

# La Vague

LE MAGAZINE DE LA PHARMA ET DES BIOTECHS

N° 60 | Janvier 2019  
Trimestriel



## P rocédé A septique

### **Journées A3P Technologie Barrière 19 & 20 mars 2019 à Pau**

- **Restitution des messages clés de la table ronde sur la révision de l'Annexe 1**
- **Aseptic Processing Overview**
- **L'industrie pharmaceutique : renforcer la culture de la qualité**
- **Impact of Annex 1 revision on new vial filling line at Sanofi Pasteur Marcy-l'Étoile**
- ...



# Sommaire

N°60 // Janvier 2019

L'édito I .....	3
Ils ont participé à ce numéro I .....	4
Billet d'humeur I Ah, l'asepsie.....	5
Réglementaire I .....	6
Actualités I À vos agendas ! Tous les événements A3P en 2019.....	9
Actualités I A3P Women : l'humanitaire au cœur de l'entreprise .....	10
Actualités I Journées A3P Technologie Barrière .....	12
Actualités I A3P Formation 2019.....	15
Réglementaire I Restitution des messages clés de la table ronde sur la révision de l'Annexe 1 .....	16
Techno Process I Impact of Annex 1 revision on new vial filling line at Sanofi Pasteur Marcy-l'Étoile .....	23
Contrôle Qualité I Quantitative evaluation of microorganisms recovery from surfaces using contact plates.....	27
Qualité I Investigation by molecular method of potentially non-compliant aseptic process simulation-media fill test (APS-MFT) and sterility test .....	35
Qualité I Aseptic Processing Overview .....	39
Qualité I L'industrie pharmaceutique : renforcer la culture de la qualité .....	44
Data integrity I Sauvegarde, réplication et archivage... Quelles mesures prendre pour préserver l'intégrité de vos données ? .....	47

## & La Vague

Revue trimestrielle N°60 - Janvier 2019

• Editeur  
A3P Association  
30, rue Pré Gaudry - 69007 Lyon  
Tél. 04 37 28 30 40  
E-mail : a3p@a3p.asso.fr  
Prix de vente au numéro : 10€

• Directeur de la Publication  
Didier MEYER, Vice-Président A3P  
E-mail : dgastonmeyer@gmail.com  
• Rédactrice en Chef  
Anne RIGOULOT  
E-mail : anne.rigoulot@sanofi.com  
• Comité scientifique  
G. ECOTIERE, J. NAVELLOU, J. TAFFORIN, C. MEUNIER, R. BELIARD  
• Coordinateur  
Frédéric ESTASSY  
E-mail : festassy@a3pservices.com  
• Conception & graphisme  
Sophie TORGUE & Hugo GUERRAZ  
E-mail : storgue@a3pservices.com

• Impression  
2PRINT - 42000 Saint-Étienne

Dépot légal à parution  
N° d'ISSN : 1298-047  
N° CPPAP : en cours

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

L'Édito  
Par Bénédicte GAS - Membre CA A3P



Une fois de plus, l'A3P se positionne comme la principale Association pour les produits propres et stériles. Ce nouveau numéro de La Vague vous présentera l'environnement et le traitement aseptiques en vous proposant des analyses techniques de l'évolution des recommandations réglementaires, ainsi que des perspectives et des solutions répondant à l'ensemble de vos besoins au quotidien. Tous les principaux contributeurs du traitement aseptique, qu'il s'agisse des responsables et des superviseurs de production, des microbiologistes de l'Assurance ou du Contrôle Qualité, ou encore du personnel qualifié des différents services techniques, trouveront dans ce numéro les meilleures pratiques et les études de cas les plus pertinentes.

Les procédés aseptiques sont souvent définis de manière un peu simpliste comme étant l'assemblage d'un produit stérile dans un environnement stérile, en suivant une succession d'étapes allant du remplissage au scellement hermétique du contenant. Cependant, cette définition ne met pas assez en évidence les difficultés inhérentes à ces processus, et de ce fait, occulte les risques potentiels liés au maintien d'un environnement hautement réglementé et contrôlé exempt de micro-organismes susceptibles de nuire à la santé du patient.

Ces installations dédiées au traitement aseptique doivent comporter des salles propres, dont l'alimentation en air ainsi que les équipements sont sous contrôle strict, afin d'éviter toute contamination des produits qui y sont fabriqués et conditionnés. Il faut également que l'air soit filtré de manière appropriée, que les salles propres et aseptiques soient sous pression positive et que tout le matériel puisse y être stérilisé que ce soit par la chaleur ou par des procédés chimiques.

Pour bien définir les préoccupations actuelles de l'industrie quant aux procédés aseptiques, il est important de comprendre les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) pour la production de médicaments parentéraux qui sont en vigueur. La production et le conditionnement stérile nécessitent de nombreuses exigences et procédés, notamment :

- Une conceptualisation précise et une organisation claire des modèles, équipements et activités basées sur l'évaluation des risques et sur l'analyse des processus.
- Le développement technique des systèmes fonctionnels qui doit tenir compte des besoins des utilisateurs, du flux d'activités et de l'utilisation de l'automatisation faisant appel à de nouvelles technologies et à de nouveaux instruments.
- Un système Qualité basé sur une solide gestion de la documentation, sur un plan et des applications de validation, et sur la formation requise afin d'obtenir et/ou de maintenir du personnel hautement qualifié.
- Un contrôle Qualité aux différentes étapes du processus, impliquant des normes spécifiques, les réglementations de la FDA et de l'Union Européenne, les implémentations et validations, ainsi que les exigences en matière de contrôle microbologique, de processus de suivi de l'environnement, de contrôle des matières premières, de gestion des systèmes de production d'eau, de suivi des initiatives PAT (Process Analytical Technology) et l'utilisation de Méthodes Microbiologiques Rapides (MMR).

- Une gestion des Risques Qualité, flanquée d'un solide plan de surveillance microbienne et d'une politique d'introduction et d'utilisation de nouvelles technologies, doit être mise en place pour tous les produits et substances actives stériles. Ceci permet de garantir que les contaminations microbiologiques, particulières et pyrogènes associées aux microorganismes ne peuvent pas compromettre le produit final.

**En tant qu'acteurs de cette industrie, notre objectif primordial est d'assurer la sécurité des patients. La qualité de nos produits et de nos procédés aseptiques ne dépend pas uniquement de leur contrôle de fabrication en fin de chaîne, de la libération des stocks ou de la perception qu'on peut avoir de telle ou telle marque, mais aussi d'un meilleur processus de Contrôle Qualité qui nous permet de réduire les risques lors de la mise sur le marché du produit.**

**"L'homme et sa sécurité doivent constituer la première préoccupation de toute aventure technologique."**

Albert Einstein

**ABONNEZ-VOUS !**  
Chaque trimestre, recevez votre magazine à l'adresse de votre choix

OUI, je m'abonne à La Vague (4 n° + le site + newsletters) pour une durée de 1 an  40€ TTC  
Je souhaite acheter le N° ..... du mois de ..... et de l'année.....  10€ TTC

Vos coordonnées

Mme/M. Nom ..... Prénom .....

Fonction ..... Email .....

Société ..... Adresse .....

Code postal ..... Ville .....

SIRET ..... CODE NAF .....

Date et signature .....

Compléter et renvoyer ce bulletin avec votre règlement sous enveloppe affranchie à A3P Association 30, rue Pré-Gaudry 69007 Lyon

Chèque à l'ordre d'A3P Association  A réception de facture  Par virement FR45 3000 2010 3900 0009 8857 E23 Swift CRLYFRPP



Merci à nos Contributeurs

## Ils ont participé à ce numéro



**James L DRINKWATER**

F Ziel GmbH

Rédacteurs de "Impact of Annex 1 revision on new vial filling line at Sanofi Pasteur Marcy l'etoile France"

James L DRINKWATER is Head of GMP Compliance and Aseptic process at F Ziel GmbH the manufacturer of the Isolator line. James is also the elected Chairman of the PHSS: Pharmaceutical & Healthcare Sciences Society.



**Sebastien TRICHOT**

Sanofi Pasteur

Sebastien TRICHOT is a subject matter expert in Fill/ Finish including Aseptic processing and is a lead engineer at Sanofi Pasteur Marcy l'etoile for the Box project that includes the filling line considered in this article.



**Jennifer LOPEZ**

Maetrics

Rédactrice de "Comment renforcer la culture de la qualité ?"

Mme. Lopez est Directrice, Prestation de Solutions chez Maetrics, et possède une vaste expérience dans le secteur pharmaceutique et le secteur des dispositifs médicaux. Avant d'assumer ce rôle, elle a travaillé pour une société pharmaceutique mondiale de premier plan pendant 17 ans. Mme. Lopez a plus de 15 ans d'expérience dans des rôles réglementaires et de qualité au sein des entreprises pharmaceutiques et de dispositifs médicaux majeures. À Maetrics, elle occupe le poste de Chef de pratiques d'audit et a déjà géré d'importantes équipes d'audit sur des projets mondiaux pour certains de leurs principaux clients. Elle possède des compétences prouvées en remédiation internationale, CAPA (Mesures correctives ou préventives), le lancement des entreprises manufacturières, l'assurance de la qualité et la conformité réglementaire.



**Marc BESSON**

GIC A3P Annexe 1

Rédacteur de "Restitution des messages clés de la table ronde sur la révision de l'Annexe 1"

Pharmacien, a travaillé 30 ans dans l'industrie pharmaceutique (25 ans chez SANOFI) où il a occupé différents postes dont la Direction Qualité pendant plusieurs années sur des sites de production mondiaux de médicaments injectables sous isolateurs et il a également participé au niveau des Opérations Qualité Corporate à des projets de développement de nouvelles unités de production stérile. Il collabore au sein de l'A3P à différents groupes de travail dont le GIC consacré à la nouvelle version de l'Annexe 1.



**Arnaud CARLOTTI**

EUROFINS IDmyk

Rédacteur de "Investigation by molecular method of potentially non-compliant aseptic process simulation-media fill test (APS-MFT) and sterility test"

Depuis plus de 30 ans, Arnaud CARLOTTI est passionné par la microbiologie industrielle et les problématiques de production en condition stériles, investigations des non conformités, root cause analyses, proposition et mise en œuvre des CAPAs.

En tant qu'expert reconnu, il a publié à ce jour plus de 30 articles scientifiques et chapitres d'ouvrages (eg. 2018 PDA/DHI publishing "Contamination Control volume 5 chapter 14").



**Joseph C. FRANTZ**

Sanofi

Rédacteur de "Aseptic Processing Overview"

Dr. Frantz is globally responsible for Sanofi Pasteur's strategic vision and management for Sterility Assurance. He also leads a network of company experts in the ongoing pursuit of continuous improvement in sterile manufacturing practices. Dr. Frantz holds a M.S. and Ph.D. in Medical Microbiology and Immunology from the University of Oklahoma Health Sciences Center.



**Jean-Louis JOUVE**

Coetic

Rédacteur de "Sauvegarde, réplication et archivage... Quelles mesures prendre pour préserver l'intégrité de vos données ?"

Depuis novembre 2004, Jean-Louis JOUVE est le gérant et consultant principal de COETIC, un société d'expertise et de conseil dédiée aux industries réglementées telles que l'industrie pharmaceutique et cosmétique, les fabricants de dispositifs médicaux, les sociétés de biotechnologie, les producteurs de principes actifs pharmaceutiques. Avant la création de COETIC, Jean-Louis JOUVE était le directeur général d'une société spécialisée dans l'information des processus qualité de sociétés réglementées : plus de 50 systèmes pour environ 30 clients nationaux et internationaux ont été mis en œuvre dans cette période. Jean-Louis JOUVE possède un diplôme d'ingénieur de l'Ecole Supérieure de Chimie Industrielle de Lyon (CPE LYON) et un Diplôme d'Études Approfondies (DEA) en Chimie Analytique de l'Université de Lyon I.



**Jeanne GROSSELIN**

bioMérieux Industry

Rédacteurs de "Quantitative evaluation of microorganisms recovery from surfaces using contact plates"

Dr. Jeanne Groselin graduated as engineer from a French scientific school (INSA, Lyon) and received her PhD degree from University of Paris Sud 11 in France. In 2013 she started her carrier at bioMérieux as R&D senior scientist. She worked for 3 years on a rapid alternative microbiological method based on a solid cytometry technology. She is currently responsible of innovative projects for pharmaceutical industry culture media



**Laurent LEBLANC**

bioMérieux Industry

Laurent Leblanc is R&D manager for bioMérieux' Healthcare business. He holds a master degree in Biotechnology from the University of Limoges, France. For the last 15 years, he worked in several biotechnology companies and before joining bioMérieux in 2008 worked in microbiological quality control in the pharmaceutical industry. He is now involved in designing and bringing to the market the new innovative and efficient solutions dedicated to the pharmaceutical and cosmetic industries

Billet d'Humeur

Par François Vanherseck - Membre du CA A3P

## Ah, l'asepsie...



Ah, l'asepsie... Ce "concept", fil rouge de ma carrière, a toujours été pour moi à la fois extrêmement concret et tout aussi insaisissable.

Concret car il y a rarement un doute possible et place à l'interprétation lorsque les régulations de pH et d'oxygène de votre bioréacteur commencent à s'emballer, ou que le milieu contenu dans vos supports de culture cellulaire présente une belle coloration jaune/orangée. Une simple observation microscopique suffit souvent à confirmer que **des hôtes indésirables** se sont invités à votre petite fête... et monopolisent le buffet ! Insaisissable car le nombre de facteurs à combiner pour garantir la maîtrise d'un procédé aseptique est proprement hallucinant : process design, automatisation, sécurisation et intégrité des composants single-use, qualité des utilités propres... et bien entendu la formation du personnel, personnel qui est à la fois premier vecteur de contamination microbologique des produits (censés être) stériles et principal garant de la détection d'une anomalie et de la maîtrise de cette fameuse asepsie.

Lors de mes pérégrinations en Afrique pour travailler sur des procédés de production de vaccin vétérinaire, j'ai pu constater que la définition de procédé aseptique pouvait être très vaste, et que la présence de certains composants "magiques" comme le chloroforme, pouvaient être d'une aide précieuse !

Plus récemment, mon ennemi de longue date *Bacillus cereus* m'a rappelé que notre querelle n'était point terminée... Au fur et à mesure que nous progressons dans le design de nos équipements et conduites de transfert, dans l'automatisation de nos opérations, dans la qualification de nos techniciens, il me semble qu'il devient malheureusement **de plus en plus complexe et ardu de déterminer les sources de contamination dans nos installations**. Peut-être le moment est-il venu de se poser la question de la simplification de nos procédés, de "lean" du procédé aseptique. Alors oui, sur le papier, tout chaud sorti du cerveau des ingénieurs, l'arsenal technologique proposé aujourd'hui est extrêmement séduisant. Mais nos micro-organismes tant redoutés n'en ont cure et se délectent bien évidemment de toutes ces vannes, capteurs, kilomètres de tuyauteries... qui sont autant de risques de zone morte où ils peuvent se terrer. Rendez-vous compte : lors de ma dernière rencontre avec *Bacillus cereus*, j'ai du mobiliser une quinzaine de cadres et de techniciens pendant 4 semaines, à plein temps, pour conduire une investigation qui couvrait 3 cuves et 3 lignes de transfert !

**La technologie doit être au service de la maîtrise et ne devrait jamais rendre les choses plus complexes et plus difficiles à gérer. Pensons-y quand nous démarrons de nouveaux projets et évitons-nous de futurs casse-têtes en intégrant dès le design une attention toute particulière à la conduite de notre procédé aseptique.**

**Nos équipes nous en seront reconnaissantes et la qualité de nos produits sera tout autant garantie !**

*Vous aussi, vous souhaitez participer aux prochains numéros ? Faites-nous parvenir vos propositions d'articles qui seront étudiées par le comité de lecture pour approbation. => Coordonnées des contacts page 2*

## Réglementaire

Par AKTEHOM

## À ne pas manquer !

Ce point réglementaire trimestriel présente les récentes évolutions réglementaires au regard du cycle de vie du produit. Cette sélection des parutions intervenues depuis la précédente édition se focalise sur les grandes thématiques impactant les métiers pharmaceutiques.

This quarterly regulatory point presents recent regulatory developments in terms of product lifecycle. Since the previous edition, this selection of publications focuses on the major themes impacting the pharmaceutical professions.

## Fabrication - Manufacturing

Origine	Titre	Type	Date
EMA	<b>Guideline on the quality of water for pharmaceutical use: Draft for Public Consultation – EMA/CHMP/CVMP/QWP/496873/2018</b> <i>Lignes directrices sur l'utilisation de différentes qualités d'eau. Cette mise à jour reflète les récentes modifications de la Pharmacopée européenne (modification la monographie 0169, nouvelle monographie 2249 et suppression de la monographie 192). Fin de la consultation : 15 mai 2019.</i>	Draft	13/11/2018
ICH	<b>ICH Q13: Continuous Manufacturing of Drug Substances and Drug Products - Concept Paper</b> <i>Cette nouvelle ligne directrice de l'ICH, qui devrait être à l'étape 4 à la fin de 2021, vise à réduire les obstacles à l'adoption de la technologie de fabrication en continu (CM). Bien que le CM soit relativement nouveau pour les applications pharmaceutiques, mais compte tenu de la maturité actuelle de la technologie CM, il est temps d'élaborer une directive harmonisant les attentes réglementaires en matière d'approbation de dossier et prenant en compte les concepts de dynamique de système.</i>	Final	15/11/2018

## Développement - Development

Origine	Titre	Type	Date
EMA	<b>Draft guideline on the non-clinical requirements for radiopharmaceuticals – EMA/CHMP/SWP/686140/2018</b> <i>Ligne directrice vise à fournir des indications sur les données non cliniques requises en support du développement clinique et de l'approbation des produits radiopharmaceutiques. Ce document vient compléter les directives actuellement disponibles (ICH M3(R2), S6(R1), S9...)</i>	Draft	22/11/2018
FDA	<b>Considerations for the Development of Dried Plasma Products Intended for Transfusion</b> <i>Recommandations pour le développement et l'autorisation de dérivés plasmatiques lyophilisés et pour leur conditionnement. Le guide apporte des précisions sur la sécurisation du plasma source, sur les attributs qualité du produit à considérer, sur les essais cliniques à mener et le type d'article de conditionnement (type III) pour garantir l'efficacité et la sûreté des produits après reconstitution.</i>	Draft	29/10/2018
FDA	<b>Good Review Management Principles and Practices for New Drug Applications and Biologics License Applications Guidance for Industry and Review Staff Good Review Practice Draft Guidance</b> <i>Recommandations sur les bonnes pratiques d'examen et de revue des demandes d'autorisation de mise sur le marché de médicaments à usage humain incluant les produits biologiques. L'objectif est, par une gestion efficace des différentes revues par les industriels et les évaluateurs, d'accélérer le processus d'autorisation et permettre une mise sur le marché rapide des produits.</i>	Draft	24/09/2018
FDA	<b>M9 Biopharmaceuticals Classification System-Based Biowaivers</b> <i>Acceptation par la FDA de l'ICH M9. Ce guide permet, sur la base d'une classification et de caractéristiques spécifiques, de démontrer l'équivalence de formulations de produits systémiques administrés par voie orale, en phase de développement ou pour des génériques, sans recours à une évaluation de la bioéquivalence in vivo lors d'un essai clinique. Le document spécifie les critères d'éligibilité auxquels les produits doivent répondre pour être pris en compte dans cette approche.</i>	Draft	25/10/2018
FDA	<b>ANDA Submission - Content and Format: Guidance for Industry</b> <i>Cette ligne directrice détaille l'information qui devrait être fournie dans chaque section du CTD pour assurer une demande complète et de bonne qualité pour la soumission des produits pharmaceutiques à usage humain auprès de la FDA.</i>	Final	24/09/2018

## Inspection - Inspection

A noter également la publication par le PIC/S de son plan de travail 2019.

Origine	Titre	Type	Date
EMA	<b>Questions &amp; Answers on the impact of Mutual Recognition Agreement between the European Union and the United States as of 1 December 2018 – EMA/752292/2018</b> <i>Mise à jour Q&amp;A du 1<sup>er</sup> novembre 2017 relatif à l'implémentation du MRA EU – FDA. Reconnaissance de la capacité à réaliser des inspections GMP de 6 états européens supplémentaires (Portugal, Belgique, Danemark, Finlande, Lettonie et Estonie).</i>	Q&A	1/12/2018
PIC/S	<b>Guidance on Good Practices for Data Management and Integrity in Regulated GMP/GDP Environments</b> <i>Mise à jour des lignes directrices sur le Data Management et l'intégrité des données. Ce guide a pour objectif de définir la position de l'inspecteur en regard de la gestion et de l'intégrité des données lors des inspections GMP/GDP, et de faciliter une approche harmonisée de l'inspection. Période de consultation ouverte jusqu'au 28 février 2019.</i>	Draft	30/11/2018
PIC/S	<b>PIC/S Guidance on Classification of GMP Deficiencies – PI 040-1</b> <i>Ce guide propose un outil de classification des déficiences GMP, fondée sur le risque, assurant une meilleure cohérence entre les inspections.</i>	Final	1/1/2019

## Système Qualité - Quality system

Origine	Titre	Type	Date
FDA	<b>Selection of the Appropriate Package Type Terms and Recommendations for Labeling Injectable Medical Products Packaged in Multiple-Dose, Single-Dose, and Single-Patient-Use Containers for Human Use Guidance for Industry</b> <i>Ce guide propose les définitions de la FDA pour les contenants single-dose et multiple-dose, ainsi que pour les contenants single-patient-use. Il s'applique aux médicaments, produits biologiques et produits combinés. Il fournit également des recommandations sur la gestion du changement de ces informations de prescription sur les produits commercialisés.</i>	Final	2/10/2018
FDA	<b>Current Good Manufacturing Practice - Guidance for Human Drug Compounding Outsourcing Facilities Under Section 503B of the FD&amp;C Act - Guidance for Industry</b> <i>Politique de la FDA en regard de la conformité aux exigences des cGMP applicables aux installations fabriquant des médicaments et s'enregistrant auprès de la FDA en tant que sous-traitant.</i>	Draft	10/12/2018
FDA	<b>Data Integrity and Compliance with Drug GMP Q&amp;A - Guidance for Industry</b> <i>Clarification des attendus de la FDA en termes d'intégrité des données dans le cadre des cGMP.</i>	Final	12/12/2017

## Conditionnement/Distribution - Packaging/Distribution

Origine	Titre	Type	Date
FDA	<b>Verification Systems Under the Drug Supply Chain Security Act for Certain Prescription Drugs Guidance for Industry</b> <i>Recommandations pour un système robuste de vérification pour l'identification, la mise en quarantaine la notification, l'investigation et le traitement des produits suspects et/ou illégaux. Le guide traite également de la manière dont la FDA recommande aux partenaires commerciaux de soumettre des notifications sur le fait que des produits, après investigation, n'ont pas de caractère illégal.</i>	Final	24/10/2018
FDA	<b>Product Identifiers Under the Drug Supply Chain Security Act Questions and Answers Guidance for Industry</b> <i>Clarification des attendus relatifs aux identifiants des produits et aux code-barres linéaires. Les fabricants et les repackagers ont l'obligation d'apposer ou d'imprimer un identifiant sur chaque emballage et sur chaque caisse homogène d'un produit destiné à être commercialisé, à compter du 27 novembre 2017 et du 27 novembre 2018, respectivement.</i>	Draft	19/9/2018
FDA	<b>Product Identifier Requirements Under the Drug Supply Chain Security Act – Compliance Policy Guidance for Industry</b> <i>Politique de conformité de la FDA en regard de l'identifiant des produits.</i>	Final	19/9/2018

**Analytique - Analytical**

Origine	Titre	Type	Date
ICH	<b>Impurities: Guideline for Residual Solvents Q3C(R7)</b> <i>Correction d'une erreur de la dose d'exposition journalière permise (PDE) pour l'éthylène glycol. Les documents 1, 2 et 3, comprenant les données de toxicité à partir desquelles les PDEs ont été obtenues, ont été approuvés et sont disponibles sur le site Web de l'ICH.</i>	Final	15/10/2018
ICH	<b>Q2(R1) Analytical Validation Revision - Concept Paper</b> <i>Cette révision comprendra les principes de validation qui couvrent les procédures analytiques comme la spectroscopie et la spectrométrie (par exemple, NIR, Raman, RMN ou MS), certaines de ces méthodes nécessitant souvent des analyses statistiques multivariées. Cette directive continuera à fournir les principes généraux de validation des procédures analytiques applicables aux produits, notamment ceux décrits dans les ICH Q6A et Q6B.</i>	Final	15/11/2018
ICH	<b>ICH Q14: Analytical Procedure Development - Concept Paper</b> <i>Nouvelle guideline proposée pour harmoniser les approches scientifiques du développement des procédures analytiques, basées sur la science et la gestion des risques qualité (en utilisant les principes de Quality By Design analytiques). Cette approche permettra une flexibilité réglementaire dans le cas de changements des procédures analytiques après approbation.</i>	Final	15/11/2018
Ph. Eur.	<b>(0520) Parenteral preparations, chapter 2.9.20. Particulate contamination: visible particles. New informative chapter: "Recommendations on testing of particulate contamination: visible particles"</b> <i>Le nouveau texte souligne les nombreuses sources de contamination particulaire et précise que tout doit être mis en œuvre pour éviter leur présence.</i>	Draft	10/2018
Ph. Eur.	<b>New general chapter 5.1.12. "Depyrogenation of items used in the production of parenteral preparations"</b> <i>Nouveau chapitre dédié à l'inactivation des pyrogènes et des différents types d'indicateurs d'endotoxines disponibles.</i>	Draft	10/2018
USP	<b>Stimuli Article regarding Guidelines For Assessing and Controlling the Physical Stability of Pharmaceutical Raw Materials, Intermediates, and Dosage Forms (PF 44(6))</b> <i>Stimuli Article passant en revue les approches actuelles en matière d'évaluation, de mesure et de maîtrise de la stabilité physique des substances et formes posologiques décrites dans l'USP</i>	Draft	11/2018

**STERIS**  
Life Sciences

Solutions for Contamination Control

For more information, please visit [sterilifsciences.com](http://sterilifsciences.com)

Pour toutes informations complémentaires, merci d'écrire à : [frederic\\_bar@steris.com](mailto:frederic_bar@steris.com)

Actualités

# Vos rendez-vous A3P en 2019

**FÉVRIER**

**BIOPRODUCTION** 5  
Conférences / Sessions Partenaires / Expo // Genève, Suisse

**MARS**

14 **A3P en ITALIE / SINGLE-USE**  
Conférences / Sessions Partenaires / Expo // Rome, Italie

19&20 **TECHNOLOGIE BARRIÈRE**  
Conférences / Sessions Partenaires / Expo // Pau, France

28 **FORUM A3P BELGIQUE**  
Conférences / Expo // Belgique

**AVRIL**

**CONGRÈS A3P MAROC** 4&5  
Conférences / Ateliers / Expo // Marrakech, Maroc

**eCOMPLIANCE** 11  
Conférences / Sessions Partenaires / Expo // Lyon, France

**Congrès A3P TUNISIE** 25&26  
Conférences / Ateliers / Expo // Tunisie

**MAI**

14 **A3P SUISSE / MAITRISE PROCÉDÉS**  
Conférences / Expo // Lausanne, Suisse

21 **FORUM A3P en ESPAGNE**  
Conférences / Expo // Madrid, Espagne

23 **MÉTROLOGIE**  
Conférences / Expo // Lyon, France

**JUIN**

**COSMÉTIQUE** 4  
Conférences / Expo // Lyon, France

**ENDOTOXINES & PYROGENES** 5&6  
Conférences / Expo // Lyon, France

**MATINÉE A3P EN ITALIE / ROUGING** 18  
Conférences / Expo // Milan, Italie

**SEPTEMBRE**

**CONGRÈS A3P ALGERIE** 11&12  
Conférences / Ateliers / Expo // Alger, Algérie

**ROUGING** 18  
Conférences / Expo // Lyon, France

**ICHQ12** 19  
Conférences / Expo // Lyon, France

**FORUM A3P SUISSE / HVAC** 24  
Conférences / Expo // Lausanne, Suisse

**A3P en ITALIE / MICROBIOLOGIE** 26  
Conférences / Sessions Partenaires / Expo // Milan, Italie

**JUILLET**

4 **LYOPHILISATION**  
Conférences / Sessions Partenaires / Expo // Lyon, France

**OCTOBRE**

12 **TROPHÉE A3P**  
Biarritz, France

15,16&17 **CONGRÈS INTERNATIONAL A3P**  
Conférences / Ateliers / Expo // Biarritz, France

24 **FORUM A3P en ESPAGNE**  
Conférences / Expo // Barcelone, Espagne

**NOVEMBRE**

**FORUM A3P BELGIQUE** 14  
Conférences / Expo // Belgique

**MEDICAL DEVICE** 26  
Conférences / Ateliers / Expo // Lyon, France

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

A3P Services - Sous réserve de modifications

## Actualités

Par Anne CASSART - A3P Women

# L'humanitaire au cœur de l'entreprise : enjeux & opportunités, retours d'expérience !



Lors de la 30<sup>ème</sup> édition du Congrès International A3P à Biarritz, le 14 novembre s'est tenu le 2<sup>ème</sup> petit déjeuner interactif organisé par A3P Women. Le thème de cette année : l'humanitaire au cœur de l'entreprise : enjeux et opportunités.

A travers deux belles personnes, Audrey Delbarre (GSK) et Antoine Sépulchre (Handicap International), deux points de vue se sont échangés : celui de l'employée envoyée en mission et celui de l'ONG, organisateur de ces missions. La dynamique dans les échanges a permis de poser un regard neuf notamment sur les attentes des nouvelles générations en matière de recherche de sens dans ses activités professionnelles et humaines.

Le monde des entreprises évolue et doit pouvoir s'adapter aux nouvelles générations à venir en offrant l'opportunité à ses employés de vivre une expérience unique pour les fidéliser d'un côté en leur donnant du sens dans leur travail, et contribuer à la réputation de l'entreprise de l'autre. Audrey a ainsi pu partir 6 mois en mission humanitaire en Afrique grâce à son entreprise GSK Vaccins, basée à Wavre (Belgique). Cela lui a permis de découvrir l'autre côté du paysage pharmaceutique afin de comprendre pourquoi on continue d'investir, de rechercher et d'innover dans ce domaine. En effet, chaque jour des personnes souffrent et ont besoin de vaccins. C'est une démarche tripartite où tout le monde y trouve son compte : l'employeur a en retour un employé motivé qui va partager rapidement son expérience avec tous ses collègues, les rebooster et leur partager le sens de notre travail. Pour l'ONG, c'est une opportunité de développer auprès de ses équipes des compétences par l'apport d'une expertise et pour l'employé en tant que tel, c'est une occasion unique de sortir de sa zone de confort, de découvrir le monde humanitaire, de se dépasser en découvrant d'autres cultures et s'enrichir de relations humaines.

D'ailleurs pour des ONG comme celle d'Antoine, Handicap International, c'est une belle opportunité que de pouvoir bénéficier pendant quelque temps des compétences et de l'expertise d'employés afin de renforcer les programmes déployés sur le long terme.

Cet événement a rempli son objectif premier : favoriser les échanges, créer des liens et pérenniser les belles initiatives. En effet, nous retiendrons notamment que suite au témoignage d'un collaborateur d'Anios sur son projet humanitaire de distribution d'eau, la société BWT a souhaité apporter une solution. Nombreux sont aussi les participants qui ont échangé avec Nicolas et Audrey sur leurs expériences pour créer cette dynamique au sein de leur entreprise.

**Rendez-vous le 16 octobre 2019, pour de nouveaux sujets tout aussi passionnants !**



→



## Témoignage d'Antoine Sépulchre

Business Development manager, Handicap International Belgique

*“ Les ONGs sont avant tout à la recherche de professionnels qui peuvent mettre à contribution leur expertise au service de projets humanitaires. Un projet humanitaire sera une réelle réussite seulement s'il est porté au niveau le plus haut de l'entreprise, à savoir la direction.*

*Le secteur privé et celui des ONGs étant encore trop souvent sillonnés, il est essentiel de bien aligner les attentes de part et d'autre avant de débiter un projet. La réussite dépendra avant tout d'une bonne communication entre les partenaires. Pour que cela fonctionne, il faut trouver le bon angle et s'assurer qu'il y ait une cohérence entre le métier de l'entreprise, l'ONG, le métier de l'employé et le contenu du travail humanitaire. Cette cohérence entre la mission, les aspirations/le savoir-faire de l'employé et l'apport de l'entreprise crée du sens pour chacun et permet de rompre avec la logique des silos ; cela permet de se retrouver ensemble sur un même objectif en créant du sens et de la valeur pour chacun des partenaires. ”*

## Les messages clés à retenir sur l'humanitaire en entreprise

- 1. C'est un vecteur important de motivation au sein du personnel.**
- 2. Un bénéfice en matière d'attractivité dans le recrutement auprès des nouvelles générations qui sont de plus en plus en quête de sens dans leur travail. Travailler pour une entreprise qui soutient activement une cause sociale est devenu un réel avantage concurrentiel de nos jours, et peut renforcer le sentiment de fierté et d'appartenance à l'entreprise.**
- 3. La reconnaissance et la notoriété d'un employeur moderne et une image positive auprès du grand public.**
- 4. De nombreuses opportunités de partenariats à développer dans le cadre d'un "WIN-WIN-WIN" entre l'ONG, le privé et l'employé : des petits aux grands projets.**



**Témoignage d'Audrey Delbarre,**  
Responsable Communication interne, GSK Vaccins Belgique

*“ C'est tout d'abord une expérience humaine riche en relations et en rencontres. Le fait d'être sur le terrain et loin du monde digital m'a rappelé les bases fondamentales : nous interagissons et donc nous devons construire nos relations. Echanger et créer un climat de confiance sont importants en Afrique. Il faut d'abord prendre le temps d'échanger, d'écouter et de construire ses relations. Une fois cette confiance installée, on peut bâtir des projets. Cette expérience m'a permis surtout d'appuyer sur le bouton "pause" dans notre rythme effréné de travail et de réaliser sur le terrain à quel point les populations ont réellement besoin d'aide. (...)*

*De retour au travail aujourd'hui, cette expérience m'a donné envie de pousser mon entourage à mettre de l'énergie sur l'essentiel pour mieux avancer et ne pas se précipiter pour faire deux pas en arrière ensuite. ”*



# Des raisons fondamentales pour participer aux journées A3P Technologie Barrière à Pau.

Par Didier MEYER - A3P ASSOCIATION  
dgastonmeyer@gmail.com

En langage plus explicite Technologies Barrières ça signifie Isolateurs, et des acronymes tels que RABS, RTP, VPHP pour des applications à la fois en productions stériles d'une part, en protection des personnels et de l'environnement d'autre part et de plus en plus fréquemment des deux ajoutées. En 2017 déjà au Palais Beaumont à Pau, l'ensemble de ces problématiques avaient été abordées devant une audience de plus de 100 personnes soutenue par des dizaines d'exposants.



En deux ans les technologies ont évolué au gré des innovations et des exigences réglementaires. A3P a de son côté développé ses Groupes d'Intérêt Commun (GIC) dont un est dédié aux Technologies Barrières.

Nous vous proposons pour l'édition 2019 l'enrichissement de vos connaissances théoriques, pratiques et réglementaires.

**Pour la partie réglementaire**, c'est l'Europe qui est à l'honneur puisque la révision de l'Annexe 1 devrait mettre en avant entre autres une forte recommandation des Technologies Barrières pour les procédés aseptiques. Le "Guideline on Good Manufacturing Practices specific to Advanced Therapy Medicinal Products" dédié aux Médicaments de Thérapies Innovantes (MTI) telles les thérapies cellulaires sera explicitée par un producteur de ces nouveaux médicaments. L'Annexe 17 pour sa part devrait permettre une libération paramétrique là où l'essai de stérilité ne peut pas s'appliquer.

**La partie théorique** sur la bio-décontamination à l'eau oxygénée sera détaillée pour répondre à des incertitudes qui se sont exprimées récemment sur son efficacité et sa robustesse. Un domaine où les applications se multiplient,

le mode de fabrication en continu sur plusieurs semaines dit "mode campagne" sera mis en avant quant à la nécessité impérieuse du maintien de la qualité initiale et les risques pendant ces temps longs de répartitions.

En complément, nos partenaires **Bioquell**, **Getinge**, **JCE Biotechnology** et **Merck** vont répondre à l'attente pratique des participants durant 5 sessions partenaires où sera abordée la routine de l'utilisation dans l'esprit de la satisfaction réglementaire :

- Les limites et la validation de la bio-décontamination par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Les transferts protégés
- Les étanchéités et la protection de l'environnement et du personnel
- Les contrôles microbiologiques
- Les performances des nettoyages et des bio-décontaminations

**Vous trouverez sur [www.a3p.org](http://www.a3p.org) toutes les informations nécessaires : programme complet, présentation des sessions partenaires, exposition, infos pratiques, ... Venez avec vos interrogations pour repartir avec des solutions. Donc à très bientôt à Pau !**

Actualités

## A3P Technologie Barrière

19 & 20 mars 2019

Pau

### 11 Conférences



Technologie Barrière : point réglementaire et nouvelles exigences de l'Annexe 1

Marc BESSON  
GIC A3P

Julien TRIQUET  
GSK

Reconnaissance du VHP comme agent stérilisant pour la décontamination des surfaces des isolateurs

Serge LA SPINA  
GSK

Gants première source de contamination... Maîtrise du risque gants/détection des trous (détails, approche pratique, retour d'expérience)

GIC Technologie Barrière  
(groupe gants)

Annexe 17 pour les MTI : un outil pour la qualité au service du patient

Laurent LAGANIER  
Hopital NECKER

Obligations hospitalières lors de la préparation aseptique à la carte en isolateurs

Pascal HILD  
Centre hospitalier Roanne

Remplissage aseptique en isolateur. Présentation des bienfaits du mode campagne ? Retour d'expérience du site ASPEN Notre-Dame-de-Bondeville

Aurélié DOWNES  
ASPEN

Travail en campagne sous isolateurs : "pistes de réflexion pour passer à l'action"

Etienne HEMBERT  
Eric VALENTI  
GIC A3P Technologie Barrière

Contraintes et mode de production de produits biotechnologiques en isolateur

Ana ALVES  
SANOFI

Challenges et retour d'expérience sur l'utilisation du multi-formats en mode campagne

Florelle TOURLET  
OCTAPHARMA

The use of enhanced GMP manufacturing techniques boosts the success of Large Scale production of EMA-approved Cartilage Substitute

Andreas EBERLE  
CO.DON AG  
Marco FADDA  
COMECER

Next Generation Isolator technology to optimize vaccine production

Andrew CHIAPPETTA  
SANOFI TORONTO  
Bruno AZE  
STERIS

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

## 5 Sessions Partenaires

### GETINGE ✱

#### LE BON CHOIX DU SYSTÈME DE TRANSFERT : RÉUTILISABLE ET SINGLE-USE

Le choix d'un système de transfert se fera en fonction du processus de production défini par le client. Le système de transfert (=La porte de transfert, incluant une partie Alpha et une partie Beta interconnectables) permettra d'optimiser le temps et le processus de production et d'effectuer des transferts de produits, d'outils ou de composants en continu, sans rompre la stérilité ou le confinement. Il permettra également de diminuer le risque de contamination ou de contamination croisée, spécialement dans le cas d'utilisation de produits single-use. Cet atelier vous permettra de connaître les avantages et inconvénients des 2 solutions de transfert disponibles : réutilisables (et re-stérilisables) et single-use.

#### LA GESTION DE DÉCHETS D'UN TEST DE STÉRILITÉ SOUS ISOLATEUR

Pour assurer le test de stérilité des produits finis, il est très souvent nécessaire d'employer des composants single use déjà stériles (canister etc.) garantissant un très haut niveau de SAL. Le test de stérilité génère un grand volume de déchets solide et liquide (filtrats). Ces déchets sont parfois stériles, toxiques ou cytotoxiques et il faut les sortir de l'isolateur, de préférence pendant le processus de test de stérilité afin de libérer de la place, améliorer la productivité, éviter les erreurs, ou encore éviter les débris avec risques associés, tout en conservant la garantie de la stérilité du volume de travail. Getinge propose différentes solutions, grâce au système DPTE®, single-use ou réutilisables, pour éviter tout risque de corruption des résultats. Ces solutions sont éprouvées et validées par l'industrie pharmaceutique.

#### LES BONNES PRATIQUES D'UTILISATION DES SYSTÈMES DE TRANSFERT

Il est recommandé d'utiliser des systèmes de transfert qui ont été validés ensemble (partie Alpha et partie Beta interconnectables) pour éviter tout risque pour le produit et l'opérateur. Le système de transfert nécessite une attention particulière dans son utilisation. Il est garant du maintien de l'état confiné du système. Notamment dans le cas de stérilité, il faudra prendre les précautions adéquates pour éviter le transfert de contamination microbiologique. Dans le cadre d'une politique de maintenance maîtrisée et au vu des réglementations en vigueur, Getinge propose des outils modernes et connectés de test d'intégrité permettent de tracer la durée de vie et de garantir la fiabilité des équipements dans le temps



#### PRESENTATION DES SYSTEMES DE TRANSFERT RAPIDE (RTP)

Présentation des différents systèmes de transfert sécurisé et de leurs accessoires - Utilisation et manipulation des portes en condition réelle - Présentation d'un système de porte automatique - Présentation d'un système d'évacuation des déchets et des liquides

#### QUALIFICATION DES SYSTEMES DE TRANSFERT

Validation et qualification microbiologique entre deux systèmes RTP (alpha et Beta) compatibles - Maintien de la stérilité sur accessoires de transfert.



Présentation bientôt disponible sur [www.a3p.org](http://www.a3p.org)



Présentation bientôt disponible sur [www.a3p.org](http://www.a3p.org)

## 1 Exposition

AZBIL TELSTAR FRANCE / COMECER / CONTEC / DECON-O-LOGIC / JCE BIOTECHNOLOGY / OPTIMA PHARMA / BIOQUELL / GETINGE / ILC DOVER / MERCK / SIDJI / SKAN / SOLIDFOG TECHNOLOGIES / ...

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

Détails des sessions, calendrier et inscription sur [www.a3p.org/formation](http://www.a3p.org/formation)



5 domaines spécifiques au "Propre et Stérile"

### BONNES PRATIQUES de FABRICATION

- Comprendre et mettre en place les exigences de la nouvelle Annexe 1 des GMP Européennes  
// BPF10
- BPF des produits biologiques et des médicaments de thérapie innovante  
// BPF11
- Procédés Aseptiques - Qualification de Performances Simulation / Media Fill Test (APS / MFT)  
// BPF12
- Procédés aseptiques et analyse de risque. Outils de gestion de la qualité  
// BPF13
- Quelles sont les nouveaux changements réglementaires et les impacts que la Personne Qualifiée (QP) doit savoir avant de certifier un lot ?  
// BPF14

### MAÎTRISE de la CONTAMINATION

- Validation des procédés de nettoyage des équipements de production en industrie pharmaceutique  
// MC02
- Elaboration d'un programme de bio-nettoyage en salles propres en environnement BPF  
// MC07
- Analyse du risque sur les étapes critiques de procédés stériles, aseptiques ou à contamination contrôlée  
// MC09
- Analyse du risque particulière dans les produits stériles et injectables  
// MC10
- Stérilisation par la chaleur : principes, validation et production fondamentaux et aspects pratiques  
// MC11
- Autoclave et stérilisation à chaleur humide  
// MC12
- La norme ISO 14644-1 2015 : comment l'appliquer ?  
// MC13
- La nouvelle version de la norme ISO 14644-2 : Quels changements ?  
// MC14
- Inspection visuelle et bonnes pratiques de gestion des gants / manchettes en isolateur  
// MC15

### PROCESS

- Lyophilisation 1 : bonnes pratiques et bases de la lyophilisation  
// PROC01
- Lyophilisation 2 : développement et perfectionnement des connaissances  
// PROC02
- Lyophilisation 3 : expertise et maîtrise des procédés et de la qualité  
// PROC03
- Validation des procédés pharmaceutiques et transfert de technologie - Illustration par les procédés de fabrication des produits injectables  
// PROC11
- Métrologie appliquée aux balances et aux enceintes climatiques  
// PROC18
- Isolateur : conception, qualification, utilisation et travail en mode campagne  
// PROC19

### QUALIFICATION

- Qualification d'une boucle d'eau purifiée : des règles de l'art de la conception à la qualité microbiologique  
// QUAL01
- Le "Rouging" dans le contexte des boucles d'eau à usage pharmaceutique (EUP) chaudes, des distributions de la vapeur pure et de la stratégie de gestion  
// QUAL03

### SYSTEMES INFORMATISES

- Cloud computing et réglementation pharmaceutique  
// SI01
- Validation des systèmes informatisés : des bases à l'optimisation  
// SI03
- Evaluation et maîtrise des risques de Data integrity  
// SI05



A3P FORMATION  
30, rue Pré Gaudry - 69007 Lyon - [www.a3p.org](http://www.a3p.org)  
a3pformation@a3pservices.com - +33 (0)4 37 28 30 49  
SARL au capital de 10 000 Euros - Siret 451 934 541 00025 -  
N° Déclaration : 82 69 13448 69 Préf. région Auvergne-Rhône-Alpes



18 Experts reconnus



25 Sessions différentes toute l'année



Certification DataDock



1 Session pratique & qualifiante voir MC15



1 Espace de formation dédié, lumineux & accessible

# Congrès International A3P 2018 : restitution des messages clés de la table ronde sur la révision de l'Annexe 1.

Par Marc Besson, Sophie Amadio, Julien Triquet & Eric Hurtubise - GIC A3P Annexe 1  
marcbesson@aol.com

Lors du 30<sup>ème</sup> Congrès International A3P à Biarritz (13-15 novembre 2018), une table ronde a été organisée sur le thème de l'Annexe 1 (Manufacture of Sterile Medicinal Products).

Cette table ronde, animée par des membres du GIC A3P Annexe 1, était l'occasion d'échanger avec les participants sur un certain nombre de sujets ayant suscité un intérêt particulier des industriels pendant la phase de consultation publique (20 décembre 2017- 20 mars 2018) après publication du draft par l'EMA le 20 décembre 2017. L'intérêt pour cette table ronde était aussi grandement motivé par la présence d'Andrew Hopkins, senior inspecteur MHRA et leader du groupe de travail EMA/PICS/WHO (IWG) en charge de la révision de l'Annexe 1.



(20 décembre 2017- 20 mars 2018) après publication du draft par l'EMA le 20 décembre 2017. L'intérêt pour cette table ronde était aussi grandement motivé par la présence d'Andrew Hopkins, senior inspecteur MHRA et leader du groupe de travail EMA/PICS/WHO (IWG) en charge de la révision de l'Annexe 1.

**Afin d'initier les discussions, les membres du GIC A3P Annexe 1 (Sophie Amadio /Lilly, Julien Triquet/GSK, Eric Hurtubise/Laboratoires Théa et Marc Besson/MB-GMP Compliance et leader du GIC A3P Annexe 1) ont préparé une série de questions autour de 5 thèmes représentatifs des préoccupations partagées par les industriels pendant la phase de consultation publique.**

## 1. Etat d'avancement du processus de révision de l'Annexe 1

Préalablement aux échanges, Andrew Hopkins a donné des informations sur l'avancement du processus de révision et les prochaines étapes devant conduire à la publication de la nouvelle version de l'Annexe 1.

6 213 lignes de commentaires reçues de 140 entités différentes (A3P, PDA, PHSS, ISPE, LEEM, ...) ont été revues individuellement par M. Hopkins et ont donné lieu à une série de commentaires et propositions d'actions pour l'IWG. Le draft de l'Annexe 1 a été révisé en tenant compte des commentaires les plus pertinents et renvoyé à l'IWG le 19 octobre 2018, puis retourné à Andrew Hopkins le 25 novembre pour transmission à l'EMA le 5 décembre. L'objectif de l'EMA, malgré les impacts organisationnels liés au Brexit, était de publier la version finale de l'Annexe 1 fin 2018.

....→

## 2. Thèmes et questions abordés lors de la table ronde

### a/ Contamination Control Strategy (CCS)

La "stratégie globale du contrôle des contaminations (particulaire, microbiologique, pyrogène)" est un concept fondamental largement développé dans la révision de l'Annexe 1. Le GIC A3P Annexe 1 a souhaité apporter des clarifications sur la mise en œuvre de ce concept sur les sites industriels et les attentes des inspecteurs sur la consolidation des informations dans un document de synthèse.

#### Question GIC A3P Annexe 1

"CCS is mentioned 16 times in the update and clearly appears as a new key requirement. The new Annex 1 provides a detailed list of elements expected to be covered within a CCS. Most sites will already have many of the elements of a CCS as described by the Annex 1 but they may not be collated through a single source as appears to be the intent of this requirement.

- What would inspectors expect as a minimum acceptable standard document to meet the Annex 1 requirements regarding the CCS?"

#### Réponse d'Andrew Hopkins

Les industriels ont déjà formalisé de nombreux documents répondant aux différents éléments constituant une CCS, mais beaucoup n'ont pas encore consolidé ces éléments selon une approche globale et "holistique". Le concept de la CCS est d'amener les industriels à réfléchir sur la pertinence de leurs actions telles que la localisation des boîtes exposées pour le contrôle de l'environnement, le scénario de leurs Media Fill Tests, la conception des locaux et de leurs procédés... un peu comme la relation entre les résultats des essais cliniques et la détermination des spécifications produits. Le développement d'une CCS doit conduire les industriels à avoir une connaissance détaillée de tous les éléments (locaux, procédés, équipements, composants, pratiques ...) pouvant induire des risques microbiologiques et particuliers sur l'environnement et les produits, et démontrer comment ces risques sont éliminés ou maîtrisés et quels sont les moyens de contrôle des conséquences de ces risques. Il n'est pas nécessaire d'avoir un document unique regroupant l'ensemble de ces mesures et justifications si elles sont déjà documentées de façon individuelle, mais il devrait exister un document de synthèse permettant de démontrer que chaque site a une connaissance approfondie des process et des risques. Ce document de synthèse permettrait de faire le lien entre les différentes actions et moyens de mesures en place par l'industriel.

Il faut rappeler que le concept de CCS n'est pas nouveau car il apparaît déjà depuis de nombreuses années dans le chapitre 5 des BPF, mais un focus avait alors peut-être été réalisé sur la notion de contamination chimique, omettant ainsi de s'intéresser à la notion de contamination microbiologique pourtant déjà abordée dans ce chapitre.

### b/ Quality Risk Management (QRM)

Le concept de QRM est aussi largement développé dans le draft de l'Annexe 1 mais pourrait entraîner certaines interprétations de la part des industriels et des inspecteurs quant à l'application et l'étendue de ce concept. Le GIC A3P Annexe 1 a souhaité aborder des exemples concrets pour lesquels les principes des QRM pourraient être appliqués.

#### Question GIC Annexe 1

The draft of Annex 1 appears to be very detailed and prescriptive for some expectations but at the same time largely promotes the use of QRM principles. In addition, some sites could face limitations by design to implement some of the Annex 1 requirements.

- Could we have some examples where Annex 1 requirements are mandatory and some examples where alternative approaches supported by sound and scientific rationale may be acceptable?
- Would EMA encourage sites to pro-actively discuss alternative approaches with regulators before submission/implementation?

#### Réponse d'Andrew Hopkins

Si l'on comprenait vraiment le concept des QRM (industriels et inspecteurs), l'Annexe 1 pourrait être résumée comme suit :

"Design the processes, procedures and facilities not to contaminate the product. Design the monitoring system to detect any deleterious trend and or failure. Keep reviewing and developing as new information about your processes, procedures and designs comes to light. Keep developing as you become

....→



aware of new technological advances".

Mais il doit être rappelé que l'Annexe 1 est écrite pour différents types de produits, de fabricants, pour beaucoup de pays dans le monde avec des compréhensions diverses des GMP et par conséquent le document doit être suffisamment prescriptif.

Un exemple pour lequel il ne devrait pas y avoir de flexibilité : si vous trouvez plus d'une CFU dans votre environnement grade A, il y a problème quelles que soient vos justifications scientifiques ! J'ai lu des commentaires pendant la consultation publique qui suggéraient que si les micro-organismes identifiés n'étaient pas pathogènes, ce n'était pas un problème ! Certaines exigences doivent rester obligatoires !

Les inspecteurs ont aussi beaucoup d'expériences et les GMP ont été écrites sur la base de mauvaises pratiques et de leurs conséquences. Lorsque des limites obligatoires sont précisées, elles s'appuient sur des historiques de problèmes avérés.

Un autre exemple : dans le draft il est écrit que les zones propres doivent être qualifiées tous les 6 mois mais en fait, ce que nous voulions exiger, est que l'intégrité des filtres HEPA des zones propres soit vérifiée tous les 6 mois. Ceci sera rectifié dans la version révisée. Devrait-il y avoir une discussion autour de cette fréquence ? Probablement non. Une fréquence de 6 mois est déjà relativement confortable. La raison pour laquelle je dis cela est un exemple récent d'un site qui en décembre dernier (2017) a contacté le MHRA pour signaler que 3 filtres HEPA sur 4 de sa classe A étaient non intègres. Une évaluation du risque a été conduite avec

l'industriel et la conclusion était que tous les produits étaient critiques, qu'aucun lot ne pouvait être rappelé sans rupture de stock, et que la production ne pouvait s'arrêter ! Nous étions donc dans une situation où l'industriel et l'agence ont dû libérer des produits à risque. On ne pouvait pas s'appuyer sur les résultats des contrôles d'environnement, et nous avions 6 mois de production avec des lots à risque. Une fois le problème réglé, de nouveaux lots ont été produits afin de substituer au fur et à mesure les lots à risque sur le marché. En juin cette année, l'industriel nous a fait part de nouveaux problèmes d'intégrité des filtres HEPA de leurs zones propres avec 11% des filtres en grade A défectueux, 27 % en grade B et environ 50 % en grade C. En conclusion, vouloir étendre la fréquence de tests des filtres HEPA à 12 mois semble irresponsable, tout du moins pour les zones les plus critiques.

Les inspecteurs ont bien d'autres exemples de mauvaises expériences et cela explique des exigences parfois contraignantes.

Le point fondamental avec les QRM est de démontrer une connaissance approfondie de tous les éléments du process, et ceci au niveau même de l'atelier impliquant les opérateurs. Si vous envisagez des changements non classiques, innovants, il est important de rencontrer très rapidement vos interlocuteurs au sein des agences. N'attendez pas la soumission du dossier, ni la première inspection. Beaucoup d'agences (MHRA, EMA, FDA, ...) ont des services spécifiques en charge de la revue des changements et innovations et on doit avoir cette discussion scientifique bien avant la mise en place du projet industriel. Le dialogue doit changer entre industriels et agences car certains industriels sont encore "frileux" à l'idée d'évoquer innovations ou projets avec les agences. Si l'on veut mieux promouvoir l'application des QRM, l'objectif est aussi d'"éduquer" les inspecteurs sur les évolutions technologiques car s'ils ne les connaissent pas, ils peuvent être plus conservateurs.

### c/ Zones propres conventionnelles vs Technologies Barrières

L'utilisation des technologies barrières permettant d'éloigner l'opérateur de la zone critique et du produit et donc de renforcer significativement le niveau d'assurance de stérilité du process devient une exigence de plus en plus évidente. Le GIC A3P Annexe 1 a souhaité clarifier quels pouvaient être les impacts GMP/réglementaires pour les nombreux sites utilisant encore des zones propres conventionnelles.

#### Question GIC A3P Annexe 1

The development of Barrier Technologies (RABS and Isolators) is largely promoted to enhance sterility assurance for aseptic processes but there are still a number of sites operating with conventional clean rooms.

- Would inspectors expect dedicated/enhanced risk assessments and procedures to maintain confidence with the level of Sterility Assurance provided by such facilities?
- In the future would EMA continue to accept submission dossiers supporting the use of conventional clean rooms for aseptic processes?

#### Réponse d'Andrew Hopkins

Tout d'abord l'exigence pour les industriels de toujours rechercher la mise à niveau de leurs installations par rapport aux nouvelles technologies n'est pas nouvelle puisqu'elle apparait dans le chapitre 1 des BPF depuis 2013 ou peut-être même avant.

L'utilisation des isolateurs serait-elle la seule réponse ? Certainement non ! Car de nombreux procédés ne sont pas compatibles avec l'utilisation d'isolateurs, par exemple lorsque vous avez des procédés de formulation très manuels ou des tailles de lots très petites, voire une unité ...

Le principe clé est d'éloigner l'opérateur de la zone critique et du produit que ce soit par l'utilisation de flux d'air adaptés, de RABS, d'isolateurs, de système

....→

clos ... Pour nous inspecteurs, imposer l'utilisation spécifique d'isolateurs ou de RABS serait une erreur car nous devons aussi permettre l'émergence d'innovations tout en gardant en tête le principe clé.

Lors de la consultation publique, nous avons eu une question concernant une installation de conception ancienne qui procurait néanmoins de bons résultats environnementaux ; pouvons-nous nous maintenir cette installation ? La réponse est certainement non, car l'industriel doit évoluer vers des technologies plus modernes. Ce type d'installation ancienne est évidemment à risque. L'utilisation des QRM doit d'abord conduire à une bonne qualité de conception des locaux, des procédés, des procédures et ensuite, concevoir un programme de contrôle environnemental adapté. N'utilisez pas le contrôle environnemental pour justifier des mauvaises conceptions ou pratiques inadaptées.

Concernant la soumission de dossiers avec des zones propres conventionnelles, tout d'abord il faut préciser que la conception des installations n'est pas un point revu lors de l'évaluation du dossier par le "reviewer" mais plutôt une question relative aux GMP. Ainsi, même si votre dossier est accepté, vous pouvez avoir un refus de certificat GMP pendant l'inspection. Je pense qu'il sera de plus en plus difficile d'accepter des installations de conception ancienne, tout simplement parce que l'industriel ne répondra pas à l'exigence de mise à niveau des installations par rapport aux nouvelles technologies. Pouvons-nous tout changer immédiatement ? Certainement non, car il y a encore de nombreuses installations de ce type dans le monde.

#### Question complémentaire sur les principes d'harmonisation entre agences (reviewers et inspecteurs)

- Comment se traduit à ce jour la volonté d'harmonisation entre les agences notamment lorsque nous soumettons un dossier avec plusieurs reviewers/rapporteurs qui peuvent ne pas être d'accord entre eux ?

#### Réponse Andrew Hopkins

Au fur et à mesure de l'avancement du draft, le PICS s'engage à former les différents inspecteurs de façon à limiter les interprétations. Mais cette formation (éducation) se fait aussi à travers des instances comme A3P, PHSS, PDA qui ont un rôle important pour échanger hors contexte réglementaire sur des thématiques controversées ou des innovations.

#### d/ Test d'intégrité du filtre produit stérilisé avant utilisation (PUPSIT)

Le PUPSIT (Pre Use Post Sterilisation Integrity Test) a fait l'objet de nombreux commentaires lors de la consultation publique et reste un sujet controversé au sein des industriels par rapport aux exigences de l'Annexe 1. Le GIC Annexe 1 a souhaité faire clarifier la position de l'IWG et notamment savoir si une approche QRM est possible dans des cas spécifiques pouvant induire un risque produit.

#### Question GIC A3P Annexe 1

The new Annex 1 still considers that PUPSIT must be implemented but for some existing installations manipulations downstream the filter may be at risk for the product.

- Would inspectors consider that PUPSIT is mandatory for all lines and therefore line modifications/upgrades must be carried out or would inspectors consider as acceptable if a documented risk analysis is provided?
- If a RA is acceptable which risk-related elements should be covered in the RA?

#### Réponse d'Andrew Hopkins

Le PUPSIT a effectivement fait l'objet de nombreux commentaires mais cette exigence existe déjà dans la version actuelle (2008) et donc la première question est pourquoi les industriels ne l'ont pas déjà mis en place !

De mon point de vue personnel (ne reflète pas le point de vue de l'EMA) je pense qu'il doit y avoir des opportunités de discussion. Nous savons tous que les filtres peuvent être endommagés ou colmatés : cela répond à des lois physiques. Une analyse de risques acceptable pourrait être basée sur des considérations intégrant des contrôles appropriés du fournisseur de filtre (pas uniquement les contrôles "standards"), du transport, de la stérilisation, si notamment elle est sous traitée, associés à une bonne connaissance des caractéristiques du produit et du procédé de filtration. Par exemple, si nous avons un process avec de multiples filtres clarifiants avant le filtre produit, il y a peu de chance que la solution à filtrer comporte des particules et donc une probabilité faible de colmater le filtre.

Autre exemple, la nature et les caractéristiques de la solution à filtrer sont des éléments de décision importants. Notamment si nous filtrons de l'EPPI, combien de litres devons-nous filtrer avant de colmater le filtre stérilisant ? Certainement plus que la capacité de production de votre unité de production. Ces exemples sont des bons points de départ et il y a des ouvertures possibles pour la discussion, mais vous devez démontrer votre connaissance parfaite de votre procédé et de votre produit. J'ai proposé cette approche d'Analyse de Risques (AR) à l'IWG mais certains la refusent encore quand d'autres ne veulent plus entendre parler du PUPSIT ! À ce jour, nous ne savons pas ce que sera la position finale dans la nouvelle version de l'Annexe 1.

Par contre, ce que nous ne voulons pas, c'est l'utilisation de l'AR pour justifier que l'on ne veut pas mettre en place le PUPSIT. Si vous engagez cette AR, vous ne devez pas connaître la conclusion avant de débiter l'analyse.

....→

### Question des participants

- Pouvez-vous commenter l'initiative de la PDA sur des essais de colmatage en fonction de la nature des solutions et de facteurs spécifiques de filtration ?

### Réponse d'Andrew Hopkins

En effet, la PDA a initié un certain nombre d'études concernant le PUPSIT ("PDA/BPOG Memorandum of Understanding, Filter manufacturers joint statement, Filter blocking trial initiative") et notamment un plan d'expérience consistant à simuler des tests avec plusieurs types de solutions afin de collecter des informations scientifiques sur les paramètres de colmatage des filtres (quand, quelle biocharge nécessaire, quel niveau de perte d'intégrité peut être masqué par un colmatage ...). Le protocole a été revu par l'IWG. Voici vraiment un bon exemple sur la façon d'introduire le QRM et une collaboration entre agences et industrie.

### e/ Robustesse de la décontamination des surfaces par le Peroxyde d'Hydrogène vaporisé (VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

La publication, le 20 avril 2018 sur le site du MHRA, d'un blog mettant en cause la robustesse du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilisé pour la décontamination des surfaces indirectes critiques (VHP (Vapour Hydrogen Peroxide) Fragility) a suscité de nombreux commentaires au sein de l'industrie et des craintes sur le maintien de ce type de décontamination pour les installations d'isolateurs existantes. Cette position spécifique du MHRA ne reflète cependant pas la vision de l'IWG et ne sera pas reprise dans l'Annexe 1. Le GIC A3P Annexe 1 a souhaité relancer les discussions notamment pour clarifier les éventuels impacts pour les isolateurs en opération pour lesquels un démontage/stérilisation à la vapeur/remontage des bols bouchons, convoyeurs, rampes, ... peuvent s'avérer à risque voire impossible de par la conception des équipements.

### Question GIC A3P Annexe 1

MHRA has recently challenged the efficacy of Vaporized Hydrogen Peroxide for the decontamination of Indirect product contact parts (Stopper bowls, hoppers, conveyers..) and suggests that such parts be sterilized in autoclaves and then be aseptically set up once the isolator is decontaminated. Many existing isolators are not designed to allow easy dismantling of indirect product contact parts and these manipulations may generate new risks (ie loss of glove integrity due to additional manipulations...)

- Will the revised Annex 1 include clarification on requirements for the use of decontaminating/sterilizing agents such as VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>?
- Would inspectors accept a risk based approach for existing isolator lines to demonstrate that all measures are in place to ensure VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> robustness?
- Is this position on VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> applicable to conventional clean rooms where stopper bowls, hoppers and conveyors are decontaminated in place?

### Réponse Andrew Hopkins

J'ai écrit ce blog sur le site du MHRA car j'ai observé beaucoup de problèmes sur la façon d'utiliser le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par certains industriels et leur méconnaissance de la "fragilité" de cet agent de décontamination. Si le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est utilisé dans des conditions maîtrisées de température, humidité, durée, on peut atteindre une efficacité de 6 log de réduction mais il y a aussi beaucoup de contraintes liées à tous ces paramètres physiques et notamment la notion d'efficacité de pénétration. Et ce que nous voyons lors des inspections, c'est que les industriels ne comprennent pas ces contraintes.

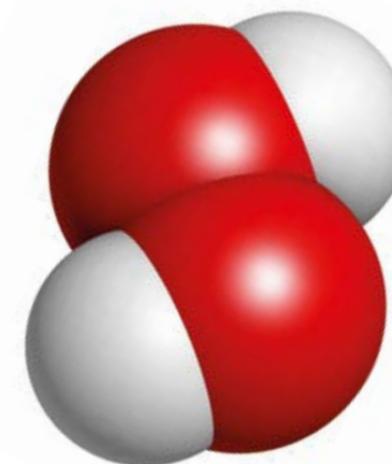
Par exemple, j'ai inspecté un site où ils avaient un très bon procédé RABS décontaminé au VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et pour lequel ils utilisaient un flexible (utilisé pour inérer des poches de stockage) de 2 mètres de long. Selon l'industriel, ce flexible était "stérilisé" par le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uniquement par contact passif. En aucun cas le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ne peut diffuser "passivement" à travers un filtre et tout au long d'un flexible d'une telle longueur !

Un autre exemple avec un bol bouchons pour lequel la procédure de nettoyage consistait uniquement en un simple rinçage à l'EPPI sans aucune considération de l'élimination des éventuels résidus qui peuvent diminuer l'efficacité du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La manipulation de ce bol bouchon en grade D avec un risque de contact des surfaces avec la peau et donc le risque de laisser des traces d'acides gras sur ces surfaces, peut entraîner des occlusions de microorganismes et donc empêcher le contact avec le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Enfin, la position très questionnable d'Indicateurs Biologiques (BIs) localisés à l'extérieur de guides de bouchons (et non à l'intérieur du rail) ... de même le concept du nombre de BIs par position (3) sur la base d'une approche "statistique" qui permettrait d'accepter un cycle de décontamination avec un BI positif / 2 bis négatifs reste très controversé lui aussi ...

Et dans tous ces cas, on parle de "stérilisation" de parties critiques en contact avec les composants primaires en contact avec le produit ! La connaissance et la compréhension des mécanismes d'action du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de ses limites sont nettement insuffisantes par les industriels.

Pour les installations actuelles, faire une AR pour justifier le maintien de mauvaises pratiques : NON ! Car nous ne voulons pas que ce type d'AR soit rapporté par l'industrie et justifie la poursuite de ces pratiques. Par contre, si un industriel a un procédé robuste avec une procédure de nettoyage renforcée



(pas un simple rinçage), des pratiques de manipulations limitant la biocharge .... Il doit contacter son agence pour étudier au cas par cas le procédé et le compléter le cas échéant avant la prochaine inspection.

Il n'y aura pas de position spécifique sur la décontamination au VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans l'Annexe 1 mais le concept est déjà précisé celui de la démonstration que chaque partie critique doit être en contact avec l'agent stérilisant.

### Réaction du public

Nous travaillons depuis les années 1990 sur les isolateurs et nous connaissons la fragilité du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que nous avons d'ailleurs déjà maintes fois évoquée avec le MHRA (ex MCA) ! 25 ans après, nous continuons à débattre sur le même sujet. Nous avons aussi connu des problèmes avec la stérilisation à la vapeur et nous avons mis plusieurs décades à mettre cette stérilisation sous contrôle par la maîtrise de la qualité de la vapeur, la notion de vide, la conception des charges .... Donc merci de laisser du temps aux industriels pour maîtriser le procédé VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Si nous appliquons les approches QRM de l'Annexe 1 pour ce procédé, les bénéfices sont largement supérieurs aux risques lorsque l'on produit des millions d'unités par procédé aseptique. Il faut noter aussi que votre "voix" fait écho au niveau réglementaire et que certains inspecteurs FDA appliquent déjà vos commentaires pendant les inspections. La façon dont vous exprimez votre opinion sur ce sujet peut créer quelques problèmes au sein de l'industrie pharmaceutique et il serait utile que vous ayez un discours plus "positif" pour que l'industrie soit motivée dans sa recherche de l'amélioration de cette technologie.

### Réponse d'Andrew Hopkins

Il est vrai que nous avons eu beaucoup de décès à cause d'une mauvaise maîtrise de la stérilisation à la vapeur et notamment au Royaume Uni. Je ne veux pas avoir la même situation avec le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et si j'ai écrit ce blog, c'est aussi pour avoir ce genre de discussions et ne pas continuer à voir des flexibles de plusieurs mètres de long "stérilisés" au VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Des associations telles que PHSS, A3P rédigent des guides permettant de mieux comprendre ces procédés. Il faut aussi associer les fournisseurs pour que la discussion soit tripartite (Agence, industriels et fournisseurs). Concernant mon approche, si je n'avais pas communiqué de la sorte, nous n'aurions pas ce débat et j'ai reçu un certain nombre de commentaires arrogants mais les problèmes liés au VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sont mondiaux et pas limités uniquement à une région en particulier.

### Complément de discussion par J. Drinkwater/ PHSS

Les éléments limitant l'efficacité du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tels qu'ils ont été évoqués sont validés par le PHSS. Nous avons rédigé une recommandation pour l'utilisation du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que nous avons partagée avec A3P et il apparaît que jusqu'à présent, nous étions trop focalisés sur l'inactivation des BIs pour évaluer la performance du cycle de stérilisation VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (atteignant jusqu'à 12 log de réduction) sans nous soucier de l'état des surfaces à stériliser. Il faut donc considérer l'ensemble des facteurs physiques ayant un impact sur la robustesse du VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et pas uniquement l'inactivation de BIs.

### Note Post table ronde concernant le VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

En réponse aux questions soulevées par le blog d' Andrew Hopkins publié sur le site MHRA, le PHSS a publié en décembre 2018 une note for Guidance N°1 intitulée : Assurance of Sterility for container closure in-direct product contact surfaces in Aseptic process filling. Role of vaporised hydrogen peroxide bio-decontamination in a contamination control strategy combining Sterilization + Bio-burden control + VHP/ VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ensuring sterility of indirect product contacting surfaces"

Cette publication reprend les risques identifiés par Andrew Hopkins, clarifie les limites du procédé et suggère un plan d'actions pour renforcer la robustesse du procédé VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en s'appuyant notamment sur un renforcement :

- du nettoyage des parties d'équipements en contact avec les composants primaires,
- des pratiques d'habillage lors des interventions de démontage/montage de ces équipements,
- des moyens de maîtrise et limitations de biocharge sur les équipements concernés.

# Impact of Annex 1 revision on new vial filling line at Sanofi Pasteur Marcy-l'Étoile.

By Sebastien TRICHOT - SANOFI PASTEUR & James L. DRINKWATER - F Ziel GmbH  
sebastien.trichot@sanofi.com - jamesdrinkwater@phss.co.uk

La publication suggère une stérilisation des équipements à la vapeur propre hors ligne, leur protection en saches Tyvek® jusqu'à leur remontage dans les isolateurs dont le flux d'air unidirectionnel est maintenu opérationnel puis une décontamination des surfaces exposées au  $\text{VH}_2\text{O}_2$ .

### 3. Conclusions et prochaines étapes

Les échanges interactifs de cette table ronde ont permis de clarifier certaines interrogations des industriels et d'entrevoir notamment une approche moins directive sur le sujet du PUPSIT. Ces ouvertures seront-elles concrétisées dans la nouvelle version de l'Annexe 1 ? La réponse sera peut-être connue des industriels lors de la parution de cet article si la nouvelle version de l'Annexe 1 est officiellement publiée. Par ailleurs, selon Andrew Hopkins, un délai de 6 mois pourrait être accordé pour la mise en place des exigences à partir de la date de publication officielle mais ce délai pourrait être allongé pour certains sujets en concertation avec l'EMA, le PICS et WHO.

The revision of EU GMP Annex 1 for sterile medicinal products<sup>(1)</sup> will impact all in sterile product manufacturing. The impact cannot just be considered to apply after publication but must be prepared for through the long revision process. Although there are open questions following the stakeholder consultation process where 6213 comments were received on what will remain and what will be changed or removed there are clear requirements that will stay. This article considers the Annex 1 revision impact on a new vial filling line at Sanofi Pasteur and what preparations are been made to accommodate the new revision.



This article considers the Annex 1 revision impact on a new vial filling line at Sanofi Pasteur and what preparations are been made to accommodate the new revision.

#### 1. Introduction to the vial filling line as part of the "BOX" project.

The filling line is for vaccines in a vial format with a Bausch & Ströbel filling machine under barrier Isolator technology from F Ziel GmbH. The fill speed and volumes are 400vials/min in 3ml to 10ml vials. Vials are bulk washed and sterilised/ depyrogenated in a tunnel with a cooling zone that is possible to sterilize with dry heat. Filling is via peristaltic pump with 100% IPC check weighing. The product path: Sterilising filter and filling needles are single use. Capping is under Grade A air supply and includes high stopper detection by camera.

The Isolator barrier has 28 gloves with wireless WLAN glove integrity test technology, 6 fixed particle counters, 5 active air heads and 9 static air samplers and includes 1 Rapid Transfer port (RTP: DPTE) for stopper loading and 4 RTP: DPTE material transfer ports. A separate Rapid Decon Station (RDS) Isolator with 30 minutes VHP/  $\text{vH}_2\text{O}_2$  vaporised hydrogen peroxide cycle is used for material (typically EM media plates in  $\text{H}_2\text{O}_2$  impermeable packaging and tools) surface bio-decontamination and transfers to the filling line via RTP: DPTE canister connections.



Systèmes, solutions  
et services en  
*Critical Utilities*

TRAITEMENT DES EAUX PHARMACEUTIQUES

- » Techniques échangeuses d'ions
- » Osmose inverse
- » Électrodéionisation
- » Ultrafiltration
- » Distillation
- » Génération de vapeur propre
- » Désinfection thermique, chimique et ozone in situ

bwt-pharma.com



## 2. Impact of Annex 1 revision

Although Quality Risk Management; QRM<sup>(2)</sup> has been introduced in GMP since 2013 it is the context of application with Annex 1 that has to be considered. There has been much discussion and commenting on QRM and Annex 1. The revision defines QRM principles should be applied across Annex 1 application and associated GMP.

In essence through QRM the risk based approach is emphasised for GMP and it is recognised not all prescriptive and generic GMP guidance can be applied to all processes and in all new medicinal product and therapy manufacture. This means in some cases GMP guidance may be adapted for a given process provided the alternative follows QRM principles and meets or surpasses the intent of the original GMP requirements. Here there will be a challenge to industry and regulators to align on such adaptations to GMP under the auspices of QRM where additional GMP regulatory expectations are not always in written guidance's but follow the clear intent of patient protection.

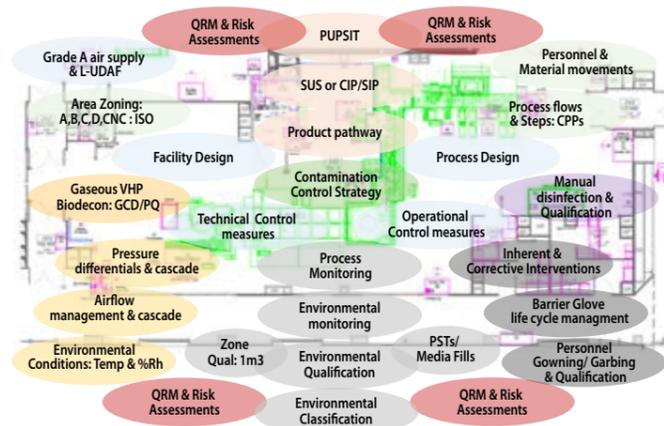
## 3. Contamination Control Strategy (CCS)

A new requirement in Annex 1 revision is a Contamination Control Strategy (CCS) that is required to be specific for a facility with associated processes and product manufacturing. There are many integrated parts of a CCS for a facility as represented by the adjacent image.

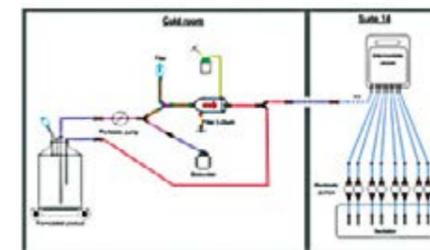
The CCS Strategy must follow QRM principles meaning risk based rationales and risk assessments must support the CCS.

The CCS is a challenging document and has been started for the vial filling line project by a focus group appointed within Sanofi Pasteur. It is accepted the CCS will remain a live document as line qualification continues and process risk knowledge develops. In consideration of a CCS for the filling line the project team are considering the following aspects based on the facility, process design and operations

Utilities	Preventive Maintenance	Investigation RCA; CAPA	Product & Material Flow	House Keeping
Continuous Improvement	Process Design	Out sourced Activity	Cleaning & Disinfection	Monitoring Programme
Product Containers & Closures	Equipment	Contamination Control Strategy	HVAC	Facility Design
Starting Materials	Personnel Flow	Validation	Storage Conditions	Product & Material Flow



## 4. PUPSIT : Pre use and Post use Sterilising filter integrity testing



PUPSIT has been a requirement for some time and not a new requirement in Annex 1 revision. What is considered now is PUPSIT in context of QRM as in some cases it may be justified based on risk not to complete pre-testing of product sterilising filter integrity. It is expected in these cases improved assurances in the supply chain are required so filter manufacturer integrity test data can be leveraged and is meaningful in context of assured integrity in use.



However a principle GMP expectation is that current and available technology is used and as QRM should be applied relative to patient risk then pre-testing remains an expectation for the majority of cases. In the case of the project PUPSIT technology for a single use system has been developed and applied to the filling line. In the process integration decisions were required to define if the sterilising filter is placed inside or outside the barrier or double in-line filtration is applied. As pre-testing is specified and bio-burden reduction was not required before sterilising filtration a single product filter was specified.



The project the product path is specified with a single use system (assembly) with the sterilising filter and all PUPSIT integrity test connections outside the barrier. The filling pathway tubes and (8) filling needles enter through the barrier via a DPTE© port connection. The product filter was as close to the point of fill as practical considering the complexity of the assembly and avoiding such complexity inside the barrier where ergonomics would add process risk.

## 5. Sterility Assurance of indirect product contact surfaces including stopper bowl and track-ways



Annex 1 is limited in guidance on stopper bowl and related indirect stopper contact surfaces assurance of sterility as guidance is more generic. What has become clear through the project is regulatory expectation that a sterilisation process should be applied to in-direct product contact surfaces and VHP<sup>(3)</sup>/ vH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is not considered a sterilisation process that can be applied in isolation. Image is from project fill line of vial stopper pathway.

Unlike a RABS installation that includes higher levels of cleanroom cleanliness (Grade B), Grade A continuity in sterilised parts transfer and additional airflow protection through open barrier installation procedures the Grade C surround of the Isolator Filling line presents different and higher contamination risks.

# Quantitative evaluation of microorganisms recovery from surfaces using contact plates.

By Jeanne GROSSELIN & Laurent LEBLANC - BIOMERIEUX INDUSTRY  
jeanne.grosselin@biomerieux.com & laurent.leblanc@biomerieux.com

For the project the contamination control strategy detailed in PHSS Guidance on Assurance of sterility for in-direct product contact parts<sup>(4)</sup> was applied. This strategy considered three parts to assurance of sterility :

- 1) application of a sterilisation process (moist heat),
- 2) Bio-burden control through transfers, staging/ holding and open barrier door installation into the Isolator line,
- 3) VHP/ vH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bio-decontamination as the final step after set-up and removal of protective coverings. Covering removal facilitates full VHP/ vH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process lethality and aeration.

The PHSS guidance a limit of 10 cfu of bio-burden before the VHP/ vH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> cycle is applied to mitigate risks of penetration capability of VHP/ vH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vapour.

To assure low bio-burden a number of control measures are applied Including additional gowning; mask, goggles and sterile gloves (PHSS guidance includes long sterile Tyvek® sleeves) to limit bio-burden through assembly steps as operators reach into the Isolator barrier. In addition at assembly the Isolator down-flow HEPA filtration is operational and only the required barrier access door is open.



## 6. Barrier Glove Management strategy



The image of a smoke jet stream is from a pin hole in an Isolator barrier glove finger at 100 micron size which is the limit of detection of commercially available Wireless WLAN Glove integrity test systems. This potential contamination risk is at hand/ finger entry into the glove where a "piston" effect can cause a momentary reverse of the pressure differential. The clear message here is that no Isolator barrier system is a barrier to all contamination entry and a glove risk management strategy is required. In reality and via CFD: Computational Fluid Dynamics models it can be seen the uni-directional airflow becomes predominant in just 9cm limiting contamination spread. Glove pin-hole sizes provide different risks in surface contamination transfer.



Studies<sup>(5)</sup> confirm that surface bio-contamination transfer is significantly limited through capillary holes where the hole-size is smaller than the glove thickness e.g. 100 micron in a typical 400 micron thick Isolator CSM material barrier glove-sleeve. In contrast when pin-holes increase to visually seen sizes at 500 micron and above surface contamination transfer risks significantly increase. Understanding of these risks requires a Glove management strategy to mitigate contamination risks and understand the impact on batch disposition if a post batch integrity tests fails.



**Annex 1 revision will impact all in sterile product manufacturing. The connection between QRM and prescriptive GMP supported by a Contamination Control Strategy (CCS) will be challenging too many and preparation of a CCS should not wait until the revised Annex 1 publication after which there is typically 3 months to comply (or have a plan to comply). All new projects will be impacted as "current technology" would expect to comply. This article details just some of the impact and considerations and all are encouraged to complete their own project impact assessment and prepare for the new revision of Annex 1.**

### References

- (1) EC- GMP Guidance: Annex 1 Manufacture of sterile medicinal products.
- (2) QRM: Chapter 1 EU GMP, 31 January 2013. ICH Guideline Q9 on Quality Risk Management.
- (3) MHRA Blog: Fragility of VHP: 2018.
- (4) PHSS: Pharmaceutical and Healthcare Sciences Society; Clarity on GMP Guidance note no.1. Assurance of Sterility of in-direct product contact surfaces e.g. stopper contact surfaces in aseptic process filling.
- (5) ISPE Aseptic conference USA 2016: Presentation of Bachelor thesis research by Corinna Maier-Hinken F Ziel GmbH on Barrier glove pin holes and contamination transfer risks.

Environment sampling for microbiological contaminants is a key component of environmental monitoring and risk characterization practices used across diverse fields of application. Many microbiological techniques are reported to validate sanitization procedures, to control surface / air cleanliness, or to evaluate the levels of microbial contamination<sup>(1)</sup>. They are based on a transfer of the microorganisms present on the surface or in the air to a culture medium. Surface sampling is assessed through 2 major- techniques: swabbing methods and culture media contact application. However, confidence in surface sampling results, both in the field and in controlled laboratory studies, has been undermined by large variation in sampling performance results<sup>(2)</sup>.



Sources of variation include controlled parameters, such as sampling materials and processing methods<sup>(3-5)</sup>, nature of the solid surface<sup>(6-7)</sup>, nature of the contamination<sup>(8)</sup>, organic or inorganic material contaminating the surface, as well as random and systematic errors. However, relative contributions of these factors remain unclear and evaluating the efficiency of commonly used microbiological techniques remains a concern<sup>(9)</sup>. In this study, we investigated how the nature of the surface, the contact plate supplier and the nature of microorganisms could influence the recovery of microorganisms, using a standardized protocol. Three industry-relevant surface were tested: crystal polystyrene plastic, glass and 316L stainless steel with three contact plates suppliers : bioMérieux, BD and Merck Millipore. The bacteria *S. aureus* was used as a model in the first part of the study, and extend to five more strains in the second part of the study.

## 1. Material and methods

### 1.1 Tested microorganisms

Test microorganisms included in the study were sourced from culture collection and commercial calibrated strains:

#### • BioBall Multishot (bioMérieux)

- Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, ref. 56011
- Candida albicans* ATCC 10231, ref. 56013
- Escherichia coli* ATCC 8739, ref. 56006
- Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, ref.56017
- Bacillus subtilis* ATCC 6633, ref. 56012
- Staphylococcus aureus* ATCC 6538, ref. 56019

#### • Culture collection and in-house strains (from pharma industries collection)

- Staphylococcus epidermidis*
- Comamonas aquatica* ATCC 11330
- Acinetobacter baumannii* ATCC 19606
- Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- Streptococcus pyogenes* ATCC 19615
- Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883
- Corynebacterium striatum*
- Penicillium commune*
- Micrococcus luteus*

The recommended dilutions of each microorganism were between 20 to 70 CFU / inoculum.

### 1.2 Surface testing

Different surfaces were included in the study: crystal polystyrene plastic, 316L stainless steel and glass. The crystal polystyrene plastic used is gamma irradiation sterilized. Glass and stainless steel surfaces coupons were pretreated using a standardized and reproducible procedure. The surface was first cleaned using a detergent and rinse thoroughly with distilled water. Surface coupons were then soaked in a distilled water bath at 60°C during 2 hours, rinsed with distilled water, wiped with non-woven paper and sterilized by autoclaving at 121° C for 25 minutes. This procedure was shown to be the most adequate to homogenize surface finishing.

Microorganism inoculum tested was spotted on the sterile surface (spiking volume of 50 µl), uniformly spread with a sterile loop and left to dry in a ventilated incubator of 37°C for 30 minutes. This allows obtaining a dried inoculum on the surface coupon.

Immediately after inoculum drying, a first contact plate (CT1) was applied on the spotted inoculum during 10 seconds with a pressing force equivalent to the weight of a 500 g mass. Successive second (CT2) and third (CT3) contact plates were applied on the same area with the same force and time application. The surface sampled is always 25 cm<sup>2</sup>. In parallel, an identical spiking volume is tested on 90 mm TSA plate (bioMérieux, ref. 43011). The CFU mean number enumerated on this 90 mm TSA is the inoculum control referred as CFU<sub>control</sub>. Contact and 90 mm TSA plates are incubated at 30-35°C for 3 to 5 days for bacteria and yeast. Molds are incubated at 20-25°C for 3 to 7 days.

### 1.3 Culture media

Contact plates used in the study were supplied by:

- bioMérieux, Irradiated Count-Tact® 3P™ Agar (CT3P), ref. 43699, batch. 1005960800;
- BD, BBL™ IC-XT Pack Trypticase™ Soy Agar with Lecithin and Polysorbate 80, RODAC™ Locking Lid (LL), ref. 257637, batch. 7222078;

- Merck Millipore, Tr. Soy Cont. A w. LTHTh-ICR, ref. 1462310200, batch. 147550.

90 mm plates used were supplied by bioMérieux, Trypcase Soy Agar (TSA), ref. 43011, several batches.

### 1.4 Recovery rates

Individual contact plates recovery rates were calculated as follow:

$$\text{Recovery rate CT1} = \text{CFU}_{\text{CT1}} / \text{CFU}_{\text{control}}$$

$$\text{Recovery rate CT2} = \text{CFU}_{\text{CT2}} / (\text{CFU}_{\text{control}} - \text{CFU}_{\text{CT1}})$$

$$\text{Recovery rate CT3} = \text{CFU}_{\text{CT3}} / (\text{CFU}_{\text{control}} - \text{CFU}_{\text{CT1}} - \text{CFU}_{\text{CT2}})$$

Cumulative recovery rates on contact plates were calculated as follow :

$$\text{Cumulative CT2 recovery rate: Cumul rate CT 2} = (\text{CFU}_{\text{CT1}} + \text{CFU}_{\text{CT2}}) / \text{CFU}_{\text{control}}$$

$$\text{Cumulative CT3 recovery rate: Cumul rate CT 3} = (\text{CFU}_{\text{CT1}} + \text{CFU}_{\text{CT2}} + \text{CFU}_{\text{CT3}}) / \text{CFU}_{\text{control}}$$

### 1.5 Statistical analysis

Experiments were performed randomly to ensure statistical independence. The comparison of contact plates recovery rates to determine factor influence was performed using a two-way nested ANOVA test (with a risk alpha = 5%). Statistical significant differences were considered for p-value < 0,05.

The data were represented as box plot which allows to visualize:

- 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> quartiles
- Mean and median
- Minimum and maximum value.

## 2. Results

In this paragraph contact plates supplier names were replaced by supplier A, B & C. for non-competition reasons.

### 2.1 Microorganisms recovery screening

We first screen the recovery of different microorganisms, from different family, using a single contact plate application, on stainless steel surface. A known inoculum of microorganism is spotted on stainless steel surface and then dried under heat and ventilation to obtain a simulated contaminated surface. A contact plate is applied to recover microorganisms spotted. The number of CFU recovered on the contact plate is compared to the number of CFU spotted to calculate the recovery rate (recovery rate CT1), as represented on the graph below.

It is observed that recovery rates for yeast and mold vary between 15% to 40%. The best recovery is obtained with *P. commune*.

Gram negative bacteria show really low recovery, from 0% to 15% for *P. aeruginosa*. As recovery rate is reflects a cumulative effect of microorganisms survival to desiccation and microorganisms removal from the surface, it is possible that gram negative bacteria badly tolerate the drying step.

Gram positive bacilli are better recovered, with recovery rates from 15% to 40% for *B. subtilis*. As *B. subtilis* was used as spore form, it is probably more resistant to desiccation and in consequence is better recovered.

Gram positive cocci is the strain family with the best recovery rates, from 10% to 80%, particularly *S. aureus* is highly recovered. As gram positive bacteria can live in harsh environments like human teguments, soil, water and air they are highly resistant to desiccation.

In the light of the results above, we decided to extend our study with the strain *Staphylococcus aureus*, which shows the best recovery, to make the comparison of different media suppliers, different type of

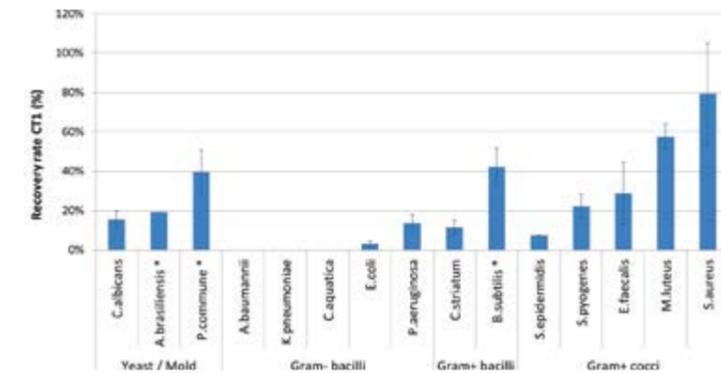


Figure 1: Microorganisms recoveries with a first contact plate (CT 1) on stainless steel

surfaces and successive contact plate applications.

Then we selected the best recovered strain from all microorganisms families, meaning *P. commune*, *P. aeruginosa*, *C. striatum*, *B. subtilis*, *M. luteus*, to deeply analyze their recovery rates differences.

### 2.2 Surface and media suppliers influence statistical analysis on Staphylococcus aureus ATCC 6538 recovery rate

The recovery rates of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 were compared on 3 different surfaces (crystal polystyrene plastic, glass and 316L stainless steel) for 3 different contact plates suppliers. For each surface and media supplier, five replicates of 3 successive contact plates on the same inoculum were performed.

Data were analyzed for the first contact plate recovery rates, as pharma industries usually performed only one contact plate for a defined surface. The comparison of first contact plates recovery rates was performed using a two-way nested ANOVA test (with a risk alpha = 5%).

Recovery rate CT1 Nested Random Effects Analysis of Variance for Variable Count							
Variance Source	DF	Sum of Squares	F Value	P Value	Mean Square	Variance Component	Percent of Total
Total	44	2856			64,9	75,8	100
Supplier	2	688	10,94	0,0100	344,1	20,8	27,5
Surface	6	189	0,57	0,7499	31,4	-4,7	0,0
Error	36	1979			55,0	55,0	72,5

Table 1: Nested ANOVA analysis for CT 1 recovery rates

For the factor "surface", the p-value of the test is higher than the risk alpha (0,05) indicating that there is no statistically significant difference between the surfaces tested. In other words, the surface (plastic, glass or 316L stainless steel) is not influencing the first recovery rate of the bacteria *S. aureus*.

For the factor "supplier", the p-value of the test is lower than the risk alpha (0,05) showing that there is statistically significant difference between the different media supplier tested. Expressly, depending on the media supplier used the recovery of *S. aureus* may varies significantly.

It is interesting to note that, for the first contact plate recovery rate, the main part of the variability (72,5%) comes from the repeatability error. Indeed, it is well known that in a microbiological experiment the repeatability error is important because all steps can add variability (pipetting, inoculum deposit, peel off, culture conditions, reading...).

The "media supplier" factor contributes to 27,5 % of the variability of the first contact plate recovery rate. The "surface" factor does not add any additional variability.

We also analyzed the total contact plate recovery rates, corresponding to the total of bacteria recovered after 3 successive contact plates on the exact same sampling area (Cumulative recovery rate CT3). The comparison of total contact plates recovery rates was performed using a nested ANOVA test (with a risk alpha = 5%).

Cumulative recovery rate CT3 Nested Random Effects Analysis of Variance for Variable Count							
Variance Source	DF	Sum of Squares	F Value	P Value	Mean Square	Variance Component	Percent of Total
Total	44	2219			50,4	52,6	100
Supplier	2	124	0,69	0,5388	61,8	-1,9	0
Surface	6	539	2,08	0,0799	89,9	9,3	17,8
Error	36	1556			43,2	43,2	82,2

Table 2: Nested ANOVA analysis for cumulative CT 3 recovery rates

For the cumulative CT 3 recovery rates, all the p-value are higher than the risk alpha (0,05) indicating that there no statistically significant difference between surfaces or media supplier tested. Thus, the surface (plastic, glass, 316 L stainless steel) and the media supplier are not influencing the total (cumulative CT 3) recovery rate of the bacteria *S. aureus*.

Considering that the factor "media supplier" was influencing the first contact plate recovery rate, these results indicate that a second and third contact plate application is counterbalancing the first contact plate recovery rate differences.

Once again, the biggest contributor to the variability of the results is the microbiological experiment repeatability itself (82,2%). For the cumulative recovery rate CT3 the supplier factor do not convey anymore variability but the surface factor contributes to 17,8 % of the variability of the result.

### 2.3 Staphylococcus aureus ATCC 6538 mean and variability recovery rates, by supplier

Data analysis for recovery rates variability were performed for each supplier for all surfaces (plastic, glass and stainless steel), as the ANOVA demonstrated no influence of the surface.

The boxplot of figure 2 shows the recovery rates of *S. aureus* obtained with a first contact plate application, for all surfaces, for the 3 different media suppliers.

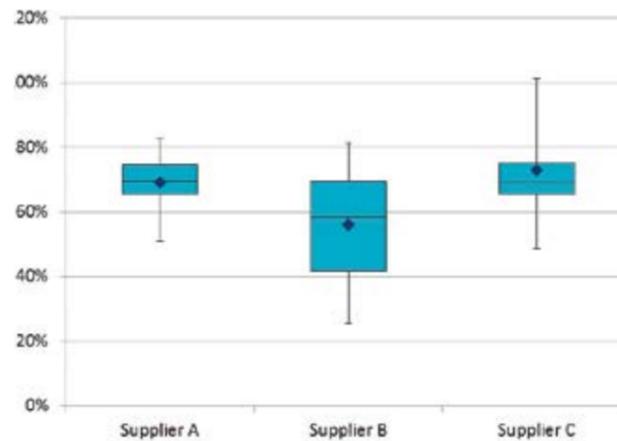


Figure 2: S. aureus recovery with a first contact plate (CT 1)

Two media suppliers (Supplier A & C) give a high first plate recovery rate, with a median around 70 %. The third supplier (Supplier B) shows lower first plate recovery rate, with a median around 60 %. For all media suppliers, the mean and median of the recovery rate are similar, suggesting that data follow a normal distribution.

Regarding the variability, the supplier B shows a higher distribution of data, with a large "box" (1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> quartile) and maximum / minimum value. This means that the first supplier B contact plate could give highly variable results, with a minimum as small as 25% recovery rate of S. aureus.

Supplier A & C show less variable results, with a smaller "box" distribution. The smaller distribution of value, including minimum and maximum values, is obtained with supplier A contact plates.

Depending on the media supplier, a first contact plate application allows to obtain a recovery rate between 40 to 75 % for S. aureus inoculum.

The following boxplot shows the recovery rates of S. aureus obtained with a second contact plate application (Cumul rate CT2), for all surfaces (plastic, glass and stainless steel), for the 3 different media suppliers. Recovery rates are calculated as cumulative recoveries (total of first + second contact plate).

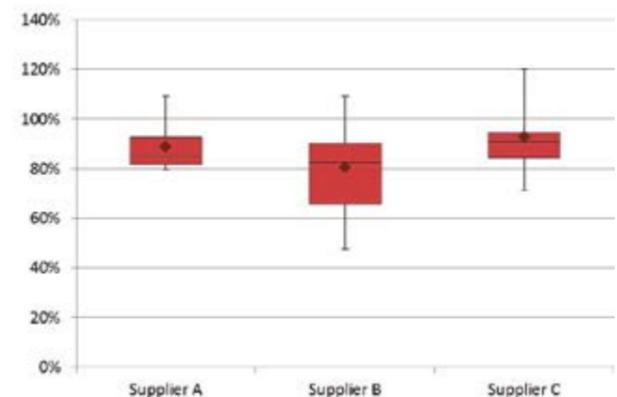


Figure 3: S. aureus recovery with 2 successive contact plates (CT 2)

The median recovery rates of S. aureus on surfaces are similar between suppliers, around 85%. As for the first recovery rates, the supplier B contact plates recovery rates show higher variability with slightly smaller recovery. Supplier A & C show less variable results, as well as for the "box" distribution and for minimum / maximum value.

Depending on the supplier, a second plate application allows to obtain a cumulative recovery rate between 65 to 95 % for S. aureus inoculum. The following boxplot shows the recovery rates of S. aureus obtained with a third contact plate application, for all surfaces (plastic, glass and stainless steel), for the 3 different media suppliers. Recovery rates are calculated as cumulative recoveries (total of first + second + third contact plates).

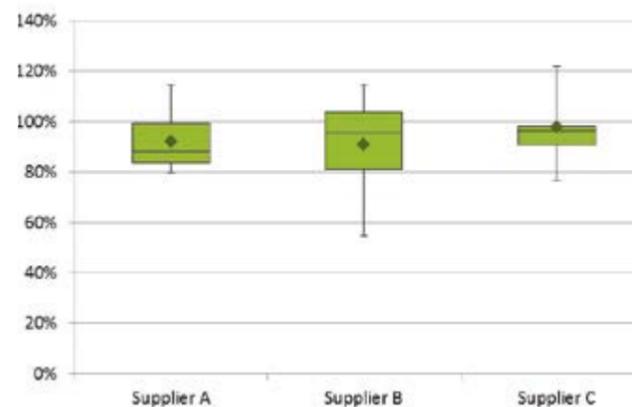


Figure 4: S. aureus recovery with 3 successive contact plates (CT 3)

The mean recovery rates of S. aureus on surfaces are similar between suppliers, around 95%. With a successive third contact plate, differences between suppliers are smoothed out. Indeed, nested ANOVA analysis do not conclude to a statistically significant recovery rates between supplier (see chapter 2). Recovery rates variability is slightly lower with the supplier C contact plate and slightly higher with the supplier B contact plates.

Depending on the media supplier, a third plate application allows to obtain a cumulative recovery rate between 80 to 100 % for S. aureus inoculum. In other words, it is possible to recover almost all the bacteria S. aureus initially inoculated on a surface after 3 successive contact plates.

Finally, this study demonstrates that a first contact plate application allow to recover on average (depending on the supplier) 60 to 70% of the S. aureus initially inoculated. The surface sampled (plastic, glass or stainless steel) do not influence this recovery rate. A second contact and third plate application increase the recovery rate by around 20% and 6% respectively. After 3 successive contact plate applications on the same inoculum it is then possible to recovered almost all the bacteria attached to a surface (around 95%).

For the second part of the study, we evaluated the recovery rates of different strains (mold, gram positive and gram negative bacteria) on one surface using different media suppliers. As the previous results showed no influence of the surface on the microorganism recovery, we decided to use the 316 L stainless steel, because it is the most representative material in the pharma industries.

## 2.4 Strains mean and variability recovery rates by supplier

In this second study, we tested 5 other strains (mold, gram positive and gram negative bacteria), following the same protocol (3 successive contact plate applications on the same inoculum) on 316L stainless steel surface, as it is the more relevant for pharma industries.

Strain survival on stainless steel during the drying step could be different than S. aureus, so it is important to remember that the recovery rates obtained are a combined effect of the strain survival plus strain recovery on contact plates.

### Penicillium commune

It is well known that a mold contamination on surface could be difficult to eliminate as mold spores are highly resistant to external variations<sup>(10)</sup>. Penicillium contamination could occur in controlled area as it can be carried by clean room ventilation, pallets, bags, boxes, pallet jacks, scrubbers, cart wheels, carts, shoes, pens, cellphones ... etc.

The following box plots show the recovery rates of P. commune spores obtained with a single (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate applications on stainless steel surface, for the 3 different media suppliers.

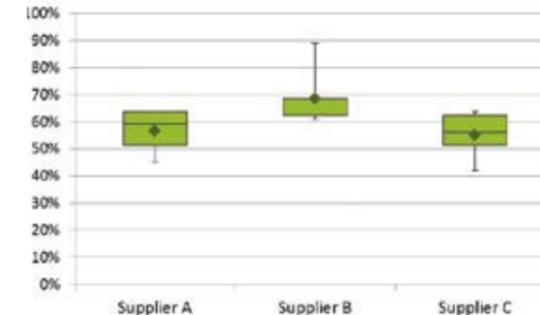
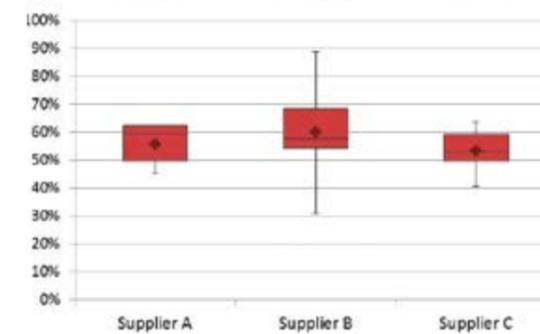
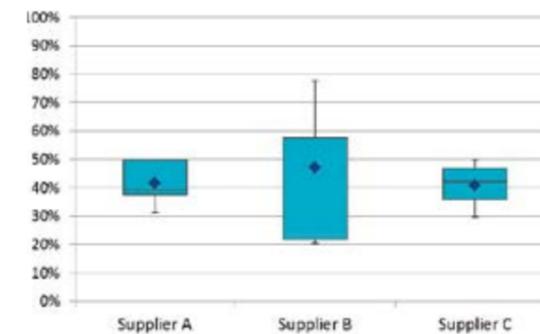


Figure 5: Penicillium commune spores recovery with a first (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plates

The first contact plate application allows recovering about 40 % of the P. commune initially inoculated. The supplier B contact plate recovery rates show a higher distribution of data, with both a "box" and maximum / minimum value enlarged. The second and third contact plate cumulative recovery rates are very similar and quite equivalent for all the suppliers. These successive contact plate applications allow obtaining about 60 % of P. commune recovery rate.

### Bacillus subtilis

Bacillus subtilis is a gram positive bacteria capable of growth within diverse environments including the gastrointestinal tracts of animals, soil and vegetation. It is best known for its ability to respond to adverse changes in its environment by developing into a dormant endospore, highly resistant to environment variations<sup>(11)</sup>.

The figure 6 shows the recovery rates of B. subtilis spores obtained with a single (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate applications on stainless steel surface, for the 3 different media suppliers.

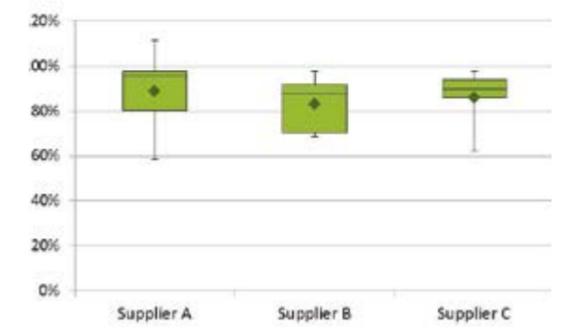
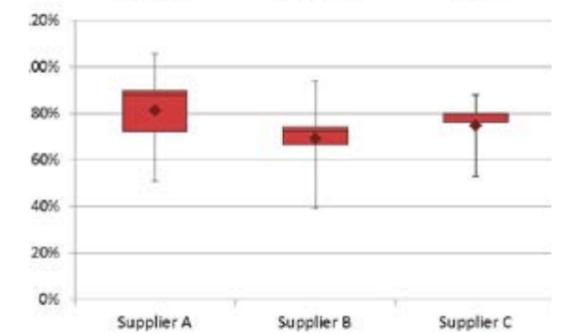
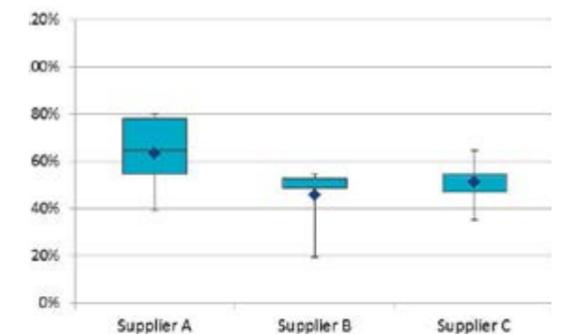


Figure 6: Bacillus subtilis spores recovery with a first (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate

With a first contact plate application, *Bacillus subtilis* spores could be recovered with a rate around 65% for the supplier A contact plate and 55% for the supplier B & C, respectively. A second contact plate application allows increasing the recovery rate to 70-85%, depending on the supplier. A third contact plate could recover almost all the *B. subtilis* spores initially inoculated, as the recovery rate reaches around 90%.

**Corynebacterium striatum**

*Corynebacterium striatum* is a gram positive bacillus, commensal of mucosa and tegument<sup>(12)</sup>. Thus, it can be recovered in pharma environment through operator contamination. The following box plots show the recovery rates of *C. striatum* obtained with a single (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate applications on stainless steel surface, for the 3 different media suppliers. Attention must be paid to the axe's scaling (maximum of the scale is 40 %).

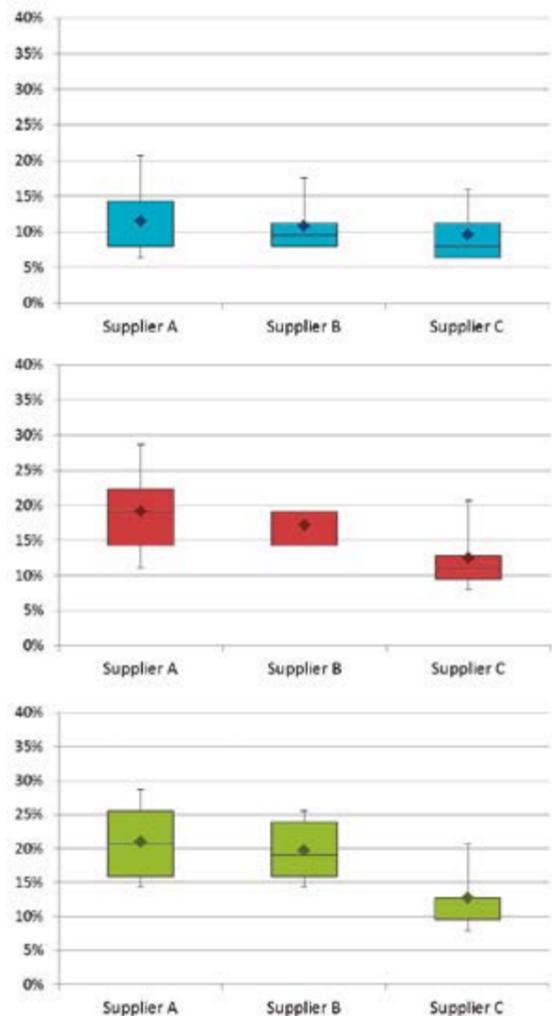


Figure 7: *Corynebacterium striatum* recovery with a first (left), 2 successive (middle) and 3 successive (right) contact plates

A first contact plate on stainless steel allows recovering only 10 % of *C.striatum* inoculated, for all supplier tested. Depending on the supplier, a second and third contact plate applications increase the recovery rate to 15-20%. The maximum mean recovery rate for this bacteria is around 20%, even with 3 contact plate applications. As mentioned in the introduction, it should be remember that the recovery rate reflects both drying resistance of the strain (which is spotted and then dried 30 minutes at 37°C before contact plate application) and the contact plate removal of strain.

**Micrococcus luteus**

*Micrococcus luteus* is a gram positive coccus, commensal of mammals skin. Thus, this strain is frequently recovered in pharma environment through operator contamination<sup>(13)</sup>. The following box plots show the recovery rates of *M. luteus* obtained with a single (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate applications on stainless steel surface, for the 3 different media suppliers.

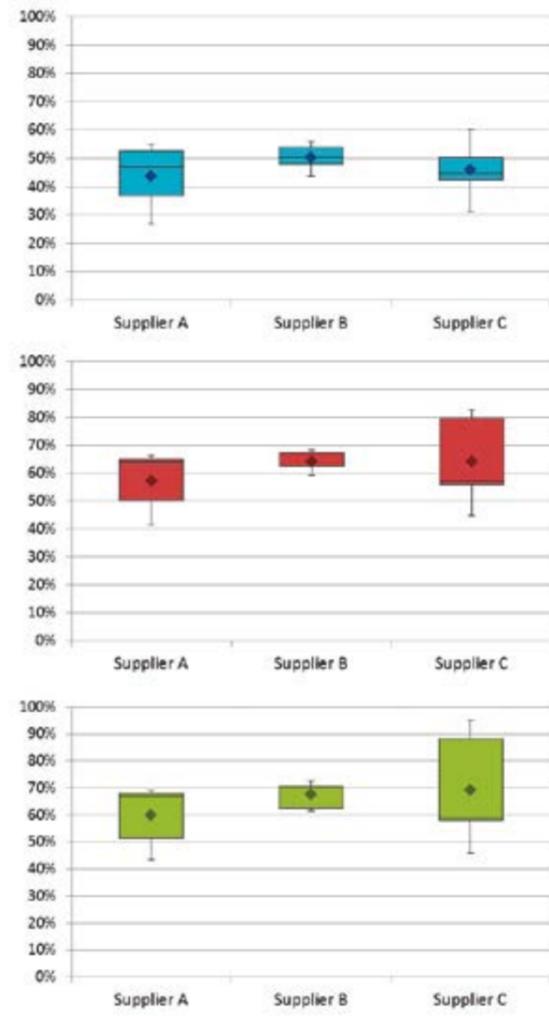


Figure 8: *Micrococcus luteus* recovery with a first (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate

*Micrococcus luteus* recovery rate with a first contact plate application is between 45 % to 50 %, depending on the supplier. A second and third contact plate application increases this recovery to 60 % and 70 % respectively.

**Pseudomonas aeruginosa**

*Pseudomonas aeruginosa* is a gram negative bacteria which has the ability to survive within diverse environments including soil, marshes, water and skin flora. *P. aeruginosa* may also be found in a biofilm on surfaces, highly resistant to cleaning and disinfection procedures<sup>(14)</sup>. The following box plots show the number of CFU of *P. aeruginosa* obtained with a single (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plate applications on stainless steel surface, for the 3 different media suppliers. Attention must be paid to the axe's scaling in CFU (and not in recovery rate), because *P. aeruginosa* recovery was really low.

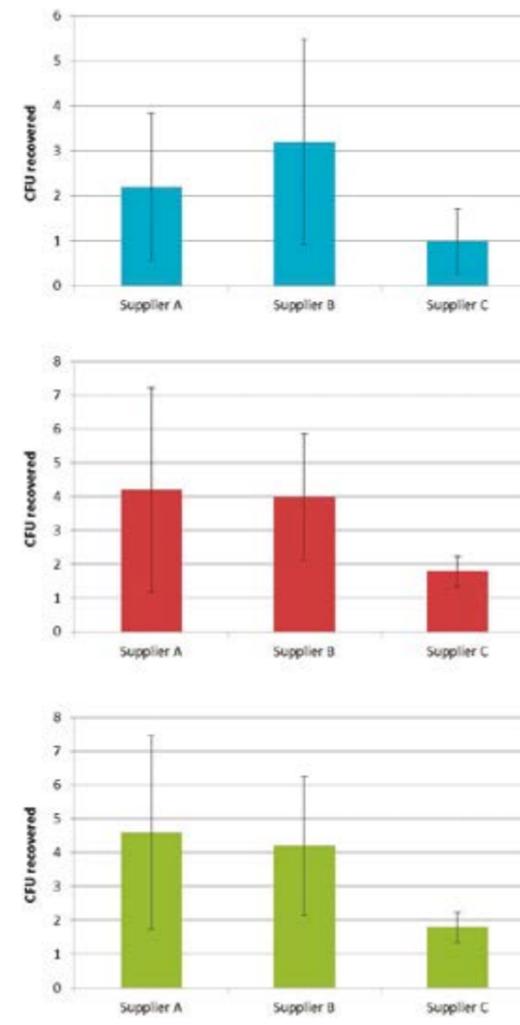


Figure 9: *Pseudomonas aeruginosa* CFU recovery with a first (top), 2 successive (middle) and 3 successive (bottom) contact plates

Recovery of *P. aeruginosa* on stainless steel with contact plate is really low. The first contact plate application allows recovering barely 1 to 3 CFU for a 30 CFU inoculum (around 10%). A second and third contact plate applications increase the number of CFU to 2 to 5 CFU. As for *C. striatum* bacteria, it should be kept in mind that the recovery rate reflects both drying resistance of the strain (which is spotted and then dried 30 minutes at 37°C before contact plate application) and the strain contact plate removal.

**3. Conclusion**

Surface control with swabbing methods and culture media contact application is a large part of environmental monitoring strategy of pharmaceutical industries. However, surface recovery of microorganisms is still an open debate, as laboratory or in house studies are rare and performed under different conditions<sup>(4,9)</sup>. In this study, we determined surface recovery of microorganisms with a reproducible and standardized protocol. The results we obtained showed no influence of surface type sampled: the recovery rates are equivalent between crystal polystyrene plastic, glass and 316L stainless steel surfaces. This result is interesting because different of what we can anticipate: different surfaces as different as plastic (passive surface), glass (charged surface) and stainless steel (charged surface) may have different microorganisms attachment<sup>(15-17)</sup>. In our study it was not the case, possibly because the contact period between the microorganism and the surface is short<sup>(18)</sup>. However, we showed that the variability brought by the surface is increasing as the contact plate application increases. It is then possible that the surface differences (inert / active, rough / smooth) add variability in more stringent conditions, i.e second and third contact plate application (low number of microorganisms, microorganisms hidden in less accessible area, strongly attached microorganisms ..).

In addition, media suppliers of contact plates have been found to influence *S. aureus* first contact recovery rates. It is possible that composition of the culture media, presence of surfactant, surface water contents, plastic petri dish design differ between suppliers and influence this first microorganisms recovery<sup>(3)</sup>.

A first contact plate on dried inoculum of *S. aureus* shows a recovery rates around 60-70%, depending on the supplier. This data are consistent with other studies performed on *Staphylococcus* strain<sup>(3,4)</sup>. This indicates that a single contact plate application on a surface do not allowed to remove all the microorganisms present. It's only after 3 successive contact plate applications on the same area that it was possible to recover around 90% of the *S. aureus* inoculated on the surface. It is understandable that 3 successive contact plate applications are highly constraining for environment monitoring practices, however the proportion of microorganisms removed during surface sampling must be remembered.

# Investigation by molecular method of potentially non-compliant aseptic process simulation-media fill test (APS-MFT) and sterility test.

By Arnaud CARLOTTI - EUROFINs IDmyk  
arnaudcarlotti@eurofins.com

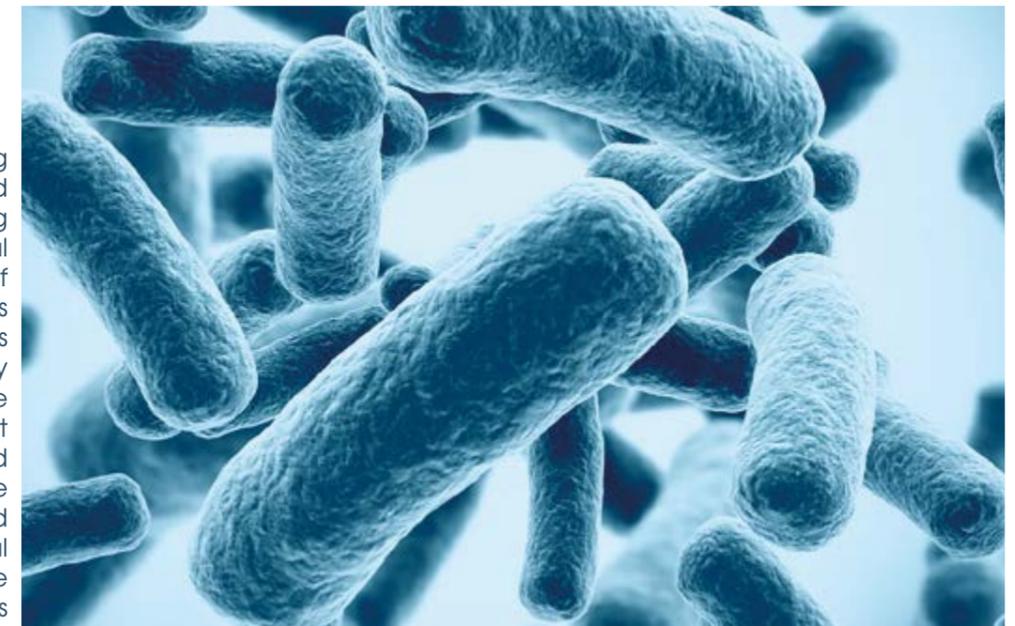
Is surface monitoring the exact reflect of the microbial contamination present on the surface ? It is not certain, especially because our results show that the different microorganisms are not recovered the same. Also because they are probably less resistant to desiccation, the maximum recovery of *P. aeruginosa* or *C. striatum* is only 20 %. For more desiccation-resistant microorganisms or spores, after 3 successive contact plate on the same dried inoculum, it's possible to recover at least two-thirds of the strains present on the surface. A single contact plate application allows to recover between 40 to 65 % of the inoculum, depending on the microorganism.

**Finally this experimental design provides clear set of data on 6 different microorganisms surface sampling recovery, on 3 different surfaces, using 3 different contact plate suppliers, testing until 3 successive contact plate applications on the same inoculum. We showed that various parameters could influence the surface sampling results, pointing out that in-house validation studies, using the specific contaminant flora of the controlled zone must be performed.**



## References

- (1) Ismail, R. et al. Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: a review of the literature. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10, 6169–6183 (2013).
- (2) Edmonds, J. M. Efficient methods for large-area surface sampling of sites contaminated with pathogenic microorganisms and other hazardous agents: current state, needs, and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, 811–816 (2009).
- (3) Deckers, S. M., Sindić, M., Anceau, C., Brostaux, Y. & Detry, J. G. Possible influence of surfactants and proteins on the efficiency of contact agar microbiological surface sampling. *J. Food Prot.* 73, 2116–2122 (2010).
- (4) Obee, P., Griffith, C. J., Cooper, R. A. & Bennion, N. E. An evaluation of different methods for the recovery of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* 65, 35–41 (2007).
- (5) Dalmaso, G., Bini, M., Paroni, R. & Ferrari, M. Qualification of high-recovery, flocked swabs as compared to traditional rayon swabs for microbiological environmental monitoring of surfaces. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 62, 191–199 (2008).
- (6) Valentine, N. B. et al. Evaluation of sampling tools for environmental sampling of bacterial endospores from porous and nonporous surfaces. *J. Appl. Microbiol.* 105, 1107–1113 (2008).
- (7) Weir, M. H., Shibata, T., Masago, Y., Cologgi, D. L. & Rose, J. B. Effect of Surface Sampling and Recovery of Viruses and Non-Spore-Forming Bacteria on a Quantitative Microbial Risk Assessment Model for Fomites. *Environ. Sci. Technol.* 50, 5945–5952 (2016).
- (8) Goverde, M., Willrodt, J. & Staerk, A. Evaluation of the Recovery Rate of Different Swabs for Microbial Environmental Monitoring. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 71, 33–42 (2017).
- (9) Moore, G. & Griffith, C. Problems associated with traditional hygiene swabbing: the need for in-house standardization. *J. Appl. Microbiol.* 103, 1090–1103 (2007).
- (10) Wyatt, T. T., Wösten, H. A. B. & Dijksterhuis, J. Fungal spores for dispersion in space and time. *Adv. Appl. Microbiol.* 85, 43–91 (2013).
- (11) Driks, A. The bacillus spore coat. *Phytopathology* 94, 1249–1251 (2004).
- (12) Martínez-Martínez, L., Suárez, A. I., Rodríguez-Baño, J., Bernard, K. & Muniáin, M. A. Clinical significance of *Corynebacterium striatum* isolated from human samples. *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 3, 634–639 (1997).
- (13) Kooken, J. M., Fox, K. F. & Fox, A. Characterization of *Micrococcus* strains isolated from indoor air. *Mol. Cell. Proteom.* 26, 1–5 (2012).
- (14) Masák, J., Čejková, A., Schreiberová, O. & Režanka, T. *Pseudomonas* biofilms: possibilities of their control. *FEMS Microbiol. Ecol.* 89, 1–14 (2014).
- (15) Jindal, S. & Anand, S. Comparison of adhesion characteristics of common dairy sporeformers and their spores on unmodified and modified stainless steel contact surfaces. *J. Dairy Sci.* (2018). doi:10.3168/jds.2017-14179
- (16) Alam, F. & Balani, K. Adhesion force of *Staphylococcus aureus* on various biomaterial surfaces. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 65, 872–880 (2017).
- (17) Simões, L. C., Simões, M., Oliveira, R. & Vieira, M. J. Potential of the adhesion of bacteria isolated from drinking water to materials. *J. Basic Microbiol.* 47, 174–183 (2007).
- (18) Crouzet, M. et al. *Pseudomonas aeruginosa* cells attached to a surface display a typical proteome early as 20 minutes of incubation. *PLoS One* 12, e0180341 (2017).



An aseptic processing operation should be validated using appropriate microbiological growth medium in place of the product. This process simulation, also known as "media fill test", normally closely simulate the same exposure that the product itself will undergo. The sealed containers filled with the medium are then incubated to detect microbial contamination. Results are then interpreted to assess the potential for a unit drug product to become contaminated during operations (Guidance for industry, Sterile drug products produced by aseptic processing, cGMP, 2004).

Sterility tests are limited in their ability to detect contamination because the small sample size typically used and the need for microorganisms to be able to grow (lag phase and growth phase) under the conditions of the test. In APS-MFT, Trypto Casein Soja Broth (TSB) is mainly used, while in Sterility Tests (ST) the culture media used are Trypto Casein Soja Broth (TSB) and Thioglycollate Broth (TB), to allow microbial contaminant growth. They are now incubated for 14 days with intermediate and final readings, at 20–25 °C for 7 days and then 30–35 °C for seven days for APS, and for ST at 20–25 °C for TSB and 30–35 °C for TB, respectively. These media and their corresponding incubation time and temperatures were chosen to maximize recovery of potential contaminants.

Both tests rely on the assumption that one contaminating cell would grow and result in media turbidity (unverified assumption).

Hence, contamination is detected based on turbidity of the media (initially limpid) detected by human vision (subjective) after incubation in appropriate conditions. Compliance or non-compliance is determined by the non-detection or the detection of a turbidity, respectively. Some of the main concerns faced in the interpretation of the tests are atypical turbid medium (faint turbidity) and no detection of viable micro-organisms after sub-culturing from turbid medium issued either from APS-MFT or ST. These question the microbiological origin of the turbidity instead of a non-microbial (i.e chemical) origin, and led to consider the test as "potentially non-compliant" (Microbial Data Deviation [MDD] or Deviation or Out Of Specification, depending on the procedure in use) until further investigated. A molecular method for investigation of these "potentially non-compliant" tests, based on the detection



## Glossaire

**ATCC** : American Type Culture Collection  
**CFU** : Colony Forming Unit  
**CT** : Contact plate  
**TSA** : Tryptcase Soy Agar

**ANOVA** : Analysis of Variance  
**BD** : Becton Dickinson  
**Ref.** : Reference  
**Cumul** : Cumulative

of bacterial and fungal DNA by Polymerase Chain Reaction (PCR) has been developed and validated. The rationale of the method, its format, the validation criteria and the results of more than 300 investigations of both APS-MFT and ST are reviewed.

### 1. Rational

As bacteria or fungi multiply in a liquid culture medium, the medium becomes turbid, or cloudy with cells.

The premise is that a turbid liquid culture medium is turbid enough to be visible for the human vision when cell suspension reach a concentration of more than  $1 \times 10^6$  cells/mL ( $10^6$ - $10^7$  cells/mL for bacteria) or more than  $1 \times 10^4$  cells/mL ( $10^4$ - $10^5$  cells/mL for fungi). This is supported by classical microbiology literature (e.g. Tortora et al., "Microbiology an introduction", 7th edition, 2002, Pearson Education Inc. editor, Chapter 6 page 179 ; Sutton S., "Rapid Sterility Testing", The sterility test, J. Moldenhaus Ed., 2011, page 19).

A practical reference for turbidity assessment is the MacFarland scale. McFarland Standards are used to standardize the approximate number of bacteria in a liquid suspension by comparing the turbidity of the test suspension with that of the McFarland Standard. A McFarland Standard is a chemical solution of barium chloride and sulfuric acid; the reaction between these two chemicals results in the production of a fine precipitate, barium sulfate. When shaken well, the turbidity of a McFarland Standard is visually comparable to a bacterial suspension of known concentration as indicated in table 1.

MacFarland Standard	Approximate Bacterial Suspension / mL
0.5	$1.5 \times 10^8$
1.0	$3.0 \times 10^8$
2.0	$6.0 \times 10^8$
3.0	$9.0 \times 10^8$
4.0	$1.2 \times 10^9$

Table 1 : Equivalence between MacFarland Standards and approximate bacterial suspensions.

Hence, the lowest MacFarland Standard (0.5) corresponds to an approximate bacterial suspension that is ten times higher than the minimal bacterial suspension visible using human vision. This is of importance if MacFarland standard would be used during qualification of operators to interpretation of sterility test results (it is not enough!).

In figure 1, the visual aspect of the corresponding turbidity is shown against a striped background.



Fig 1. Turbidity of the MacFarland Standards seen against a striped background.

The shape and size of the bacterial and fungal cells (yeasts) are varied and influence greatly the correlation between observed turbidity and approximate cell concentration. For instance, at the same cell concentration, yeasts cells that would be 10 times bigger than bacterial cells will generate roughly a ten times higher turbidity than bacterial cells.

In order to test the hypothesis that the turbidity of a liquid medium could be originating from micro-organism's cells being present in suspension at the required high concentrations we have thus developed a PCR method to detect bacterial or fungal DNA. The method is not a growth-based method and both viable and non-viable cells could be detected with low limit of detection.

### 2. PCR Method for the detection of bacterial and fungal DNA

The principle of the method is to collect the cells in suspension by centrifugation, then get rid of the microbial residual DNA in solution and finally extract the nucleic acids from cell pellets. Then the nucleic acid extracts are submitted to PCR amplification using universal primers for either bacterial DNA or fungal DNA (two separate PCR) and optimized conditions. Appropriate controls are included in order to determine any possible inhibition of the PCR step related to the matrix (external control made up with the sample spiked with calibrated suspension of bacteria and fungi), and appropriate negative controls (including the same lot of culture media as the one used for MFT or ST), according to our standard operating procedure.

The format of the PCR test is described in figure 2. An example of the results obtained after agarose gel electrophoresis is presented in figure 3.

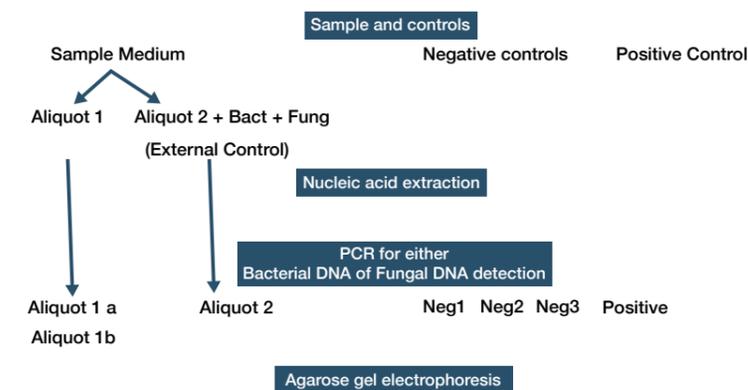


Fig 2. Format of the PCR method for detection of bacterial and fungal DNA.

### 3. Validation of the PCR method for the detection of bacterial and fungal DNA

A global validation of the method of detection of bacterial and fungal DNA by using PCR with universal primers, with generic matrices (TSB and TB) according to ICH-Q2R for testing of impurities, limit assay recommendation for a qualitative test, has been performed. Criteria for the validation of the method were specificity and limit of detection.

The specificity of the method has been established both theoretically, against representative species of the main taxonomic groups (primers specificity), and practically, using reference strains of specified species of bacteria and fungi required for validation (Ph. Eur. § 2. 6. 1) and wild strains representative of the species found in pharmaceutical industries. The method for detection of bacterial DNA was specific of bacteria and the one for fungal DNA detection was specific for fungi.

The limit of detection (LOD) was determined using calibrated suspension of the specified species of bacteria and fungi required for validation (Ph. Eur. § 2. 6. 1) spiked in either TSB or TB. The LOD was of less than  $1 \times 10^3$  cells/mL for bacteria and less than  $1 \times 10^2$  cells/mL for fungi, whatever the medium. This is roughly 100 times more sensitive than requested to test the hypothesis that turbidity is of microbial origin (more than  $10^6$ - $10^7$  cells/mL for bacteria or more than  $10^4$ - $10^5$  cells/mL for fungi).

An example of the results obtained is presented in figure 3.



Fig 3. Results of detection of bacterial DNA in three samples (1, 2 and 3) of APS-MFT.

Legend: S molecular weight standard 100 bp ladder. 1a and 1b : replicate PCR tests of sample 1 aliquote, 1T external control: PCR test of sample 1 aliquote spiked with calibrated suspensions of bacteria and fungi, T+ positive control, T- negative control medium (TSB), Bl: extraction blank, Blm: mix negative control. Same organization for sample 2 and sample 3.

The negative controls were compliant as well as the positive control. For all samples external controls (1T, 2T and 3T) were positive as expected demonstrating the absence of inhibition of the PCR in the test conditions with the samples.

For sample 1, replicate 1a and 1b were both positive for bacterial DNA amplification. To the contrary, sample 2 and sample 3 were negative. The results supported the hypothesis that the turbidity in medium sample 1 was of bacterial origin, but did not support the hypothesis for sample 2 and 3.



The fundamental process design for sterile units of operation can be roughly divided into two different approaches. Each includes a transfer of a solution from a delivery vessel to a receiving vessel. One approach for product transfer is a design to transform the product. The equipment through which the product is processed in the transfer changes one or more attribute. Noteworthy examples for this approach include:

- Sterilization by filtration (non-sterile to sterile),
- Mixing heterogeneous components (e.g., pooling or formulation) to homogeneity
- Combining an "active" ingredient (e.g., toxin, microbe, etc.) with an inactivating agent to form an inactive ingredient.

A non-transformational process for sterile solutions (or powders) could be described as a manufacturing step that moves a substance from one sterile container to another. There are no changes to product attributes associated with this transfer. In fact, there are many instances in which a great deal of emphasis is placed on transferring the product without change. A few examples for this process include:

- Dispensing into sample vessels for analytical testing
- Dispensing to other vessels for shipment, storage, or further manufacture.
- Dispensing to final containers for administration to patients.

In each of the examples above, the requirement for aseptic processing evolves validations to substantiate that equipment is sterile and the system is integral and impervious to ingress of contaminating microorganisms. While it may be slightly oversimplified, aseptic processing of sterile materials could be described as transfer of solutions with or without a transformational event without introduction of contaminants.

Evolution of facilities and equipment for sterile manufacturing has evolved since the 1920s when standards for injectables were established. From the time of mass production of injectables until the 1980s, the state of the art for equipment used to manufacture injectables was marginally adequate for preventing contamination. Some products (e.g., vaccines) that were developed in the 1940 are manufactured today by procedures that remain surprisingly unchanged. It was therefore common to add a preservative as an added measure of sterility assurance. Beginning in the 1920s, vaccines, immunoglobulin preparations, skin test antigens, antivenins, ophthalmic and nasal products, and tattoo inks were formulated to contain one such preservative, thimerosal, an organomercurial compound effective in killing contaminating microorganisms<sup>(3)</sup>. During these times, it was common, though not widely publicized, to delay execution of a sterility test for a short period of time so that any residual microorganisms could be reduced by the effects of the preservative. It was during the 1980 that the evolution of today's sterile manufacturing methods began.

## 2. Evolution

The evolution of fill/finish processing began in the early in the 20<sup>th</sup> Century and during the World War II became widespread when injectable medications became needed for lifesaving or serious injuries.

Aseptic process during these early days was performed using Bunsen burners to flame sterilize connections. Process vessels were generally constructed from glass. Transfers between vessels, as well as sample collections, were in open clean backgrounds and highly subject to contamination. Cotton plugs or rubber stoppers were used to protect glass vessels from additional contamination. It was during the 1930s and following decades that membrane filters became available and were adopted by pharmaceutical manufacturing. And it was in 1939 that one of the first sterile transfer chambers was introduced. It may surprise the reader that some of these manufacturing methods remain in use today.

Over the decades following World War II, sterile manufacturing facilities and equipment were improved. The state of the art for connections and vessels were enhanced following introduction of equipment constructed from stainless steel. Facility improvements included introduction of HEPA filters for clean room air essentially free from particulate matter. These technologies predominated the industry from the 1940s until the late 1970s without a great deal of regulatory oversight until governments' worldwide published guidance for Good Manufacturing Practices (GMP).

Since the introduction of injectable products, it was widely recognized that microbial contamination was to be avoided. Injection of contaminated drug product was well known to lead to serious adverse events including death. Lack of sterility assurance is a leading contributor to safety alerts and product recalls. Therefore, it was/is an imperative for injectable products to be sterile. The definition of sterility of a material (generally solutions) is one that is absolutely free from living microorganisms. For vaccines containing attenuated/living antigens, this meant it was imperative for this class of product to be pure and devoid of adventitious agents or other contaminating materials.

## 3. Advancement

Sterility and purity are related terms. Sterility and purity share the need to be absent of contaminating bacteria, fungi or other extraneous agents. However, a pure seed culture cannot be claimed to be sterile for the obvious reasons that seeds are, by definition, not sterile. All seed cultures (Master seeds, working seed stocks, and working seeds) must be manufactured under controlled conditions. Because preservation and expansion of the antigen or therapeutic protein must be achieved with a living microorganism, these steps cannot be sterile. For this reason, purity controls are necessary for seed manufacture at every step up to and including inoculation of starter cultures for and scale-up to fermenters or bioreactors. Purity controls confirm adventitious agents (e.g., bacterial and fungal agents, cultivatable and non-cultivatable mycoplasmas, mycobacteria and viruses) are not present in the Master Seed nor are they reintroduced during manufacture of working seeds. Validations replicating seed manufacturing are the purity controls needed to establish that seed manufacturing steps are adequate for preventing contamination. The validation most widely regarded for validating integrity of seed manufacturing processes is an Aseptic Process Simulation/Media Fill Test. As with other media challenges, it is critical to replicate the process along with good Aseptic Technique

and cGMP practices. These controls for purity are an additional assurance that the final material harvested from bioreactors or fermenters are completely free of any adventitious agent. It is a Health Authority expectation that fermentations and/or bioreactor cultures are be free from other living or infectious material.

There are several examples during upstream manufacture of a biological drug substance in which it is impractical to utilize closed manufacturing process equipment. That is, state of the art equipment for some application cannot be operated as closed and contained and be able to achieve process requirements<sup>(1)</sup>. Open processing is not capable of achieving aseptic conditions and, therefore, does not prevent movement of microorganisms (bioburden) from the environment into product stream. Thus, it is impractical, if not impossible, to perform all of the steps associated with Drug Substance manufacture without allowing for some, albeit small, number of contaminants. Bioburden controls provide for monitoring and management of open processing steps. Notwithstanding equipment limitations, rigorous monitoring of bioburden levels and use of process equipment to control bioburden at the lowest attainable level are necessities for the establishment of bioburden Alert and Action Limits. The goal for bioburden control measures should be the lowest level of bioburden that is achievable by capability of the process.

A question that many firms wrestle with today is when to claim sterility for an intermediate or excipient that will be stored for an undetermined period of time. There is very little regulatory or industrial guidance, and certainly no consensus, on which solutions should be sterilized and claimed sterile. The microbiological consideration is that any solution having a carbon source, trace minerals, and an absence of bactericidal/bacteriostatic agents is at risk for proliferation of contaminants. Most injectable products released to the market are



assembled from components that once were non-sterile. The microbial quality of these products is ensured because the manufacturers are required to perform initial and periodic revalidation of the sterilization steps for products and processes equipment. To accomplish this, an imperative is to know the microbial content of materials sterilized prior to the sterilization step to evaluate the Sterility Assurance Level (SAL) of materials sterilized. For this evaluation, compendial tests for microbial enumeration are used and an essential function of testing laboratories.

For intermediates not claimed sterile, contamination control practices are necessary prior to steps in the end-to-end manufacturing process in which the process output is sterile. The risk that should be in the forefront of process design is to contain non-sterile solutions in a manner that prevents contamination of microorganisms that could replicate. In fact, a solid contamination control strategy should be put into place for each unit of operation prior to and following the sterile boundary.

It is prudent to practice good Aseptic Technique and contamination control throughout manufacture of sterile injectables.

With the exception of products that are terminally sterilized or chemically inactivated, sterile injectable products will be sterilized by filtration<sup>(5)</sup>. For this reason, new installations and upgrades for the manufacture of heat labile biologicals should be constructed using modern approaches to close and contain each unit of operation. A key decision for process design is the unit of operation that defines the sterile boundary. While there may be a filter sterilizing step for two or more units of operation, the first step to be claimed sterile should be considered to be the sterile boundary. Following the sterile boundary, the process design should be closed for units of operation downstream from the first sterilizing grade filter. The evolving technologies for designs mating stainless steel and single use technologies renders manufacture of Drug Substance and Formulated Drug Product

affordable and feasible for closed systems highly robust for prevention of contamination.

Aseptic processing requires practices that safeguard processing of sterile fluids known as aseptic techniques. Aseptic techniques include a broad range of actions, behaviors, and equipment to prevent contamination. These tools become an imperative for a few biological products that are not sterilized at any unit of operation in the end-to-end manufacturing process. There are also a number of intermediates having a composition that cannot be sterilized by filtration downstream of a given processing step. In instances such as these, the biologic substance or unfilterable intermediate are comprised of materials too large to pass through a microporous filtration membrane. In the first instance, the material must be sterile beginning with the first manufacturing step, seed inoculation, and remain sterile at each subsequent step. In both instances, unfilterable materials must be sterile and process by strict aseptic technique to prevent contamination. This means that every product contact surface must be sterile before becoming exposed to sterile biological materials.

#### 4. Avoiding Contamination

What are the consequences should the solution become contaminated? Biological manufacturing is a complex enterprise because the units of operation employed to produce a biotherapeutic or vaccine antigen must use living cells<sup>(2)</sup>. As stated earlier, the media used for expansion of the biologic of interest must contain a carbon source and other essential ingredients for microbial proliferation. While there can be substantial purification of the biological material of interest, in the end, purified materials remain in a milieu that preserves most of the attributes needed for microbial proliferation. Adventitious agents of greatest concern include bacteria and molds/fungi. In instances in which a biologic is replicated in tissue culture cell, viruses (especially non-cytopathic viruses) should be given serious consideration. This is the case even in instances in which cell substrates are thought to be non-permissible. In the absence of effective barriers, microbial contaminations adversely impact on biologic product manufacture. Contaminants introduce product variability that can lead to potency losses from degradation or to a deleterious modification of product by microbial enzymes. Contaminants can change impurity profiles and increase bacterial endotoxins. In addition, the investigations of microbial contaminations can result in lengthy shutdown periods and delays in manufacturing operations that in turn, may sometimes result in shortages of essential drug products. Strict microbial production controls are essential to ensure the manufacture of a drug product with consistent quality. In this regard, a well designed risk assessment may be of great value. The purpose of such a risk assessment should not be, as is too often the case, to justify a poor or weak practice. Rather, a risk assessment for this topic can be an invaluable tool in the identification and correction of potential failure modes that can be fortified with closed systems.

**What is the value of a sterility test?** A sterility test is not a precise and comprehensive evaluation of the status of the test object. Recall it was stated earlier that a sterile material is absolutely free from living microorganisms. For a test to confirm a batch to be sterile, one would need to test 100% of the batch. In the case of product in final filled containers, such a test is unachievable. For that reason, a sample from filled batches is tested. Pflug published a statistical analysis that describes the probability of a detection of a contaminant in batch of

final containers<sup>(4)</sup>. The likelihood for detection is high only for those batches in which there exists major contamination. For example, if 5 (0.0005%) final containers in a batch of 100,000 were contaminated and the number of test articles was 50, then the probability of detection would be 1 in 400. In other words, the sterility test would require 400 replicates in order to detect a single contaminated unit. By contrast, if 10,000 (10%) containers in a batch of 100,000 were contaminated and the number of test articles was 50, then probability is almost certain the contaminants would be detected with a single test<sup>(6-7)</sup>.

Regulatory authorities are in general agreement that a sterility test indicates that within the conditions for which the test was performed, no microorganisms were detected. So again, what then is the value of a sterility test? Perhaps the commonly recognized value of a sterility test is that it offers some reassurance that there is not a level of contamination that was detected. Elements of this reassurance are built into the stringent conditions in which the test is conducted. By contrast, in circumstances in which microorganisms were detected, the test provides ample information for rejecting a batch. Furthermore, identification of the contaminant is generally quite useful in root cause analysis and corrective action. Thus, the value of the sterility test in defining, with high confidence, that a batch is grossly contaminated. So if sterility tests only detect "gross failures", how then is sterility established? Quite simply, sterility is established through the assurances provided in designs for facilities and process equipment, validation of the sterility of product contact surfaces in process equipment, training/proficiency of operators, and contamination control measures at every step of the manufacturing process. The validation that essential to establish sustainability of sterile manufacturing operations is the Aseptic Process Simulation/Media Fill Test. It is only this validation that challenges all of the elements that are needed to deliver a sterile injectable product<sup>(9-10)</sup>.

**Sterility is an imperative to that contributes to public trust that injectable products are safe from transferring an infectious disease. It is for this reason that Health Authorities place great emphasis on manufacturing practices. The evolution of process equipment for the key steps in sterile manufacturing allows for a very high level of sterility assurance for sterilization and storage of biologics.**

**Sterility is an absolute that cannot be affirmed without testing 100 percent of a solution or final filled batch. Testing for sterility is only a product release function that provides that the batch is not grossly contaminated. Health Authorities in the European Union (Annex 1) and the United States (FDA) along with the World Health Organization (WHO) share a common view. It is only through validation of aseptic procedures that sterility can be affirmed.**

**Sterility involves in-depth understanding of the failure modes for contamination and validations that establish that the process equipment and facilities are robust. A risk analysis to justify a poor practice is a prescription for failure. Rather, use of a risk assessment to identify failure modes followed by remediation is an approach that will sustain acceptable performance.**

#### References

- (1) J. Agalloco and L. Mestrandrea, " Moving to Closed Systems for Aseptic Processing," Pharmaceutical Technology and BioPharm International Vaccine Development and Manufacturing 2017 eBook (November 2017).
- (2) Stanley Plotkin,a James M. Robinson,b, Gerard Cunningham,c Robyn Iqbal,d and Shannon Larsenb The complexity and cost of vaccine manufacturing – An overview. Vaccine. 2017 Jul 24; 35(33): 4064–4071
- (3) Sharpe, M. A.; Livingston, A. D.; Baskin, D. S. (2012). "Thimerosal-Derived Ethylmercury is a Mitochondrial Toxin in Human Astrocytes: Possible Role of Fenton Chemistry in the Oxidation and Breakage of mtDNA". Journal of Toxicology. 2012: 1–12.
- (4) Validation of Aseptic Filling for Solution Drug Products, PDA Technical Monogram, Number 2, pub. 1981.
- (5) Maik W. Jornitz, Peter G. Soelkner, and Theodore H. Meltzer. Sterile Filtration – A Review of the Past and Present Technologies. PDA J Pharm Sci Technol July/August 2002 56:192-195
- (6) Myths in Pharmaceutical Manufacturing – Microbiological Myths David Hussong, Ph.D., Valsource, LLC 10th Annual PDA Global Conference on Pharmaceutical Microbiology Monday October 19, 2015
- (7) Pflug, in Industrial Sterilization, Proceedings of the International Symposium, 1972
- (8) Guidance for Industry (2004) : Sterile Drugs Products Produced by Aseptic Processing-Current Good Manufacturing Practice
- (9) Volume 4 EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products (corrected version)
- (10) Annex 6 WHO good manufacturing practices for sterile pharmaceutical products



Internally funded initiative.

Focuses on supporting fisheries worldwide and ensuring the genetic diversity of the horseshoe crab.

 **Associates of Cape Cod Int'l., Inc.**  
Your Endotoxin & Glucan Experts  
www.accuik.co.uk • (+44) 151.547.7444

# L'industrie pharmaceutique : renforcer la culture de la qualité.

Par Jennifer LOPEZ - Maetrics  
media@maetrics.com

Le marché pharmaceutique mondial est en pleine croissance, poussé par des tendances démographiques et économiques, comme le vieillissement rapide de la population qui entraîne la progression de certaines maladies chroniques. En effet, le marché devrait passer à une valeur de 1.300 milliards de dollars en 2020<sup>(1)</sup>. Cette demande croissante est accompagnée par une hausse d'activité transfrontalière, avec 40 %<sup>(2)</sup> des ingrédients pharmaceutiques actifs (API) provenant des entreprises chinoises. Ce phénomène nécessite une intensification de la surveillance des sociétés qui fabriquent, traitent ou conditionnent des produits pharmaceutiques.



Vu l'importance du marché pharmaceutique américain, il va de soi que la Food and Drug Administration (FDA) américaine est un acteur important dans le contrôle des entreprises. En 2016, les États-Unis détenaient plus de 45 % du marché pharmaceutique mondial<sup>(3)</sup>, et beaucoup des plus grandes sociétés pharmaceutiques mondiales sont américaines : Johnson & Johnson, Pfizer et Merck & Co, pour citer quelques exemples. Bien que 75% des produits pharmaceutiques américains soient produits à l'intérieur du pays, les États-Unis occupent la place du premier importateur mondial, avec 86 milliards de dollars d'importations en 2015 en provenance d'Irlande, d'Allemagne, de Suisse, d'Israël et d'Inde.<sup>(4)</sup>

La FDA impose des Bonnes Pratiques de

Fabrication actuelles, ou "Current Good Manufacturing Practices" (cGMP), pour la conception, le suivi et le contrôle adéquats des processus et installations de fabrication<sup>(5)</sup>. Les fabricants doivent utiliser ces pratiques pour mettre en place des systèmes de qualité et des plans de gestion de risques robustes et conformes aux exigences actuelles. Les fabricants présentant des non-conformités aux cGMP risquent de recevoir une lettre d'avertissement de la part de la FDA. La FDA a remarqué une hausse du nombre de lettres d'avertissement délivrées aux entreprises depuis 2013 ; cette hausse se voit non seulement aux États-Unis, mais aussi dans les entreprises manufacturières à l'étranger.

Une lettre d'avertissement est délivrée à la suite d'une visite d'inspection, durant laquelle

un inspecteur observe toute violation du Food Drug and Cosmetic Act<sup>(6)</sup>. La lettre prend la forme d'un formulaire "form-483" contenant chaque observation considérée comme posant de sérieux risques réglementaires. Chaque entreprise qui reçoit une inspection FDA dont le résultat est insuffisant verra un impact sur leurs revenus car cela nuit à leur réputation et nécessitera des coûts élevés de remédiation.

Parmi les principales non-conformités identifiées dans le secteur de la fabrication pharmaceutique par la FDA et l'Agence Européenne du Médicament (AEM) sont :

- Les responsabilités et procédures applicables au contrôle qualité ne sont pas écrites ou correctement suivies
- L'absence de procédures écrites régissant les contrôles de production et de processus<sup>(1)</sup>
- Manipulation systématique des données
- Manquement à exercer des contrôles suffisants sur les systèmes informatiques afin d'éviter l'accès non autorisé aux données
- Manquement à détruire de façon appropriée les documents relatifs à la qualité.

Les entreprises qui reçoivent un formulaire 483 doivent agir d'urgence pour résoudre les problèmes identifiés. Dans le cas où les compétences nécessaires ne se trouvent pas parmi le personnel, des spécialistes externes peuvent assister avec la rédaction d'une feuille de route d'actions correctives, comme ils bénéficient d'une expérience accumulée au sein de multiples entreprises variées. Ces experts peuvent également offrir des conseils pour effectuer des actions préventives. Ce qui est essentiel est d'adopter une approche de conformité compréhensive et durable, visant à se mettre en conformité avec les cGMP les plus exigeantes, plutôt que de se satisfaire avec des normes minimales.

La conformité réglementaire est complexe et doit être une activité en continu, mais elle est souvent en bas des listes de priorités des sociétés pharmaceutiques. En particulier, les chefs d'entreprise omettent

de faire attention à la qualité pendant les fusions et acquisitions, donnant la priorité à la clôture rapide de la transaction. De plus, un changement de propriétaire et donc de la philosophie de l'entreprise peut avoir un impact sur la gestion de la chaîne d'approvisionnement et de la conformité. Mais si les entreprises exercent correctement une *due diligence*, des problèmes qui pourraient provoquer une lettre d'avertissement devraient pouvoir être identifiés ; une lettre d'avertissement suggère donc une véritable dégradation du système de qualité.

Les entreprises sont aussi responsables de la vérification de la conformité de leurs fournisseurs. Un contributeur majeur aux lettres d'avertissement est la grandeur de la chaîne d'approvisionnement car il y a plusieurs processus et acteurs impliqués dans la production de chaque produit et sa distribution. La qualité du produit final dépend du contrôle de chaque élément et service employés au cours de la production, donc il faut bien planifier et documenter chaque contrat de fourniture. Il faut aussi surveiller et évaluer régulièrement tous les services externalisés ; les entreprises devraient avoir un aperçu en temps réel de chaque relation externe, ce qui est possible avec un mécanisme de capture et d'analyse des données. Ceci permet une meilleure compréhension de la demande et de la capacité, et les entreprises peuvent donc agir rapidement si les circonstances changent, ou s'il y a une interruption de service qui pourrait affecter le produit final et sa commercialisation.

**Une meilleure mise en conformité assure non seulement la qualité des produits, mais présente aussi des avantages commerciaux. Les processus de contrôle robustes réduisent les coûts à long-terme en évitant les rappels de produits, les réclamations et les non-conformités. En outre, la transparence et une amélioration de visibilité aident à renforcer les opérations et identifier d'autres éléments qui pourraient être améliorés.**

## Glossaire

**cGMP** : Current Good Manufacturing Practices - Bonnes pratiques de fabrication actuelles  
**API** : Active Pharmaceutical Ingredients - Ingrédients pharmaceutique actifs  
**FDA** : Food and Drug Administration - Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux  
**AEM** : Agence Européenne du Médicament

## Références

- (1) [https://www.trade.gov/topmarkets/pdf/Pharmaceuticals\\_Executive\\_Summary.pdf](https://www.trade.gov/topmarkets/pdf/Pharmaceuticals_Executive_Summary.pdf)
- (2) [https://www.trade.gov/topmarkets/pdf/Pharmaceuticals\\_Executive\\_Summary.pdf](https://www.trade.gov/topmarkets/pdf/Pharmaceuticals_Executive_Summary.pdf)
- (3) <https://www.statista.com/topics/1719/pharmaceutical-industry/>
- (4) [https://www.trade.gov/topmarkets/pdf/Pharmaceuticals\\_Executive\\_Summary.pdf](https://www.trade.gov/topmarkets/pdf/Pharmaceuticals_Executive_Summary.pdf)
- (5) <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/Manufacturing/ucm169105.htm>
- (6) <https://www.fda.gov/ICECI/Inspections/ucm256377.htm>

# IF YOU NEED ASEPTIC PACKAGING, BLOW-FILL-SEAL IS THE SOLUTION.

Would you like to process your liquid or semisolid formulation in a more reliable, more economical, and more user-friendly way than is possible with conventional packaging methods? Then it's time for blow-fill-seal technology from Rommelag. Our bottlpack systems enable aseptic filling in application-optimized, tamper evident, break-proof polymer containers, which are directly produced, filled, and sealed by the system. This allows cost-effective manufacturing by avoiding container handling including empty container transport and storage, washing, and sterilization. The BFS process enables unique container designs and even insert of additional components such as valves, applicators or adapters; fill-volumes range from 0,1 ml to more than 1000 ml.

More information on blow-fill-seal technology and your personal contact partner can be found on our website.

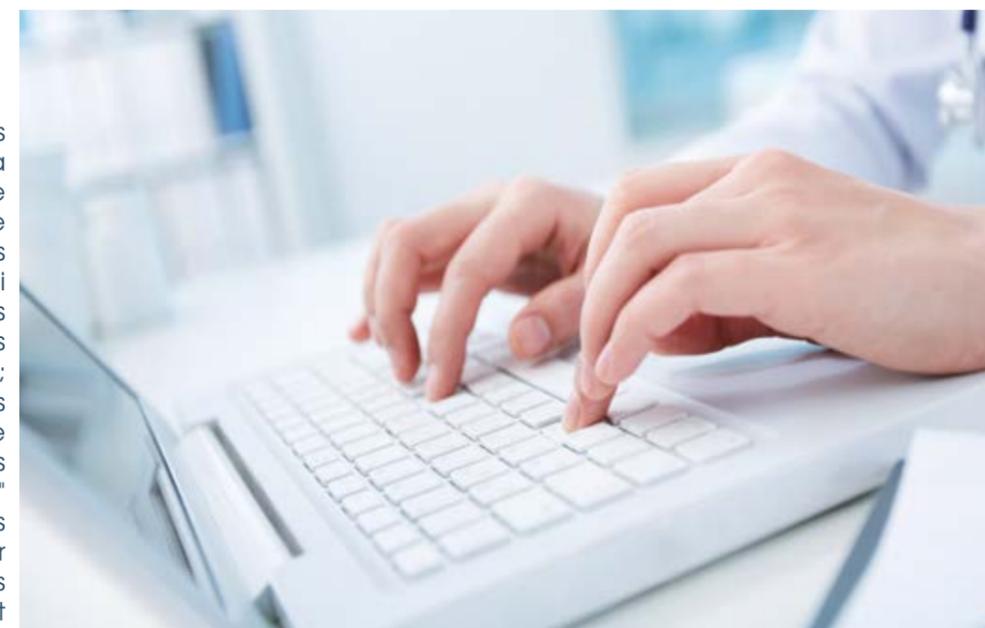
[www.rommelag.com](http://www.rommelag.com)



## Sauvegarde, réplication et archivage... Quelles mesures prendre pour préserver l'intégrité de vos données ?

Par Jean-Louis JOUVE - COETIC  
[jean-louis.jouve@coetic.com](mailto:jean-louis.jouve@coetic.com)

L'intégrité des données réglementées ("data integrity") est une préoccupation conjointe des autorités<sup>(1)</sup> et des industries de santé et ceci bien avant l'apparition des premières lignes directrices ou guides sur ce sujet ; si beaucoup d'experts s'accordent à reconnaître que la plupart des aspects liés à la "data integrity" ne sont pas des sujets nouveaux, le focus mis par les différentes instances réglementaires sur ce sujet a le mérite de remettre en



question certaines pratiques qui ont pu varier avec le temps et les évolutions technologiques.

Il appartient notamment aux laboratoires concernés de faire le point sur leurs pratiques de gestion des données et notamment de garantir leur exactitude ("accuracy"), contemporanéité ("contemporaneous"), leur origine ("attributable"), leur lisibilité ("legible"), d'en préserver les caractéristiques d'origine ("original"), leur exhaustivité ("complete") et ceci pendant toute la durée de rétention réglementaire ("enduring" and "available").

Les systèmes générant des données électroniques ne sont pas tous uniformes et homogènes dans la gestion de ces données ; certains d'entre eux disposent de modalités de stockage évoluées (base de données intégrée...) et de fonctionnalités natives de préservation de l'intégrité : somme de contrôle ("checksum"), sauvegarde, archivage... mais d'autres sont plus limités sur ces sujets et nécessitent l'ajout de composants externes pour sécuriser ces données pendant tout leur cycle de vie.

Cet article a pour objet de faire le point sur quelques pratiques courantes de conservation des données électroniques sur des systèmes isolés ou en réseau qui peuvent permettre en fonction des cas de répondre aux principales exigences réglementaires.

### 1. Contexte réglementaire

D'un point de vue pratique, nous prendrons comme définition de la donnée celle proposée par l'OMS<sup>(2)</sup> : "Tous les enregistrements originaux et les copies certifiées conformes des enregistrements originaux, y compris les données sources et métadonnées et toutes les transformations et rapports ultérieurs de ces données, qui sont enregistrées au moment de l'activité GxP et permettent une reconstruction complète de l'activité GxP. Les données doivent être enregistrées avec précision par des moyens permanents au moment de l'activité. Les données peuvent être contenues dans des documents papier (tels que feuilles de travail et cahier de laboratoire), des enregistrements

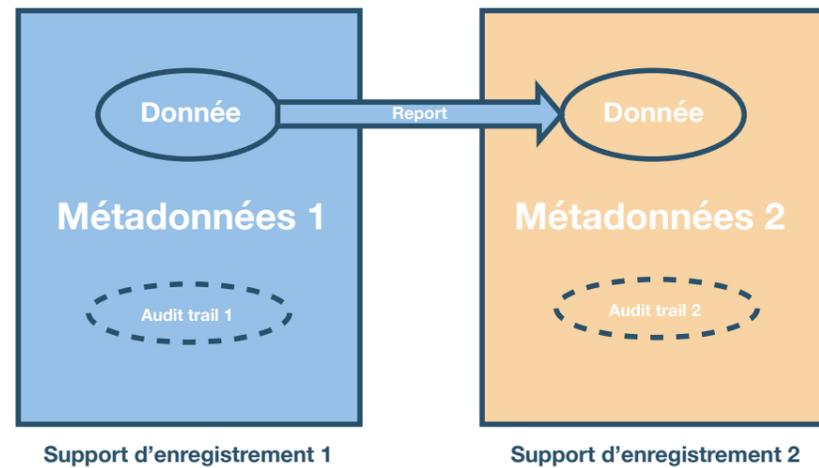


Figure 1 : Données et supports d'enregistrements

électroniques et des journaux de vérification ("audit trail"), des photographies, des microfilms ou des microfiches, des fichiers audio ou vidéo ou tout autre support."

S'agissant de leur stockage, le projet de guide PIC/S récemment publié<sup>(3)</sup> mentionne que "le stockage des données doit inclure la totalité des données et métadonnées originales, y compris les pistes d'audit ("audit trail"), en utilisant un processus sécurisé et validé."

Si les données sont sauvegardées ou des copies de celles-ci sont faites, alors la sauvegarde et les copies doivent également avoir le même niveau de contrôle approprié afin d'interdire des accès non autorisés, des modifications et suppressions de données ou leur altération. Par exemple, une entreprise qui sauvegarde des données sur des disques durs portables doivent interdire la possibilité de supprimer des données du disque dur.

**Quelques considérations supplémentaires pour le stockage et la sauvegarde des données indiquent que :**

- Des copies conformes des enregistrements électroniques dynamiques peuvent être faites, avec la garantie que le contenu entier (c'est-à-dire toutes les données et les métadonnées) sont incluses et que la signification des enregistrements originaux est conservée.
- Les données stockées doivent être accessibles dans un format lisible ; les entreprises peuvent avoir besoin de maintenir un matériel et logiciel approprié pour accéder aux données stockées électroniquement sous forme de sauvegardes ou de copies au cours de la durée de conservation.
- Les copies de sauvegarde de routine doivent être stockées dans un endroit éloigné (séparé physiquement) dans l'hypothèse d'une catastrophe.
- Les données de sauvegarde doivent être lisibles pendant toute la période de rétention réglementaire définie, même si une nouvelle version de ce logiciel a été mise à jour ou remplacé par un autre disposant de meilleures performances.
- Les systèmes doivent permettre la sauvegarde et la restauration de toutes les données, y compris les métadonnées et les pistes pour audit ("audit trail").

Enfin, la FDA<sup>(4)</sup> utilise le terme sauvegarde au § 211.68 (b) pour désigner une copie conforme de l'enregistrement original maintenue de manière sécurisée tout au long de la période de conservation des enregistrements (par exemple, article 211.180). Les données sauvegardées doivent être exactes, complètes et préservées de toute altération, effacement ou de toute perte involontaire (article 211.68 b). Le fichier de sauvegarde doit contenir les données (y compris les métadonnées associées) dans leur format d'origine ou dans un format compatible avec ce format d'origine. L'utilisation du terme "sauvegarde" par la FDA est cohérente avec le terme "archive" utilisé dans le guide pour l'industrie et le personnel de la FDA *General Principles of Software Validation*.

Des copies de sauvegarde temporaires (créées, par exemple, en cas de panne d'ordinateur ou autre interruption de service) ne remplissent pas les exigences de l'article 211.68 (b) de conserver un fichier de sauvegarde des données originales.

Il ressort de ces différentes sources que la donnée est en pratique indissociable de son support d'enregistrement ; la législation américaine a d'ailleurs clarifié dans son guide publié en décembre 2018 que "lorsqu'elles sont générées pour répondre à une exigence réglementaire, toutes les données deviennent des enregistrements réglementés<sup>(5)</sup>".

Par exemple, un donnée de pH enregistrée sur un support papier<sup>(6)</sup> dispose de métadonnées (ou données de contexte) spécifiques : date et heure de la mesure, identification de l'échantillon, température, identification de la sonde... ; si cette donnée est reportée sur un autre support d'enregistrement (électronique dans un système LIMS par exemple), la même donnée perdra potentiellement certaines métadonnées et en disposera probablement d'autres : identification de la personne à l'origine de la saisie, date et heure de la saisie et "audit trail" des éventuelles modifications sur cette donnée...

→

L'intégrité d'une donnée électronique dans une définition informatique se réfère à une propriété associée aux données qui, lors de leur traitement ou de leur transmission, ne subissent aucune altération ou destruction volontaire ou accidentelle, et conservent un format permettant leur utilisation.

S'agissant des données électroniques mémorisées sur un support durable (disque dur, mémoire flash...), les techniques de préservation des données et de leur intégrité sont connues et mises en œuvre depuis longtemps ; la réglementation européenne aborde également ces sujets dans l'annexe 11 principalement dans les articles suivants :

- 7.1. Les données doivent être protégées d'éventuels dommages par des moyens physiques et électroniques. L'accessibilité, la lisibilité et l'exactitude des données stockées doivent être vérifiées. L'accès aux données doit être garanti tout au long de la période de conservation.
- 7.2. Des sauvegardes régulières des données pertinentes doivent être réalisées. L'intégrité et l'exactitude des données sauvegardées, ainsi que la capacité à restaurer les données, doivent être vérifiées pendant la validation et contrôlées périodiquement.

Enfin l'article 17 traite de la problématique de l'archivage : "Les données peuvent être archivées. L'accessibilité, la lisibilité et l'intégrité de ces données doivent être vérifiées. Si des modifications significatives du système doivent être faites (par exemple, un changement d'équipement informatique ou de logiciel), alors la capacité à récupérer les données archivées doit être garantie et testée."

**2. Sauvegarde et archivage**

Pour bien distinguer les termes, la sauvegarde ("backup" en anglais) est l'opération qui consiste à dupliquer et à sécuriser (le plus souvent dans un lieu distinct du lieu principal d'utilisation) les données contenues dans un système informatisé tandis que l'archivage consiste à déplacer certaines de ces données qui ont déjà fait l'objet d'un traitement complet sur un dispositif de stockage à long terme afin de libérer de l'espace dans le stockage principal pour des nouvelles données.

Plusieurs types de sauvegarde informatique existent :

- La sauvegarde totale ("full backup").
- La sauvegarde incrémentale ("incremental backup").
- La sauvegarde différentielle ("differential backup")...

Les données sauvegardées peuvent être récupérées depuis leur espace sécurisé et remontées (on parle alors de restauration) dans leur environnement d'origine.

L'objectif des sauvegardes régulières des données a bien pour objet de préserver l'intégrité des données en cas d'incident majeur sur le système informatisé (altération permanente du disque dur par exemple).

Le schéma ci-dessous donne une indication des principaux indicateurs de performance d'un processus de sauvegarde :

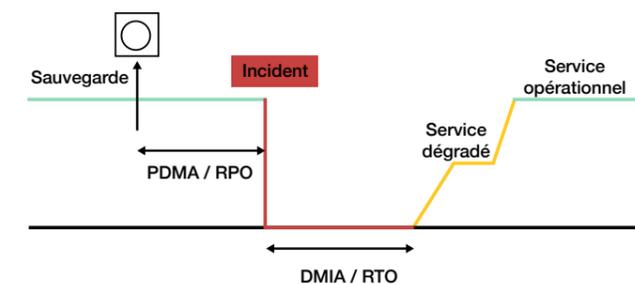


Figure 2 : Schéma RTO/RPO

Le terme "recovery time objective" (RTO) désigne la durée nécessaire à un redémarrage partiel (dégradé) du service opérationnel tandis que le "recovery point objective" (RPO) quantifie la capacité de reprise sur sauvegarde de la ressource. L'ensemble permet de déterminer le temps total d'interruption d'une ressource après un incident majeur. Par exemple, pour un laboratoire travaillant de 8h à 18h, si un incident majeur a lieu à midi, que la dernière sauvegarde date de la veille au soir, celui-ci aura perdu les données équivalentes à 4 heures de travail (de 8h à 12h).

La sauvegarde confère également la capacité de restaurer sélectivement une donnée supprimée par erreur ; cette capacité est toutefois très relative et dépend principalement des modalités de stockage des données de chaque système. S'il est possible, d'un point de vue réglementaire, de supprimer des données, il est nécessaire de conserver la trace de la suppression de ces données : "Il doit être envisagé, sur la base d'une analyse de risques, l'inclusion au sein du système informatisé d'un journal (dit "audit trail") permettant de conserver la trace de toute modification

→

ou suppression survenue sur les données ayant un impact BPF. Toute modification ou suppression d'une donnée ayant un impact BPF doit être justifiée et documentée<sup>(7)</sup>. La suppression d'une donnée électronique n'étant pas recommandée, il est souhaitable de disposer dans les différents systèmes d'une suppression logique plutôt que physique des enregistrements réalisés.

La suppression logique d'un enregistrement consiste à marquer l'enregistrement comme supprimé au regard de l'application ou du système d'exploitation mais à ne le supprimer physiquement (définitivement) qu'à l'issue d'une réorganisation ou défragmentation du support de stockage.

### 3. Réplication

En informatique, la réplication est un processus de partage d'informations pour assurer la cohérence de données entre plusieurs sources de données redondantes, pour améliorer la fiabilité, la tolérance aux pannes, ou la disponibilité. On parle de réplication de données si les mêmes données sont dupliquées sur plusieurs périphériques<sup>(8)</sup>.

Il est possible de répliquer les données sur plusieurs disques de stockage d'un même serveur. On parle ainsi couramment de virtualisation du stockage en RAID ("Redundant Array of Independent Disks").

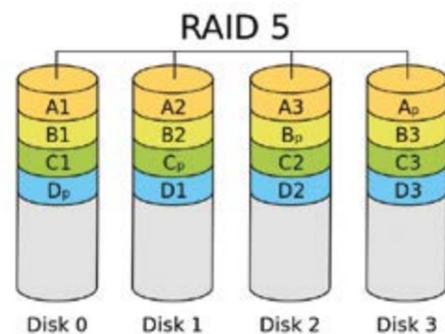


Figure 3 : Exemple de virtualisation de stockage en RAID 5 (Wikipédia)

Le stockage virtuel en RAID 5 constitue un ensemble à redondance N+1. La parité, qui est incluse avec chaque écriture se retrouve répartie circulairement sur les différents disques. Chaque bande est donc constituée de N blocs de données et d'un bloc de parité. Ainsi, en cas de défaillance de l'un des disques de la grappe, pour chaque bande il manquera soit un bloc de données soit le bloc de parité. Si c'est le bloc de parité, ce n'est pas grave, car aucune donnée ne manque. Si c'est un bloc de données, on peut calculer son contenu à partir des N-1 autres blocs de données et du bloc de parité. L'intégrité des données de chaque bande est préservée. Donc non seulement la grappe est toujours en état de fonctionner, mais il est de plus possible de reconstruire le disque une fois échangé à partir des données et des informations de parité contenues sur les autres disques.

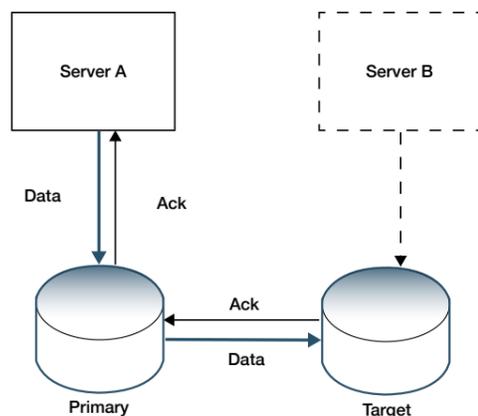


Figure 4 : Réplication de données : en cas d'indisponibilité du stockage ou du site primaire, le serveur B peut accéder à la réplication des données. Par Speculos — Travail personnel, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=16725823>

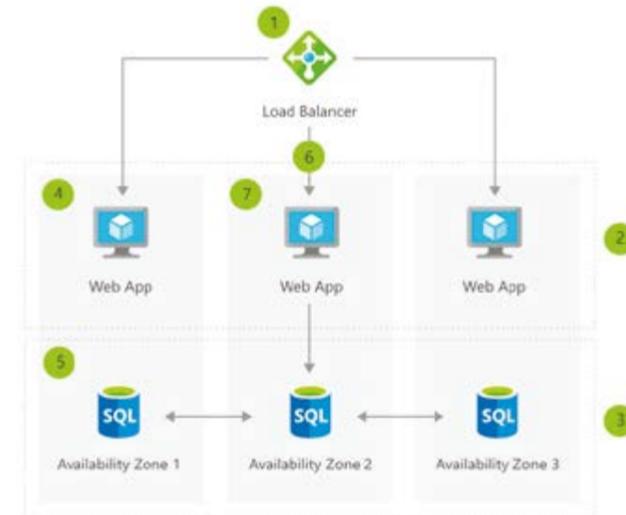


Figure 5 : Schéma d'infrastructure permettant la réplication de base de données sur plusieurs zones de disponibilité (datacenters). Source Microsoft.

Si ce système permet en théorie une disponibilité plus importante, sa mise en œuvre est coûteuse et les garanties de récupération des données ne sont pas absolues.

Ce mécanisme de réplication peut être réalisé à l'échelle d'une base de données sur plusieurs serveurs ou centre de données ("datacenter").

Il faut par ailleurs noter que les principaux fournisseurs de stockage dans le Cloud propose dans leurs services standards la réplication des données sur plusieurs datacenters ("availability zones" chez AWS) et que les coûts de stockage des données à long terme sont particulièrement réduits (0,0045 USD par Go/mois, tarif AWS Paris à décembre 2018).

Ce mécanisme de réplication permet un taux de disponibilité élevé des services de stockage puisque le RTO et RPO sont en pratique égal à zéro par opposition aux systèmes de sauvegarde où comme nous l'avons vu le RTO/RPO est toujours positif et conditionne une indisponibilité plus ou moins grande du service.

Il faut néanmoins être attentif au fait qu'une donnée supprimée sur une instance le sera aussi dans les autres instances ce qui n'est pas un problème pour les systèmes disposant d'un mode de suppression logique mais qui peut l'être pour des systèmes plus rudimentaires.

**En conclusion, les technologies de sauvegarde, archivage et réplication de données sont aujourd'hui largement disponibles ; elles peuvent être mises en œuvre par un administrateur informatique qualifié et indépendant qui devra sélectionner le moyen le mieux adapté en fonction du support d'enregistrement et de la technologie propre à chaque système. Il faut par ailleurs garder en mémoire que les données sauvegardées ou archivées sont également sujettes à revue notamment pour vérifier la capacité de restauration de ces données ; cette revue pouvant être réalisée en même temps que la revue périodique du système.**

### Références

- (1) Statement from FDA Commissioner Scott Gottlieb, M.D., on the agency's efforts to improve drug quality through vigilant oversight of data integrity and good manufacturing practice, December 12, 2018
- (2) WHO, Annex 5, Technical Report Series; No 996 "Guidance on Good Data and Record Management Practices," May 2016
- (3) Good Practices for Data Management and Integrity in Regulated GMP/GDP Environments, PI 041-1 (Draft 3) 30 November 2018
- (4) US FDA Data Integrity and Compliance With CGMP Guidance for Industry Questions and Answers December 2018
- (5) En vertu de l'article 704 (a) du Food Drug & Cosmetic Act, les inspections des sites de fabrication par la FDA "s'appliquent à tous les éléments (y compris les enregistrements, dossiers, documents, processus, moyens de contrôle et installations) pouvant avoir un impact sur les médicaments sur ordonnance [et] les médicaments en vente libre destinés à la consommation humaine ... en termes de falsification ou mauvaise identification... ou portant autrement sur une violation de ce chapitre". En conséquence, la FDA demande et examine systématiquement les enregistrements qui ne sont pas forcément destinés à satisfaire une exigence CGMP mais qui contiennent néanmoins des informations CGMP (par exemple, des dossiers d'expédition ou autres pouvant être utilisés pour reconstruire une activité. ibid
- (6) Si ce ticket est imprimé sur une imprimante à papier thermique (sensible à la chaleur), le support de l'enregistrement risque de ne pas être lisible ("legible") pendant toute la durée de rétention réglementaire ; une "copie conforme" de cet enregistrement est alors nécessaire.
- (7) EMA Annexe 11.9 Traçabilité des modifications
- (8) Wikipedia

# Analytical services for pharmaceutical, biotechnology, medical devices and cosmetics industry



## MICROBIOLOGY

- Sterility test (isolator)
- Rapid Sterility Test (5 days)
- Bioburden, microbial limit test
- Challenge test
- Antibiotics
- AMES test
- Disinfectant efficacy & validation
- Integrity tests (CCIT, MIT)
- D-Value

## MOLECULAR BIOLOGY

- Identification of bacteria, yeasts and moulds by DNA sequencing (by MicroSEQ®)
- Mycoplasma detection by real time PCR (EP 2.6.7)
- Quantification of residual DNA by real time PCR (CHO, E.coli, HEK,...)
- Development and validation of assays for quantification of residual proteins (HCP)

## PHYSICO/CHEMICAL ANALYSIS

- Analytical Services for small molecule drugs
- Analysis of biopharmaceuticals
- Solid-state development: polymorphism, salts & crystallization
- Extractables & leachables
- Particles
- Trouble shooting
- Heavy metals (ICP-MS)
- Pesticides
- Cleaning validation

## TOXICOLOGY & CELL BIOLOGY

- Biocompatibility studies under ISO 10993 & USP<87> and <88>
- Pyrogen testing (endotoxins & *in-vitro* pyrogen quantification)
- Cell based assays
- Potency, characterization & cell culture testing
- Cytotoxicity
- Genotoxicity