l'organisme qui en a la charge ait à disposition l'ensemble des pièces critiques et la disponibilité requise pour intervenir en cas de dysfonctionnement.

Concernant les fréquences de vérification des équipements ou des capteurs associées à l'aéraulique (hygrométrie, température, pression,...), il n'y a pas lieu d'augmenter leurs fréquences de vérification ou d'étalonnage.

La maintenance sur les équipements eux-mêmes est facilitée car elle ne nécessite pas d'entrer ou de sortir du matériel (et du personnel technique) dans les zones classées. Tout se fait en zone technique, isolée du traitement d'air de production.

### Conclusion

**Un retour d'expérience de Genethon Bioprod permet de mettre en avant les facteurs clefs du choix d'un système centralisé :**

- Maintien du réseau aéraulique en adéquation avec les locaux,
- Facilité de mise en œuvre,
- Maintenance aisée.

**Il est également précisé que l'intégration d'un tel système nécessite une bonne coordination entre les différents corps de métiers associés.**

**Dans ces zones en fonctionnement, les premiers temps ont été l'occasion de surveiller les oxydations prématurées éventuelles (locaux, gaines, CTA,...) ou des équipements. A ce stade, aucun problème ni dérive anormale n'a été constaté.**

**Par ailleurs, dans le cadre de l'amélioration continue le Genethon et le prestataire continue à travailler de concert pour l'optimisation des systèmes.**

Retour d'expérience

# Interview d'Alexandre Guerry, Project Manager R&D Cytosial Biomedic



Alexandre Guerry  
Cytosial Biomedic

“ C YTOSIAL Biomedic développe des Dispositifs Médicaux à base de biopolymères pour des applications médicales innovantes dans les domaines de la médecine régénératrice et de l'ingénierie tissulaire. La société concentre actuellement ses efforts sur le développement de sa technologie chitosane tout en commercialisant une matrice à base d'acide hyaluronique réticulé. ”

Comment avez-vous découvert la poche Maxima 200?

Nous étions à la recherche d'une quantité importante d'eau pour injection afin de s'en servir comme excipient pour nos dispositifs médicaux et nous avons contacté CDM Lavoisier qui est un fournisseur réputé dans le domaine.



Pourquoi avoir choisi cette poche ?

Car elle répond à un certain nombre de nos critères que nous nous étions fixés et que nous avons une bonne collaboration avec CDM Lavoisier pour répondre à toutes nos attentes.

Quels sont les avantages d'une telle poche?

Il y a plusieurs avantages majeurs car nous étions à la recherche d'un système qui nous permettait dans un premier temps d'éviter de décapsuler 200 bouteilles. Nous avions besoin de 200L. Les conditionnements standards sont en 1L. C'était beaucoup de manutention avec un risque important pour l'utilisateur de faire des erreurs lors de cette manutention c'est à dire décapsuler les bouteilles. De plus renverser ces bouteilles dans une poche de 200L afin de préparer une solution tampon, pose des problèmes au niveau des quantités que nous avons réellement mises dans cette poche.

Nous avons besoin de connaître absolument la quantité d'eau que nous avons transvasé.

Un autre point important, c'est que 200 bouteilles, ça impose une certaine contrainte logistique, alors qu'être livré dans un contenant unique est un avantage très intéressant. L'élimination des déchets est aussi un point important car on a juste à éliminer une seule poche qui pèse à vide moins de 1 kg plutôt que 200 bouteilles en verre.





Les essais ont-ils répondu à vos attentes? Nous avons besoin d'effectuer un essai complet du processus pour évaluer ce qui était important pour nous : le caisson de transport, la poche et les différentes connectiques.

Le caisson lui-même est facilement utilisable, aussi bien l'ouverture du capot supérieur que l'accès aux connectiques par la trappe inférieure.

Nous avons aussi remarqué que la poche était d'une très bonne qualité, ce qui permet d'avoir un bon contrôle visuel du produit. Nous nous sommes aussi rendu compte qu'une fois le transfert complet de l'eau distillée, il restait très peu de liquide à l'intérieur.

Et pour finir, nous avons testé les connectiques ce qui nous permet d'avoir des connections et déconnections stériles compatibles avec notre système. De plus, les avantages des connectiques, à usage unique, utilisées sont qu'elles permettent de garder un bon confort de manipulation et d'avoir une garantie de stérilité. Enfin, une formation de moins de 10 mn suffit à un opérateur pour être autonome sur ce type de système



Que pourriez-vous dire de plus sur cette poche?

Nous avons surtout un avantage à utiliser ce système, **c'est la sécurité**. Pour nous, c'est un point extrêmement important. C'est-à-dire que l'on passe à une solution sans manutention importante de bouteille d'eau PPI. Nous supprimons également de nombreuses interventions humaines et de ce fait nous limitons fortement le risque de contamination. Ceci nous permet in fine d'être sûr d'avoir le bon volume d'eau pour adapter la pesée des matières pour la solution à la quantité d'eau disponible.



Technologie/Process

# De nouveaux chemins dans la mesure Carbone Organique Total (COT ou TOC)



Roger Schmid  
Application Manager UPW & Pharma  
roger.schmid@swan.ch

Dans l'industrie pharmaceutique, les exigences de qualité pour l'eau utilisée dans la production sont particulièrement élevées. Pour garantir à tout moment la qualité de l'eau purifiée utilisée, les fabricants pharmaceutiques misent de plus en plus sur une analyse automatique et continue des installations de traitement et des circuits d'eau. La mise en œuvre de la teneur en TOC en tant que spécification pour l'eau ultra-pure en 1998 dans la pharmacopée des États-Unis (USP) a été une étape importante dans ce développement. De façon similaire aux prescriptions pour les pollutions inorganiques de l'eau (conductivité), la pollution organique peut maintenant être détectée en utilisant un paramètre. Ce changement de la part des autorités de tutelle a permis de pouvoir contrôler continuellement et rapidement la pollution organique de l'eau purifiée dans l'industrie pharmaceutique. Au cours de cette période, les fabricants d'instruments de mesure avaient déjà fait des expériences avec d'autres industries productrices travaillant avec l'eau purifiée et ultra-pure (par exemple, l'industrie des semi-conducteurs).

Les fabricants ont mis au point divers procédés pour oxyder le carbone présent de manière organique et pour mesurer le dioxyde de carbone qui en résulte. La société SWAN a misé dès le départ sur la méthode de l'oxydation UV directe.

**Ce rapport vise à donner un bref aperçu de la méthode de mesure normalisée. En outre sont décrites et définies les possibilités et les limites de l'oxydation UV directe ainsi que les changements techniques qui sont faits sur l'appareil de mesure pour améliorer la performance du réacteur UV et donc augmenter la précision de l'appareil.**

## Glossaire

SST	System Suitability Test
PW	Eau pure
UPW	Eau ultra-pure
WFI	Eau pour l'injection
TC	Carbone total
TIC	Total en carbone inorganique
TOC	Total en carbone organique

*Vérification : confirmation par des preuves objectives, que les conditions sont satisfaites par un produit ou un système.*

*Validation : grâce à la validation, on fournit la preuve documentée qu'un processus ou un système (critères d'acceptation) satisfait de manière reproductible dans la pratique aux exigences spécifiées précédemment.*

*Étalonnage : lors de l'étalonnage, la comparaison des valeurs établies avec un appareil de mesure et celles d'une référence ou d'une norme. Cela permettra de déterminer l'ampleur de la différence entre les deux valeurs ou si cet écart se trouve dans certaines limites.*

*REMARQUE: Un étalonnage ne comprend pas le réglage.*

*Réglage: après normalisation de la norme DIN 1319-1 le réglage est défini comme suit: Régler ou comparer un instrument de mesure afin d'éliminer des erreurs systématiques dans la mesure où cela est nécessaire pour l'application visée. Le réglage nécessite une intervention qui modifie l'appareil de mesure de façon permanente».*

*Après un réglage d'un appareil de mesure il est à étalonner à nouveau*

## 1. Introduction

Aujourd'hui nous pouvons trouver sur le marché principalement les méthodes suivantes pour la détermination du TOC:

- **Décomposition thermique avec détection NDIR**
- **Décomposition du persulfate UV avec détection NDIR**
- **Décomposition du persulfate UV avec détection de la conductivité**
- **Oxydation UV directe avec détection de la conductivité**

Chacune de ces méthodes est basée sur l'oxydation du carbone organique présent dans l'eau et la mesure subséquente du dioxyde de carbone provoqué par l'oxydation. Chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients spécifiques, selon la façon dont l'oxydation et la mesure sont techniquement mises en œuvre. Ceci a également des implications pour les possibilités d'application des différentes méthodes. Pour chaque application, il faut tester avant tout la méthode la plus appropriée.

### 1.1 Décomposition thermique

Dans ce procédé, (Fig. 1), les composants organiques se décomposent à une température élevée. Ainsi les composants non dissous (matières solides ou d'abrasion) peuvent être également complètement décomposés. Dans les applications avec des charges organiques élevées (par exemple des eaux usées municipales) c'est une méthode éprouvée.

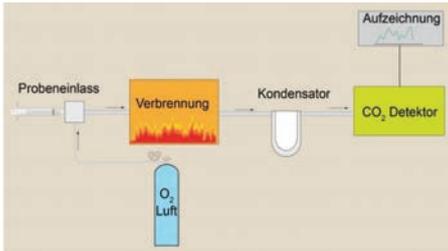


Fig.1 : représentation schématique de la décomposition thermique

### 1.2 Décomposition du persulfate UV avec NDIR ou détection de la conductivité

Dans les applications d'eau purifiée et ultrapure, l'oxydation chimique par voie humide avec de la lumière UV et persulfate (Fig. 2) est très répandue. Les avantages de cette méthode sont le champ d'utilisation très étendu (moins de 1 ppb à plus de 100 ppm) et une grande précision. Cependant, la méthode nécessite des produits chimiques de haute pureté et un gaz de purge, qui sont des facteurs de coût à prendre en compte..

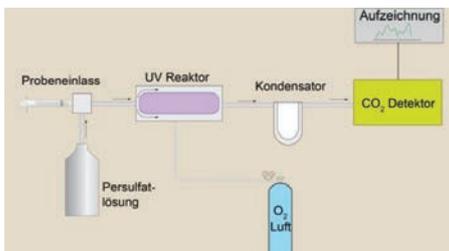


Fig.2 : représentation schématique de la décomposition du persulfate UV

### 2. Oxydation UV directe

Cette méthode (Fig. 3) est utilisée déjà depuis un certain temps dans les circuits d'eau purifiée. On va faire maintenant un bref résumé du principe de fonctionnement et ensuite nous allons présenter trois innovations techniques importantes.

#### 2.1 Présentation du processus de mesure

Après la première mesure de la conductivité, l'échantillon entre dans un réacteur UV. A l'intérieur, le carbone organique présent dans l'eau est oxydé en CO<sub>2</sub>. Ce CO<sub>2</sub> à son tour augmente la conductance mesurée avec un second capteur placé après le réacteur. Avec la différence entre la première et la seconde mesure, il est possible de calculer le TOC.

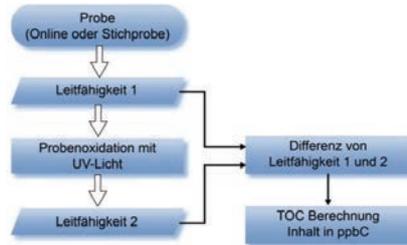


Fig.3 : représentation schématique de l'oxydation UV directe

TOC = TC - TIC	
TIC	Total INORGANIC Carbon Total en carbone INORGANIQUE Carbone provenant de sources inorganiques, p.ex. CO <sub>2</sub> Cette valeur est saisie par le premier capteur
TC	Total Carbon Total en carbone La somme de TIC & TOC Cette valeur est saisie par le second capteur
TOC	Total ORGANIC Carbon Total en carbone ORGANIQUE Carbone provenant de sources „vivantes“, p.ex. feuille biologique ou cellules

Dans les applications d'eau purifiée, le TIC est pratiquement exclusivement CO<sub>2</sub>. Dans la plupart des installations de la production pharmaceutique, le TIC est plus haut que le TOC.

Comme chaque autre méthode, l'oxydation UV directe présente des désavantages dus au système:

- Domaine de mesure limité (< 2µS/cm avec 20 °C / < 1 ppm TOC)
- Les effets thermiques influencent la mesure
- Reproductibilité insuffisante de l'oxydation UV.

Ces deux dernières années, pour éviter ou minimiser ces inconvénients systémiques le développement ultérieur de l'instrument avec les objectifs suivants ont été au premier plan:

- Stabilisation des conditions thermiques dans l'appareil
- Augmentation de la densité des rayons dans l'oxydation
- Optimisation du flux des médias dans le système.

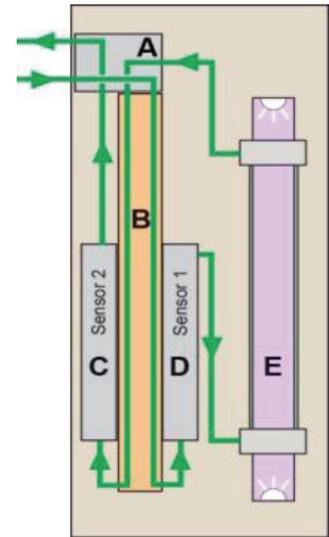


Fig. 4: Réacteur avec échangeur de chaleur  
A: Bloc d'entrée; B: Échangeur de chaleur; C&D: Capteur conductivité; E: Réacteur UV

#### 2.2 Stabilisation des conditions thermiques

Dans l'oxydation UV directe, la température a une grande influence sur le résultat de mesure. En raison du rayonnement d'énergie de la lampe UV, la température de l'eau échantillon, en fonction de la construction, se chauffe et augmente donc de plus de 10°C. Cette différence doit être compensée. Cependant, chaque compensation est seulement une approximation et comprend donc une erreur qui peut varier en fonction de la température et de la conductivité.

Afin de maintenir cet écart aussi faible que possible, le réacteur doit être précédé par un échangeur de chaleur. Dans celui-ci l'eau sortant chauffe l'alimentation par le principe à contre-courant (Fig. 4).

Grâce à cette mesure, la différence de température entre les deux mesures peut être maintenue de moins de 0,2°C. Surtout pour les échantillons avec de faibles valeurs de TOC, cette mesure a un effet très positif. Les valeurs mesurées sont beaucoup plus stables et ont des fluctuations plus faibles.

### 2.3 Augmentation de la densité de rayonnement dans l'oxydation

Les lampes UV utilisées aujourd'hui (lampes à quartz à faible pression Hg) ont une gamme étroite de température (Fig. 5) dans laquelle elles atteignent leur pleine capacité. Celle-ci est généralement comprise entre 40 et 50°C. Un changement dans la température de fonctionnement de 10°C peut entraîner une perte des prestations de jusqu'à 20%

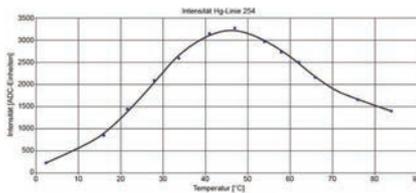


Fig. 5 : Diagramme des prestations d'une lampe Hg-UV

D'après le graphique (Fig. 5) il ressort qu'il est très important de maintenir la température de la lampe dans le domaine optimal. Les influences de l'extérieur (température ambiante, emplacement) et de l'échantillon (changement de température de l'échantillon) peuvent entraîner le fait que la température de la lampe ne se trouve pas dans la plage optimale.

La solution présentée dans le chapitre précédent réduit à un minimum la différence de température entre les deux capteurs de conductivité au-dessous de 0,2°C. Mais pour fixer la température dans une plage comprise entre 40 et 50°C, des mesures supplémentaires sont nécessaires

D'autres cartouches chauffantes ou unités de refroidissement (Fig. 6) permettent de maintenir très exactement une température ciblée de 42 °C. Ainsi il est possible d'obtenir une puissance de rayonnement maximale et donc une oxydation uniforme.

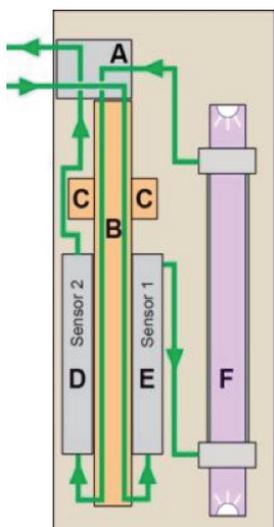


Fig. 6: Réacteur avec échangeur de chaleur & résistance de chauffage  
A: Bloc d'admission;  
B: Échangeur de chaleur;  
C: cartouche chauffante;  
D&E: Capteur de conductivité;  
F: Réacteur UV

### 2.4 Optimisation du flux des fluides dans le système

Les mesures mentionnées jusqu'ici montrent déjà une amélioration considérable du système. Ce n'est qu'en combinaison avec un flux de fluides optimisé que l'on peut totalement épuiser le potentiel. Dans la disposition classique de la lampe UV et du flux de fluides l'échantillon est guidé autour d'une source de lumière. Les pertes par diffusion et réflexions sont difficilement évitables. En fonctionnement continu de longue durée, la formation de dépôts (et donc réduction de la densité de rayonnement) sur le côté directement irradié ne peut être exclue. Ce n'est qu'à travers la mise en contact directe de la lampe UV et de l'échantillon que ces effets secondaires peuvent être évités.

La figure 7 illustre l'écoulement de l'échantillon dans le réacteur UV nouvellement construit. L'échantillon passe directement le long de la lampe. La distance maximale entre le centre de la lampe est de 8 mm, le flux de l'échantillon a une épaisseur de seulement 0,5 mm. Grâce à la construction fermée, les pertes par courant de fuite et la production d'ozone peuvent être évitées. Ces améliorations

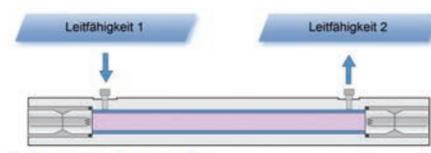


Fig. 7: Coupe transversale du réacteur UV

conduisent à une augmentation significative de la densité de rayonnement et par conséquent à une oxydation complète du carbone présent dans l'échantillon. La lampe UV forme une unité avec la boîte du réacteur. Dans le cadre du service, l'ensemble du réacteur doit être remplacé et recyclé. L'entretien est donc plus court et plus facile.

Les températures stables et un rayonnement uniformément fort sont les bases importantes pour des résultats de mesure précis et fiables. Tout aussi important, cependant, est aussi la méthode de compensation, c'est-à-dire la manière dont les valeurs de mesure sont converties à une température de référence.

### 3. Compensations

La conversion à une température de référence commune (25 °C) peut se baser sur différents algorithmes. Cependant, ces formules ne sont pas absolues, il s'agit des approxi-

mations. Par conséquent, SWAN utilise deux modèles de compensation différents choisis en fonction de l'application.

#### 3.1 Le modèle CO<sub>2</sub>

L'eau pour les applications pharmaceutiques, ne contient pas de sels qui pourraient augmenter la conductivité de l'eau en raison du processus de traitement. La conductivité de cette eau est principalement influencée par le dioxyde de carbone (TIC) dissous provenant de l'atmosphère et des traces de combinaisons organiques de carbone (TOC).

#### Un petit exemple avec des chiffres arrondis:

- Conductivité sur le premier capteur (COND 1) => 0,6 µS/cm avec 42°C
- Conductivité sur le second capteur (COND 2) => 0,8 µS/cm avec 42°C

La conductivité absolue de l'eau est environ 0,12 µS/cm à 42°C. La différence de 0,48 µS/cm par rapport à la conductivité mesurée au premier capteur provient du dioxyde de carbone dissous. En raison de la relation incontestable entre la conductivité et la teneur totale en dioxyde de carbone, le TIC et le TOC peuvent être calculés à partir de la conductivité mesurée dudit échantillon. Les valeurs correspondantes des différentes températures sont classifiées et placées dans l'appareil.

Les composés organiques de l'échantillon sont oxydés par la lampe UV et transformés en CO<sub>2</sub>. Le dioxyde de carbone supplémentaire augmente la conductivité de l'échantillon et par conséquent la valeur mesurée au deuxième capteur. Par soustraction de la première conductivité, on obtient la conductivité provoquée uniquement par les composés de carbone oxydés.

$$\bullet \text{ [COND 2] - [COND 1] = } 0,2 \text{ } \mu\text{S/cm}$$

Avec les mêmes valeurs de tableau que celles de TIC (COND 1), le contenu de TOC peut être maintenant calculé. Cette détermination de TIC et de TOC est, sous les conditions mentionnées ci-dessus, une méthode absolue, car il en résulte une comparaison valeur théorique/ valeur réelle. Le champ de déviation possible est réglé dans le menu du transformateur de mesure. Un ajustement n'a pas lieu. L'étalonnage est effectué avec une solution définie de 1 ppm. Si la valeur mesurée s'éloigne plus que prédéfinie par rapport à la valeur cible, alors les conditions ci-dessus ne sont pas remplies ou les paramètres d'exploitation sont réglés de manière incorrecte ou l'appareil est défectueux.

### 3.2 Compensation linéaire

Cette méthode est utile quand il n'y a pas de corrélation claire entre le contenu en TOC et la conductivité. Dans de telles applications, par la production de «solutions d'étalonnage» on peut couvrir toute la gamme de concentrations des composants pertinents et faire un modèle de la conductivité TOC ( $\Lambda$ ). La dépendance à la température de la conductivité de ces échantillons ne doit être prise en compte que si l'étalonnage et les mesures online sont effectuées à des températures différentes. L'AMI LineTOC thermostatise les échantillons non seulement avec la mesure online, mais aussi avec l'étalonnage à 42-43°C. Néanmoins, afin de permettre également des mesures à différentes températures, la conductivité  $\Lambda_{in}$  und  $\Lambda_{out}$  est convertie à 25°C.

Avec la compensation linéaire, un comportement uniforme de la température est supposé sur toute la plage de mesure. Si nécessaire, cette valeur peut être réglée manuellement.

L'étalonnage en mode linéaire est effectué par la mesure d'une solution d'échantillon bien définie (saccharose à 1 ppm). L'appareil calcule la pente effective sur la base du résultat de la mesure et l'affiche. L'expérience montre que ces valeurs sont de l'ordre de 0,150 à 0,3.

## 4. Application Pharmaceutique

### 4.1 Où mesure-t-on ?

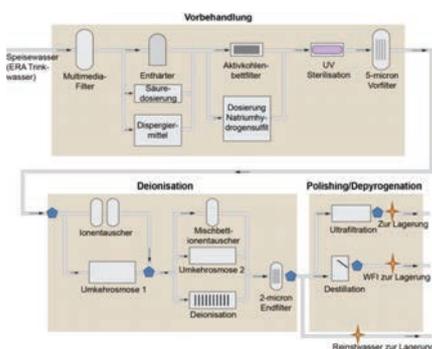


Fig. 1: Installation possible dans la préparation de l'eau pharmaceutique  
Conductivité  $\sigma$  TOC  $\star$

Fig. 8 : installation possible dans la préparation de l'eau pharmaceutique

Les points de mesure typiques dans les usines pharmaceutiques se trouvent après la distillation, dans le réservoir de stockage, à l'entrée et la sortie d'une boucle (loop) et aux points de prélèvement (Fig. 8)

### 4.2 Le test de fonctionnement comme assistant

Les appareils utilisés dans des applications pharmaceutiques doivent réussir un test d'aptitude (SST System Suitability Test) en conformité avec les pharmacopées pertinentes déjà existantes (USP 643 / EP 2.2.24). Dans ces monographies, les spécifications de solutions de test sont décrites en détail. Si le test se fait dans les usines qui produisent selon les lignes directrices USP, les solutions doivent être préparées avec des réactifs USP certifiés. En raison de la haute dilution, la stabilité de ces solutions est limitée à quelques semaines. Un SST est le seul moyen de vérifier un appareil TOC dans la pratique.

Dans les appareils avec oxydation UV directe, les lampes UV actuellement utilisées ont une durée de vie de six mois. Chaque remplacement de lampe nécessite obligatoirement un SST ; de même, on a besoin d'au moins deux tests par an. Beaucoup d'utilisateurs utilisent les solutions certifiées de SST en dehors des intervalles de validation réels jusqu'à des tests effectués tous les mois. Ceci est associé à des coûts importants et logistiquement très complexes.

Le test de fonctionnement automatique de l'AMI LineTOC peut fortement simplifier cette routine. La séquence est alignée avec la SST connue. On utilise des solutions fortement concentrées (de la saccharose et du benzoquinone), qui peuvent se conserver jusqu'à 3 mois. Les solutions ne sont diluées avec l'eau de l'échantillon qu'au moment du test et par l'intermédiaire de la pompe péristaltique intégrée. Les deux solutions de base sont mesurées de façon séquentielle. Les conclusions concernant la fonction et le statut de l'appareil peuvent être déterminées à partir du degré de récupération. La fonction de base de l'instrument peut être facilement vérifiée sans interférence ou changement extérieur. L'opérateur obtient ainsi la possibilité de vérifier régulièrement l'appareil et donc de réduire le nombre de tests coûteux.

Le test de fonctionnement est déclenché manuellement ou par une fonction de temps programmable. Les solutions utilisées ne sont pas soumises à des directives pharmaceutiques et peuvent être faites par un des utilisateurs. Les substances de base peuvent être obtenues auprès du fournisseur chimique local, mais elles doivent répondre aux exigences de qualité par rapport à l'analyse.

### 4.3 Échantillons manuels faciles à faire

Un allègement supplémentaire dans les résultats d'exploitation résulte de la possibilité de vérifier les tests manuels par l'appareil de mesure. Avec celui-ci (Fig. 9), l'échantillon est aspiré par une pompe péristaltique à travers le dispositif. Peu importe que ce soit une solution SST, le test de fonctionnement (voir 4.2) ou un test manuel. Les tests manuels peuvent être connectés facilement et mesurés immédiatement en appuyant sur un bouton. Tant que la mesure manuelle est active, les sorties sont arrêtées sur la dernière valeur afin d'éviter les fausses alarmes.

Après la mesure de l'échantillon, le dispositif est rincé sur une période de temps prédéfinie avant la nouvelle libération des sorties.



Abb. 9: Aufbau des AMI LineTOC  
Fig. 9

## 5. Conclusion

**Trois domaines ont été la clé du développement de notre analyseur TOC. La stabilisation des conditions de température, l'augmentation du rayonnement de l'oxydation et l'optimisation du flux de liquide dans le système. Les solutions techniques présentées ont amélioré de façon prouvée la précision et l'exactitude de l'oxydation UV directe. En outre, au cours du développement les besoins spécifiques de l'industrie pharmaceutique concernant les exigences pour l'étalonnage et la vérification ont été pris en compte.**

### Bibliographie

- USP<643>, "Total Organic Carbon", United States Pharmacopoeia 36-NF 31, U.S. Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville, Md. (2013).
- USP<645>, "Water Conductivity", United States Pharmacopoeia 36-NF 31, U.S. Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville, Md. (2013).
- USP<1231>, "Water for Pharmaceutical Purposes", United States Pharmacopoeia 36-NF 31, U.S. Pharmacopoeial Convention Inc., Rockville, Md. (2013).
- EP 2.2.38, «Conductivity», European Pharmacopoeia, vol. 7.0, Council of Europe, Strasbourg, France (2013).
- EP 2.2.44, «Total Organic Carbon in Water for Pharmaceutical Use», European Pharmacopoeia, vol. 7.0, Council of Europe, Strasbourg, France (2013).

Technologie / Process

# Cytotoxic Chemical contamination risks and protective measures at hospital pharmacies.



Sylvie Crauste-Manciet  
MCU-PH, PhD, PharmD GERPAC  
President Bordeaux University  
crauste-manciet.sylvie@wanadoo.fr

Despite the implementation of collective protective measures, the exposure of hospital workers involved in the preparation and administration of cytotoxic drugs may still be referred to as an occupational health hazard. Many international studies have demonstrated that workers are being exposed despite the implementation of protective measures<sup>(1-6)</sup>. To understand the problem, the risks need to be identified by considering the potential sources of contamination and the routes of exposure, and the weak points in the measures implemented for the protection of health workers need to be analysed.

## Sources of contamination

**There are two main sources of contamination: contamination generated during preparation process and contamination transferred by contact with contaminated surfaces.**

The first main source of contamination is generated during the preparation process. Withdrawing, transferring and injecting cytotoxic solutions is related to the spread of contamination inside and outside the pharmacy<sup>(7)</sup>. The use of filters during transfer should decrease the risk of aerosolisation. Nevertheless, some cytotoxics can pass through filters in vapour form<sup>(8-9)</sup>, which can be correlated to the surface environmental contamination found in numerous studies<sup>(3-6, 10, 11)</sup>. Some devices have been developed to ensure a close transfer from the vial to the final container. Those devices decrease the environmental contamination generated during the preparation process but cannot totally eliminate environmental contamination<sup>(12-14)</sup>. The contamination generated during preparation is easily transferred to the gloves used and to the final product<sup>(15,16)</sup>. This means that the surface of the final product is contaminated, which could contribute to the spread of contamination in other hospital departments, including wards.

The second main source of contamination is the surface contamination generated during the preparation process but also coming

from the manufactured vials.

Surface contamination generated during the process in hospital pharmacies is a multidrug chemical contamination since more than 30 different chemicals are simultaneously being handled. The cleaning and decontamination procedures used cannot be effective in removing and deactivating all of the chemical contaminants, which could contribute to the spread of contamination. Thus, handling of cytotoxic drugs, waste products and cleaning materials should not be carried out without protective clothing and methods to ensure the containment of cytotoxic drugs, and waste products should be implemented.

External surface contamination of manufactured vials was widely published for many years. International publications have shown that the outside surface of drug vials is contaminated with the corresponding drug<sup>(17-20)</sup> and even cross contaminated with other cytotoxics manufactured by the same company<sup>(21)</sup>. This contamination is still an issue according to recent papers published<sup>(22-24)</sup>. This type of contamination presents a risk of exposure for any worker in contact with the drug vials, not only during the preparation process but also when receiving the drug from the manufacturer and during storage. The handling of drug vials must be considered from the moment it is received to the time when it is discarded. Little attention has been paid to this risk, which explains why workers who are not directly involved in the

preparation process can also be exposed<sup>(25)</sup>. In addition, the hand disinfection procedure commonly used when handling drug vials outside of protective equipment (eg, biological safety cabinets [BSCs] or isolators) could be an additional exposure risk<sup>(26)</sup>, which does not exist in organisations using automated disinfection procedures such as vapour-sterilised isolators. The main issue in terms of protection from drug vials contamination is the lack of consideration given to all of the tasks involving handling performed outside BSCs or isolators. Thus it is important to provide adequate protection to workers carrying out all of these tasks.

#### Routes of exposure

The main routes of exposure to be considered are the dermal and inhalation routes, with the dermal route being the main route of exposure<sup>(27)</sup>. Protection by gloves is a major issue to be considered when handling cytotoxic drugs, and thickness, glove composition, nature of the drug handling and duration of use are factors influencing permeability and, thus, risk of exposure<sup>(28-32)</sup>. Moreover a recent study<sup>(33)</sup> pointed out hand contamination of the personnel not directly involved in the preparation or administration of drugs possibly through transfer of contaminants from contaminated surface

### Protective/prevention measures

#### Surface contamination

##### External vials contamination

Manufacturers implemented corrective measures to reduce the external vial contamination. The methods implemented are cleaning procedure of vials and protective overwrapping (i.e shrink wrap and plastic containers). Cleaning procedure with washing machine is routinely used by pharmaceutical companies during manufacturing process<sup>(34)</sup>. But it has been specified that this process is unable to remove potential contamination between flip off cap and rubber stopper giving a residual risk of contamination.

Considering the protective systems, shrink wrap was shown to considerably reduce the vial contamination<sup>(23)</sup>, but it must be taken into mind that contamination under flip off cap is still an issue.

Main issue for operators' exposure risk is the handling procedures of vials outside collective equipments. A study presented in 2009 by Mosset et al.<sup>(35)</sup>, simulating the procedure for introducing vials into BSC pointed out the risk of using spraying method with disinfectants and suggested the substitution of spraying by wiping method to limit the spread of contamination. In a similar way<sup>(36)</sup>, Mason et al., 2005 pointed out the risk of

dermal exposure outside isolators when spraying vials outside isolators. To limit exposure of operators with contaminated vials, proper gloving procedure is a simple personal protective measure but must be properly implemented.

#### End product contamination

When considering the residual contamination of vials in combination with the process of preparation, contamination can be transferred to the final products as previously shown by Gilles et al, 2004<sup>(37)</sup>. In similar way as the manufactured vials, the final product is also chemically contaminated and probably cross contaminated by more than one cytotoxic inside the collective equipment. Proper gloving, with high frequency of changes is able to limit this contamination. Kamguia et al.<sup>(38)</sup>, reduced the contamination of final product by implementing additional cleaning method using anionic surfactant agent. More recently, Queruau Lamerie et al<sup>(39)</sup>, highlighted the interest of surfactant agents for removing cytotoxic contamination on surfaces. So, more than an universal method for degradation of cytotoxic which is not available, it is worth to use a cleaning method able to remove the contaminants from surfaces (i.e. surfactant) in combination with proper methods for containment and destruction of waste.

#### Collective protective equipment

Two main systems are used for general collective protection of operators: Bio Safety Cabinets (BSCs) and isolators.

BSCs are vertical unidirectional airflow working cabinet. BSCs specially designed for hazardous drug preparation are BSCs II (fig1) and BSCs III (fig2). BSCs blowing the air back



Fig. 1:

into the room (BSC IIA) should not be used. The system used should be at least a class IIB cabinet<sup>(40)</sup>, which means that the exhaust air is vented to the outside of the building. A class IIB2 (total exhaust; non-recirculation) cabinet should preferably be implemented because

some contaminants can pass through high-efficiency particle air (HEPA) filters, leading to the recirculation of contaminants inside the cabinet. BSC type III, are totally air exhausted cabinets and offer the advantage of a physical barrier provided by the front complete



Fig. 2:

window and attached gloves through the windows for handling (fig2)

When using BSC II the contamination generated during the preparation process may be spread by aerosolisation and by the workers themselves. Considering the risk of contamination spreading through the worker's hands and due to the lack of physical barrier, special attention must be paid to the gloves and gowning material worn in BSCs.

BSC III provides the physical barrier during compounding drugs, but special attention must be paid to cleaning operations when opening front windows where surface contamination may be transferred to the operators and background environments.

Isolators are sterile, enclosed areas<sup>(41,42)</sup> that allow physical protection for workers during the preparation process and ensure the containment of the hazardous products generated during this process. To ensure the containment of hazardous products, the exhaust air is vented to the outside of the building. In addition, attention should be paid to the tasks performed outside the isolator, such as the handling of vials, end-products and waste. In the case of the latter two, containment devices directly attached to the isolator wall should be used, thus ensuring the wrapping of the final product or waste without any breach in sterility and containment (see Figure 3). Good enclosure maintenance, including routine checks (eg, leaks in the wall, integrity of manipulation devices [attached gloves and sleeves]), is key in the use of isolator technology.

The main difference between BSC is the permanent physical barrier provided by the isolator technology, which explains the low level of environmental contamination<sup>(15,26)</sup> found next to isolators, compared with BSCs.

## Personal Protective equipment

**Gloves:** Attention should also be given to the choice of glove and the duration of use. Double gloving and changing gloves at least every 30 minutes are the minimal requirements, according to both the NIOSH<sup>(43)</sup> and ASHP guidelines<sup>(40)</sup>. Some authors have suggested that changing gloves more often may be related to lower levels of surface contamination. Attention must be paid to alcohol use, which may facilitate permeation of drugs



Fig. 3

through the gloves. However, one recent study<sup>(44)</sup> assessing the risk of permeation through gloves with simulated method when alcohol treatment was used, showed low risk of permeation.

**Mask:** To reduce inhalation risks, protective masks (FFP respirators) must be worn in tasks at risk of exposure such as handling of vials, treatment of vials before entering the BSC or the isolator and spill management. Surgical masks must not be used for this purpose because they are not intended to protect operators from air contamination.

**Clothing:** Proper gowning must not be neglected as permeation can occur<sup>(3)</sup> and could be an unexpected source of exposure. NIOSH (2004)<sup>(43)</sup> suggested the use of disposable coated gowns to prevent permeation.

## Conclusions

**Safe handling of cytotoxic drugs means that the whole process needs to be considered, from delivery of the drug to the hospital pharmacy through to administration to the patient.**

**Regarding the problem of drug vial contamination, some authors suggest that manufacturers should improve cleaning deactivation procedures<sup>(45)</sup> and should provide the drugs in special containers to guaranty containment and sterility, thus allowing the user to put the vials directly inside the BSC or the isolator and removing the risk generated by outside handling. Regarding the problems of contamination associated with the preparation process, methods ensuring chemical containment inside the BSC or the isolator should be implemented. This includes transfer devices**

**that can reduce surface contamination during the preparation process. The highest level of containment would be offered by a physical barrier, which implies that end-products, waste and cleaning materials need to be evacuated through disposable transfer containers.**

**Personal protective equipment should be used for the handling of cytotoxics in wards. In this case, the patient is the major source of contamination and, in addition to the use of personal protective clothing, containment measures regarding the han-**

**dling of the patients' excretas and the use of negative-pressure ventilation systems in the patients' rooms should be implemented. The handling of cytotoxics in the pharmacy and in the wards requires highly trained staff working according to a quality assurance programme that should include written policies on chemical contamination risk. Surface contamination and biological monitoring are valuable methods to identify unexpected risks and to implement corrective measures.**

## References

1. Ensslin AS, Pethran A, Schierl R, Fruhmam G. *Int Arch Occup Environ Health* 1994;65:339-42.
2. Ensslin AS, Stoll Y, Pethran A, et al. *Occup Environ Med* 1994;51:229-33.
3. Minoia C, Turci R, Sottani C, et al. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1998;12:1485-93.
4. Sessink PJ, Anzion RB, van den Broek PH, Bos RP. *Pharm Weekbl [Sci]* 1992;14:16-22.
5. Sessink PJ, Boer KA, Scheefhals AP, et al. *Int Arch Occup Environ Health* 1992;64:105-12.
6. Sessink PJ, Friemel NN, Anzion RB, Bos RP. *Int Arch Occup Environ Health* 1994;65:401-3.
7. Spivey S, Connor TH. *Hosp Pharm* 2003;38:135-9.
8. Kiffmeyer TK, Kube C, Opiolka S, et al. *Pharm J* 2002;268:331-7.
9. Connor TH, Shults M, Fraser MP. *Mut Res* 2000;470:85-92.
10. Connor TH, Anderson RW, Sessink PJ, et al. *Am J Health-Syst Pharm* 1999;56:1427-32.
11. Micoli G, Turci R, Arpellini M, Minoia C. *J Chromatogr B* 2001;750:25-32.
12. Connor TH, Anderson RW, Sessink PJ, Spivey S. *Am J Health-Syst Pharm* 2002;59:68-72.
13. Sessink PJ, Rolf MAE, Rydzik NS. *Hosp Pharm* 1999;34:1311-7.
14. Vandembroucke J, Robays H. *J Oncol Pharm Practice* 2001;6:146-52.
15. Crauste-Manciet S, Sessink PJ, Ferrari S, et al. *Ann Occup Hyg* 2005;49:619-28.
16. Favier B, Gilles L, Latour JF, et al. *J Oncol Pharm Practice* 2005;11:1-5.
17. Delporte JP, Chenoix P, Hubert P. *Eur Hosp Pharm* 1999;5:119-21.
18. Favier B, Gilles L, Ardiet C, Latour JF. *J Oncol Pharm Practice* 2003;9:15-20.
19. Mason HJ, Morton J, Garfitt SJ, et al. *Ann Occup Hyg* 2003;47:681-5.
20. Nygren O, Gustavson B, Strom L, Frieberg A. *Ann Occup Hyg* 2003;46:555-7.
21. Fleury-Souverain, S., Nussbaumer, S., Mattiuzzo M et al. *J Oncol Pharm Pract* 2014;20:100-111.
22. Touzin et al., *Ann Occup Hyg*.2008 ;5:765-771
23. Schierl et al., *Am J Health-Sys Pharm* ; 2010 ;67:428-429
24. Hama et al., 2011 ; JOPP ; 18 :201-206
25. Schreiber C, Radon K, Pethran A, et al. *Int Arch Occup Environ Health* 2003;76:11-6.
26. Mason HJ, Blair S, Sams C, et al. *Ann Occup Hyg* 2005;49:603-10.
27. Fransman W, Vermeulen R, Kromhout H. *Ann Occup Hyg* 2004;48: 237-44.
28. Slevin ML, Ang LM, Johnston A, Turner P. *Cancer Chemother Pharmacol* 1984;12:151-3.
29. Stoikes ME, Carlson JD, Farris FF, Walker PR. *Am J Hosp Pharm* 1987;44:1341-6.
30. Connor TH. *Am J Health-Syst Pharm* 1999;56: 2450-3.
31. Klein M, Lambov N, Samev N, Carsten G. *Am J Health-Syst Pharm* 2003;60:1006-11.
32. Wallemacq PE, Capron A, Vanbinst R, et al. *Am J Health-Syst Pharm* 2006;63:547-55.
33. Hon C-Y, Teschke K, Demers PA et al. *Ann Occup Hyg*, 2014, 58 :761-770.
34. Pharmaceutical companies (debate). 12th GERPAC Conference, Hyères, October 2009
35. Mosset et al., 12th GERPAC Conference, Hyères, October 2009
36. Mason HJ, et al. *Ann Occup Hyg*. 2003 ;47:681-685.
37. Gilles et al., *Arch Mal Prof* 2004 ;65:9-17
38. Kamguia et al., 8th GERPAC Conference, Hyères, October 2005 American Society of Health-System Pharmacists. *Am J Health-Syst Pharm* 2006;63:1172-93.
39. Queruau Lamerie et al, 14th GERPAC Conference, Hyères, October 2011
40. American society of Health-System Pharmacists. *Am J Health-Sys Pharm* 2006;63:1172-93
41. Agalloco JP, Akers JE. Technical report N°34. *PDA J Pharm Sci Technol* 2001;55 Suppl TR34:1-23.
42. Cazin JL, Gosselin P. *Pharm World Sci* 1999;21:177-83.
43. National Institute for Occupational Safety and Health. Preventing occupational exposure to antineoplastic and other hazardous drugs in health care settings. Available at: <http://www.cdc.gov/niosh/docs/2004i/2165/>
44. Capron, A., Destree, J., Jacobs, P. et al., *Am J Health-Sys Pharm* 2012;69:1665-1670
45. Connor TH, Sessink PJ, Harrison BR, et al. *Am J Health-Syst Pharm* 2005;62:475-84.

## Management

# «Rien n'est permanent sauf le changement, Partage d'expérience et de petits trucs...»



Thierry Wermelinger  
Docteur en Pharmacie  
thierry.wermelinger@laposte.net

Depuis 35 ans dans l'Industrie Pharmaceutique dont 25 passées à la direction d'établissements dans divers Groupes Français, Américains, Suédois, Anglo-Suédois, j'ai pu constater une évolution importante voire une révolution dans le fonctionnement de ces entreprises et de la gestion des femmes et hommes qui y travaillent.

L'évolution des techniques Pharmaceutiques, l'introduction des biotechnologies le décryptage du génome humain sont de véritables révolutions dans les traitements de maladies souvent mortelles voire incurables. Ces maladies sont aujourd'hui soit guéries soit rendues chroniques grâce à des concepts et des schémas thérapeutiques innovants.

## A titre d'exemple les résultats sur le VIH et sur les cancers sont éloquentes.

Les méthodes de production ont également beaucoup évoluées comme la gestion de la qualité les GMP, BPF et autres qui n'ont plus rien de commun avec ce qu'elles étaient dans les années 80.

Cela pourra vous sembler étrange mais les évolutions réalisées dans la gestion des établissements et de leurs ressources humaines sont certainement aussi importantes dans leur domaine et diriger en 2014 un ou plusieurs établissements n'a plus rien à voir avec le management et le leadership que l'on pourrait appeler « à la papa ».

Vous allez me demander ce qui a vraiment changé, je vous répondrais tout !

Eh oui tout a changé, en mieux me direz vous? Pas sûr, mais ce qui est sûr c'est que tout continuera à changer et à un rythme qui ne cessera de s'accélérer.

Je citerai plusieurs grands hommes qui ont décrit avec leurs mots le changement et à des époques très différentes :

**Héraclite d'Ephèse** : « Rien n'est permanent sauf le changement »,

**Bouddha** : « Il n'existe rien de constant si ce n'est le changement »,

**Nicolas Machiavel** : « Un changement en prépare un autre »,

**Charles F. Kettering** : « Le monde déteste le changement, c'est pourtant la seule chose qui lui a permis de progresser ».

Cet article sera donc une simple photographie de ce que je considère comme étant des bases, des passages obligés pour diriger aujourd'hui un ou plusieurs établissements de production pharmaceutique.

Chaque numéro de la vague de 2015 sera l'occasion de vous dévoiler un peu plus de ces éléments qui constituent une toute petite partie d'expérience acquise.

Un site propre, bien tenu, la première image que l'on donne ! Un site bien tenu donne immédiatement une première image positive de l'entreprise que ce soit pour les collaborateurs, les postulants, votre Boss qui ne vient que rarement, l'Inspection et autres visiteurs.

Tenir un site en bon état demande qu'à tous les niveaux on observe une tolérance "zéro". On ne doit pas abîmer l'outil de travail, en tous les cas ne pas être laxiste, et si malgré les précautions prises par le personnel des dégradations se produisent, il faut remettre en état le matériel et les locaux.

Vous devez vous comporter et faire comprendre à chacun qu'il doit se comporter comme s'il était propriétaire de son outil de travail. Il n'y a rien de plus démotivant que de travailler dans un site mal entretenu, dégradé.

## Mission, Vision

Donner à tous un but commun.

Amusons nous à faire un parallèle entre la vie politique et l'entreprise ! Les Pères fondateurs de l'Union Européenne avaient une mission

et une vision claire. Sans la mission qu'ils s'étaient donnée et leurs visions, l'Europe existerait-elle ? Ce que l'on a fait de leur vision est autre chose, il y aurait beaucoup à dire ! Deng Xiaoping en 1979 indiquait clairement que la priorité du nouveau régime chinois était le développement économique et technologique. Le message qu'il passait au peuple chinois était d'autant plus clair : « Il est bon de s'enrichir ». Qui peut douter aujourd'hui que la Chine n'ait pas suivi et ne continue pas à suivre cette vision ? Ces visions ont habité les peuples Européens et Chinois et guidé les politiques depuis des décennies. Un pays sans vision est comme un bateau ivre, il en est de même pour une entreprise. Toute entreprise produit quelque chose ; c'est sa mission. La description de celle-ci est un élément de base qui définit et encadre les discussions sur les choix stratégiques.

#### Qui définit la mission ?

Dans chaque établissement doit se trouver une déclinaison de la stratégie du Groupe auquel appartient l'entreprise. Cette mission est définie collégialement par la Direction de l'entreprise et ses cadres dirigeants. La description de la mission doit être simple, facile à comprendre, concise. En complément la mise en place d'une vision est fondamentale. Se donner une vision c'est réaliser la mission de l'entreprise en procurant un idéal à court terme.

**Comment définir ces Missions/ Visions ?**  
L'idéal est de réunir le Comité de Direction/ Comité de pilotage au calme en dehors des éléments du quotidien et de travailler ces définitions.

Une révision bi-annuelle de la Mission/ Vision est souhaitable pour s'assurer de la cohérence de ces éléments avec l'évolution de la stratégie du Groupe / de l'entreprise / de l'établissement. Pour être comprise de tous, cette Mission / Vision doit être déclinée à tous les niveaux, discutée, expliquée et défendue. N'oublions jamais que l'entreprise n'est pas une démocratie, si c'était le cas ça se saurait ! Il y a une Direction qui décide, prend ses responsabilités et d'autres qui donnent leurs avis, leurs opinions, contribuent au débat, mais à la fin exécutent les décisions prises. L'affichage dans les ateliers après discussion/ explications rappellera à chacun ce que l'entreprise fait et où elle veut aller.

#### Les résultats escomptés :

- Orientation commune, partagée, claire, mobilisatrice et ambitieuse.
- Orientation clairement communiquée aux partenaires de l'entreprise, à ses clients, à ses fournisseurs.

Un personnel participant activement à la réa-

lisation du projet collectif et travaillant dans une même direction, pour un même but.

#### Les conditions de succès :

S'assurer que les moindres actions quotidiennes concordent avec la mission, les valeurs et la vision. Intégrer la mission, les valeurs et la vision dans la planification stratégique. Communiquer, communiquer...

#### Objectifs, Feuille de route

##### Objectifs

Encore une fois il y a un parallèle entre la vie de tous les jours et l'entreprise.

Nous avons tous des objectifs pour notre vie, une vie sans objectif c'est la dépression ! Et donc dans l'entreprise c'est la même chose, sans objectif une entreprise ne vivra pas longtemps.

Il existe plusieurs types d'objectifs, à court, moyen et long terme.

Il y a des objectifs atteignables et d'autres qui ne le sont pas ou pas encore.

Gages d'efficacité et de performance, les objectifs annuels sont indispensables au fonctionnement de l'entreprise. Ils permettent aussi aux équipes d'augmenter leur motivation au travail.

Les objectifs annuels donnent à l'ensemble du personnel, à tous les niveaux, une direction claire et précise. Ils visent des résultats concrets, ils sont orientés sur les axes stratégiques de l'entreprise.

#### Qui fixe les objectifs ?

Les objectifs annuels sont fixés par la direction qui s'arriment aux objectifs stratégiques du Groupe. Ils permettent d'atteindre un rendement optimal.

Les cibles sont aussi très variables : elles doivent encore une fois être évidentes pour chaque collaborateur et peu nombreuses si l'on ne veut pas diluer les énergies et en fin de compte ne pas faire progresser les résultats.

Des cibles types peuvent être par exemple : Conformité, Fourniture aux marchés, Stratégie, Respect des objectifs financiers, Organisation...

En face de chaque cible, la direction fixera en séminaire, tous services représentés, des objectifs clairs, chiffrés en d'autres termes des **objectifs SMART (Simples/Spécifiques, Mesurables, Ambitieux, Réalistes, Temporels)** Attention à être ambitieux mais réaliste par rapport aux moyens que l'on peut mobiliser pour atteindre les objectifs.

En face de chaque objectif, il sera intéressant de faire figurer les principaux programmes et initiatives avec pour chaque item un responsable du Comité de Direction qui sera en charge de leader les travaux correspondants.

#### Des objectifs pour qui ?

Une fois les objectifs du site définis, qu'ils ont

été approuvés par la Direction Industrielle, le Groupe ou toute autre instance hiérarchique nous arrivons à la phase de déclinaison.

Il peut être utile de classer les plans d'actions selon la matrice de priorité.

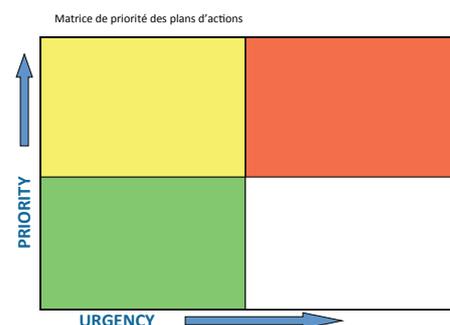
Cette déclinaison touche chaque unité, chaque service et au final chaque salarié.

Dans chaque unité, chaque groupe doit se poser une seule question :

Comment notre groupe va-t-il contribuer à la réussite des objectifs du site ?

Quels indicateurs allons-nous choisir pour suivre l'amélioration de nos performances ?

N'oublions jamais que pour atteindre ses



objectifs, l'entreprise doit mobiliser ses employés et les faire participer à sa stratégie.

**Les meilleurs objectifs sont ceux qui profitent tant à la direction qu'aux employés.**

Il s'agira par exemple de dynamiser un secteur de l'entreprise tout en permettant aux employés de développer leurs compétences. Ce sont des objectifs gagnant-gagnant.

Ces objectifs doivent être communiqués à tous les niveaux, affichés dans les services sur les tableaux de gouvernance après avoir été discutés et expliqués avec chaque groupe.

L'atteinte de ces objectifs sera un outil qui permettra objectivement au manager d'évaluer les performances d'un subordonné, d'une équipe. Des employés sans objectifs de performance ni d'entretiens d'évaluation annuels voire bi-annuels ne peuvent bien performer et risquent de ressentir une injustice profonde lorsque viendra la période des évolutions salariales au mérite.

#### La feuille de route

Comme dans un gouvernement il doit y avoir une feuille de route pour une entreprise/ un établissement. Cette feuille de route rassemble quelques éléments clés qui vont guider les priorités des prochains mois. Elle devra être revue trimestriellement pour s'ajuster à l'actualité du Groupe, de l'entreprise, du site, car comme nous en avons déjà parlé, le changement a pu passer par là et remettre beaucoup de choses en question.

**Mais comment communiquer ?  
La suite au prochain numéro...**

# Agenda



## Évènements 2015

### 12 MARS

#### Kaiseraugst, Suisse

Forum A3P

*Maîtrise de la stérilité*

Conférences et visite de la société Skan

### 17 & 18 MARS

#### Le Vaudreuil, France

Journées A3P Technologies Barrières  
*Définition d'une technologie barrière et plus particulièrement d'un RABS, avantages et inconvénients de leur utilisation et retour d'Expériences.*

Conférences, exposition et visites des sites : Aspen à Notre Dame de Bondeville, Sanofi à Le Trait et Valdepharm à Val-de-Reuil



### 2 & 3 AVRIL

#### Marrakech, Maroc Hôtel Pullman

Congrès A3P Maroc

Conférences, ateliers et exposition



### 6 & 7 MAI

#### Bruxelles, Belgique

Congrès A3P Belgique

Conférences, ateliers et exposition.

### 20 & 21 MAI

#### Alger, Algérie

Congrès A3P Algérie

Conférences, ateliers et exposition

### 26 & 27 MAI

#### Lausanne, Suisse

Congrès A3P BioProduction

*Upstream, Downstream & Formulation*

Conférences, exposition, ateliers et visite du site de Merck Serono

### 1<sup>er</sup> & 2 JUIN

#### Lyon, France

Journées A3P Lyophilisation

*Freeze drying process control in routine: How to ensure control of the process, to reduce risk of failures and decrease quality costs*

Conférences, exposition, ateliers et visite de site.

### 1<sup>er</sup> JUILLET

#### Lyon, France

Forum A3P Particules Visibles

Conférences et table ronde.

### 17-18-19 NOVEMBRE

#### Biarritz, France



- *Maîtrise des procédés, des produits*

- *Inspection (Conformités réglementaires - harmonisation et recours)*

- *Management du risque*

Conférences, ateliers, table ronde et exposition.

*Programmes et inscriptions sur  
[www.a3p.org](http://www.a3p.org)*

# Formation

## PROGRAMME 2015



Infos &  
inscription sur  
[www.a3p.org](http://www.a3p.org)  
rubrique "formations"

Toutes nos formations sont éligibles au titre de la "formation professionnelle"

### Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF)



- BPF et BPD - Produits biologiques  
Date : 10 mars / 1<sup>er</sup> octobre
- Mise à jour réglementaire et état de l'art pour la fabrication des produits pharmaceutiques stériles  
Date : 2 avril / 20 octobre
- L'annexe 1 des GMP Eu : les points critiques, leur analyse et leur interprétation  
Date : 19 & 20 mai
- Validation des procédés de nettoyage des équipements de production en industrie pharmaceutique  
Date : 27 & 28 mai
- Procédés aseptiques : simulations et filtration stérilisante  
Date : 9 & 10 juin
- Gestion du Risque Qualité (ICH Q9) des procédés aseptiques  
Date : 16 & 17 juin

### Process



- Lyophilisation I : Bonnes pratiques et bases de la lyophilisation  
Date : 17 & 18 février / 22 & 23 septembre
- Lyophilisation II : Perfectionnement des connaissances  
Date : 24 & 25 mars
- Lyophilisation III : Développement expertise et maîtrise de la qualité  
Date : 22 & 23 avril
- Stérilisation par la chaleur : principes, validation et production Fondamentaux et aspects pratiques  
Date : 3 & 4 juin
- Procédés aseptiques : simulations et filtration stérilisante  
Date : 9 & 10 juin
- Analyse des risques sur la chaîne du froid : maîtrise en production, en distribution et gestion des excursions de températures  
Date : 23 & 24 juin

### Maîtrise de la Contamination



- Analyse des risques dans la maîtrise de la contamination microbienne en production aseptique et stérile  
Date : 3 & 4 février / 29 & 30 septembre
- Elaboration d'un programme de bio-nettoyage en salles propres en environnement BPF  
Date : 3 mars / 13 octobre
- Analyse du risque particulière dans les produits stériles et injectables : analyse, points critiques et maîtrise, gestion de la criticité des déviations / OOS associés  
Date : 14 & 15 avril
- Maîtrise de la contamination en ZAC (stérile et non stérile)  
Date : 28 & 29 avril / 3 & 4 novembre
- Validation des procédés de nettoyage des équipements de production en industrie pharmaceutique  
Date : 27 & 28 mai

### Qualification



- Qualification d'une boucle d'eau purifiée : des règles de l'art de la conception à la qualité microbiologique  
Date : 11 février
- Validation des procédés de nettoyage des équipements de production en industrie pharmaceutique  
Date : 27 & 28 mai

### Systèmes Informatisés



- Cloud computing et réglementation pharmaceutique  
Date : 25 février
- Validation des systèmes informatisés efficace et efficiente: outils et méthodes  
Date : 18 mars
- L'audit et l'inspection des SI : outils et méthode  
Date : 5 mai



## Partenaire de qualité

Les solutions idéales pour vos besoin d'isolateurs en production et au laboratoire de contrôle qualité

[www.skana.ch](http://www.skana.ch)

Together always one step ahead

